# ELEMENTI DI BIOLOGIA

SOLOMON BERG MARTIN

Puff!

SESTA EDIZIONE

EdiSES

# "Puff!"

## Presentazione

Questo pdf fa parte di svariati ebook/pdf realizzati con lo specifico intento di aiutare studenti universitari in difficoltà. Nonostante la premessa potrebbe essere possibile trovare errori grammaticali e concettuali già presenti alla fonte o conseguenza della trascrizione al pc.

Il logo è la mia firma e al contempo rappresenta il progetto di rendere possibile, a chiunque, di attingere a fonti di studio di qualità indipendentemente dalle proprie possibilità economiche.

Ogni studente può consultare il pdf come il libro cartaceo, tramite gli appositi programmi o dispositivi, in quanto i libri facenti parte del progetto sono libri nella loro completezza e – dove possibile- aggiornati all'ultima versione.

Vi prego di non rimuovere le pagine contrassegnate da "Puff"(il logo del mostriciattolo con una G in mano) e nemmeno di utilizzarlo indebitamente su altri file, tutto ciò che vi viene fornito è stato infatti realizzato utilizzando il mio (ed altrui) tempo e denaro e quell'amichevole logo rappresenta questo ed anche la persona che con impegno, pazienza e dedizione è stata dietro al pc per la sua creazione. Ogni qualvolta troverete un file di Puff sappiate che qualcuno ha passato giornate a scannerizzare, screenshottare oppure convertire file solo per poterli diffondere per aiutare i giovani studenti universitari.

Detto questo... buono studio! ;D

← Lei è *"Puff!"* (un po' censurata) la mia mascotte.
Rispettatela, amatela, ammiratela.. non ci interessa, ma non fatele del male!
Non rimuovetela o sarà eternamente triste... e voi non volete che sia triste. Non clonatela, perché va contro la sua etica, e non utilizzatela per alcun motivo.

Puff è stata creata da me, disegnata e ideata, per questo spero che non venga riutilizzata da nessuno.
Puff è a favore della scienza, dello studio e della condivisione di materiale.
Non fatele cambiare idea ;)

Puff, Image created by *Grace* (Ferniecg)

# ELEMENTI DI
# Biologia

SESTA EDIZIONE


ELDRA P. SOLOMON
*University of South Florida, Tampa*

LINDA R. BERG
*St. Petersburg College*

DIANA W. MARTIN
*Rutgers University*


**EDIZIONE ITALIANA A CURA DI:**


**Chiarella Bozzo**
*Università degli Studi del Piemonte Orientale - A. Avogadro*
**Clara Circosta**
*Università degli Studi di Messina*
**Romina Combi**
*Università degli Studi di Milano - Bicocca*
**Donatella Degl'Innocenti**
*Università degli Studi di Firenze*
**Francesco Nonnis Marzano**
*Università degli Studi di Parma*
**Tomaso Patarnello**
*Università degli Studi di Padova*



EdiSES

Titolo originale:
Eldra P. Solomon, Linda R. Berg, Diana W. Martin
Biology - IX edizione
Copyright © 2011, Thomson Brooks/Cole, Cengage Learning

ELEMENTI DI Biologia - VI edizione
Copyright © 2013 EdiSES s.r.l. - Napoli
(estratto da Biologia, VI edizione, Copyright © 2013, EdiSES s.r.l. - Napoli)

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
2018 2017 2016 2015 2014 2013

Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata

Stampato presso la
Tipolitografia Petruzzi Corrado & Co. s.n.c.
Zona Ind. Regnano - Città di Castello (PG) - Tel. 075/8511345

per conto della
EdiSES - Napoli

http://www.edises.it E-mail: info@edises.it

ISBN 978-88-7959-7418

# AUTORI

Eldra P. Solomon ha scritto parecchi libri d'avanguardia di biologia, anatomia umana e fisiologia per l'insegnamento nel College. I suoi libri sono stati tradotti in più di dieci lingue. La Dr. Solomon ha ricevuto un M.S. alla Università della Florida e un M.A. e P.h.D. alla Università della Florida del Sud. Ella è professore e membro della Facoltà della Università della Florida del Sud; insegna Biologia da 20 anni.

La Dr. Solomon è una biopsicologa e una biologa. Come psicologa è specializzata in salute mentale, disordini da stress post–traumatico, disordini dissociativi e gestione dello stress. La sua ricerca si è focalizzata sulle correlazioni tra lo stress, le emozioni e la salute.

Ha presentato i suoi lavori in molte conferenze nazionali ed internazionali. È stata citata più di venti volte in attualissime pubblicazioni, incluso Chi è chi in America? Chi è chi nella scienza e nell'ingegneria? Chi è chi in medicina? Chi è chi in medicina e nell'assistenza? Chi è chi nell'educazione americana? Chi è chi fra le donne americane? Chi è chi nel mondo?

Linda R. Berg è vincitrice di un premio per l'insegnamento e autrice di libri. Ha ricevuto un B.S. per l'insegnamento delle Scienze, un M.S. in Botanica e un Ph.D. in Fisiologia vegetale dalla Università del Maryland. La sua ricerca ha interessato la implicazioni evolutive della biosintesi degli steroidi in svariati organismi.

Ha svolto la sua attività per 17 anni presso l'Università del Maryland e per 8 anni presso il college St. Petersburg in Florida. Durante la sua carriera ha tenuto corsi introduttivi in biologia, botanica e scienze ambientali a migliaia di studenti. Alla Università del Maryland, ha ricevuto numerosi premi per l'insegnamento e l'organizzazione. La Dr. Berg ha anche ricevuto riconoscimenti nazionali e regionali, incluso quello nazionale per l'innovazione dell'insegnamento delle Scienze, quello per l'insegnamento agli studenti disabili e quello della Accademia delle Scienze di Washington per l'insegnamento delle Scienze nell'Università.

Durante la sua carriera di redattrice di libri scientifici, la Dr. Berg è stata autrice e coautrice di parecchi libri di testo per il college. Il suo modo di scrivere riflette il suo stile di insegnamento e il suo amore per la scienza.

Diana W. Martin è il direttore di Biologia Generale, Divisione delle scienze della vita, presso Università Rutgers, New Brunswick. Ha ottenuto un M.S. alla Università della Florida, dove ha studiato i cromosomi di specie correlate di piante per comprendere le loro correlazioni evolutive. Ha ricevuto un Ph.D. alla Università del Texas, Austin, dove ha studiato la genetica della *Drosophila melanogaster* e poi ha svolto attività di ricerca post-dottorato presso la Università di Princeton. Ha tenuto corsi di Biologia generale alla Rutgers per più di 20 anni e ha iniziato a scrivere libri dal 1988. Ella è molto soddisfatta della sua scelta di insegnare biologia al college, poiché questa carriera le permette di condividere il suo entusiasmo per tutti gli aspetti della biologia.

# Sommario


## Parte 1 L'ORGANIZZAZIONE DELLA VITA 1

1 Uno sguardo sulla vita 1
2 Atomi e molecole la base chimica della vita 26
3 La chimica della vita: i composti organici 46
4 Organizzazione della cellula 74
5 Le membrane biologiche 106
6 La comunicazione cellulare 134

## Parte 2 IL FLUSSO DI ENERGIA ATTRAVERSO GLI ORGANISMI VIVENTI 154

7 Energia e metabolismo 154
8 La sintesi di ATP nelle cellule: le vie metaboliche che rilasciano energia 172
9 Fotosintesi: la cattura dell'energia luminosa 193

## Parte 3 GENETICA: LA CONTINUITÀ DELLA VITA 213

10 Cromosomi, mitosi e meiosi 213
11 I principi fondamentali dell'eredità 237
12 DNA: il depositario dell'informazione genetica 263
13 Espressione genica 282
14 Regolazione genica 307
15 Le tecnologie del DNA e la genomica 323
16 Genetica umana e il genoma dell'uomo 347
17 Genetica dello sviluppo 369

## Parte 4 L'EVOLUZIONE E LA DIVERSITÀ DELLA VITA 391

18 Introduzione al concetto darwiniano di evoluzione 391
19 Virus e agenti subvirali 411
20 Batteri e archeobatteri 427

Risposte alle autoverifiche A-11

Indice analitico I-1

# Indice generale


## 1 Uno sguardo sulla vita 1

### 1.1 I tre temi fondamentali 2

### 1.2 Le caratteristiche della vita 2

Gli organismi sono composti da cellule 2
Gli organismi crescono e si sviluppano 3
Gli organismi regolano i propri processi metabolici 3
Gli organismi rispondono agli stimoli 4
Gli organismi si riproducono 4
Le popolazioni si evolvono e si adattano all'ambiente 5

### 1.3 I livelli di organizzazione biologica 5

Gli organismi hanno diversi livelli di organizzazione 6
Esistono diversi livelli di organizzazione ecologica 6

### 1.4 La trasmissione dell'informazione 6

Il DNA trasmette l'informazione da una generazione all'altra 6
L'informazione è trasmessa da segnali chimici ed elettrici 8

### 1.5 L'energia della vita 8

### 1.6 L'evoluzione: il concetto di base unificante della biologia 10

I biologi usano un sistema binomiale per la nomenclatura degli organismi 11
La classificazione tassonomica è gerarchica 11
L'albero della vita comprende tre domini e sei diversi regni 11
Le specie si adattano in risposta ai cambiamenti ambientali 14
La selezione naturale è un importante meccanismo mediante il quale procede l'evoluzione 14
Le popolazioni si evolvono in funzione di pressioni selettive derivate da cambiamenti ambientali 15

### 1.7 Il procedimento scientifico 15

La scienza procede per ragionamenti sistematici 16
Gli scienziati fanno osservazioni accurate e si pongono domande critiche 16
Il caso gioca spesso un ruolo importante nelle scoperte scientifiche 17
Un'ipotesi è un'affermazione verificabile 17
Molte previsioni possono essere verificate con gli esperimenti 18
I ricercatori devono evitare i preconcetti 19
Gli scienziati interpretano i risultati dei loro esperimenti e ne traggono conclusioni 19
Una teoria è supportata da ipotesi verificate 19
Molte ipotesi non possono essere verificate mediante esperimenti diretti 20
I cambiamenti di paradigma permettono nuove scoperte 21
La biologia dei sistemi integra diversi livelli di informazione 21
La scienza ha limitazioni etiche 22

