



Fred H. Gage, professore al Laboratorio di genetica del Salk Institute for Biological Studies di La Jolla, in California, è specializzato in malattie neurodegenerative legate all'età.



Alysson R. Muotri è *assistant professor* nel Dipartimento di pediatria e medicina cellulare e molecolare dell'Università della California a San Diego.

NEUROSCIENZE

L'impronta dell'identità

Tratti di DNA che si spostano nel nucleo cellulare contribuiscono ad assicurare che ogni cervello – proprio come le impronte digitali – sia diverso da tutti gli altri

di Fred H. Gage e Alysson R. Muotri

Non esistono due cervelli uguali. Il cervello umano contiene 100 miliardi di neuroni, che possono essere di migliaia di tipi diversi e nel loro insieme formano centinaia di migliaia di miliardi di interconnessioni. Le differenze possono emergere a ogni livello della stupefacente complessità di questa architettura, differenze che, a loro volta, conducono a variazioni nel modo in cui ciascuno di noi pensa, impara e si comporta, e nella nostra propensione ad andare incontro alle malattie mentali.

IN BREVE

I nostri comportamenti sono influenzati sia dai geni sia dall'ambiente, ma negli ultimi anni gli scienziati hanno scoperto che sono all'opera anche altri processi.

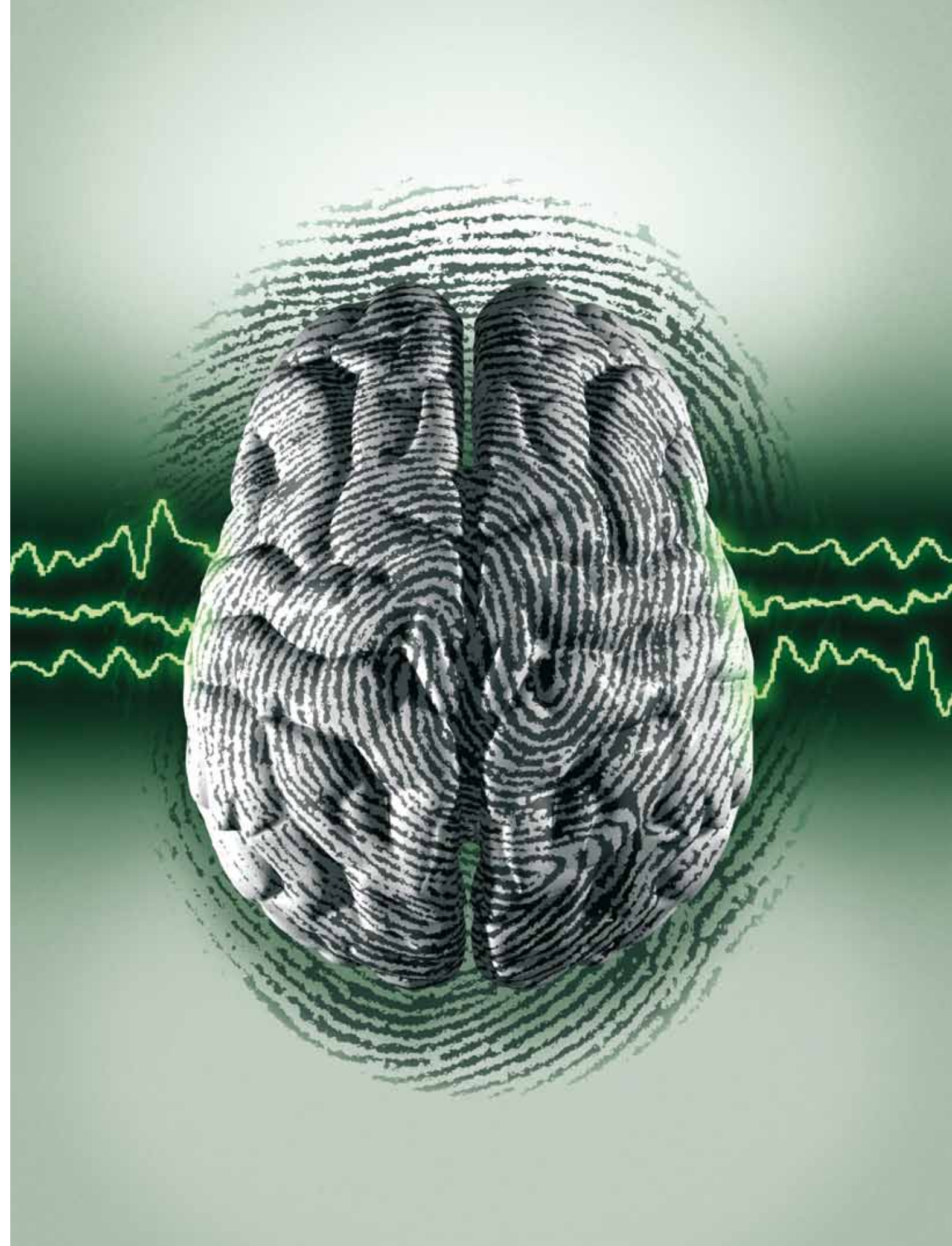
I geni saltatori, frammenti di DNA in

grado di fare copie di se stessi e incollarle in altre parti del genoma, possono alterare l'attività dei geni veri e propri. Nel cervello questa attività è maggiore che altrove e può generare a tratti fisici e

comportamentali diversi anche in individui strettamente imparentati. **Questi elementi genetici mobili** potrebbero avere un ruolo nella predisposizione individuale alle patologie psichiatriche.

Ora i ricercatori stanno iniziando a verificare se i geni saltatori contribuiscono anche alla nostra capacità di adattarci rapidamente al mutamento delle condizioni ambientali.

Jean-François Podelvin



Come si producono le variazioni nei collegamenti e nella funzione del cervello? Un ruolo può essere svolto dalle variazioni nei geni ereditati dai genitori, ma anche gemelli identici cresciuti dagli stessi genitori possono differire marcatamente nel funzionamento mentale, nei comportamenti e nei rischi di malattia mentale o neurodegenerativa. Topi allevati in modo da essere geneticamente identici e allevati in laboratorio esattamente nello stesso modo mostrano differenze nella capacità di apprendimento, nell'evitamento di stimoli e situazioni paurose e nella risposta di stress anche mantenendo costanti età e sesso. Ci deve essere qualcosa di più.

