

MAURO MARRA

DATI PERSONALI

- Nato a Roma il 13-5-1957
- Sede di Lavoro: Dipartimento di Scienze Biologiche Università di Roma "Tor Vergata"
- Telefono: 0672594349
- e-mail: marra@uniroma2.it

POSIZIONE ACCADEMICA

- Professore Ordinario nel raggruppamento BIO/04 -Fisiologia Vegetale- presso la Facoltà di Scienze MM.FF.NN. della II Università di Roma "Tor Vergata"

CURRICULUM VITAE ET STUDIORUM

1981: Laurea in Chimica, con la votazione di 110 con lode, discutendo la tesi "Un metodo di dosaggio radioimmunologico per la fusicoccina", Relatore il Prof. A. Ballio.

1987: Dottore di Ricerca in Biochimica, discutendo la tesi dal titolo "Meccanismo di azione della Fusicoccina".

1987/89: Borsista Enichem, nell'ambito di un progetto di ricerca dal titolo "Polisaccaridi da alghe unicellulari ", coordinato dal Prof. V. Crescenzi. Il progetto ha riguardato lo studio di polisaccaridi di interesse tecnologico da cianobatteri. A tale riguardo si è occupato della determinazione della struttura del polisaccaride esocellulare di *Cyanospira capsulata*.

4 Dicembre 1989: Ricercatore (settore scientifico-disciplinare BIO/04 -Fisiologia Vegetale-) presso il Dipartimento di Biologia della Università di Roma "Tor Vergata".

4 Dicembre 1992: Ricercatore Confermato (settore scientifico-disciplinare BIO/04 -Fisiologia Vegetale-).

1998/2001: Segretario della Società Italiana di Fisiologia Vegetale

1 Novembre 1998/1 Aprile 2001: Professore Associato di Fisiologia Vegetale (BIO/04), presso la Facoltà di Scienze della Università degli Studi del Sannio di Benevento.

2 Aprile 2001/1 Aprile 2004: Professore Straordinario di Fisiologia Vegetale presso la Facoltà di Scienze della Università degli Studi del Sannio di Benevento.

Novembre 2001/Ottobre 2005: Presidente del Corso di Laurea triennale in Scienze Biologiche presso la Facoltà di Scienze della Università degli Studi del Sannio di Benevento

2 Aprile 2004/31 Ottobre 2005: Professore Ordinario di Fisiologia Vegetale presso la Facoltà di Scienze della Università degli Studi del Sannio di Benevento.

1 Novembre 2006/oggi: Professore Ordinario di Fisiologia Vegetale presso il Dipartimento di Biologia della Università Tor Vergata di Roma.

Giugno/Luglio 2004: Invited Professor alla Università di Bordeaux I -UFR des Sciences Biologiques- presso l' "Institut de Biologie Vegetale Moleculaire (IBVM)", Centre INRA de Bordeaux- equipes 4: genes regulateurs du developpement du raisin; responsable prof. Said Hamdi.

ATTIVITA' SCIENTIFICA

L'attività scientifica di Mauro Marra ha riguardato i seguenti campi di ricerca:

Fitotossine. Studio del meccanismo di azione delle fitotossine: della fusicoccina (FC), la fitotossina prodotta dal fungo *Fusicoccum amygdali* Del.; della tossina di *Cercospora beticola* (CBT) e delle fitotossine di *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Polisaccaridi da alghe unicellulari (cianobatteri): Nell'ambito di una ricerca volta all'individuazione e allo studio di nuovi idrocolloidi polimerici di interesse tecnologico, con caratteristiche di agenti chelanti e/o reologicamente attivi, si è occupato della determinazione della struttura del polisaccaride esocellulare di *Cyanospira capsulata*.

Più recentemente l'attività scientifica del Prof. Marra si è rivolta allo studio dei **meccanismi di trasduzione del segnale nelle piante**, ed in particolare allo studio del meccanismo di regolazione della H⁺-ATPasi della membrana plasmatica e alla caratterizzazione delle proprietà biochimiche e regolative delle proteine 14-3-3.

Inoltre si è occupato dello studio della **biodiversità vegetale**, mediante un approccio proteomico.

Regolazione della H⁺-ATPasi e proteine 14-3-3

L'H⁺-ATPasi di plasmalemma è un enzima fondamentale nelle cellule vegetali; è la principale pompa ionica presente nella membrana plasmatica e svolge un ruolo centrale nella nutrizione e nella crescita della pianta. L'H⁺-ATPasi, estrudendo protoni dalla cellula, genera un potenziale elettrico e un gradiente di pH attraverso la membrana plasmatica; ciò rappresenta il meccanismo primario mediante il quale le cellule vegetali mantengono il pH intracellulare a valori compatibili con le attività enzimatiche. Inoltre, l'energia racchiusa nel gradiente elettrochimico costituisce la forza guida per sistema di trasporto di ioni e nutrienti, come zuccheri e amminoacidi, attraverso la membrana plasmatica. L'H⁺-ATPasi è anche coinvolta nella regolazione dell'apertura degli stomi, nella crescita per distensione della cellula e in numerose risposte di difesa della pianta a stress biotici e abiotici.