## 2 Atomi e molecole la base chimica della vita 26

### 2.1 Elementi e atomi 27

Ogni atomo viene identificato in maniera univoca dal numero dei suoi protoni 27
La somma dei protoni e dei neutroni determina la massa atomica 28
Gli isotopi di un elemento differiscono per il numero di neutroni 29
Gli elettroni si muovono in orbitali corrispondenti ai livelli energetici 30

### 2.2 Le reazioni chimiche 31

Gli atomi formano composti e molecole 31
Formule chimiche semplici, molecolari e di struttura forniscono informazioni diverse 31
Una mole di qualsiasi sostanza contiene lo stesso numero di unità 31
Le equazioni chimiche descrivono le reazioni chimiche 32

### 2.3 I legami chimici 32

Nei legami covalenti gli elettroni vengono condivisi 32
I legami ionici si formano tra anioni e cationi 34
I legami a idrogeno sono attrazioni deboli 36
Le interazioni di van der Waals sono forze deboli 36

### 2.4 Le reazioni redox 36

### 2.5 L'acqua 37

Tra le molecole d'acqua si formano legami a idrogeno 37
Le molecole d'acqua interagiscono con le sostanze idrofiliche mediante la formazione di legami a idrogeno 38
L'acqua contribuisce a mantenere costante la temperatura 38

### 2.6 Acidi, basi e sali 40

Il pH è una misura conveniente dell'acidità 41
I tamponi minimizzano i cambiamenti di pH 42
I sali si formano dalla reazione tra un acido ed una base 42

## 3 La chimica della vita: i composti organici 46

### 3.1 Gli atomi di carbonio e le molecole organiche 47

Gli isomeri hanno la stessa formula molecolare, ma differenti strutture 48
I gruppi funzionali modificano le proprietà delle molecole organiche 48
Molte molecole biologiche sono polimeri 51

### 3.2 I carboidrati 51

I monosaccaridi sono zuccheri semplici 52
I disaccaridi sono costituiti da due unità monosaccaridiche 53
I polisaccaridi possono immagazzinare energia o avere funzioni strutturali 53

Alcuni carboidrati complessi modificati svolgono ruoli particolari 55

### 3.3 I Lipidi 56

Il triacilglicerolo è costituito da glicerolo e da tre acidi grassi 57

Gli acidi grassi saturi e insaturi differiscono nelle proprietà fisiche 57

I fosfolipidi sono componenti delle membrane cellulari 58

I carotenoidi e molti altri pigmenti derivano da unità di isoprene 59

Gli steroidi contengono quattro anelli carboniosi 59

Alcuni mediatori chimici sono lipidi 59

### 3.4 Le proteine 60

Gli aminoacidi sono le subunità delle proteine 60

I legami peptidici uniscono gli aminoacidi 61

Le proteine hanno quattro livelli di organizzazione 61

La sequenza amminoacidica di una proteina determina la sua conformazione 66

### 3.5 Gli acidi nucleici 68

Alcuni nucleotidi svolgono un ruolo importante nei trasferimenti di energia e in altre funzioni cellulari 68

### 3.6 Identificazione delle molecole biologiche 69

## 4 Organizzazione della cellula 74

### 4.1 La cellula: L'unità base della vita 75

La teoria cellulare è un concetto unificante nella biologia 75

L'organizzazione di tutte le cellule è fondamentalmente simile 75

Le dimensioni cellulari hanno un limite 75

Dimensioni e forma delle cellule sono collegate alle loro funzioni 76

### 4.2 Metodiche per lo studio delle cellule 77

I microscopi ottici sono utilizzati per studiare le cellule colorate o vive 77

Il microscopio elettronico fornisce immagini ad alta risoluzione che possono essere ingrandite enormemente 79

I biologi utilizzano tecniche biochimiche per studiare i componenti cellulari 79

### 4.3 Cellule procariotiche ed eucariotiche 81

Le cellule procariotiche non contengono organelli circondati da membrane 81

Sistemi di membrane dividono le cellule eucariotiche in compartimenti 82

### 4.4 Il nucleo cellulare 86

### 4.5 Gli organuli citoplasmatici 89

I ribosomi sintetizzano le proteine 89

Il reticolo endoplasmatico è una rete di membrane interne 89

Il complesso del Golgi processa, smista e modifica le proteine 91

I lisosomi sono compartimenti con funzioni digestive 93

I vacuoli sono grandi sacche piene di liquido con svariate funzioni 93

I perossisomi metabolizzano composti organici di piccole dimensioni 93

I mitocondri e i cloroplasti sono organuli in grado di trasformare l'energia 94

I mitocondri producono ATP attraverso la respirazione cellulare 94

I cloroplasti trasformano l'energia luminosa in energia chimica attraverso la fotosintesi 96

### 4.6 Il citoscheletro 97

I microtubuli sono cilindri cavi 97

Centrosomi e centrioli svolgono un ruolo nella divisione cellulare 98

Ciglia e flagelli sono costituiti da microtubuli 98

I microfilamenti sono costituiti da catene di actina intrecciate 99

I filamenti intermedi contribuiscono a stabilizzare la forma cellulare 101

### 4.7 I rivestimenti cellulari 101

## 5 Le membrane biologiche 106

### 5.1 La struttura delle membrane biologiche 107

I fosfolipidi in acqua formano doppi strati 107

Il modello a mosaico fluido spiega la struttura della membrana 108

Le membrane biologiche sono fluidi bidimensionali 109

Le membrane biologiche hanno la tendenza a fondersi per formare vescicole chiuse 111

Le proteine di membrana possono essere integrali o periferiche 111

Le proteine sono orientate nel doppio strato in maniera asimmetrica 113

### 5.2 Le funzioni delle proteine di membrana 114

### 5.3 La struttura della membrana cellulare ne influenza la permeabilità 115

Le membrane biologiche rappresentano una barriera per le molecole polari 115

Le proteine di trasporto trasferiscono molecole attraverso le membrane 115

### 5.4 trasporto passivo 116

La diffusione avviene secondo un gradiente di concentrazione 116

L'osmosi è la diffusione di acqua attraverso una membrana selettivamente permeabile 117

La diffusione facilitata avviene secondo un gradiente di concentrazione 119

### 5.5 Trasporto attivo 121

I sistemi di trasporto attivo "pompano" le sostanze contro i loro gradienti di concentrazione 121

Le proteine carrier possono trasportare uno o due soluti 123

I sistemi di cotrasporto forniscono indirettamente l'energia necessaria per il trasporto attivo 123

### 5.6 Esocitosi ed endocitosi 123

Nell'esocitosi le vescicole esportano grosse molecole 123

Nell'endocitosi, la cellula importa materiali 125

### 5.7 Le giunzioni cellulari 127

Le giunzioni di ancoraggio connettono le cellule di uno strato epiteliale 127

Le giunzioni serrate sigillano gli spazi intercellulari tra alcune cellule animali 128

Le giunzioni comunicanti permettono il trasferimento di piccole molecole e ioni 129

I plasmodesmi permettono il movimento di alcune molecole e di alcuni ioni fra cellule vegetali 129

## 6 La comunicazione cellulare 134

### 6.1 Comunicazione cellulare: una visione d'insieme 135

### 6.2 L'invio di segnali 136

### 6.3 La ricezione 137

Le cellule regolano la ricezione 138

Sulla superficie cellulare si trovano tre tipi di recettori 139

Alcuni recettori sono intracellulari 141

### 6.4 Trasduzione del segnale 141

Le molecole segnale possono agire come interruttori molecolari 141

I recettori accoppiati a canali ionici determinano l'apertura o la chiusura di canali 141

I recettori accoppiati a proteine G danno inizio alla trasduzione del segnale 142

I secondi messaggeri sono agenti di segnalazione intracellulari 143

Molti recettori accoppiati ad enzimi attivano le vie di segnalazione composte da proteine chinasi 146

Molti recettori intracellulari attivati sono fattori di trascrizione 147

Le proteine di impalcatura (scaffold) aumentano l'efficienza 147

I segnali possono essere trasmessi in più di una direzione 147

### 6.5 Le risposte ai segnali 147

La via di segnalazione di Ras coinvolge recettori a tirosina chinasi e proteine G 148

La risposta ad un segnale è amplificata 148

I segnali devono essere terminati 149

### 6.6 L'evoluzione della comunicazione cellulare 150

## 7 Energia e metabolismo 154

### 7.1 Lavoro biologico 155

Gli organismi effettuano la conversione tra energia potenziale ed energia cinetica 155

### 7.2 Le leggi della termodinamica 155

L'energia totale dell'universo non cambia 155

L'entropia dell'universo è in aumento 156

### 7.3 Energia e metabolismo 156

L'entalpia è il contenuto totale di energia potenziale di un sistema 157

L'energia libera è disponibile a compiere lavoro cellulare 157

Le reazioni chimiche comportano variazioni dell'energia libera 157

L'energia libera diminuisce durante una reazione esoergonica 157

L'energia libera aumenta durante una reazione endoergonica 157

La diffusione è un processo esoergonico 158

Le variazioni di energia libera dipendono dalle concentrazioni dei reagenti e dei prodotti 158

Le cellule compiono le reazioni endoergoniche accoppiandole a reazioni esoergoniche 158

### 7.4 ATP, la moneta energetica della cellula 159

L'ATP cede energia attraverso il trasferimento di un gruppo fosfato 160

L'ATP accoppia reazioni esoergoniche a reazioni endoergoniche 160

Le cellule mantengono un rapporto molto alto tra ATP e ADP 160

### 7.5 Il trasferimento di energia nelle reazioni redox 161

La maggior parte dei trasportatori di elettroni trasferisce atomi di idrogeno 161

