

LA MATERIA DEI CROMOSOMI. Proteine e cromatina, una sostanza costituita da elementi di DNA, sono il materiale che compone i cromosomi, all'interno dei quali è strettamente impacchettato il DNA della cellula. Elementi di base della cromatina sono gli istoni, molecole proteiche che si sono mantenute inalterate in tutti gli organismi eucarioti, compreso l'uomo, di cui si vedono alcuni cromosomi in questa microfotografia.

Un nuovo codice per la memoria

di Serena Varotto e Vincenzo Rossi

delle piante

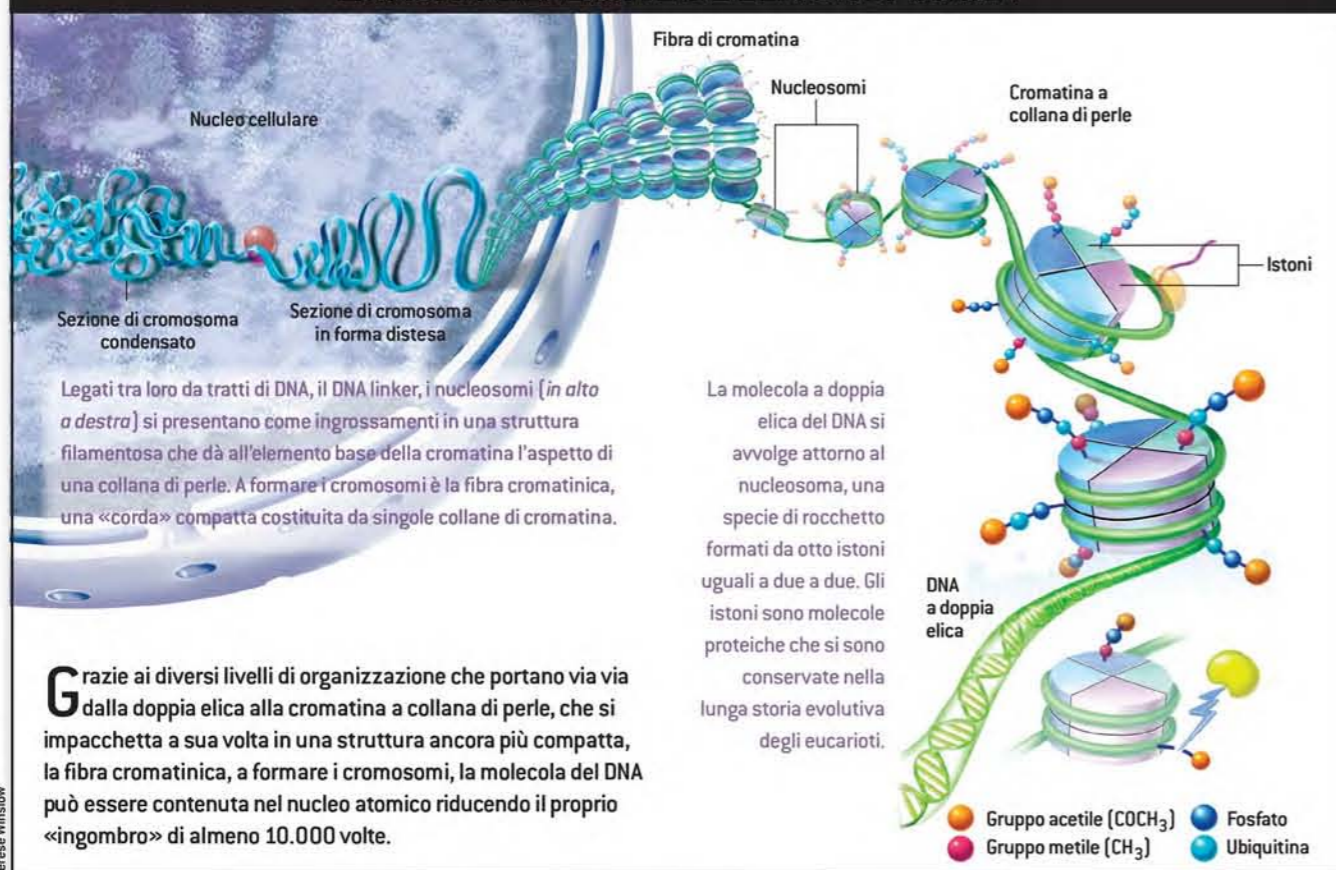
I cambiamenti della struttura della cromatina sono fondamentali per lo sviluppo post-embrionale

Quasi tutto è cominciato quando ci si è accorti che, nelle piante geneticamente modificate, i transgeni possono essere inattivati, in gergo silenziati, nel passaggio da una generazione all'altra. Quasi tutto, però, perché l'epigenetica – o *funny genetics*, come era stata definita per il suo non voler rispettare le regole della genetica mendeliana – era già nota ai ricercatori. Con il termine epigenetica sono indicati tutti quei meccanismi che regolano l'attività genica senza modificare la sequenza nucleotidica del DNA, e che sono trasmessi ereditariamente nel corso delle generazioni. I fenomeni di natura epigenetica sono una caratteristica di tutti gli organismi viventi. Nel moscerino della frutta, l'analisi dei meccanismi che influenzano l'espressione genica nel corso dell'embriogenesi aveva sottolineato l'importanza del contesto strutturale in cui si trova un determinato gene, ovvero l'influenza dell'organizzazione della cromatina in cui il gene è contenuto, al fine di regolare correttamente la sua espressione spaziotemporale. La cromatina – che in passato si pensava svolgesse esclusivamente un'azione strutturale – è oggi ritenuta un regolatore fondamentale delle funzioni del genoma.