Le numerose e importanti funzioni svolte dall'H⁺-ATPasi suggeriscono che la sua attività sia finemente controllata. Diversi stimoli, come ormoni, fitoregolatori, luce e fattori ambientali sono in grado di influenzare l'attività dell'enzima, anche se i meccanismi molecolari di regolazione non sono ancora pienamente chiariti.

Negli ultimi anni sono stati compiuti notevoli progressi nella comprensione di tali meccanismi. E' stato dimostrato che il dominio C-terminale dell'H⁺-ATPasi svolge una funzione autoinibitrice sull'attività dell'enzima; inoltre, sulla base di diversi studi è stato anche proposto che eventi di fosforilazione/defosforilazione abbiano un ruolo nella regolazione dell'attività della pompa; in particolare è stato dimostrato che la l'H⁺-ATPasi è un enzima fosforilabile *in vivo e in vitro* e che il sito/i di fosforilazione è localizzato nel dominio autoinibitorio. Recentemente nel meccanismo di regolazione dell'H⁺-ATPasi è emerso il coinvolgimento delle proteine 14-3-3, una famiglia di proteine conservata negli organismi eucariotici in grado di regolare numerosi processi cellulari, come la divisione e il differenziamento cellulare, l'apoptosi e numerose vie di trasduzione del segnale. Nelle piante le proteine 14-3-3 sono coinvolte nella regolazione di enzimi del metabolismo dell'azoto e del carbonio, come la nitrato reductasi e la saccarosio-fosfato sintasi, nella regolazione della trascrizione di alcuni geni inducibili, nella senescenza, e nella risposta della pianta a condizioni di stress biotici e abiotici. Il coinvolgimento delle proteine 14-3-3 in questi processi fisiologici deriva dalla loro capacità di interagire con proteine bersaglio modulandone l'attività. Fino

ad oggi sono state identificate sia negli animali che nelle piante numerose proteine capaci di interagire con le 14-3-3 ed in molti casi è stato anche individuato il sito di legame; in base all'analisi dei siti identificati sono state proposte delle sequenze consenso contenenti serine o treonine fosforilate. Un utile strumento per la comprensione del meccanismo molecolare di regolazione dell' H^+ -ATPasi si è rivelato lo studio del meccanismo di azione della fusicoccina, una fitotossina fungina in grado di attivare fortemente ed in maniera irreversibile la pompa protonica. Infatti si è compreso che la fusicoccina induce il legame delle proteine 14-3-3 sul dominio C-terminale autoinibitorio dell' H^+ -ATPasi, provocando in questo modo il suo spiazzamento e la conseguente attivazione dell'enzima. Dato che, come si è detto, le funzioni delle proteine 14-3-3 nella cellula vegetale sono generalmente ascrivibili alla loro capacità di modulare l'attività di diversi enzimi legandosi a particolari sequenze fosforilate, abbiamo voluto verificare se le 14-3-3 potessero interagire con la pompa protonica non solo in maniera fusicoccina-dipendente ma anche in una maniera dipendente da fosforilazione e se tale interazione possa rappresentare il meccanismo fisiologico con cui l'attività dell'enzima viene regolata *in vivo*. L'attività di ricerca svolta nel nostro laboratorio ha permesso di dimostrare che le proteine 14-3-3 si associano all' H^+ -ATPasi anche in assenza di fusicoccina e che tale interazione è dipendente dallo stato di fosforilazione del dominio C-terminale dell'enzima. Inoltre è stata purificata da radici di mais una protein fosfatasi in grado di defosforilare l' H^+ -ATPasi e quindi di impedire la sua interazione con le proteine 14-3-3. La caratterizzazione biochimica della protein fosfatasi ha permesso di classificarla come una protein fosfatasi di tipo 2A.

La ricerca di altri fattori in grado di regolare l'interazione tra l' H^+ -ATPasi di plasmalemma e le proteine 14-3-3 ha portato all'identificazione dell'adenosina 5'-monofosfato (5'-AMP). Abbiamo potuto infatti dimostrare che tale composto è in grado di legarsi alle proteine 14-3-3 e che tale legame determina una diminuita capacità delle 14-3-3 di interagire con l' H^+ -ATPasi e quindi di attivarla. Dato che i livelli di 5'-AMP nella cellula vegetale variano in risposta a determinati stress, come ad esempio l'anossia e lo stress idrico, l'effetto del 5'-AMP sull'attività dell' H^+ -ATPasi potrebbe rappresentare il meccanismo fisiologico con cui l'attività della pompa protonica viene regolata in risposta a tali stress.