### 7.6 Gli enzimi 162

Tutte le reazioni necessitano di energia di attivazione 162

Un enzima abbassa l'energia di attivazione di una reazione 163

Un enzima agisce formando un complesso enzima-substrato 163

Gli enzimi sono specifici 164

Molti enzimi necessitano di cofattori 164

Gli enzimi esplicano la massima attività in condizioni ottimali 165

Gli enzimi nelle vie metaboliche sono organizzati in complessi enzimatici 166

Le cellule regolano l'attività enzimatica 166

Gli enzimi sono inibiti da alcuni agenti chimici 168

Alcuni farmaci sono inibitori enzimatici 168

## 8 La sintesi di ATP nelle cellule: le vie metaboliche che rilasciano energia 172

### 8.1 Reazioni redox 173

### 8.2 I quattro stadi della respirazione aerobica 173

Nella glicolisi, il glucosio è convertito in due molecole di piruvato 175

Il piruvato è convertito in acetil CoA 177

Il ciclo dell'acido citrico ossida l'acetil CoA 177

La catena di trasporto degli elettroni è accoppiata alla sintesi di ATP 177

La respirazione aerobica di una molecola di glucosio produce un massimo di 36 o 38 molecole di ATP 184

Le cellule regolano la respirazione aerobica 186

### 8.3 La resa energetica di sostanze nutritive diverse dal glucosio 186

### 8.4 La respirazione anaerobica e la fermentazione 187

La fermentazione alcolica e la fermentazione lattica sono energeticamente inefficienti 188

## 9 Fotosintesi: la cattura dell'energia luminosa 193

### 9.1 Luce e fotosintesi 194

### 9.2 I cloroplasti 195

La clorofilla si trova nella membrana tilacoidale 195

La clorofilla è il principale pigmento fotosintetico 196

### 9.3 Una visione d'insieme della fotosintesi 198

ATP e NADPH sono i prodotti delle reazioni dipendenti dalla luce: una visione d'insieme 198

I carboidrati sono prodotti durante le reazioni di fissazione del carbonio: una visione d'insieme 199

### 9.4 Le reazioni dipendenti dalla luce 199

I fotosistemi I e II comprendono ciascuno "complessi antenna" multipli e un centro di reazione 200

Il trasporto non ciclico di elettroni produce ATP e NADPH 200

Il trasporto ciclico di elettroni produce ATP ma non NADPH 202

La sintesi di ATP avviene mediante chemiosmosi 202

### 9.5 Le reazioni di fissazione del carbonio 204

La maggior parte delle piante utilizza il ciclo di Calvin per fissare il carbonio 204

La fotorespirazione riduce l'efficienza fotosintetica 206

La tappa iniziale di fissazione del carbonio differisce nelle piante C4 e in quelle CAM 206

Le piante CAM fissano la CO2 di notte 207

### 9.6 Diversità metabolica 208

### 9.7 La fotosintesi nelle piante e nell'ambiente 209

## 10 Cromosomi, mitosi e meiosi 213

### 10.1 I cromosomi eucariotici 214

Il DNA è organizzato in unità informazionali chiamate geni 214

Il DNA è impacchettato in modo altamente organizzato nei cromosomi 214

I cromosomi di specie diverse differiscono nel numero e nel contenuto informazionale 215

### 10.2 Il ciclo cellulare e la mitosi 217

I cromosomi si duplicano durante l'interfase 217

I cromosomi duplicati divengono visibili al microscopio durante la profase 218

La prometafase ha inizio con la disgregazione dell'involucro nucleare 220

I cromosomi duplicati si allineano sul piano equatoriale della cellula durante la metafase 220

I cromosomi migrano verso i poli durante l'anafase 221

Durante la telofase si formano due nuclei distinti 221

Tramite la citocinesi si formano due distinte cellule figlie 222

La mitosi produce due cellule geneticamente identiche alla cellula madre 222

Essendo privi di nuclei, i procarioti si dividono per scissione binaria 222

### 10.3 La regolazione del ciclo cellulare 223

### 10.4 La riproduzione sessuata e la meiosi 225

La meiosi dà origine a cellule aploidi con combinazioni geniche uniche 227

La profase I include sinapsi e crossing-over 230

I cromosomi omologhi si separano durante la meiosi I 231

I cromatidi fratelli si separano nella meiosi II 231

Mitosi e meiosi portano a risultati diversi 231

### 10.5 Cicli di vita sessuale 233

## 11 I principi fondamentali dell'eredità 237

### 11.1 I princÌpi dell'ereditarietà di Mendel 238

Gli alleli si separano prima che si formino i gameti: il principio della segregazione 241

Gli alleli occupano loci corrispondenti sui cromosomi omologhi 242

Un incrocio monoibrido coinvolge individui con alleli diversi per un dato locus 242

Un incrocio diibrido coinvolge individui che possiedono alleli diversi in due loci 245

Gli alleli posizionati su cromosomi non omologhi sono distribuiti nei gameti in maniera casuale: il principio dell'assortimento indipendente 245

Il riconoscimento del lavoro di Mendel avvenne all'inizio del XX secolo 246

### 11.2 Le leggi della probabilità vengono usate per prevedere l'ereditarietà mendeliana 247

Le regole della probabilità possono essere applicate ad una varietà di calcoli 248

### 11.3 Ereditarietà e cromosomi 249

I geni associati non assortiscono indipendentemente 249

L'ordine lineare dei geni associati su un cromosoma si determina calcolando la frequenza del crossing-over 250

Il sesso è di norma determinato dai cromosomi sessuali 251

### 11.4 Estensioni della genetica mendeliana 255

La dominanza non sempre è completa 255

In una popolazione possono essere presenti alleli multipli per un solo locus genico 256

Un singolo gene può influenzare diversi aspetti del fenotipo 257

Alleli di loci differenti possono interagire per produrre un fenotipo 257

Nell'eredità poligenica, la progenie mostra una distribuzione continua dei fenotipi 257

I geni interagiscono con l'ambiente per produrre il fenotipo 258

## 12 DNA: il depositario dell'informazione genetica 263

### 12.1 La prova che il DNA è il materiale ereditario 264

Il DNA è il principio trasformante nei batteri 264

Il DNA è il materiale genetico di alcuni virus 265

### 12.2 La struttura del DNA 265

I nucleotidi si legano covalentemente in sequenze variabili per formare lunghi polimeri 267

Il DNA è costituito da due catene polinucleotidiche avvolte tra loro a formare una doppia elica 268

Nel DNA a doppia elica si formano legami a idrogeno fra adenina e timina e fra guanina e citosina 269

### 12.3 La replicazione del DNA 271

Meselson e Stahl verificarono il meccanismo della replicazione semiconservativa 271

La replicazione semiconservativa spiega la trasmissione delle mutazioni 273

La replicazione del DNA richiede un "macchinario" proteico 273

Alcuni enzimi effettuano la correzione di bozze e la riparazione degli errori nel DNA 276
I telomeri "incappucciano" le estremità dei cromosomi eucariotici 277

## 13 Espressione genica 282

### 13.1 La scoperta della relazione gene-proteina 283
Beadle e Tatum proposero l'ipotesi un gene-un enzima 283

### 13.2 L'informazione fluisce dal DNA alle proteine: una visione d'insieme 285
Il DNA è trascritto per sintetizzare l'RNA 285
L'RNA è tradotto per sintetizzare un polipeptide 285
Negli anni 1960 i biologi decifrarono il codice genetico 287
Il codice genetico è virtualmente universale 288
Il codice genetico è ridondante 288

### 13.3 La trascrizione 288
La sintesi dell'RNA messaggero include inizio, allungamento e terminazione 289
L'RNA messaggero contiene sequenze di basi che non codificano direttamente la proteina 290
Gli mRNA eucariotici sono modificati dopo la trascrizione e prima della traduzione 291

### 13.4 La traduzione 293
Un aminoacido deve essere legato al suo specifico tRNA prima di essere incorporato in un polipeptide 293
I ribosomi mettono in contatto tra loro tutti i componenti dell'apparato di traduzione 294
La traduzione comincia con la formazione di un complesso di inizio 294
Durante l'allungamento, gli aminoacidi vengono aggiunti alla catena polipeptidica in crescita 295
Uno dei tre codoni di stop segnala la terminazione della traduzione 296

### 13.5 Le variazioni dell'espressione genica 297
La trascrizione e la traduzione sono accoppiate nei procarioti 297
L'evoluzione della struttura dei geni eucariotici è dibattuta 298
Vari tipi di RNA eucariotici hanno un ruolo nell'espressione genica 298
La definizione di gene si è evoluta con l'acquisizione di sempre maggiori conoscenze sui geni 300
Eccezioni alla normale direzione del flusso di informazione 300

### 13.6 Le mutazioni 300
Le mutazioni per sostituzione di base originano dal cambiamento di una singola coppia di basi in un'altra 301
Le mutazioni frameshift originano dall'inserzione o dalla delezione di coppie di basi 301
Alcune mutazioni coinvolgono segmenti mobili di DNA 303
Le mutazioni hanno cause diverse 303

## 14 Regolazione genica 307

### 14.1 La regolazione genica nei batteri e negli eucarioti: una visione d'insieme 308

### 14.2 La regolazione genica nei batteri 309
Gli operoni nei procarioti consentono il controllo coordinato di geni funzionalmente correlati 309
Nei procarioti esiste anche una regolazione post-trascrizionale 313

### 14.3 La regolazione genica nelle cellule eucariotiche 314
Il controllo della trascrizione negli eucarioti avviene a molti livelli e da parte di molecole regolatrici differenti 315
Gli mRNA eucariotici forniscono molte opportunità per il controllo post-trascrizionale 319
L'attività delle proteine eucariotiche può essere alterata da modificazioni chimiche post-traduzionali 320

## 15 Le tecnologie del DNA e la genomica 323

### 15.1 Il clonaggio del DNA 324
Gli enzimi di restrizione sono "forbici molecolari" 324
Il DNA ricombinante si forma quando il DNA è inserito in un vettore 324
Il DNA può essere clonato nelle cellule 326
Una libreria di cDNA è complementare all'mRNA e non contiene introni 329
La reazione a catena della polimerasi è una tecnica per amplificare il DNA in vitro 329

### 15.2 L'analisi del DNA 331
L'elettroforesi su gel è utilizzata per separare le macromolecole 331
I blot di DNA, RNA e proteine permettono di individuare frammenti specifici 331
I polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione sono una misura delle correlazioni genetiche 331
Metodi rapidi per il sequenziamento del DNA 333