Di sicuro contano anche le esperienze che abbiamo nella vita; che, per esempio, possono influenzare la forza delle connessioni tra particolari gruppi di neuroni. Ma i ricercatori stanno trovando sempre più spesso indizi, affascinanti quanto elusivi, che possano essere all'opera altri fattori: per esempio processi che facciano mutare certi geni o che influiscano sul comportamento di qualche gene nelle fasi precoci dello sviluppo embrionale o in momenti successivi della vita. Uno di questi fenomeni è lo *splicing* alternativo, in cui un unico gene può dare luogo a due o più proteine diverse; sono le proteine a svolgere la maggior parte delle operazioni nelle cellule, e

I geni saltatori possono alterare le funzioni di una cellula facendola agire in modo diverso da un'altra identica

Negli ultimi anni, con i nostri colleghi, ci siamo dedicati ad alcuni candidati molto interessanti, che sembrano operare nel cervello più che altrove: i geni saltatori. Geni di questo tipo, che sono stati trovati praticamente in tutte le specie viventi, possono inserire copie di sé stessi in altre parti del genoma, e alterare le funzioni della cellula in cui ciò avviene, facendola agire in modo diverso da un'altra cellula adiacente identica per ogni altro verso. Si può immaginare che un gran numero di inserzioni del genere, in molte cellule diverse, possa dare origine a differenze più o meno sottili nelle abilità cognitive, nella personalità e nella suscettibilità a problemi neurologici.

Le nostre prime osservazioni di salti di geni nel cervello ci hanno spinto a porci un'altra domanda: dato che il corretto funzionamento del cervello è essenziale per la sopravvivenza, perché l'evoluzione ha consentito di perpetuarsi a un processo che interferisce con la sua programmazione genetica? Non abbiamo ancora una risposta definitiva, ma prove crescenti indicano che introducendo una forma di variabilità nelle cellule cerebrali i geni saltatori conferiscono una flessibilità che aiuta ad adattarsi rapidamente a circostanze mutevoli. In questo senso, forse i geni saltatori – chiamati anche elementi mobili del genoma – sono stati conservati nell'evoluzione perché, dal punto di vista della sopravvivenza della specie, i benefici in termini di migliore adattamento pesano più dei rischi.