Cos'è dunque, la cromatina? Negli eucarioti, gli esseri viventi le cui cellule sono dotate di nucleo, per poter essere contenuto all'interno del nucleo della cellula, il DNA è impacchettato nei cromosomi, i quali sono almeno 10.000 volte più brevi della molecola di DNA in essi presente. I cromosomi sono composti di cromatina, una sostanza a sua volta costituita da DNA, proteine istoniche e proteine non-istoniche. L'unità di base della cromatina è il nucleosoma, caratterizzato nel 1974 da due scienziati statunitensi e costituito da un ottamero di istoni, molecole proteiche che formano una specie di rocchetto attorno al quale sono avvolti 146 nucleotidi di DNA. L'ottamero è costituito da due molecole per ciascuno di quattro diversi istoni: H2A, H2B, H3 e H4. Per ottenere la struttura finale della cromatina i nucleosomi sono organizzati in strutture complesse. Innanzitutto sono legati tra loro da tratti di DNA, il DNA linker, che, al microscopio elettronico, le danno l'aspetto di una collana di perle. Il DNA linker e il centro dei nucleosomi sono tenuti insieme da un'altra proteina istonica, l'istone H1, che determina la formazione della fibra di cromatina. Il livello finale di organizzazione è raggiunto quando la fibra di cromatina condensa in un cromosoma metafase, osservabile al microscopio ottico limitatamente a un intervallo preciso del ciclo cellulare, la metafase, in cui i cromosomi si allineano nella parte centrale della cellula. Nei cromosomi, la cromatina è organizzata in domini funzionali definiti eucromatina ed eterocromatina, con differente architettura, attività trascrizionale e tempi di replicazione.

Andrew Syred/SP/Grzila Neri

L'ORGANIZZAZIONE DELLA CROMATINA



Tereza Winslow

Le ricerche degli ultimi anni hanno evidenziato che la struttura della cromatina non è stabile ma, al contrario, altamente dinamica, ed è regolata da una serie di fattori epigenetici. Un primo fattore è legato all'attività di complessi proteici che possono far scivolare i nucleosomi lungo la doppia elica di DNA o allentare i legami tra nucleosoma e DNA. Questa attività richiede dispendio di energia da parte della cellula, e prende il nome di «rimodellamento della cromatina». Un secondo meccanismo in grado di alterare la struttura della cromatina è correlato alle modificazioni chimiche delle proteine istoniche. Una caratteristica di queste proteine, che sono tra le famiglie geniche più conservate nel corso dell'evoluzione degli eucarioti, è quella di presentare lungo la loro sequenza regioni che sono ampiamente modificate dopo la loro sintesi.

Acetilazione, metilazione e fosforilazione sono le modificazioni chimiche più frequenti e meglio studiate degli istoni. Si tratta, peraltro, di modificazioni reversibili, nelle quali intervengono enzimi che hanno la funzione di apportare o di eliminare i cambiamenti. L'acetilazione, per esempio, è l'aggiunta di un gruppo acetilico all'amminoacido lisina, di cui le parti terminali degli istoni sono particolarmente ricche. E nel nucleo cellulare si osserva una continua attività di acetilazione e deacetilazione di queste regioni, operata da due classi di enzimi che hanno funzioni opposte: le acetilasi e le deacetilasi istoniche.

L'insieme dei processi che abbiamo descritto può determinare il passaggio da una forma cromatinica molto condensata a una più rilassata, un cambiamento che si è dimostrato di fondamentale

In sintesi/La materia dei cromosomi

- La cromatina, il materiale di cui sono composti i cromosomi di tutti gli organismi eucarioti, ha una struttura altamente dinamica, governata da una serie di fattori epigenetici, che le permette di svolgere un fondamentale ruolo di regolazione dell'espressione genica.
- Processi reversibili come l'acetilazione, la metilazione e la fosforilazione degli istoni possono determinare il passaggio della cromatina da una forma più compatta a una più rilassata, nella quale il DNA diventa accessibile alle proteine che ne permettono la trascrizione, garantendo la funzionalità dei geni.
- Nelle piante, la cromatina contribuisce a regolare il processo di fioritura e influenza in maniera sostanziale i processi di sviluppo. Approfondirne il ruolo e i meccanismi d'azione potrebbe permettere di controllare numerosi processi di elevato interesse biotecnologico.