### 15.3 La genomica 335
L'identificazione dei geni che codificano proteine è utile per la ricerca e per le applicazioni mediche 336
Una modalità di studio della funzione genica consiste nel silenziare i geni uno per volta 336
I microarray di DNA sono un strumento potente per lo studio dell'espressione genica 338
Il Progetto Genoma Umano è stato uno stimolo per lo studio delle sequenze genomiche di altre specie 338
La bioinformatica, la farmacogenetica e la proteomica sono discipline scientifiche emergenti 338

### 15.4 Le applicazioni delle tecnologie del DNA 339
La tecnologia del DNA ha rivoluzionato la medicina 339
Il DNA fingerprinting presenta numerose applicazioni 340
Gli organismi transgenici hanno DNA estraneo incorporato nelle loro cellule 341

### 15.5 La tecnologia del DNA ha sollevato preoccupazioni relative alla sicurezza 343

## 16 Genetica umana e il genoma dell'uomo 347

### 16.1 Lo studio della genetica umana 348
I cromosomi umani sono studiati con l'analisi del cariotipo 348

Gli alberi genealogici possono aiutare ad identificare alcune condizioni ereditarie 349
Il Progetto Genoma Umano ha permesso di sequenziare il DNA di tutti i cromosomi umani 349
La genomica comparativa ha evidenziato segmenti di DNA identici nei genomi di topo ed uomo 351
I ricercatori utilizzano modelli murini per lo studio delle malattie genetiche umane 351

**16.2 Alterazioni nel numero e nella struttura dei cromosomi 351**

La sindrome di Down è causata di norma dalla trisomia 21 352
La maggior parte delle aneuploidie dei cromosomi sessuali è meno grave delle aneuploidie autosomiche 354
Anomalie nella struttura cromosomica sono causa di determinate malattie 355
L'imprinting genomico è determinato dall'ereditarietà uniparentale 356

**16.3 Malattie genetiche causate da mutazioni in un singolo gene 358**

Molte malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici recessivi 358
Alcune malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici dominanti 360
Alcune malattie genetiche sono ereditate come caratteri recessivi legati al cromosoma X 361

**16.4 La terapia genica 361**

I programmi di terapia genica sono sotto stretto controllo 361

**16.5 La consulenza e i test genetici 362**

La diagnosi prenatale può rivelare anomalie cromosomiche e difetti genici 362
Lo screening genetico ricerca particolari genotipi o cariotipi 364
I consulenti genetici informano le persone rispetto alle malattie genetiche 364

**16.6 Genetica umana, società ed etica 365**

La discriminazione genetica ha provocato un acceso dibattito 365
Devono essere affrontate molte questioni etiche relative alla genetica umana 366

## 17 Genetica dello sviluppo 369

**17.1 Il differenziamento cellulare e l'equivalenza nucleare 370**

La maggior parte delle differenze tra cellule è dovuta all'espressione differenziale dei geni 370
Un nucleo totipotente contiene tutte le istruzioni per lo sviluppo 372
Il primo mammifero clonato è stato una pecora 373
Le cellule staminali si dividono e danno origine a cellule differenziate 373

**17.2 Il controllo genetico dello sviluppo 375**

Esiste una varietà di organismi modello che forniscono informazioni sui processi biologici di base 376
Molti geni che controllano lo sviluppo sono stati identificati nel moscerino della frutta 376
*Caenorhabditis elegans* mostra un quadro di sviluppo relativamente rigido 381
Il topo è un modello per lo sviluppo dei mammiferi 384
Arabidopsis è un modello per lo studio dello sviluppo delle piante, inclusi i fattori di trascrizione 386

**17.3 Cancro e sviluppo cellulare 387**

## 18 Introduzione al concetto darwiniano di evoluzione 391

**18.1 Che cos'è l'evoluzione? 392**

**18.2 I concetti sull'evoluzione prima di Darwin 392**

**18. 3 Darwin e l'evoluzione 393**

Darwin propose che l'evoluzione avvenisse per selezione naturale 395
La teoria sintetica dell'evoluzione combina la teoria di Darwin con la genetica 395
I biologi studiano l'effetto della casualità sull'evoluzione 396

**18.4 Le prove a sostegno dell'evoluzione 397**

I reperti fossili forniscono forti dimostrazioni a sostegno dell'evoluzione 397
La distribuzione di animali e piante è un elemento a sostegno dell'evoluzione 400
L'anatomia comparata di specie correlate mette in evidenza delle somiglianze nelle loro strutture 402
Il confronto molecolare tra organismi fornisce prove a favore dell'evoluzione 404
La biologia dello sviluppo aiuta a spiegare gli schemi evolutivi 406
Le ipotesi evolutive possono essere verificate sperimentalmente 407

## 19 Virus e agenti subvirali 411

**19.1 Lo stato e la struttura dei virus 412**

I virus sono molto piccoli 412
Un virus consiste di un core di acido nucleico circondato da un rivestimento proteico 412
Il capside è un rivestimento proteico protettivo 412
Alcuni virus sono circondati da un involucro esterno 413

**19.2 Classificazione dei virus 414**

**19.3 Replicazione virale 414**

I batteriofagi sono virus che attaccano i batteri 415
I virus si riproducono solo all'interno delle cellule ospiti 415

**19.4 Malattie virali 416**

Alcuni virus infettano le cellule vegetali 16
I virus causano gravi malattie negli animali 417

**19.5 Evoluzione dei virus 422**

**19.6 Agenti subvirali 423**

I satelliti dipendono dai virus helper 423
I viroidi sono i più piccoli patogeni conosciuti 423
I prioni sono particelle proteiche 423

## 20 Batteri e archeobatteri 427

### 20.1 La struttura di batteri e archeobatteri 428

I procarioti presentano diverse forme comuni 428

Le cellule procariotiche sono prive di organelli circondati da membrana 428

La superficie della cellula è generalmente coperta da una parete cellulare 429

Alcuni batteri producono capsule o strati mucosi 429

Alcuni procarioti hanno fimbrie o pili 429

Alcuni batteri formano endospore 430

Molti tipi di procarioti sono mobili 430

### 20.2 Riproduzione ed evoluzione dei procarioti 431

La riproduzione rapida contribuisce al successo dei procarioti 432

I batteri trasferiscono l'informazione genetica 432

Nelle popolazioni batteriche l'evoluzione procede rapidamente 433

### 20.3 Adattamenti nutrizionali e metabolici 434

La maggior parte dei procarioti necessita di ossigeno 434

Alcuni batteri fissano e metabolizzano l'azoto 435

### 20.4 La filogenesi dei due domini dei procarioti 35

Le caratteristiche chiave che distinguono i tre domini 435

La tassonomia degli archea e dei batteri cambia continuamente 436

Molti archea vivono in ambienti inospitali 436

I batteri sono i procarioti più noti 437

### 20.5 L'impatto dei procarioti su ecologia, tecnologia e commercio 440

I procarioti stabiliscono relazioni con altri organismi 440

I procarioti svolgono ruoli ecologici chiave 440

I procarioti sono utilizzati in numerosi processi commerciali e nella tecnologia 441

### 20.6 Batteri e malattia 442

Numerosi scienziati hanno contribuito alla comprensione delle malattie infettive 442

Numerosi adattamenti contribuiscono al successo dei patogeni 442

Molti batteri sono diventati resistenti agli antibiotici 444

Risposte alle autoverifiche R-1

Indice analitico I-1

# Articolo I. Uno sguardo sulla vita 1

L'esplosione dell'influenza H1N1 ha attirato su di se la massima attenzione nell'aprile 2009. In pochi mesi più di 200 paesi del mondo hanno riportato casi accertati di questa malattia virale e H1N1 ha causato migliaia di morti. Secondo i CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), più di 200 agenti patogeni (organismi che causano malattie) hanno il potenziale di colpire globalmente. Nella storia i nuovi ceppi virali hanno causato la morte di molti individui. Per esempio, nel 1918 una pandemia di influenza uccise più di 20 milioni di persone in tutto il mondo. Gli epidemiologi ritengono che ancora oggi una pandemia di influenza potrebbe provocare la morte di milioni di persone. Pandemie come H1N1 hanno un impatto globale negativo: influenzano molti aspetti della vita, compresi l'economia globale, i viaggi, il turismo e l'istruzione.

Dotati di nuove tecnologie, i biologi lavorano a stretto contatto con i professionisti della sanità pubblica e del settore medico-sanitario per prevenire pericolose epidemie. Quando emerge un nuovo agente patogeno, i biologi studiano le sue relazioni evolutive con altri agenti patogeni conosciuti. Per esempio, gli scienziati hanno stabilito che la pandemia di influenza del 1918 è stata causata da un virus di influenza A (H1N1), il quale può aver subito una mutazione ed essere emerso di nuovo tramite un portatore suino o aviario. Il ceppo H1N1, identificato nel 2009, è stato messo in relazione con l'agente patogeno del 1918.

I biologi hanno stabilito che il ceppo di H1N1 del 2009 si è evoluto da una combinazione di virus che hanno infettato suini, uccelli e uomini. Hanno scoperto che questo ceppo di H1N1 contiene combinazioni uniche di segmenti genici per i quali gli uomini non hanno una immunità pregressa. Le conoscenze riguardo l'origine del virus forniscono importanti indizi sulla sua struttura e comportamento e suggeriscono ipotesi per combatterlo. Gli scienziati dunque devono verificare le loro ipotesi in laboratorio. I ricercatori sono stati in grado di determinare gli antigeni (proteine) sulla superficie di H1N1. Questi antigeni devono combinarsi con i recettori sulle cellule umane in modo da infettare le cellule. Basandosi su attenti studi di H1N1, rapidamente è stato sviluppato un vaccino.

Gli agenti patogeni possono colpire e diffondersi velocemente e la continua evoluzione di patogeni resistenti ai farmaci rappresenta un'ulteriore grande sfida. Nuove varietà di H1N1 continuano ad emergere e gli scienziati devono individuarle e stabilire il loro potenziale di virulenza velocemente. Inoltre, i vaccini sviluppati recentemente possono non essere più efficaci. Le malattie che ne derivano saranno approfondite nel Capitolo "Virus e agenti subvirali".