Un mosaico genetico

L'idea che esistano elementi mobili che vanno in giro per il genoma non è nuova. Inizialmente il salto dei geni fu scoperto nelle piante prima ancora che Watson e Crick decifrasero la struttura a doppia elica del DNA nel 1953. Negli anni quaranta Barbara McClintock osservò che certi «elementi di controllo» si muovevano da un punto all'altro del materiale genetico delle piante di granturco,

e scoprì che, in condizioni di stress, certe regioni del genoma potevano migrare in altre posizioni, dove poi attivavano o disattivavano determinati geni. Il prodotto degli esperimenti della McClintock furono le ormai famose pannocchie di granturco con semi di colori diversi: una dimostrazione visiva di un tipo di mosaicismo genetico in cui i geni di ogni singola cellula possono essere accesi o spenti secondo uno schema che differisce da quello delle cellule adiacenti, identiche per ogni altro aspetto.

Le ricerche della McClintock, che all'inizio furono accolte con molto scetticismo nella comunità scientifica, le valsero il premio Nobel nel 1983. Negli anni successivi è diventato chiaro che il fenomeno del mosaicismo genetico non è limitato alle piante ma si verifica in numerosi organismi, fra cui gli esseri umani.

Il lavoro della McClintock riguardava i trasposoni, elementi mobili che si avvalgono di un meccanismo di «taglia e incolla» per spostare un tratto di DNA in vari punti del genoma della cellula. Le ricerche più recenti sugli elementi mobili nel cervello sono state invece centrate sui retrotrasposoni, che per insinuarsi in nuove regioni del genoma usano invece un meccanismo di tipo «copia e incolla». Essenzialmente questi elementi, invece di saltare fuori dal

DNA adiacente, replicano se stessi; la copia così prodotta va poi a inserirsi in una nuova posizione.

I retrotrasposoni costituiscono fino alla metà dei nucleotidi – i «mattoni» di cui è fatto il DNA – del genoma umano. Di contro, i nostri 25.000 geni circa che codificano per le proteine sono meno del 2 per cento del DNA dei mammiferi. I geni saltatori sono i discendenti dei sistemi molecolari arcaici capaci di replicazione che invasero il genoma degli eucarioti (gli organismi che hanno cellule dotate di nucleo) in un lontanissimo passato. Un tempo erano ritenuti DNA «spazzatura» non funzionale, ma nel 1988 il gruppo di Haig H. Kazazian Jr. all'Università della Pennsylvania dimostrò che nei tessuti umani c'erano retrotrasposoni attivi.

Un tipo di retrotrasposone, in particolare, detto *long interspersed element 1* (L1) sembra avere un ruolo chiave nel genoma umano. È infatti in grado di spostarsi di frequente, probabilmente perché nella sua sequenza, contrariamente ad altri elementi mobili presenti nella specie umana, porta con sé le istruzioni per il macchinario biochimico grazie a cui può diffondere copie di se stesso un po' in tutte le parti del genoma cellulare. L'analisi del suo comportamento nelle cellule rivela che, quando qualcosa spinge un L1 del genoma nucleare a dare inizio al processo di «salto», per prima cosa esso trascrive se stesso in RNA a singolo filamento; questo RNA poi si sposta dal nucleo al citoplasma, ove serve da stampo per la costruzione delle proteine specificate da alcune parti del DNA dell'L1 stesso. Queste proteine formano poi un complesso molecolare con l'RNA ancora intatto, e l'intero complesso torna a migrare nel nucleo. Qui una delle proteine, un enzima del gruppo delle endonucleasi, provoca un'intaccatura in uno specifico sito del DNA, e il complesso usa l'RNA come stampo da cui produrre una copia di DNA a doppio filamento del trasposone L1 originale, e inserisce questo duplicato nel genoma nel punto in cui era stata praticata l'intaccatura.