Il sito di legame dell' H^+ -ATPasi per le proteine 14-3-3 è stato identificato sul dominio C-terminale dell'enzima e contiene una treonina che deve essere fosforilata affinché l'interazione abbia luogo. La sequenza consenso -YpTV (pT, fosfotreonina) non presenta alcuna omologia con le altre sequenze di legame per le proteine 14-3-3 finora identificate in animali e piante. Al fine di chiarire nel dettaglio molecolare la modalità di interazione tra le proteine 14-3-3 e l' H^+ -ATPasi, sono stati prodotti una serie di mutanti sito-specifici delle proteine 14-3-3 e ne è stata studiata la capacità di associarsi con la pompa protonica.

Al fine di comprendere il ruolo della fusicoccina in tale interazione, sono stati prodotti e analizzati anche una serie di mutanti del dominio C-terminale dell' H^+ -ATPasi. I risultati ottenuti hanno dimostrato che le mutazioni dei residui Lys⁵⁶ e Val¹⁸⁵ situati all'interno del solco anfipatico delle 14-3-3, ne aboliscono la capacità di associarsi alla H^+ -ATPasi e di stimolare l'attività fosfoidrolitica dell'enzima. Inoltre è stato dimostrato che la presenza di specifici residui carichi negativamente (Asp⁹³⁸; Asp⁹⁴⁰) è fondamentale per l'interazione con le proteine 14-3-3 indotta da FC. Fino ad oggi sono state descritte più di 100 proteine in grado di interagire con le 14-3-3 e tale numero è in costante aumento. L'identificazione di nuovi bersagli molecolari per le 14-3-3 fornisce un contributo importante per la comprensione del ruolo complessivo che tali proteine svolgono nelle cellule eucariotiche. Rispetto a questa tematica, è stata identificata e caratterizzata una nuova protein kinasi (ZmMPK6) di mais appartenente alla famiglia delle MAPK chinasi. La sequenza primaria ha rivelato un elevato grado di identità con membri del gruppo D di MAP chinasi vegetali. la proteina è stata espressa in *E. coli* e si è dimostrata in grado di autofosforilarsi e di fosforilare substrati come la myelin basic protein o gli istoni. Inoltre è stato dimostrato che tale proteina si associa *in vitro* alla GF14-6, una isoforma di 14-3-3 di mais e che l'interazione è dipendente da

fosforilazione e non determina una variazione nella attività della chinasi. I risultati di tale lavoro rappresentano la prima evidenza di interazione nei vegetali, tra MAPK chinasi e 14-3-3. Sempre riguardo alla regolazione della pompa protonica è stato stabilito che l' H^+ -ATPasi nella risposta a stress da carenza di glucosio è regolata da un meccanismo di "sugar sensing" che coinvolge la fosforilazione della regione C-terminale dell'enzima e il legame delle proteine 14-3-3. Inoltre è stato possibile dimostrare che le proteine 14-3-3 sono coinvolte nella regolazione del canale per il potassio KAT1, un altro elemento fondamentale, insieme alla H^+ -ATPasi, per la regolazione del trasporto ionico di membrana nelle cellule vegetali. Infine, mediante studi di caratterizzazione biochimica, è stato possibile stabilire che la regione C-terminale delle proteine 14-3-3, la quale costituisce la zona di maggiore variabilità tra differenti isoforme, è in grado di modulare l'affinità di queste proteine per l' H^+ -ATPasi.

Studio della biodiversità vegetale, mediante un approccio proteomico:

In particolare è stata presa in esame la caratterizzazione dei profili di espressione proteica, mediante elettroforesi bidimensionale e spettrometria di massa, di un ecotipo di elevate qualità organolettiche di pomodoro (S. Marzano) in confronto ad una varietà di riferimento durante il processo di maturazione (lavoro 1). Il Pomodoro, arrivato in Europa circa 500 anni fa, è ancora considerato una coltura simbolo dell'Italia, in particolare della Campania. Dopo il periodo di grande crescita grazie anche alla scoperta delle tecniche di trasformazione ed inscatolamento delle industrie conserviere Italiane, come la CIRIO, negli ultimi anni la sua coltivazione in Italia sta subendo un periodo di crisi, dovuto a diversi fattori. In aggiunta, nel panorama mondiale, ditte sementiere multinazionali stanno diffondendo nuove varietà migliorate, più resistenti ai principali patogeni, adatte alla raccolta meccanizzata ed alla coltivazione moderna, ma che spesso presentano scadente qualità organolettica. Questo processo di globalizzazione rischia di perdere di vista il grande patrimonio genetico di ecotipi selezionati negli anni dagli stessi agricoltori, come ad esempio quelli campani, che presentano rinomate qualità organolettiche ma che mal si adattano ai sistemi moderni di coltivazione e sono poco resistenti alle malattie. Oggi, grazie alle nuove tecnologie in campo molecolare, genetico e biochimico è possibile studiare, oltre la resistenza alle malattie, i processi di maturazione del frutto e capire i fattori che influenzano la qualità organolettica in senso lato. Un importante progetto per il futuro potrà essere quello di valutare l'enorme variabilità genetica presente in natura e di individuare quei geni che codificano per specifici caratteri migliorativi della qualità, allo scopo di trasferirli in varietà commerciali, mediante tecniche moderne di breeding e trasferimento genico. I risultati ottenuti hanno consentito di identificare numerose proteine, i cui livelli variano durante la maturazione in maniera specifica per l'ecotipo S.Marzano, associabili a importanti processi fisiologici e potenzialmente ad alcuni tratti nutrizionali ed organolettici. Inoltre, con un approccio metodologicamente simile è stata intrapresa la caratterizzazione delle proteine solubili presenti nella polpa di una varietà locale tipica di mela (Annurca). Anche in questo caso, per la prima volta, sono state identificate numerose proteine associabili a diverse funzioni; in particolare sono stati identificati diversi allergeni, potenziali responsabili di allergie alimentari. Infine è stato dimostrato che l'espressione in piante transgeniche di pomodoro, trasformate con un gene di difesa da patogeni di tabacco (prosistemia) è in grado di alterare in maniera significativa l'espressione proteica complessiva della pianta, risultati che confermano la necessità di un approccio proteomico nell'analisi di tessuti vegetali da piante transgeniche, nel caso di trasformazioni con proteine di signaling, per la verifica della loro "equivalenza sostanziale" rispetto a tessuti di piante non trasformate.

Trupiano D, Di Iorio A, montagnoli A, Lasserre B, Rocco M, Grosso A, Scaloni A, Marra M, Chiatante D, Scippa GS (2012). Involvement of lignin and hormones in the response of woody poplar taproots to mechanical stress.. *PHYSIOLOGIA PLANTARUM*, ISSN: 0031-9317

D'AMBROSIO C, ARENA S, ROCCO M, VERRILLO, NOVI G, VISCOSI V, MARRA M, SCALONI A. (2012). Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *JOURNAL OF PROTEOMICS*, vol. 78 C, p. 39-57, ISSN: 1874-3919, doi: 101016/.prot.2012.11.008

HUANG C, VERRILLO F, RENZONE G, ARENA S, ROCCO M, SCALONI A, MARRA M (2011). Response to biotic and oxidative stress in arabidopsis thaliana: analysis of variably phosphorylated proteins. *JOURNAL OF PROTEOMICS*, vol. 74, p. 1934-1949, ISSN: 1874-3919

CORRADO G, AGRELLI D, ROCCO M, MARRA M, RAO R (2011). Systemin-inducible defenses against pests are costly in tomato. *BIOLOGIA PLANTARUM*, vol. 55, p. 305-311, ISSN: 0006-3134

VISCONTI S, CAMONI L, MARRA M, ADUCCI P (2008). ROLE OF THE 14-3-3 C-TERMINAL REGION FOR INTERACTION WITH THE PLASMA MEMBRANE H⁺-ATPASE. *PLANT AND CELL PHYSIOLOGY*, p. 1887-1897, ISSN: 0032-0781

Rocco M, Corrado G, Arena S, D'Ambrosio C, Tortiglione C, Sellaroli S, Marra M, Rao R, Scaloni A (2008). The expression of tomato prosystemin gene in tobacco plants highly affects host proteomic repertoire. *JOURNAL OF PROTEOMICS*, vol. 71, p. 176-185, ISSN: 1874-3919, doi: 10.1016/j.jprot.2008.04.003

Guarino C, Arena S, De Simone L, D'Ambrosio C, Santoro S, Rocco M, Scaloni A, Marra M (2007). Proteomic analysis of the major soluble components in Annurca apple flesh. *MOLECULAR NUTRITION & FOOD RESEARCH*, vol. 51, p. 255-262, ISSN: 1613-4125, doi: 10.1002/mnfr.200600133

CAMONI L, MARRA M, GARUFI A, VISCONTI S, ADUCCI P (2006). The maize root plasma membrane H⁺-ATPase is regulated by a sugar-induced transduction pathway. *PLANT AND CELL PHYSIOLOGY*, vol. 47, p. 743-747, ISSN: 0032-0781

SOTTOCORNOLA B, VISCONTI S, GAZZARRINI S, GIACOMETTI S, OLIVARI C, CAMONI L, ADUCCI P, MARRA M, ABENAVOLI A, THIEL G, MORONI A (2006). The potassium channel KAT1 is activated by plant and animal 14-3-3 proteins. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, p. 35735-35741, ISSN: 0021-9258