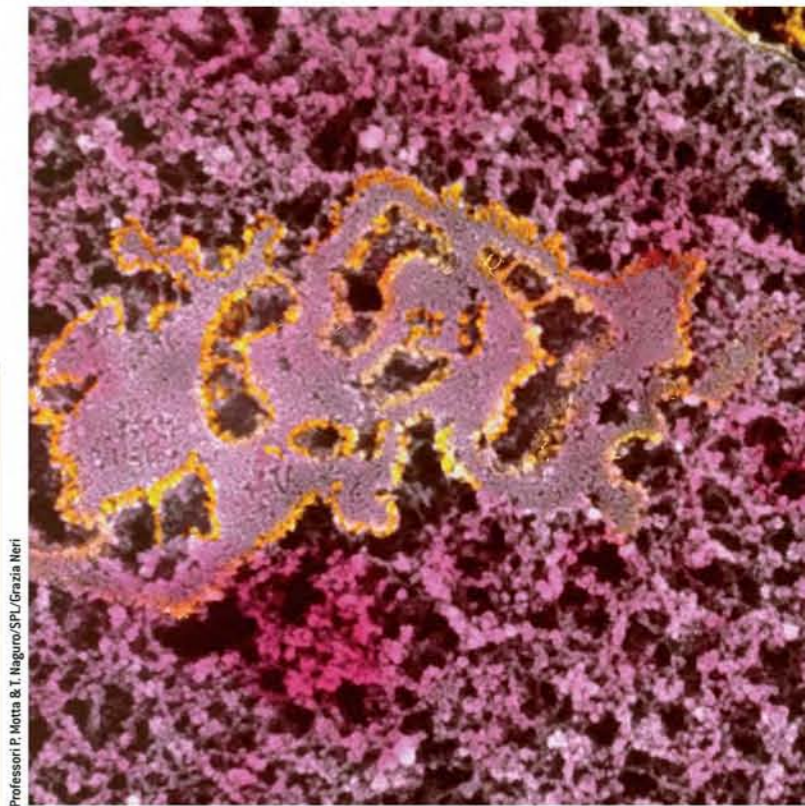
GLI AUTORI

SERENA VAROTTO e VINCENZO ROSSI sono ricercatori rispettivamente presso l'Università di Padova e l'Istituto sperimentale per la cerealicoltura di Bergamo. Da anni collaborano allo studio dei meccanismi epigenetici attivi nella regolazione dell'attività genica e nello sviluppo delle piante.

Il codice epigenetico si fonda sui meccanismi che regolano la struttura della cromatina

Glossario minimo

- Trascrizione genica:** è il processo mediante il quale l'informazione genetica contenuta nelle sequenze del DNA viene trasferita all'RNA messaggero (mRNA). La trascrizione del DNA in mRNA garantisce l'espressione dei geni.
- Eucromatina:** regione di cromatina in cui è attiva la trascrizione del DNA in mRNA.
- Eterocromatina:** regione di cromatina in cui non vi è attività di trascrizione e di conseguenza si ha silenziamento genico.
- Istoni:** sono piccole proteine basiche molto conservate che compongono la cromatina di tutti gli eucarioti. Una volta che gli istoni si sono assemblati e associati al DNA nella formazione del nucleosoma, cioè l'unità di base della cromatina, possono subire delle modificazioni chimiche covalenti.



FIBRE DI CROMATINA CIRCONDANO IL NUCLEOLO (in rosa), un'area specializzata nella sintesi dell'RNA ribosomale, in questa microfotografia di una cellula di embrione umano di otto settimane.

Professori F. Motta & T. Nagano/SPL/Grazia Neri

importanza per l'attività e la funzionalità dei geni. Quando il DNA è impacchettato in una struttura cromatinica altamente condensata, per esempio, la trascrizione di un gene non è possibile. È il decondensamento della cromatina a rendere il DNA accessibile ai complessi proteici che ne permettono la trascrizione. Inoltre, i meccanismi appena descritti possono regolare l'attività genica operando sulla struttura dove è impacchettato il DNA, la cromatina, senza modificarne la sequenza nucleotidica. Ed è per questo che sono definiti «meccanismi di regolazione epigenetica» (si veda la figura a p. 96).

A questo proposito, numerosi ricercatori hanno formulato una stimolante e innovativa ipotesi, secondo la quale al classico codice genetico, basato sulla sequenza dei quattro nucleotidi che si susseguono lungo la doppia elica del DNA, si affianca un codice «epigenetico», fondato sui meccanismi che regolano la struttura della cromatina. L'insieme dei due codici migliora la comprensione dei fenomeni che determinano la funzionalità del genoma negli organismi viventi.

Ma di che cosa si tratta? Quali sono gli elementi alla base del codice epigenetico? Sopra abbiamo accennato all'esistenza di enzimi che apportano modificazioni chimiche agli istoni. Il numero e la varietà delle modificazioni istoniche sono molto elevati, e le diverse possibili combinazioni sono molteplici. Ebbene, queste combinazioni costituiscono un codice degli istoni, scritto dagli enzimi che li modificano e letto e interpretato dai regolatori molecolari della cellula. Secondo questa ipotesi, per ogni regione del genoma, a una determinata sequenza di modificazioni