Questo tipo di trascrizione inversa, da RNA a DNA, è oggi noto a molte persone perché fa parte del meccanismo con cui il virus HIV riesce a inserire in modo permanente una copia del suo genoma a RNA nel DNA delle cellule che infetta.

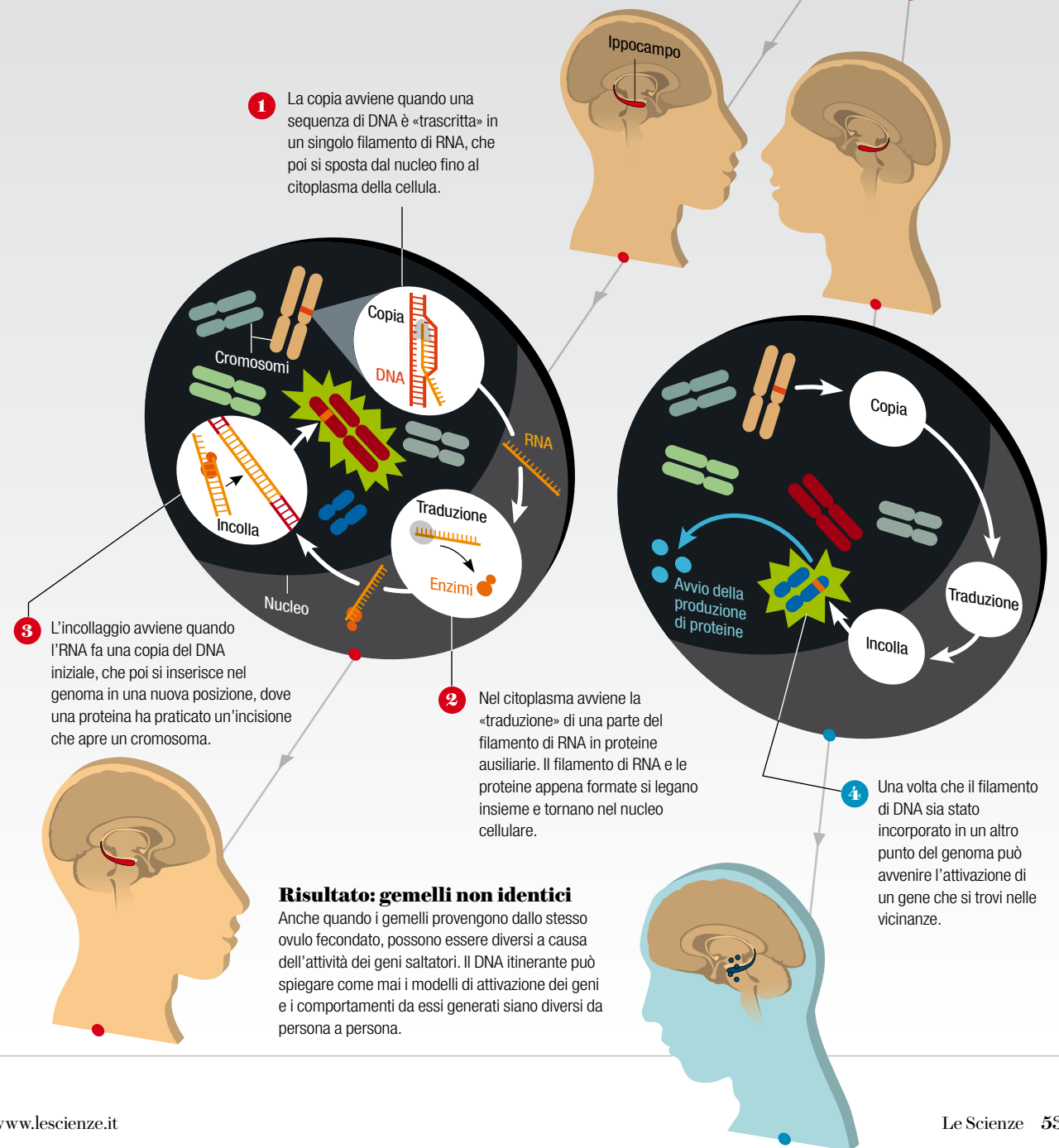
In molti casi il processo di retrotrasposizione non arriva fino in fondo, il che produce copie tronche e non funzionali dell'origina-