Questo è un periodo molto eccitante per iniziare a studiare la **biologia** , la scienza della vita. Le eccezionali scoperte che i biologi fanno quasi ogni giorno interessano ogni aspetto della nostra vita, come la salute, il cibo, la sicurezza, le relazioni con gli altri esseri umani e con altri organismi e la nostra capacità di godere della vita che ci circonda. Le nuove conoscenze forniscono informazioni che riguardano la specie umana e i milioni di altri organismi con i quali condividiamo il pianeta. La biologia influisce sulle nostre decisioni personali, politiche e sociali. Per esempio, un sforzo combinato è necessario ad ogni livello in modo da fornire le risorse e le conoscenze per stare al passo con le sfide delle pandemie globali.

Indipendentemente da quello che è il vostro campo e dagli obiettivi della vostra carriera, la conoscenza dei concetti biologici è uno strumento vitale per le sfide personali, sociali e globali che bisogna affrontare. Tra queste sfide ci sono: l'espansione della popolazione umana, la riduzione della diversità biologica, la diminuzione delle risorse naturali, i cambiamenti climatici globali, la prevenzione e la cura di malattie come quelle cardiache, il cancro, il diabete, il morbo di Alzheimer, la sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) e l'influenza. Affrontare queste sfide richiederà gli sforzi combinati di biologi ed altri scienziati, politici e cittadini informati in campo biologico.

Questo libro rappresenta il punto di partenza per la vostra esplorazione della biologia. Vi fornirà le informazioni di base e gli strumenti per capire questa affascinante scienza, come pure per diventare membri informati della nostra società.

# 1.1 I TRE TEMI FONDAMENTALI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Descrivere i tre temi fondamentali della biologia.

In questo primo capitolo, introdurremo i tre temi fondamentali della biologia. Questi temi sono interconnessi fra loro e con quasi tutti i concetti affrontati in questo libro.

1. **Evoluzione.** Le popolazioni di organismi si sono evolute nel tempo a partire da forme di vita primordiali. Gli scienziati hanno accumulato molte prove in grado di dimostrare che le diverse forme di vita sul nostro pianeta sono correlate e che le popolazioni si sono *evolute* nel tempo da forme di vita primordiali. Il processo *dell'evoluzione* è struttura portante della biologia ed uno dei temi principali di questo libro.
2. **Trasmissione dell'informazione.** Le informazioni devono essere trasmesse all'interno degli organismi e tra gli organismi. La sopravvivenza e la funzione di ogni cellula e di ogni organismo dipendono da una trasmissione regolata dell'informazione. L'evoluzione dipende dalla trasmissione dell'informazione genetica da una generazione all'altra.
3. **Trasferimento dell'energia.** Tutti i processi vitali, incluse migliaia di reazioni chimiche che mantengono l'organizzazione della vita richiedono un continuo ingresso di energia. La maggior parte dell'energia per la vita viene dalla luce del sole. L'energia solare viene trasferita attraverso i sistemi viventi dai produttori ai consumatori; i decompositori ottengono energia alimentandosi dei corpi morti e dei rifiuti sia dei produttori che dei consumatori. L'energia è inoltre continuamente trasferita da un composto chimico ad un altro all'interno di ogni cellula.

L'evoluzione, la trasmissione dell'informazione e il flusso di energia sono le forze che conferiscono agli organismi viventi le loro caratteristiche uniche. Iniziamo il nostro studio della biologia sviluppando una più precisa conoscenza delle caratteristiche fondamentali dei sistemi viventi.

**Verifica**

- Perché l'evoluzione, la trasmissione dell'informazione e l'energia sono considerate fondamentali per la vita?
- Qual è il significato del termine evoluzione applicato alle popolazioni di organismi?

# 1.2 LE CARATTERISTICHE DELLA VITA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Effettuare una distinzione tra viventi e non viventi descrivendo le caratteristiche che contraddistinguono gli organismi viventi.

È facile asserire che un pino, una farfalla e un cavallo sono esseri viventi, mentre le rocce non lo sono. Nonostante le loro diversità, gli esseri viventi che popolano il nostro pianeta condividono una serie di caratteristiche che li distinguono dalle cose non viventi. Queste caratteristiche comprendono un preciso tipo di organizzazione, crescita e sviluppo, un metabolismo capace di autoregolarsi, la capacità di rispondere agli stimoli, la riproduzione e l'adattamento ai cambiamenti ambientali.

### Gli organismi sono composti da cellule

Sebbene siano molto diversi tra loro per dimensione ed aspetto, tutti gli organismi viventi sono costituiti da unità di base chiamate **cellule** . Le nuove cellule sono generate esclusivamente dalla divisione di cellule preesistenti. Questi concetti sono espressi nella **teoria cellulare** (discussa nel Capitolo 4 ), uno dei concetti unificanti fondamentali della biologia.

Alcune delle forme di vita più semplici, come i protozoi, sono unicellulari, costituite cioè da un'unica cellula ( **FIG. 1-1** ), mentre il corpo di un gatto o un acero è formato da miliardi di cellule. In questi complessi organismi pluricellulari, i processi vitali dipendono dalle funzioni coordinate delle cellule, che possono essere organizzate a formare tessuti, organi ed apparati.

Mike Abbey/Visuals Unlimited, Inc.

**(a)** Gli organismi unicellulari consistono in una cellula complessa che svolge tutte le funzioni essenziali della vita. I ciliati, come questo *Paramecium*, si muovono agitando le loro ciglia.

McMurray Photography

**(b)** Gli organismi pluricellulari, come questo bufalo africano (*Syncerus caffer*) e le piante di cui si ciba, possono essere costituiti da miliardi di cellule specializzate per svolgere specifiche funzioni.

←FIGURA 1-1 **Forme di vita unicellulari e pluricellulari**

Ogni cellula è circondata da una membrana plasmatica protettiva che la separa dall'ambiente circostante. La membrana plasmatica regola il passaggio di materiale tra la cellula e l'ambiente. Le cellule posseggono molecole specializzate che contengono l'informazione genetica. Nella maggior parte delle cellule, l'informazione genetica è codificata nell'acido deossiribonucleico, conosciuto più semplicemente come **DNA** . Tipicamente, le cellule sono fornite di strutture interne, chiamate **organelli** , specializzate per svolgere funzioni precise.

Esistono fondamentalmente due diversi tipi di cellule: procariotiche ed eucariotiche. Le **cellule procariotiche** sono esclusive dei batteri e di organismi microscopici chiamati *archaea*. Tutti gli altri organismi sono costituiti da **cellule eucariotiche** . Queste cellule tipicamente contengono una varietà di organelli circondati da membrana, incluso un **nucleo** che contiene il DNA. Le cellule procariotiche sono strutturalmente più semplici: non posseggono un nucleo né altri organelli circondati da membrana.

## Gli organismi crescono e si sviluppano

La **crescita biologica** consiste in un aumento della dimensione delle singole cellule di un organismo o nell'aumento del numero delle cellule, o entrambi. La crescita di un organismo può essere uniforme oppure può essere maggiore in alcune parti, cosicché le proporzioni del corpo cambiano durante il processo di accrescimento. Alcuni organismi, come ad esempio la maggior parte degli alberi, continuano a crescere durante tutta la loro vita. Molti animali, invece, hanno un periodo di crescita definito che termina quando sono raggiunte le dimensioni tipiche dell'età adulta. Uno degli aspetti significativi del processo di crescita è che ogni parte dell'organismo continua a funzionare mentre cresce.

Oltre ad accrescersi, gli organismi viventi si sviluppano. Lo **sviluppo** comprende tutti i cambiamenti che avvengono durante la vita di un organismo. Ogni essere umano, come molti altri organismi, inizia la propria vita come uovo fecondato che in seguito cresce e si sviluppa. La forma e le strutture del corpo che si sviluppano sono adatte alle funzioni che l'organismo deve svolgere.

## Gli organismi regolano i propri processi metabolici

In tutti gli organismi viventi avvengono reazioni chimiche e trasformazioni energetiche essenziali per la nutrizione, la crescita, la riparazione cellulare e la trasformazione dell'energia in forme utilizzabili. L'insieme delle attività chimiche dell'organismo è chiamato **metabolismo** .

In ciascun essere vivente, le reazioni metaboliche avvengono di continuo e devono essere accuratamente regolate per mantenere l' **omeostasi** , uno stato di equilibrio interno. Quando un prodotto cellulare è in quantità sufficiente, la sua produzione deve diminuire o arrestarsi. Quando è necessaria una particolare

sostanza, i processi cellulari che la producono devono attivarsi. Questi *meccanismi omeostatici* sono sistemi di controllo che si autoregolano, altamente sensibili ed efficienti.
Negli animali superiori, la regolazione della concentrazione del glucosio (uno zucchero semplice) nel sangue è un buon esempio di meccanismo omeostatico. Le cellule richiedono un apporto costante di glucosio, che viene demolito per ottenere energia. Il sistema circolatorio ha la funzione di portare il glucosio ed altri fattori nutritivi a tutte le cellule. Quando la concentrazione di glucosio nel sangue sale sopra i livelli normali, questo è immagazzinato nel fegato e nelle cellule muscolari. Quando il livello inizia a scendere (tra un pasto e l'altro), le riserve sono convertite in glucosio, i cui livelli ematici tornano a valori normali. Quando il glucosio è consumato, i centri superiori ci avvertono che è ora di mangiare e il cibo ingerito è trasformato in glucosio.

←FIGURA 1-2 *Il movimento biologico* La presenza di questi batteri ( *Helicobacter pylori* ), che si spostano muovendo i flagelli, è stata collegata alle ulcere gastriche. La fotografia è una microfotografia elettronica a scansione a colore intensificato (i batteri non sono realmente rossi e blu).