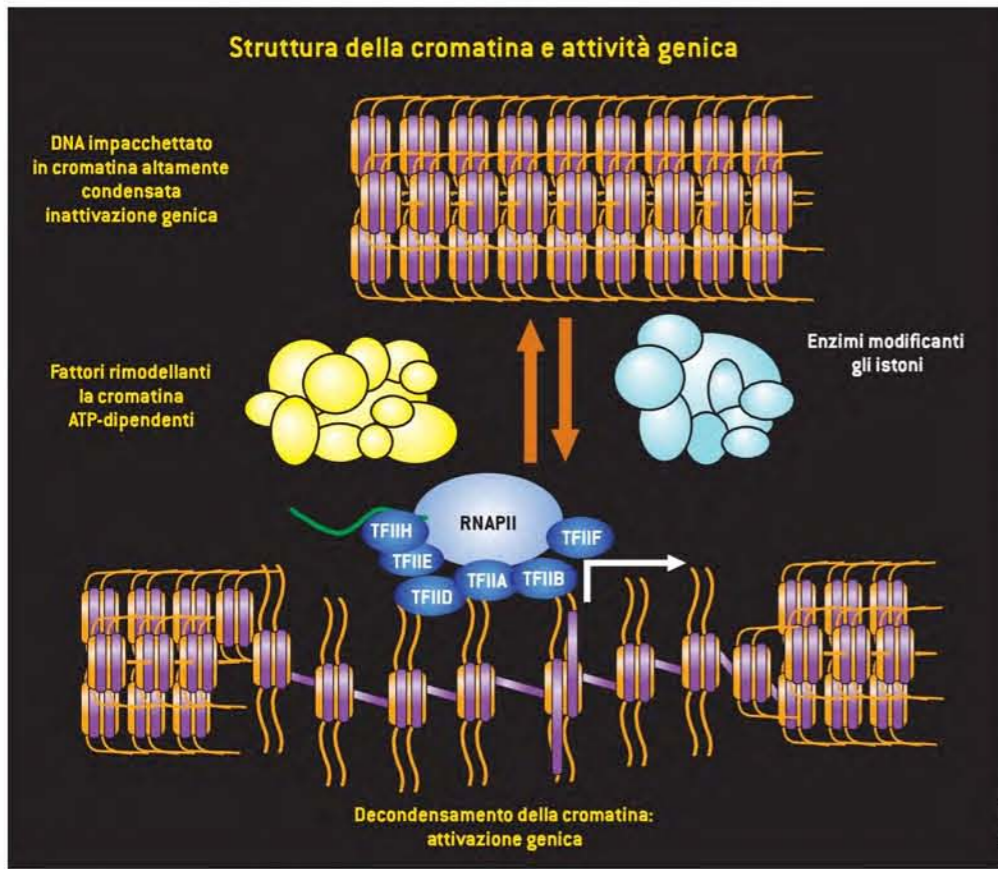
istoniche corrisponde un'informazione epigenetica interpretata da proteine in grado di attivare o reprimere l'attività di quella specifica regione (si veda la figura nel box a p. 97).

Ma ci sono anche altri elementi che si aggiungono alle modificazioni chimiche degli istoni, aumentando le possibili combinazioni delle «lettere» che compongono il codice epigenetico. Tra questi vanno annoverate le modificazioni chimiche che sono apportate direttamente alla molecola del DNA: la più importante è la metilazione delle citosine della doppia elica operata da una classe di enzimi noti con il nome di DNA metiltransferasi. Questa alterazione non ha alcun effetto sulla capacità codificante del DNA, eppure la metilazione del DNA risulta come una sorta di «marchio» che delimita specificamente le regioni genomiche inattive. Analogamente alle modificazioni degli istoni, la metilazione delle citosine inibisce l'accessibilità del DNA agli attivatori dei geni. Altri componenti del codice epigenetico sono elencati nel box a p. 97, dove si sottolinea come le modificazioni di tutti gli elementi risultano interdipendenti, determinando così la sorprendente complessità del codice epigenetico.

Una trasmissione complessa

Come l'informazione rappresentata dal codice genetico, anche quella correlata al codice epigenetico è trasmessa ereditariamente da una generazione cellulare alla successiva. Questa caratteristica garantisce la trasmissione di un determinato stato di organizzazione della cromatina per ogni regione del genoma,

Struttura della cromatina e attività genica



LA STRUTTURA DELLA CROMATINA regola l'attività dei geni. Una struttura molto condensata della cromatina (sopra) rende il gene inaccessibile ai fattori che ne stimolano la trascrizione (indicati come complesso dell'RNA polimerasi II, RNAPII e vari tipi di fattori trascrizionali, TF) e il gene è inattivo. In un certo momento della vita di una cellula, o in risposta a specifici segnali regolativi, può essere richiesta l'attivazione del gene. In questo caso, i fattori che regolano la struttura della cromatina rispondono provocando un rilassamento della cromatina. Il DNA diventa così accessibile a fattori trascrizionali che attivano il gene. La doppia freccia indica che il processo è reversibile. I meccanismi descritti regolano l'attività genica operando sulla struttura dove è impacchettato il DNA senza modificarne la sequenza nucleotidica; in tal senso sono detti meccanismi di regolazione epigenetica.

mantenendo così l'informazione che ne determina l'attivazione o il silenziamento.

