

Se Leonardo da Vinci fosse qui, userebbe la metagenomica

Proposta per uno studio di metagenomica sui Disegni di Leonardo

Flavia Pinzari

Qualsiasi oggetto, se esposto all'aria e maneggiato, raccoglie ed accumula particelle di polvere e residui organici ed inorganici. Se il materiale di cui l'oggetto è fatto è poroso e presenta un'ampia superficie, come la carta, ciò avviene con ancora maggiore efficacia. La polvere di ogni ambiente contiene spore e cellule, vegetali o animali (come il polline delle piante, o le cellule morte della pelle) rappresentative del luogo e degli organismi che lo frequentano e lo abitano. L'insieme di queste tracce, sedimentate nel tempo a formare una sorta di archivio di quanto "vissuto" dall'oggetto stesso, ne costituisce una memoria chimica e biologica che può essere estremamente caratteristica e capace di essere indicatrice di un certo periodo storico o di eventi particolari.

Questa potente "impronta digitale" che gli oggetti, anche quelli che hanno un valore culturale o storico, si portano inevitabilmente dietro è stata finora in buona parte solo una speculazione. Alcune analisi chimiche, fisiche o biologiche hanno permesso in certi casi di individuare la composizione della polvere o l'insieme dei batteri presenti sulle opere d'arte, ma si tratta di nulla in confronto a quanto è oggi possibile grazie allo sviluppo delle tecniche di sequenziamento massivo del DNA ed a quell'insieme di metodi noti nel loro insieme come "metagenomica". Le indagini forensi fanno già da tempo uso delle tracce molecolari e del DNA che si lasciano dietro gli essere viventi per risolvere delicate questioni di identità e colpevolezza. Da qualche anno però si è assistito ad un'accelerazione enorme delle scoperte tecniche in questo settore ed allo sviluppo di interi settori disciplinari dedicati allo studio del DNA ambientale od eDNA. Si tratta del DNA che viene raccolto da una varietà di campioni ambientali come suolo, acqua o persino aria piuttosto che campionato direttamente da un singolo oggetto. Quando gli organismi interagiscono con l'ambiente, il loro DNA viene espulso e si accumula nelle loro vicinanze. Esempi di fonti di eDNA includono le secrezioni, le spore, i peli, le deiezioni, le cellule morte, i microbi etc. E' possibile tracciare un organismo all'interno di un campione complesso grazie all'analisi di alcune sequenze del suo DNA ed all'uso delle librerie di DNA oggi disponibili (sono archivi di sequenze di DNA di tutti gli organismi viventi, usate per i confronti). La metagenomica consente il biomonitoraggio di tutti o quasi gli organismi che sono presenti o che sono venuti in contatto con l'oggetto, permettendo di individuare organismi anche sfuggenti e difficili da identificare.

L'applicazione di tecniche biomolecolari allo studio dei fenomeni di biodeterioramento delle opere d'arte, od all'analisi merceologica dei materiali di cui sono costituite è una realtà che da una decina di anni sta acquisendo sempre maggiore rilievo. Sono state scoperte intere comunità di microrganismi nelle alterazioni che affliggono dipinti, monumenti o manoscritti e sono state identificate le specie e persino le razze degli animali le cui pelli sono state usate per fare le pergamene di antichi codici. La possibilità di isolare, amplificare ed identificare il DNA da campioni piccolissimi o da singole cellule è oggi alla base di grandiosi avanzamenti nella conoscenza.

Un utilizzo innovativo della metagenomica, ancora solo agli inizi, è quello che potrebbe supportare lo studio e la conservazione dei disegni e dei manoscritti antichi. Si tratta delle opere d'arte fra le più delicate, la cui componente materiale è soggetta all'attacco di funghi e batteri e di impietosi meccanismi di invecchiamento e di ossidazione che l'uomo, per quanto tecnologico, può solo rallentare. L'analisi del DNA, di tutto il DNA, ricavabile con metodi non invasivi dalla superficie di opere uniche costituisce un'impronta identificativa eccezionale, un archivio univoco che assieme alle altre informazioni consuete (le dimensioni, il tratto, la tecnica, la composizione chimica, etc.) potrebbero rappresentare un metadato insostituibile da affiancare ad ogni opera importante, al fine anche di tracciarne i cambiamenti. Basti pensare all'importanza anche ai fini assicurativi, che potrebbe assumere un'analisi del DNA prima e dopo un'esposizione od in seguito ad eventi rischiosi per la conservazione. Poter contare su un'identificazione accurata degli organismi che sono venuti in contatto con l'oggetto, o che lo abitano come potenziali o reali minacce alla sua conservazione,

permetterebbe di compiere il primo passo verso un nuovo modo di intendere la conservazione preventiva.