## Gli organismi rispondono agli stimoli

Tutte le forme di vita rispondono agli **stimoli** , cambiamenti fisici o chimici che avvengono nel loro ambiente interno od esterno. Gli stimoli in grado di provocare una risposta nella maggior parte degli organismi sono: cambiamenti di colore, intensità o direzione della luce; cambiamenti di temperatura, pressione e suono; cambiamenti della composizione chimica di terreno, aria o acqua circostanti. La risposta agli stimoli determina il movimento, sebbene non sempre la locomozione (lo spostamento da un posto ad un altro).
Negli esseri più semplici, l'intero organismo è in grado di rispondere agli stimoli: ad esempio, alcuni organismi unicellulari rispondono ad una luce intensa ritraendosi. In alcuni organismi, lo spostamento è il risultato di un lento scivolamento della cellula (un processo chiamato *movimento ameboide);* in altri, è dato dall'oscillazione di piccole estroflessioni della cellula simili a peli, chiamate **ciglia** , oppure di strutture più lunghe chiamate **flagelli** ( FIG. 1-2 ). Alcuni batteri si muovono utilizzando la rotazione di flagelli.
La maggior parte degli animali si muove, striscia, nuota, corre o vola contraendo i muscoli. Alcuni animali, come le spugne, i coralli e le ostriche, hanno stadi larvali durante i quali possono nuotare liberamente, ma una volta divenuti adulti perdono la capacità di muoversi da un luogo ad un altro. Questi individui adulti, detti **sessili** , pur rimanendo saldamente attaccati ad una superficie, possono avere ciglia o flagelli che sono agitati in modo ritmico, muovendo l'acqua circostante ed avvicinando così il nutrimento e l'ossigeno. Negli animali più complessi, come gli esseri umani o gli orsi polari, alcune cellule del corpo sono altamente specializzate a rispondere a stimoli specifici; ad esempio, le cellule della retina dell'occhio rispondono alla luce.
Sebbene le loro risposte non siano così ovvie come quelle degli animali, i vegetali rispondono alla luce, alla gravità, all'acqua, al tatto e ad altri stimoli. Ad esempio, le piante orientano le loro foglie verso il sole e crescono in direzione della luce. Le diverse parti del corpo di una pianta crescono a velocità diverse secondo le risposte agli stimoli della pianta stessa. Alcune piante, come la Venere acchiappamosche delle paludi della Carolina, sono estremamente sensibili al tatto e sono in grado di catturare gli insetti ( FIG. 1-3 ). Le loro foglie si piegano lungo l'asse mediano ed emanano un profumo che attira gli insetti. La presenza di un insetto sulla foglia, rilevata dalla peluria che la riveste, stimola la foglia a chiudersi e, non appena i bordi si toccano, i peli si intrecciano impedendo la fuga della preda. La foglia poi secerne enzimi che uccidono e

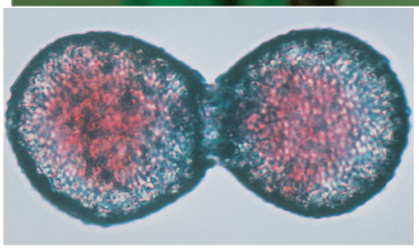
digeriscono l'insetto. La Venere acchiappamosche cresce di solito in terreni poveri di azoto: gli insetti che "mangia" le permettono di assimilare parte dell'azoto necessario per la crescita.

FIGURA 1-3 *Le piante rispondono agli stimoli*

David M. Dennis/Tom Stack & Associates

David M. Dennis/Tom Stack & Associates

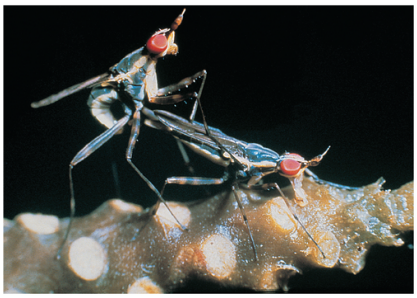
**(b)** Le estremità della foglia si uniscono e si bloccano fra loro impedendo la fuga dell'insetto. La foglia poi secerne enzimi che uccidono e digeriscono l'insetto.



Cabisco/Visuals Unlimited, Inc.

100 µm

**(a) Riproduzione asessuata.** Un singolo individuo dà vita a due o più discendenti che sono simili al genitore. La foto mostra una *Difflugia*, una ameba unicellulare, è mostrata mentre si divide per formare due amebe.



L. E. Gilbert/Biological Photo Service

**(b) Riproduzione sessuata.** Generalmente ciascuno dei due genitori fornisce un gamete (spermatozoo o uovo). I gameti si fondono per generare un nuovo organismo, il quale ha una combinazione dei caratteri di ciascun genitore. È mostrata una coppia di mosche tropicali in accoppiamento.

## Gli organismi si riproducono

Un tempo si pensava che i vermi si generassero dai crini di cavallo immersi in un secchio d'acqua e i rospi dal fango del Nilo. Grazie al lavoro di alcuni scienziati, inclusi il medico italiano Francesco Redi nel diciassettesimo secolo e il chimico francese Louis Pasteur nel diciannovesimo secolo, noi ora sappiamo che ciascun essere vivente deriva solo da organismi viventi preesistenti.

←FIGURA 1-4 *Riproduzione asessuata e sessuata*

Negli organismi semplici come l'ameba, la riproduzione è **asessuata** ( FIG. 1-4a ). Quando un'ameba raggiunge una certa dimensione, essa si riproduce dividendosi in due parti che vanno a formare due nuove amebe. Prima di dividersi, l'ameba fa una copia del suo materiale ereditario (geni) e lo divide equamente tra le due cellule. Ciascuna nuova ameba è identica alla cellula madre eccetto che per le dimensioni. Il verificarsi di *mutazioni* genetiche, cambiamenti permanenti nei geni, fa sì che vi siano variazioni fra gli organismi che si riproducono asessualmente.

Nella maggior parte dei vegetali e degli animali, la **riproduzione** è **sessuata** e avviene con la produzione di cellule specializzate, uova e cellule spermatiche, che si uniscono per formare un uovo fecondato ( FIG. 1-4b ), dal quale si svilupperà il nuovo organismo. La prole proveniente dalla riproduzione sessuata è il prodotto dell'interazione di diversi geni forniti sia dalla madre che dal padre. Tale variabilità genetica è alla base dei processi vitali dell'evoluzione e dell'adattamento.

FIGURA 1-5 *Adattamento* Queste zebre Burchell ( *Equus burchelli* ), fotografate in Tanzania, assumono una posizione che permette loro di individuare i leoni e altri predatori. Le strisce sembrano essere un'altra forma di adattamento per proteggersi visivamente dai predatori. Esse servono a mimetizzarsi o a dissimulare la forma quando osservate da lontano. Lo stomaco della zebra si è adattato per nutrirsi di erba ruvida tralasciata da altri animali; ciò le permette di sopravvivere quando il cibo è scarso.

McMurray Photography

## Le popolazioni si evolvono e si adattano all'ambiente

La capacità di una popolazione di evolversi (cambiare nel tempo) e di adattarsi all'ambiente le permette di sopravvivere in un mondo soggetto a continui cambiamenti. Gli **adattamenti** sono caratteri ereditari che migliorano la capacità di un organismo di sopravvivere in un particolare ambiente. La lingua lunga e flessibile della rana è un adattamento per migliorare la cattura degli insetti, il piumaggio e le ossa leggere degli uccelli sono adattamenti per il volo, mentre la folta pelliccia dell'orso polare è un adattamento che gli permette di sopravvivere a temperature bassissime. Gli adattamenti possono essere di tipo strutturale, fisiologico, comportamentale, oppure una combinazione di questi (FIG.

1-5). Ciascun organismo vincente dal punto di vista biologico è un insieme complesso di adattamenti coordinati che si sono prodotti attraverso processi evolutivi.

**Verifica**

- Quali caratteristiche distinguono un organismo vivente da un oggetto non vivente?
- Quali sarebbero le conseguenze per un organismo se i suoi meccanismi omeostatici fallissero? Spiegate la vostra risposta.
- Cosa si intende per adattamento?

## 1.3 I LIVELLI DI ORGANIZZAZIONE BIOLOGICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Costruire una gerarchia dell'organizzazione biologica, includendo i livelli caratteristici dei singoli organismi e quelli che contraddistinguono i livelli ecologici.

Sia che si studi un singolo organismo o l'intero mondo biologico, è possibile evidenziare una gerarchia dell'organizzazione biologica ( FIG. 1-6 ). Ad ogni livello, struttura e funzione sono esattamente coordinate. Un modo per studiare un particolare livello è guardare i suoi componenti. Per esempio, i biologi possono studiare le cellule partendo da atomi e molecole. Lo studio di una struttura mediante l'analisi delle sue parti è conosciuto come riduzionismo . Comunque, il tutto è più della somma delle sue parti. Ogni livello ha proprietà emergenti , cioè caratteristiche non presenti ai livelli inferiori. Per esempio, le popolazioni hanno proprietà emergenti come la densità, l'età media, i tassi di nascita e di morte. Gli individui che formano una popolazione non possiedono queste caratteristiche. Consideriamo il cervello umano. Il cervello è composto da milioni di neuroni (cellule nervose). Potremmo studiare milioni di singoli neuroni senza riuscire ad avere la minima idea delle capacità funzionali del cervello. Solo quando i neuroni sono collegati tra loro in un determinato modo, le proprietà emergenti, come la capacità di pensiero, di giudizio e di coordinazione motoria, divengono evidenti.

### Gli organismi hanno diversi livelli di organizzazione

Il livello chimico è il più semplice livello di organizzazione e comprende gli atomi e le molecole. Un atomo è la più piccola unità di un elemento chimico che ha in sé le proprietà caratteristiche di quell'elemento. Ad esempio, un atomo di ferro è la più piccola quantità di ferro. Gli atomi si combinano chimicamente per formare le molecole . Due atomi di idrogeno si combinano con un atomo di ossigeno per formare una molecola di acqua. Sebbene composta da due tipi di atomi che sono gas, l'acqua è un liquido con molteplici proprietà: questo è un esempio di proprietà emergente.
A livello cellulare, diversi tipi di atomi e molecole possono associarsi tra loro per formare le cellule. Comunque, una cellula è molto più che una composizione di atomi e molecole; le sue proprietà emergenti la rendono la struttura di base e l'unità funzionale della vita: è il più semplice componente della materia vivente in grado di svolgere tutte le attività necessarie per la vita.
Durante l'evoluzione degli organismi pluricellulari, le cellule si sono associate per formare i tessuti . Per esempio, la maggior parte degli animali presenta il tessuto muscolare e il tessuto nervoso; i vegetali hanno l'epidermide, un tessuto che serve come copertura di protezione, e i tessuti vascolari per il movimento di materiali attraverso il corpo della pianta. Nella maggior parte degli organismi complessi, i tessuti si associano in strutture funzionali chiamate organi , come il cuore e lo stomaco negli animali, oppure le radici e le foglie nelle piante. Negli animali, le principali funzioni biologiche sono espletate da gruppi di organi coordinati tra loro, chiamati sistemi . Ne sono un esempio il sistema circolatorio e il sistema digerente. Gli organismi pluricellulari sono formati da sistemi che funzionano insieme con grande precisione. Anche in questo caso, sono evidenti le proprietà emergenti: un organismo è molto più dei sistemi di organi che lo compongono.