I meccanismi che permettono la trasmissione e il mantenimento del codice epigenetico non sono però ancora del tutto chiari. Non si capisce, per esempio, come sia possibile che le regioni altamente condensate dell'eterocromatina si mantengano attraverso passaggio da una generazione cellulare all'altra: perché ciò sia possibile, occorre un meccanismo per cui la doppia elica del DNA viene prima svolta per essere replicata, e poi ricompattata esattamente nelle stesse regioni del genoma. Studi recenti hanno iniziato a chiarire questo enigma, individuando il ruolo svolto dai microRNA, corti frammenti di molecole di RNA. I microRNA derivano da una minima attività trascrizionale di sequenze ripetute, caratteristiche delle regioni di eterocromatina, poco o per nulla attive nella trascrizione. Essi, mediante un meccanismo definito interferenza dell'RNA, sono in grado di appaiarsi al filamento complementare del DNA, veicolandone uno specifico profilo di modificazioni istoniche e modificazioni del DNA. Questo profilo di modificazioni determina la formazione di una struttura cromatinica molto condensata e stabilisce una sorta di marchio, che consente il mantenimento dell'eterocromatina in punti specifici del genoma anche dopo la replicazione del DNA.

Il linguaggio delle piante

Abbiamo sopra discusso dei meccanismi che regolano la struttura della cromatina e, con essa, processi quali la trascrizione e il silenziamento genico. Questi meccanismi sono estremamente conservati tra gli eucarioti, ma la loro integrazione con i processi

di sviluppo e morfogenesi è differenziata nei diversi organismi. Per esempio, mentre il codice genetico è universale, il linguaggio del codice epigenetico, nonché i fattori adibiti alla sua decifrazione, differiscono negli animali, nei funghi e nei vegetali.

In particolare, le piante hanno caratteristiche peculiari che le rendono uniche tra gli esseri viventi; perciò non sorprende che ci sia un «linguaggio» della cromatina specifico delle piante. Ma perché e in quali occasioni nelle piante si verificano i processi di regolazione della struttura della cromatina? Vale la pena iniziare osservando le caratteristiche che differenziano le piante dagli altri esseri viventi. Prima di tutto, l'embrione delle piante non costituisce un individuo in miniatura; lo sviluppo post-embriale è garantito dall'attività di piccole masse di cellule, i meristemi, che differenziano i diversi organi della pianta. Le cellule dei meristemi sono dette «totipotenti» perché il loro destino non è predeterminato, ma può essere stabilito in risposta alle condizioni ambientali nelle quali la pianta si sviluppa. Le piante sono sessili, perciò devono sapersi rapidamente adattare alle variazioni anche improvvise dell'ambiente che le circonda.

Queste caratteristiche fanno sì che i processi di sviluppo delle piante siano particolarmente plastici e reversibili. E il rimodellamento della cromatina è un meccanismo estremamente versatile per incidere nella propria memoria cellulare il ricordo di eventi e segnali transitori. È un meccanismo stabile, che si può tramandare da una generazione cellulare a un'altra ma che può anche essere riasseverato, come spesso accade nella fase di riproduzione mediante la formazione di cellule gametiche. Non a caso abbiamo usato il termine versatile. Meccanismi alternativi, come una variazione delle sequenze del DNA o dei processi fisiologici cellulari, sono

GLI ELEMENTI DEL CODICE EPIGENETICO

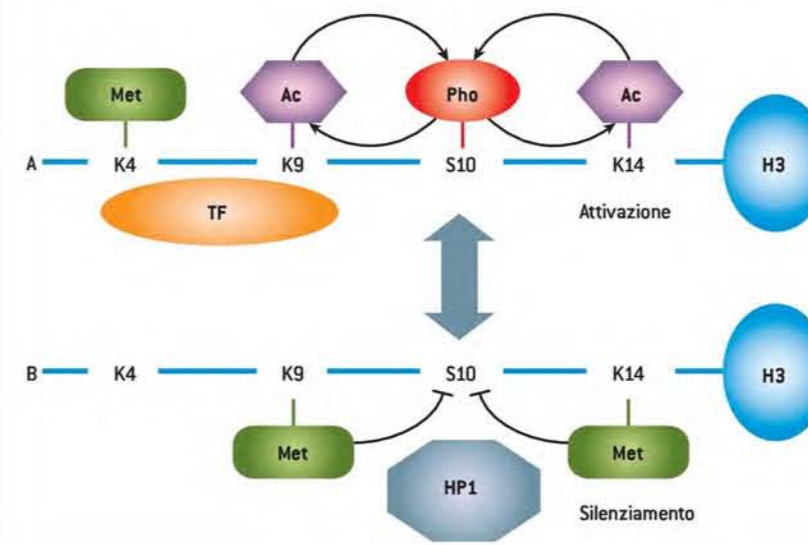
I fattori che compongono il codice epigenetico sono molteplici. Innanzitutto ci sono i diversi tipi di modificazioni chimiche degli istoni. Nella figura in basso è brevemente illustrato come modificazioni a carico di un istone (nell'esempio si tratta dell'istone H3) si influenzino l'una con l'altra. Ci sono però molte altre interazioni possibili e altri fattori. Ne elenchiamo alcuni partendo dall'esempio della figura.