Genetica copia e incolla

Alcune sequenze di DNA, i cosiddetti geni saltatori, particolarmente attivi nel cervello, possono fare copie di se stessi e poi inserirle in altre posizioni nel genoma della cellula. In queste nuove posizioni i geni saltatori, detti anche retrotrasposoni, possono non avere alcun effetto sui geni adiacenti in cui sono codificate le proteine da sintetizzare. In qualche caso, però, possono invece attivare alcuni di quei geni, e influenzare il funzionamento delle singole cellule. Fino a metà del DNA del genoma umano è costituita da retrotrasposoni. Questo processo avviene più spesso nel cervello che negli altri organi del corpo.

Motori di variazione genetica

Differenze non ereditabili possono verificarsi persino fra gemelli identici quando un retrotrasposone – un segmento «spazzatura» del genoma – fa prima una copia a RNA di se stesso e poi una nuova copia a DNA, che torna a inserirsi nel genoma, finendo ogni volta in una posizione diversa. Questi elementi mobili possono spostarsi in nuove posizioni sia nel cervello embrionale che in quello adulto.



rio DNA di L1. A volte, questi frammenti (o le copie integrali di L1) non influiscono sui geni in cui sono codificate le proteine, ma altre volte possono avere conseguenze, buone o cattive, sul destino della cellula. Un frammento, per esempio, può finire in mezzo alla regione codificante di un gene, alterandone la relativa proteina. Questo può condurre a una nuova variante della proteina, che a sua volta può favorire o danneggiare l'organismo. Oppure l'inserimento in una posizione può semplicemente impedire la fabbricazione di una certa proteina. In altri casi il DNA di nuovo inserimento può finire al di fuori delle regioni codificanti ma agire da promotore (cioè come un interruttore capace di «accendere» i geni adiacenti) e alterare i livelli di espressione genica: con risultati, di nuovo, che possono essere buoni o cattivi per la cellula e per l'organismo. Quando la retrotrasposizione di L1 riguarda un gran numero di posizioni in qualche neurone, o un gran numero di cellule cerebrali, o entrambe le cose, il cervello risulterà nettamente diverso da come si sarebbe formato senza la loro attività. È ragionevole che un simile mosaicismo genetico possa avere effetti su cognizione, comportamento e rischi di malattia, e che possa anche contribuire a spiegare come mai fra due gemelli identici a uno può essere diagnosticata la schizofrenia e all'altro no.

E le cellule adulte?

Fino a poco tempo fa la maggior parte di chi sapeva dell'esistenza della retrotrasposizione di L1 dava per scontato che il fenomeno avesse luogo principalmente nella linea germinale, e in particolare nell'embrione, durante il percorso dall'ovulo fecondato fino all'organismo maturo, con i suoi diversi tipi di tessuto. Erano pochi gli indizi che i geni L1 restassero attivi nei tessuti somatici (quelli non coinvolti nella produzione delle cellule germinali) pienamente maturi, anche se era stato effettuato solo un numero limitato di analisi dettagliate. In linea di principio, nelle cellule degli individui pienamente maturi i geni saltatori dovrebbero stare fermi. Se i geni esistono esclusivamente per propagare se stessi, come sostiene una versione della teoria dell'evoluzione, i geni saltatori avrebbero poche ragioni di restare attivi nelle cellule somatiche, perché queste cellule non possono mai passare il proprio DNA alla successiva generazione: le cellule interessate muoiono con il loro proprietario.

Il miglioramento delle tecniche di rilevamento di questi elementi ha però rivelato che i retrotrasposoni possono muoversi nei tessuti somatici anche dopo il completamento dello sviluppo embrionale. Questi eventi si verificano con maggiore frequenza nel cervello che in altri tessuti, e ciò mette direttamente in discussione l'idea consolidata che le istruzioni genetiche delle cellule cerebrali adulte siano identiche fra una cellula e l'altra e rimangano stabili per tutta la vita di ciascuna cellula.