L'eDNA presente sulle opere di Leonardo comprende teoricamente anche frammenti genetici riconducibili a tutti gli esseri umani venuti in contatto con le opere. Non è certo questa la sede per avanzare ipotesi paradossali sull'analisi di sequenze di DNA umane presenti sui disegni, ma di fatto non va esclusa la possibilità di tracciare, se non altro, la diversità e l'abbondanza di tali sequenze.

Leonardo da Vinci fu l'uomo più geniale di tutti i tempi, capace di approfondire e sviluppare i campi scientifici al di là delle conoscenze del suo tempo. Egli è ancora il personaggio storico con più ricercatori posteriori e contemporanei al seguito. Viene spontaneo immaginare che al giorno d'oggi Leonardo da Vinci avrebbe abbracciato la metagenomica quale strumento conoscitivo senza alcuna esitazione e che magari sarebbe entusiasta che le sue opere grafiche potessero essere analizzate attraverso il DNA su di esse depositato nei secoli.

Ecco quindi la proposta di condurre uno studio di metagenomica a partire dai disegni di Leonardo da Vinci che saranno sottoposti a spolveratura/pulitura e da tutti i "micro-oggetti" che i restauratori dovranno comunque rimuovere a scopo conservativo (tracce di colla, deiezioni di insetti, sporcizia localizzata, etc.).

La ricerca prevederà la raccolta e catalogazione del materiale, l'estrazione del DNA totale da ciascuno dei campioni con tecniche ad hoc (data la dimensione che i campioni presumibilmente avranno, la presenza di inquinanti inorganici quali i metalli, lo stato di degradazione del DNA più antico e la sua "diluizione" rispetto a materiale genetico più recente, sarà necessaria una fase iniziale di standardizzazione ed ottimizzazione delle procedure migliori per il recupero di più materiale possibile, eventualmente utilizzando lo stesso campione per protocolli di estrazione di paleo DNA o di DNA da campioni forensi).

Una volta estratto il DNA potrà essere amplificato con sequenze "*primer*" specifiche (che permettono di individuare ed identificare gruppi di organismi definiti, come i batteri, i funghi, gli insetti, i vertebrati in generale) oppure sequenziato integralmente attraverso tecniche di tipo "shotgun". Le analisi bioinformatiche che saranno utilizzate sulle sequenze così ottenute saranno tali da massimizzare le informazioni ricavabili e le sequenze potranno costituire una miniera di informazioni anche per il futuro, dal momento che le banche dati di riferimento e le tecniche statistiche e matematiche sviluppate per assemblare, decodificare ed interpretare le informazioni genetiche sono in continua e rapida evoluzione.

Dal momento che l'estrazione del materiale genetico, l'adeguamento dei diversi protocolli e il sequenziamento del DNA estratto dovrà essere eseguito da personale specializzato con esperienza e perizia nello studio dei beni culturali, e dei materiali cartacei in particolare, si ritiene opportuno che l'attività possa prevedere che almeno parte delle analisi e dell'elaborazione dei dati sia effettuata in collaborazione con l'Università di Vienna (BOKU, Austria) ed in particolare con il gruppo di ricerca che fa capo alla Prof.ssa Katja Sterflinger e di cui fa parte la Dr.ssa Guadalupe Piñar, che hanno già avuto modo di sviluppare e promuovere studi di biologia molecolare su opere grafiche e manoscritti in collaborazione con l'ICRCPAL.

Si rimanda alla letteratura specifica da cui si evincono suddette collaborazioni, fra cui:

- Sterflinger K, B Little, G Piñar, F Pinzari, A de los Rios, JD Gu (2018-in press) Future directions and challenges in biodeterioration research on historic materials and cultural properties. *International Biodeterioration & Biodegradation*
- Piñar, Tafer, Sterflinger, Pinzari (2015) Amid the possible causes of a very famous foxing: molecular and microscopic insight into Leonardo da Vinci's self-portrait. *Environmental microbiology Reports* DOI:10.1111/1758-2229.12313

- Piñar, Sterflinger, Ettenauer, Quandt, Pinzari (2014) A Combined Approach to Assess the microbial contamination of the Archimedes Palimpsest. *Microbial Ecology* 69: 1-17
- Piñar, Sterflinger, Pinzari (2014) Unmasking the measles-like parchment discoloration: molecular and micro-analytical approach. *Environmental Microbiology* 17: 427-443
- Michaelsen, Pinzari, Pinar et al. (2013) Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 84: 333-341
- Sterflinger, Pinzari (2012) The revenge of time: Fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environmental Microbiology* 14(3): 559-566