- Altre modificazioni dell'istone H3. Oltre a quelle illustrate qui sotto ci sono altre modificazioni chimiche in diversi residui amminoacidici. Tutte queste modificazioni si influenzano tra loro in modo simile a quello indicato nella figura.
- Modificazioni della seconda molecola di H3. L'ottamero istonico è formato da due molecole di H3; la seconda molecola ha un profilo di modificazioni che può essere identico o diverso dalla prima, ma in ogni caso i due profili si influenzano tra loro.
- Modificazioni di H2A, H2B e H4. Come per H3, le molecole di ognuno degli altri istoni subiscono modificazioni che si influenzano tra loro (influenza tra siti adiacenti nella stessa molecola definita interazione in cis).
- Interazioni tra le modificazioni dei diversi istoni nel core nucleosomico. Poiché un nucleosoma è composto di due molecole per ognuno dei quattro istoni H2A, H2B, H3 e H4, le modificazioni a carico di un istone possono influenzare il profilo di modificazione degli altri tipi di istoni dello stesso

nucleosoma (influenza tra siti su molecole diverse definita interazione in trans).

- Interazioni tra nucleosomi adiacenti. Le modificazioni a carico di un nucleosoma influenzano quelle dei nucleosomi vicini.
- Modificazioni di H1 e proteine non istoniche della cromatina. Oltre agli istoni del core nucleosomico, anche l'istone linker H1 e altre proteine che compongono la cromatina subiscono modificazioni chimiche. E c'è un'influenza reciproca tra queste alterazioni e quelle del core nucleosomico.
- Varianti istoniche. Per ognuno dei canonici istoni esistono una o più «varianti». Si tratta di molecole molto simili alla loro forma «classica» ma con piccole modifiche nella sequenza amminoacidica. Queste modifiche sono però molto importanti, perché determinano specifici profili di modificazioni chimiche. Le varianti sono inoltre depositate selettivamente, al posto delle forme classiche, per formare nucleosomi specificamente associati all'attivazione o silenziamento genico.
- Metilazione del DNA. La metilazione del DNA (si veda il testo per una spiegazione più dettagliata) è strettamente legata alle modificazioni degli istoni, in quanto è in grado di dirigerne alcune e ne risulta a sua volta influenzata.

Da quanto detto, si può intuire come tutti questi elementi contribuiscano a formare un codice estremamente vario, che può trasmettere un'informazione molto complessa.



LE MODIFICAZIONI DELLA CROMATINA in siti adiacenti si influenzano a vicenda. Per esempio (A), la lisina 9 (K9) dell'istone H3 può essere acetilata (Ac) favorendo la fosforilazione (Pho) della serina 10 (S10) e viceversa. Una simile interazione si ha anche tra acetilazione della lisina 14 (K14) e fosforilazione della serina 10. In concomitanza, risulta metilata (Met) la lisina 4 (K4). Queste modificazioni sono interpretate da un regolatore di trascrizione positivo (TF) e portano a un'attivazione della regione genomica. Quando invece (B) le lisine 9 e 14 vengono deacetilate e poi metilate, si ha un'inibizione della fosforilazione della serina 10 e la lisina 4 non è più metilata. Il nuovo profilo istonico richiama un regolatore negativo (HP1) che determina condensazione della cromatina e silenziamento genico.

cambiamenti meno reversibili e più complicati da regolare. Ma vediamo come il rimodellamento della cromatina è utilizzato per incidere eventi e segnali transitori nella memoria delle piante.

Il programma della fioritura

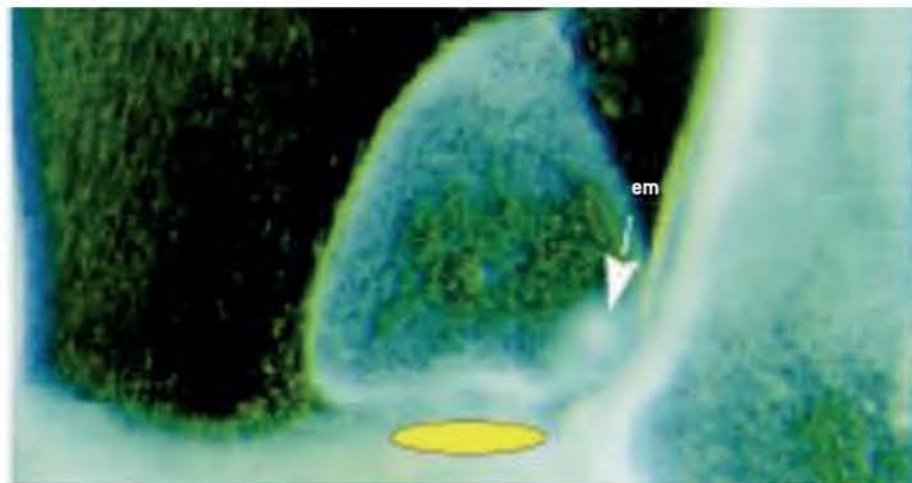
La transizione da una fase vegetativa a una fase riproduttiva è uno dei processi più importanti durante lo sviluppo post-embriale delle piante. Durante questa transizione il meristema vegetativo a crescita indeterminata si differenzia in un meriste-

ma fiorale a crescita determinata. Secondo le teorie più recenti, nelle piante la fase vegetativa è garantita dalla repressione del programma riproduttivo, in quanto i geni che promuovono lo sviluppo vegetativo sono repressori della differenziazione del meristema fiorale.