Nel nostro laboratorio, per esempio, abbiamo monitorato i salti dei geni in un topo le cui cellule erano state alterate geneticamente in modo da dare una fluorescenza verde quando un elemento L1 si inseriva in qualche punto del genoma in qualsiasi parte del corpo. Abbiamo osservato il bagliore verde solo in alcune cellule dell'ippocampo (una regione importante per la memoria e l'attenzione), il che suggerisce che L1 potrebbe essere più soggetto a muoversi nel cervello che in altri tessuti somatici. È interessante anche notare che i salti avvengono nelle cellule progenitrici che danno poi origine a nuovi neuroni dell'ippocampo. In vari tessuti degli organismi maturi rimane una piccola popolazione di cellule progenitrici,

pronta a dividersi e a dare origine alle cellule specializzate che sostituiscono quelle che muoiono. L'ippocampo è una delle due regioni del cervello in cui avviene la neurogenesi. Gli elementi L1, quindi, appaiono attivi durante lo sviluppo precoce, quando nascono i neuroni, ma possono esserlo anche nel cervello adulto, nelle aree in cui continuano a essere prodotti nuovi neuroni.

Prove di retrotrasposizione attiva nei tessuti somatici umani, e in particolare nel cervello, sono arrivate dall'analisi di materiale autotopico. Confrontando gli elementi L1 individuati in cervello, cuore e fegato, abbiamo visto che i tessuti cerebrali contenevano un numero significativamente maggiore di elementi L1 per nucleo cellulare rispetto ai tessuti cardiaci o epatici. Questa differenza è un segno che gran parte dell'attività di salto è avvenuta nel corso dello sviluppo precoce, perché la retrotrasposizione richiede la divisione cellulare, che nel cervello, a parte due regioni circoscritte, non avviene più dopo la prima infanzia. Un'analisi numerica suggerisce che negli esseri umani ciascun neurone vada incontro in media a 80 eventi di integrazione di L1, un tasso ampiamente sufficiente a dare origine a notevoli variazioni fra una cellula e l'altra e nell'attività cerebrale complessiva dei diversi individui.

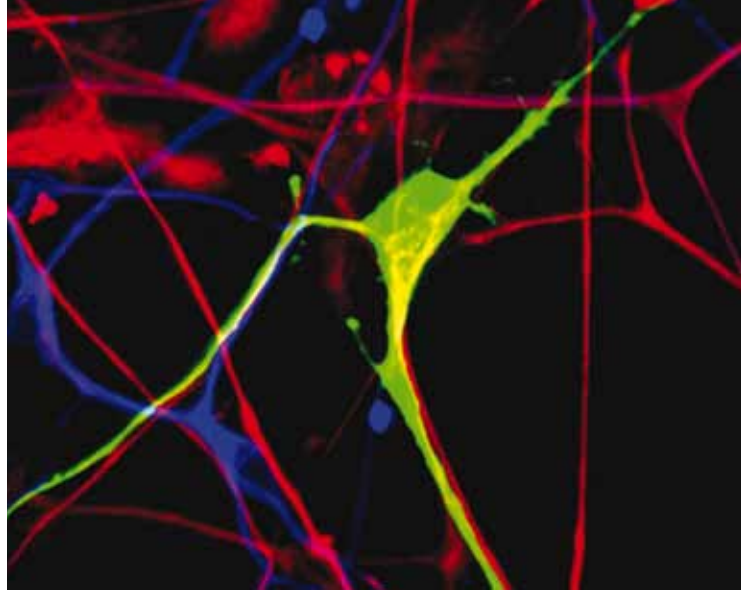
Un recente risultato ottenuto al Roslin Institute di Edimburgo ci dà un'altra conferma dell'attività di L1 nel cervello umano. I ricercatori hanno infatti riferito che un totale di 7743 aree dell'ippocampo e del nucleo caudato (anch'esso coinvolto nella memoria) di tre persone decedute conteneva elementi L1 integrati. Questo dimostra anche che il quadro che sta cominciando a emergere della diversità genetica all'interno del cervello è destinato a farsi sempre più complicato con il procedere delle ricerche. Il gruppo del Roslin ha infatti avuto la sorpresa di imbattersi in circa 15.000 membri di una classe di retrotrasposoni detta *short interspersed element* (SINE). Preponderante era un elemento SINE che fa parte del gruppo dei cosiddetti elementi Alu, mai incontrato prima nel cervello.