### Esistono diversi livelli di organizzazione ecologica

Gli organismi interagiscono tra loro dando luogo a livelli ancora più complessi di organizzazione biologica. Tutti i membri di una specie che vivono contemporaneamente in una stessa area geografica costituiscono una popolazione . Le popolazioni di organismi che vivono in un'area particolare ed interagiscono tra loro formano una comunità . Così, una comunità può essere composta da centinaia di tipi diversi di forme viventi.
Una comunità, insieme all'ambiente nel quale si trova, è detta ecosistema . Quest'ultimo può essere piccolo come uno stagno (o addirittura una pozzanghera) o vasto come le Grandi Pianure del Nord America o la

tundra artica. L'insieme di tutti gli ecosistemi esistenti sulla Terra è definito biosfera . La biosfera comprende tutto ciò che è abitato dagli organismi viventi – l'atmosfera, l'idrosfera (l'acqua in ogni sua forma) e la litosfera (la crosta terrestre). Lo studio di come gli organismi siano in relazione tra loro e con il loro ambiente fisico è chiamato ecologia (dal greco oikos, che significa casa).

**Verifica**

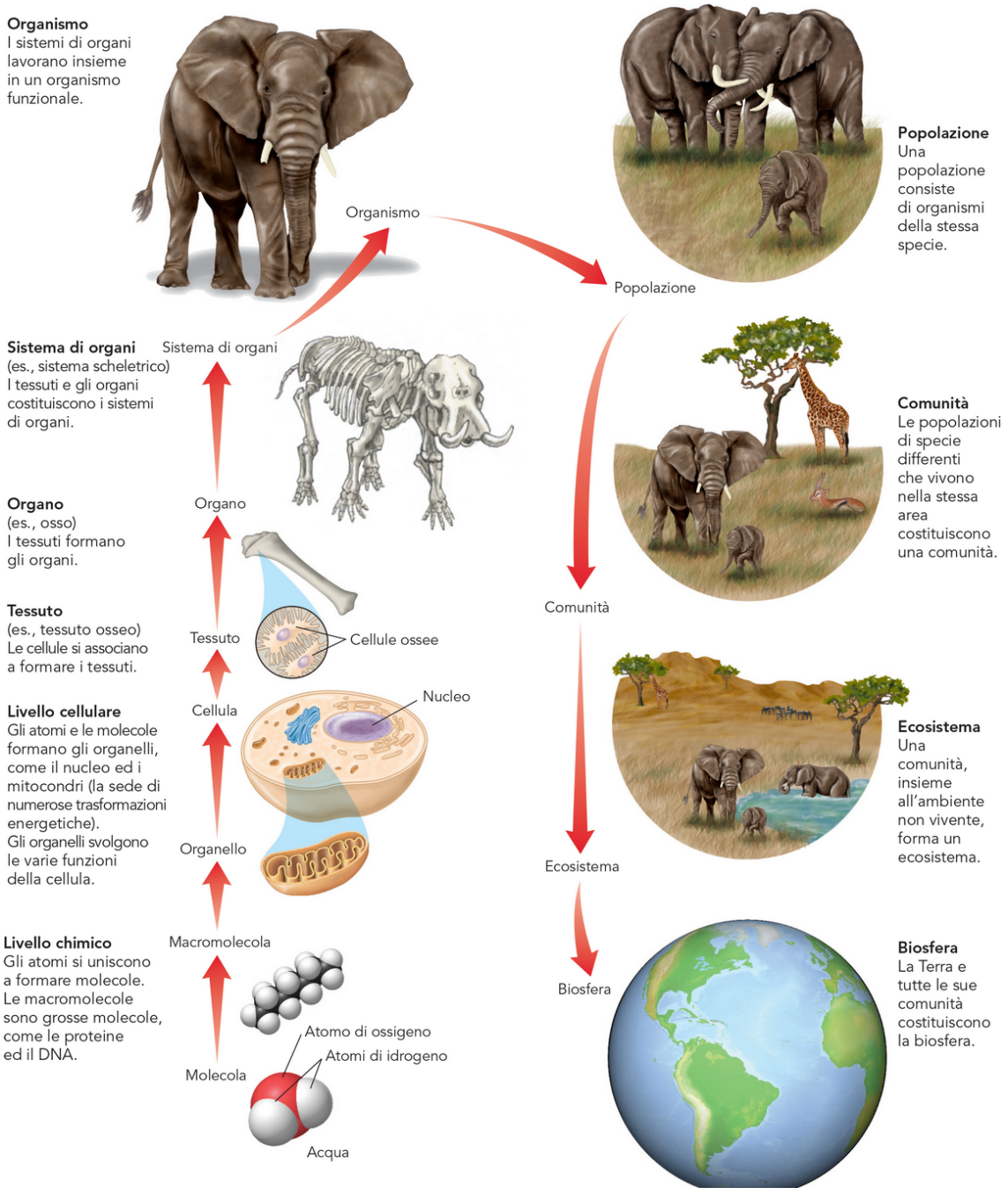
- Quali sono i livelli di organizzazione all'interno di un organismo?
- Quali sono i livelli di organizzazione ecologica?

## 1.4 LA TRASMISSIONE DELL'INFORMAZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Riassumere l'importanza della trasmissione dell'informazione all'interno e fra i sistemi viventi, fornendo esempi specifici.

Per crescere, svilupparsi, avere un metabolismo autoregolato, essere reattivo e riprodursi, un organismo deve possedere istruzioni precise e le sue cellule devono essere in grado di comunicare. L'informazione di cui necessita un essere vivente per espletare queste funzioni è codificata ed inviata sotto forma di sostanze chimiche e di impulsi elettrici. Gli organismi devono anche comunicarsi l'informazione vicendevolmente.




←FIGURA 1-6
*La gerarchia dell'organizzazione vivente*

### Il DNA trasmette l'informazione da una generazione all'altra

Dagli uomini nascono solo bambini e non giraffe o cespugli di rose. Negli organismi che si riproducono in modo sessuato, ogni figlio è una combinazione delle caratteristiche dei suoi genitori. Nel 1953, James Watson e Francis Crick scoprirono la struttura dell'acido deossiribonucleico, più comunemente conosciuto come DNA, la grande molecola che costituisce i geni , le unità di base del materiale ereditario ( FIG. 1-7 ). Una molecola di DNA consiste di due catene di atomi avvolte a formare un'elica. Ogni catena

è costituita da una sequenza di subunità chimiche, dette nucleotidi . Nel DNA sono presenti quattro tipi di nucleotidi e ciascuna sequenza formata da tre nucleotidi rappresenta una parte del codice genetico.
La scoperta di Watson e Crick portò alla comprensione di tale codice genetico. L'informazione codificata nelle sequenze di nucleotidi del DNA trasmette l'informazione genetica da una generazione all'altra. Questo codice, paragonabile al nostro alfabeto, può codificare una miriade di istruzioni per lo sviluppo di organismi diversi come batteri, rospi e sequoie. Il codice genetico è un eclatante esempio dell'unicità della vita perché è universale, ovvero virtualmente identico in tutti gli organismi.

## L'informazione è trasmessa da segnali chimici ed elettrici

I geni sono responsabili del controllo, dello sviluppo e del funzionamento di ciascun organismo. Il DNA contiene la "ricetta" per creare tutte le proteine necessarie all'organismo. Le proteine sono grosse molecole importanti nel determinare la struttura e la funzione delle cellule e dei tessuti. Le cellule nervose, ad esempio, sono diverse dalle cellule muscolari soprattutto perché contengono proteine di tipo diverso.
Alcune proteine svolgono un ruolo importante nella comunicazione all'interno e fra le cellule. Certe proteine sulla superficie di una cellula servono come marcatori, per far sì che altre cellule le "riconoscano". Altre proteine presenti sulla superficie della cellula servono come recettori in grado di legarsi con dei messaggeri chimici.
Le cellule usano le proteine e molti altri tipi di molecole per comunicare. In un organismo pluricellulare, le cellule producono composti chimici, come gli ormoni , che trasmettono segnali ad altre cellule. Gli ormoni ed altri messaggeri chimici possono segnalare a cellule presenti in organi distanti di secernere una determinata sostanza. In tal modo, i segnali chimici aiutano a regolare la crescita, lo sviluppo e i processi metabolici. I meccanismi coinvolti nella segnalazione cellulare spesso includono sequenze biochimiche complesse.