Una corretta programmazione della fioritura è fondamentale, sia allo scopo di garantire l'interincrocio in una specie, sia per ottimizzare la produzione di discendenza dal seme. In molte specie vegetali adattate ai climi temperati, la vernalizzazione – cioè l'esposizione a temperature comprese tra zero e cinque gradi per



IL FIORE DI *DIAMMANIA COCCINEA*, una pianta annuale naturalizzata nelle risaie piemontesi e sensibile alla vernalizzazione. La vernalizzazione garantisce che la fioritura avvenga in primavera, quando le condizioni climatiche sono favorevoli alla produzione di seme. Sotto, due immagini dello sviluppo dell'endosperma di mais. Le foto sono sezioni longitudinali di una cariosside quattro giorni dopo la fecondazione. Sono visibili l'embriosacco (es) e il parenchima nucellare (np). A questo stadio di sviluppo, l'embrione (em) è piccolo rispetto all'endosperma, che occupa la maggior parte dell'embriosacco.



Da Olsen O.A., Lemmon B. e Brown R., «A model for aleurone development», in «Trends in Plant Science» vol. 5, pp. 168-169, 1998.

una durata da uno a tre mesi – accelera e sincronizza la fioritura nella stagione primaverile. La vernalizzazione ha molte caratteristiche tipiche dei processi epigenetici. Innanzitutto prevede una separazione temporale tra uno stimolo (il freddo) e la risposta allo stimolo (la differenziazione del meristema fiorale). In secondo luogo imprime nella memoria della pianta il messaggio di un evento transitorio. Infine, determina un cambiamento genetico reversibile, perché l'informazione non è tramandata alla discendenza.

Gli studi molecolari condotti sulla specie vegetale modello *Arabidopsis thaliana* hanno chiarito che la vernalizzazione determina una riduzione quantitativa dell'espressione di un gene repressore della transizione a fiore denominato Flowering Locus C (FLC). FLC è un fattore di trascrizione, che inibisce la differenziazione a fiore e i cui quantitativi variano nelle cellule in relazione al tempo mancante alla fioritura. Dopo la vernalizzazione e l'esposizione a temperature più miti, i quantitativi del trascritto del gene rimangono bassi anche nelle strutture che la pianta differenzia in condizioni climatiche più temperate. I livelli di FLC tornano elevati nella progenie delle piante vernalizzate: questo meccanismo fa sì che ciascuna generazione debba essere vernalizzata per fiorire nella stagione primaverile. Durante la vernalizzazione, la cromatina di FLC è modificata mediante acetilazione e metilazione di specifiche regioni dell'istone H3. Queste modificazioni agiscono come segnale per il reclutamento di altri mediatori responsabili del silenziamento di FLC.

Grazie all'individuazione di piante di *Arabidopsis thaliana* mutanti, insensibili alla vernalizzazione, è stato ulteriormente chiarito il meccanismo attraverso il quale l'esposizione a basse temperature induce la differenziazione a fiore. In questi mutanti, la vernalizzazione riduce le quantità di FLC, ma gli organi vege-

tali che si differenziano dopo l'esposizione a basse temperature presentano ripristinati livelli del trascritto di FLC. In altre parole, in queste piante si conserva la capacità di abbassare i livelli del gene ma è compromessa la funzione di mantenerne ridotti i quantitativi dopo la vernalizzazione.

Qual è dunque la funzione genica perduta da questi mutanti? In essi è alterata la funzionalità di un gene, denominato VRN2, che codifica per una proteina indotta dalle basse temperature e coinvolta nella stabilizzazione della struttura della cromatina in una conformazione in grado di reprimere la trascrizione di FLC. Di conseguenza, il gene repressore della transizione a fiore ritorna a essere espresso regolarmente: l'inverno è trascorso invano.

Inoltre si è osservato che nei mutanti l'istone H3 non è metilato nella cromatina di FLC, e ciò indica chiaramente che elementi del codice epigenetico sono coinvolti nell'induzione alla fioritura indotta dalle basse temperature. Pertanto il rimodellamento della cromatina e il mantenimento di un suo particolare stato di organizzazione garantiscono alla pianta lo stimolo e il ricordo della vernalizzazione, allo scopo di sincronizzare nella specie la fioritura e di realizzarla nelle condizioni climatiche più favorevoli.

Una nuova forma del complesso di Edipo

Ciascun organismo vivente riceve una copia completa del genoma dalla madre e dal padre. Di norma, i geni di origine materna e paterna sono espressi in maniera identica negli individui. Ma in alcuni casi, a seguito di un meccanismo epigenetico definito imprinting genomico (effetto parentale), si ha un'espressione differenziale dei geni dovuta al silenziamento di una delle due copie presenti nel DNA.



Simon Fraser/SPU/Grazia Neri

PER APPROFONDIRE

WOLFFE A.P., *Chromatin: structure and function*, Academic Press, San Diego, 1998.