Le nostre osservazioni ci hanno spinto a chiederci che cosa possa far scattare l'attività di salto degli elementi L1. Sapendo che l'ippocampo è anche uno dei siti in cui avviene la neurogenesi e che l'esposizione a nuove situazioni e l'esercizio fisico attivano la neurogenesi nei topi, abbiamo deciso di vedere se l'esercizio fisico potesse essere uno sprone anche per il salto dei geni. E abbiamo scoperto che dopo aver fatto correre i nostri topi transgenici su una ruota il numero di cellule fluorescenti verdi nell'ippocampo dei roditori risultava aumentato di circa due volte.

Dato che le novità e le difficoltà spronano anch'esse la neurogenesi, stiamo considerando la possibilità che anche un ambiente nuovo o poco familiare possa stimolare la retrotrasposizione. Se siamo nel giusto, e l'attività di salto degli L1 aumenta davvero man mano che il sistema nervoso apprende e si adatta al mondo esterno, questo indicherebbe che i singoli cervelli e le reti neurali di cui sono fatti cambiano e si modificano continuamente a ogni nuova esperienza, anche nei gemelli geneticamente identici.

Le origini delle malattie

Stiamo continuando a espandere le prove a favore dell'ipotesi che i geni saltatori possano contribuire alla variabilità del funzionamento cerebrale umano, andando al di là del semplice conteggio degli elementi L1 nel DNA. Nel tentativo di correlare i nostri dati a eventi concreti che abbiano un effetto, positivo o negativo,



Geni saltatori: il DNA che può inserirsi in varie posizioni in un genoma di topo ha fatto sì che la cellula nervosa in cui si trova presenti fluorescenza verde.

sulla vita delle persone, a volte è più facile individuare con precisione le conseguenze negative dovute al salto di un gene, se non altro perché risultano particolarmente evidenti.

Nel novembre 2010 il nostro gruppo ha riferito su «Nature» che una mutazione del gene *MeCP2* influenzava le retrotrasposizioni di L1 nel cervello. Le mutazioni del gene *MeCP2* possono indurre la sindrome di Rett, un grave disturbo dello sviluppo cerebrale che colpisce quasi esclusivamente le ragazze. La scoperta che il gene *MeCP2* risultava mutato in pazienti affetti dalla sindrome di Rett e da altri disturbi mentali solleva molteplici questioni sul meccanismo molecolare e cellulare di questa malattia. Le nostre ricerche hanno mostrato che le mutazioni nel cervello di topi e esseri umani affetti dalla sindrome di Rett risultavano in un significativo incremento delle inserzioni di elementi L1 nei loro neuroni, un'osservazione che fa pensare che i geni saltatori possano render conto di alcuni degli effetti della mutazione *MeCP2*.

L'attività di L1 è emersa anche in altri disturbi. Un'analisi della corteccia frontale di persone affette da schizofrenia ha rivelato un più alto numero di sequenze L1 rispetto alle persone sane. Prove circostanziali suggeriscono che gli elementi L1 siano un aspetto importante di vari disturbi cerebrali, fra cui l'autismo. Capire il ruolo degli elementi mobili nello sviluppo delle malattie psichiatriche potrebbe condurre a nuovi metodi di diagnosi, cura e prevenzione.

Le ricerche in corso sui geni saltatori nel cervello sono potenzialmente in grado di rimettere in questione un'intera disciplina accademica. Spesso i genetisti che studiano il comportamento seguono gruppi di gemelli identici per lunghi periodi di tempo per tenere sotto controllo gli effetti dei geni e determinare i contributi dell'ambiente in disturbi come la schizofrenia. La scoperta che i geni saltatori ridefiniscono attivamente il genoma dopo la formazione dell'embrione mette in discussione l'assunto che i gemelli «identici» siano davvero del tutto uguali dal punto di vista genetico. Le nuove scoperte, anzi, renderanno ancor più difficile distinguere gli effetti relativi di natura e cultura sulla nostra psiche.