STRAHL B.D. e ALLIS C.D., *The language of covalent histone modifications*, in «Nature», vol. 403, pp. 41-45, 2000.

BIRD A., *DNA methylation patterns and epigenetic memory*, in «Genes & Development», vol. 16, pp. 6-21, 2002.

GOODRICH J. e TWEEDIE S., *Remembrance of things past: chromatin remodeling in plant development*, in «Annual Review of Cell and Developmental Biology», vol. 18, pp. 707-746, 2002.

LIPPMAN Z. e MARTIENSSON R., *The role of RNA interference in heterochromatic silencing*, in «Nature», vol. 431, pp. 364-370, 2004.

LOIDL P., *A plant dialect of the histone language*, in «Trends in Plant Science», vol. 9, pp. 84-90, 2004.

HE Y. e AMASINO R.M., *Role of chromatin modification in flowering-time control*, in «Trends in Plant Science», vol. 10, pp. 30-35, 2005.

<http://www.chromatin.us>: sito web dedicato alla cromatina.

<http://www.chromdb.org>: sito web dedicato alla cromatina nelle piante.

UNA PIANTA MODELLO. Grazie agli studi condotti su *Arabidopsis thaliana* è stato possibile scoprire, individuando piante insensibili alla vernalizzazione, il meccanismo fondamentale attraverso il quale l'esposizione alle basse temperature in inverno induce successivamente la fioritura.

Lo sviluppo dei semi delle piante rappresenta un ottimo esempio di espressione differenziale dei geni di origine paterna e materna. Nelle angiosperme, il seme è prodotto a seguito di una doppia fecondazione che produce lo zigote dal quale sviluppa l'embrione, derivante dall'unione della cellula uovo con il nucleo spermatico, e l'endosperma triploide, vale a dire una cellula che contiene tre genomi, due materni e uno paterno. L'endosperma ha un ruolo importante durante lo sviluppo del seme, in quanto fornisce all'embrione i segnali di origine materna e i nutrienti necessari all'embriogenesi. Nei cereali l'endosperma è persistente, e alla maturazione del seme costituisce il maggior organo di riserva, avendo accumulato amido e proteine. In altre specie, l'endosperma si accresce durante le prime fasi di sviluppo del seme ma le sue riserve sono successivamente mobilizzate durante l'embriogenesi. In queste specie, l'embrione accumula le riserve per la germinazione in due strutture fogliari, i cotiledoni, e alla maturità l'endosperma è costituito da pochi strati cellulari.

Un'alterazione nel dosaggio parentale, che come abbiamo detto di norma è di due genomi materni e uno paterno, ha un effetto decisivo sullo sviluppo dell'endosperma. Questa osservazione suggerisce che l'imprinting parentale ha un ruolo importante nella regolazione dei processi di maturazione dell'endosperma. Come si realizza l'espressione differenziale dei geni di origine paterna e materna? L'effetto parentale è correlato a un differente stato di organizzazione della cromatina e di metilazione delle sequenze geniche; in particolare, i geni materni espressi nell'endosperma hanno sequenze di DNA demetilate e cromatina decondensata rispetto ai geni paterni che, essendo più metilati e con cromatina altamente condensata, risultano sovente silenziati. Anche in questo caso, quindi, i meccanismi epigenetici sono

responsabili dell'espressione differenziale dei geni di origine materna e paterna, garantendo così la regolarità dello sviluppo dell'endosperma e parallelamente quella del seme.

È chiaro, insomma, che il rimodellamento della cromatina influenza in modo sostanziale i processi di sviluppo nelle piante. Così, se da un lato è vero che la «rivincita» dell'epigenetica è iniziata con la scoperta del silenziamento dei transgeni, successivamente la ricerca si è estesa allo studio del suo effetto sullo sviluppo dei vegetali. Spesso, come negli esempi sopra riportati, si tratta di aspetti di notevole importanza applicativa. In molte specie vegetali è richiesto il processo di vernalizzazione al fine di indurre la fioritura. Ne deriva che la piena conoscenza del meccanismo che regola la transizione a fiore determinerà una ricaduta notevole sul controllo e la possibile manipolazione genetica di questa fase dello sviluppo dei vegetali. Analogamente, la comprensione dei meccanismi che regolano la produzione dell'endosperma e del seme sin dalle prime fasi dopo la fecondazione avrà un notevole impatto dal punto di vista agronomico e per la produzione alimentare.

Infine, la comprensione dei meccanismi che controllano l'espressione dei geni, siano essi di natura genetica o epigenetica, è fondamentale per le applicazioni biotecnologiche nel settore vegetale. L'obiettivo è quello di posizionare i transgeni in un punto preciso del genoma e, sfruttando le caratteristiche dei regolatori epigenetici, ottimizzarne l'espressione con il fine di renderla specifica di alcuni tessuti. Se si riuscissero a controllare questi meccanismi, per esempio, si potrebbe ottenere una pianta geneticamente modificata resistente nei confronti di un parassita delle foglie senza che il transgene della resistenza sia espresso nel frutto, con il beneficio di una maggiore sicurezza alimentare. Gli obiettivi sono ambiziosi, le ricerche da compiere entusiasmanti. ■