Rimane la domanda sul perché l'evoluzione non abbia eliminato queste vestigia di antichi virus dalle nostre cellule, visto che i geni saltatori hanno un'alta probabilità di introdurre difetti genetici potenzialmente fatali. Per rispondere dobbiamo tenere presente che gli esseri umani sono soggetti da sempre all'attacco di parassiti virali e altri invasori che espandono le dimensioni del no-

stro genoma aggiungendovi del DNA saltatore. Nel corso dell'evoluzione, il corpo dei nostri progenitori può non essere riuscito a eliminare del tutto gli intrusi, ma si è quanto meno adattato a coesistere con essi, silenziandoli grazie a una varietà di ingegnosi meccanismi che causano mutazioni al loro interno e li disabilitano. A quanto pare, in qualche caso i nostri genomi hanno addirittura preso possesso del macchinario genetico dei retroelementi L1, usandoli per migliorare la nostra sopravvivenza; e questa è una ragione per cui le cellule potrebbero talora consentire agli L1, in condizioni accuratamente controllate, di saltare in altri punti del genoma o persino incoraggiare questo processo.

Un indizio sulle ragioni della persistenza di questi elementi potrebbe venire da un'analisi più attenta del fatto che i topi di uno stesso ceppo genetico allevati in condizioni strettamente controllate variano grandemente, per esempio, nella loro risposta allo stress. Le differenze comportamentali osservate hanno una distribuzione tipica nella popolazione, e questo implica che i meccanismi che producono la variabilità sono casuali, come appunto sembrano essere anche i siti di inserzione dei retrotrasposoni L1.

La possibile natura casuale dei movimenti degli L1 da un punto all'altro del genoma significa che la selezione naturale potrebbe «lanciare i dadi» a caso, nella speranza che i vantaggi dovuti alle inserzioni che danno risultati positivi pesino più delle eventuali conseguenze dannose delle altre inserzioni. E può darsi che la natura lanci i dadi particolarmente spesso nelle cellule neurali progenitrici dell'ippocampo, in modo da massimizzare la possibilità che almeno qualcuna delle nuove posizioni di inserzione possa dare origine a una popolazione di neuroni adulti particolarmente adatta ai nuovi compiti che il cervello si troverà ad affrontare. Un processo in qualche misura analogo si verifica quando il DNA delle cellule immunitarie si riarrangia per produrre una serie di anticorpi, e poi solo le cellule che generano quelli più efficaci per combattere un certo patogeno sono selezionate per la produzione su larga scala.

Questo scenario non sembra azzardato. Gli effetti mediati dagli elementi L1 non hanno bisogno di essere particolarmente forti o di verificarsi in un gran numero di cellule per influenzare il comportamento. Nei roditori, a volte può bastare un'alterazione del modello di scarica di un unico neurone per determinare una differenza nel comportamento.

Ulteriore sostegno all'idea può venire forse dalla scoperta che l'unica linea di discendenza di elementi saltatori L1 attualmente attiva nel genoma umano si è evoluta circa 2,7 milioni di anni fa, dopo la separazione tra la linea evolutiva degli scimpanzé e quella degli esseri umani ad andatura bipede, nel momento in cui i nostri antenati ominidi stavano appena cominciando a usare di attrezzi di pietra. Questa osservazione dà una certa credibilità all'idea che gli elementi L1 possano aver contribuito alla costruzione di cervelli capaci di elaborare l'informazione relativa all'ambiente in modo rapido, e quindi di affrontare meglio le sfide lanciate da condizioni ambientali e climatiche continuamente mutevoli. I geni saltatori L1, insomma, sarebbero stati collaboratori e compagni di strada del percorso evolutivo di *Homo sapiens*. ■

PER APPROFONDIRE

L1 Retrotransposition in Human Neural Progenitor Cells. Coufal N.G. e altri, in «Nature», Vol. 460, pp. 1127-1131, 27 agosto 2009.

LINE-1 Retrotransposons: Mediators of Somatic Variation in Neuronal Genomes? Singer T. e altri, in «Trends in Neurosciences», Vol. 33, n. 8, agosto 2010. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2916067/?tool=pubmed.

Da L1 retrotransposition in human neural progenitor cells, di Nicole G. Coufal e altri, in «Nature», Vol. 460, 27 agosto 2009