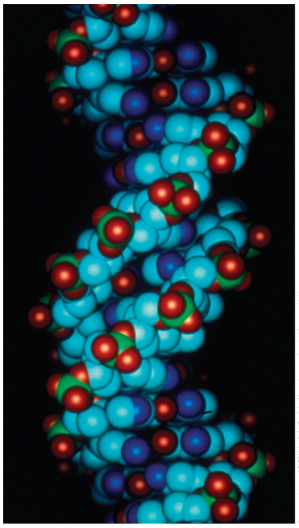


FIGURA 1-7 DNA
*Gli organismi trasmettono l'informazione da una generazione alla successiva attraverso il loro DNA, il materiale ereditario. Come mostrato in questo modello, il DNA consiste di due catene di atomi avvolte ad elica. Ogni catena consiste di subunità chiamate nucleotidi. La sequenza dei nucleotidi costituisce il codice genetico.*

La segnalazione cellulare è un'area di ricerca molto intensa. Uno dei campi principali di interesse è stato il trasferimento di informazioni tra cellule del sistema immunitario. Una conoscenza più approfondita di come le cellule comunichino tra loro permette nuove scoperte su come il nostro corpo riesca a proteggersi da organismi patogeni. Imparare a manipolare i segnali delle cellule può portare alla scoperta di nuovi metodi utilizzabili per indirizzare i farmaci all'interno delle cellule e di nuovi trattamenti contro il cancro ed altre patologie.
Molti organismi usano i segnali elettrici per trasmettere le informazioni. La maggior parte degli animali ha un sistema nervoso in grado di trasmettere informazioni sia per mezzo di impulsi elettrici che di molecole chiamate neurotrasmettitori . Le informazioni trasmesse da una parte all'altra del corpo sono importanti nella regolazione dei processi vitali. Negli animali complessi, il sistema nervoso trasmette i segnali dai recettori sensoriali, come gli occhi e le orecchie, al cervello, informando l'animale dei cambiamenti che avvengono nell'ambiente esterno.
Le informazioni possono essere trasmesse anche da un individuo ad un altro: tra i meccanismi utilizzati per questo tipo di comunicazione vi sono il rilascio di composti chimici e gli stimoli visivi e sonori.
Normalmente gli organismi utilizzano una combinazione di diversi tipi di segnali di comunicazione. Per esempio, un cane può segnalare l'aggressività abbaiando, utilizzando una particolare espressione facciale e posizionando le orecchie all'indietro. Molti animali effettuano complessi rituali di corteggiamento, durante i quali mostrano una parte del loro corpo, spesso particolarmente colorata, per attrarre il compagno.

## Verifica

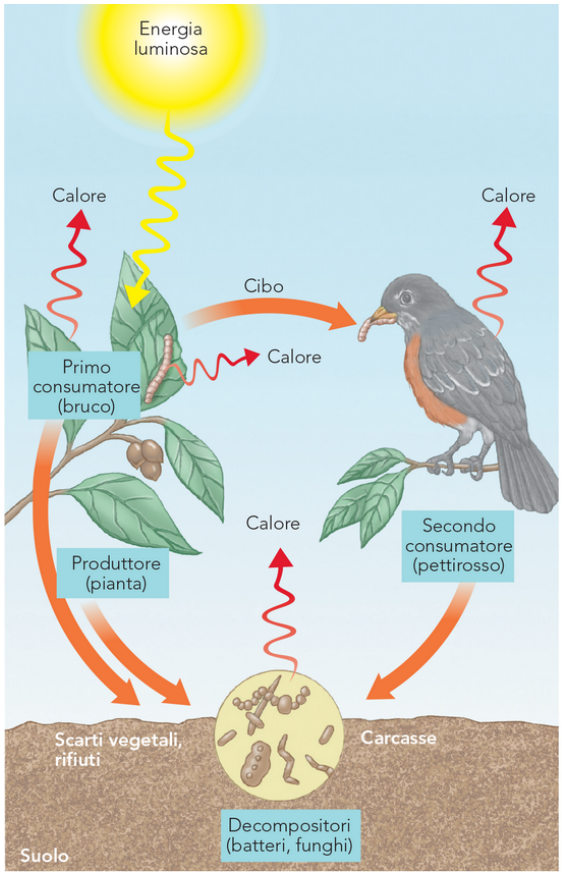
- Qual è la funzione del DNA?
- Fate due esempi di segnalazione cellulare.

# 1.5 L'ENERGIA DELLA VITA

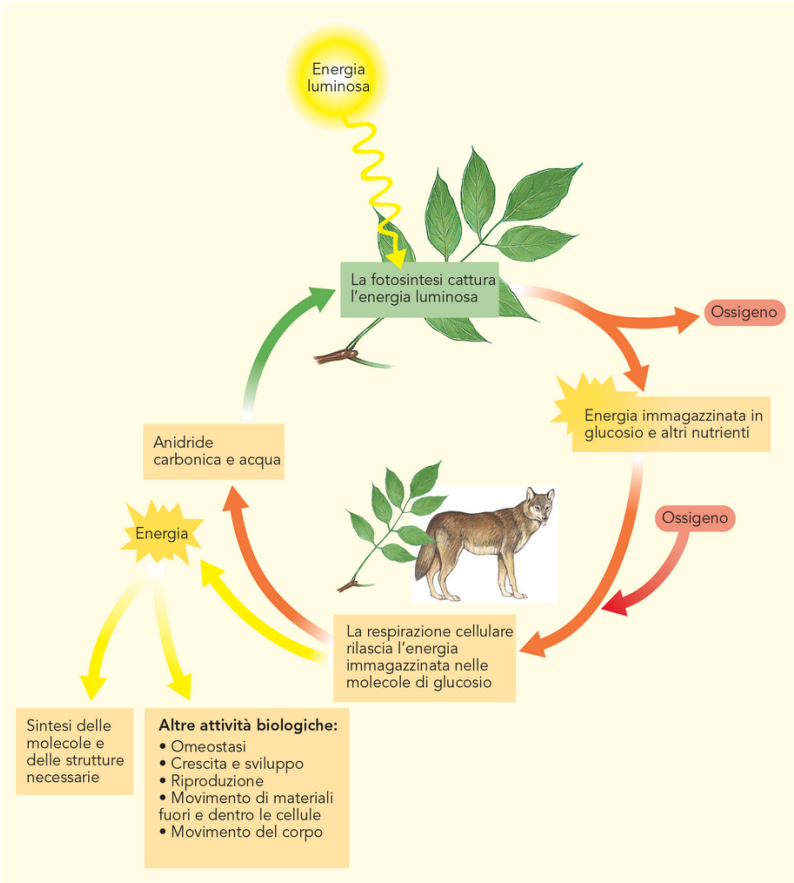
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Riassumere il flusso di energia attraverso gli ecosistemi, mettendo a confronto il ruolo di produttori, consumatori e decompositori.

La vita sulla Terra dipende dall'energia continuamente emanata dal sole. Tutte le attività di una cellula o di un organismo richiedono energia. Ogni volta che viene utilizzata energia per eseguire un lavoro di tipo biologico, parte di essa viene trasformata in calore e dispersa nell'ambiente.
Tutti i processi chimici e le trasformazioni energetiche che avvengono all'interno delle cellule degli organismi prendono il nome di metabolismo. L'energia è necessaria per sostenere le attività metaboliche essenziali per la crescita, la riparazione ed il so stentamente. Ciascuna cellula di un organismo richiede nutrienti che contengano energia. Durante la respirazione cellulare , le cellule catturano l'energia rilasciata da molecole nutrienti attraverso una serie di reazioni chimiche ( FIG. 1-8 ) regolate attentamente. Tale energia può essere utilizzata per il lavoro cellulare oppure per sintetizzare nuovi componenti cellulari. Tutte le cellule effettuano la respirazione cellulare.




**PUNTO CHIAVE** La maggior parte dell'energia per la vita è energia luminosa del sole, che viene catturata durante la fotosintesi. Parte di questa energia viene immagazzinata nei legami chimici di glucosio e di altri nutrienti.




Così come i singoli individui, anche gli ecosistemi dipendono da un continuo apporto di energia. Un ecosistema autosufficiente è costituito da tre tipi di organismi – produttori, consumatori e decompositori – e da un ambiente fisico appropriato per la loro sopravvivenza. Tali organismi dipendono l'uno dall'altro e dall'ambiente per le sostanze nutritive, l'energia, l'ossigeno e l'anidride carbonica. Tuttavia, il flusso di energia è a senso unico. Gli organismi non sono in grado né di creare energia né di utilizzarla completamente. Durante ogni trasformazione energetica, parte dell'energia è dispersa nell'ambiente sotto forma di calore e non è più utilizzabile dagli organismi ( FIG. 1-9).

I produttori , o autotrofi , sono piante, alghe e certi batteri che possono produrre il loro cibo da materiale semplice. La maggior parte di questi organismi utilizza la luce solare come fonte di energia ed attua la fotosintesi, processo nel quale molecole complesse sono sintetizzate partendo da anidride carbonica e acqua. L'energia luminosa, trasformata in energia chimica, è accumulata nei legami chimici delle molecole di cibo prodotte. L'ossigeno, che è necessario non solo alle cellule vegetali ma anche alle cellule della maggior parte degli organismi, è un sottoprodotto finale della fotosintesi:

$$\text{anidride carbonica} + \text{acqua} + \text{energia luminosa} \longrightarrow \text{glucosio} + \text{ossigeno}$$

Gli animali sono consumatori , o eterotrofi , organismi che dipendono dai produttori per cibo, energia e ossigeno. Essi ricavano energia degradando gli zuccheri e altre

molecole originariamente prodotte durante la fotosintesi. Quando durante la respirazione cellulare si ha la rottura dei legami chimici, l'energia in essi immagazzinata diviene disponibile per i processi vitali:

I consumatori contribuiscono al mantenimento dell'equilibrio dell'ecosistema, per esempio producendo l'anidride carbonica che è necessaria ai produttori. (È importante sottolineare che anche i produttori effettuano la respirazione cellulare). Il metabolismo di consumatori e produttori contribuisce al mantenimento della vitale miscela di gas nell'atmosfera.
La maggior parte di batteri e funghi sono decompositori , cioè organismi eterotrofiche ottengono il nutrimento dalla degradazione di materiali organici non viventi, come rifiuti, foglie e rami morti e corpi di organismi morti. Attraverso tale processo di ottenimento dell'energia, i decompositori fanno sì che i componenti di questi materiali possano essere riutilizzati. Se non esistessero i decompositori, le sostanze nutritive rimarrebbero intrappolate negli organismi morti e gli elementi necessari ai sistemi viventi sarebbero rapidamente esauriti.

**Verifica**

- Quali componenti pensate che debba possedere un ecosistema forestale in equilibrio?
- In che modo i consumatori dipendono dai produttori? E dai decompositori? Includete considerazioni sull'energia nella vostra risposta.

## 1.5 L'EVOLUZIONE: Il concetto di base unificante della biologia

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Descrivere il sistema di nomenclatura binomiale utilizzando vari esempi specifici e classificare un organismo (come l'uomo) per dominio, regno, phylum, classe, ordine, famiglia, genere e specie.
7. Identificare i tre domini e i sei regni di organismi viventi e fornire esempi di organismi assegnati a ciascun gruppo.
8. Fornire una breve visione d'insieme della teoria dell'evoluzione e spiegare perché essa rappresenta il principale concetto unificante della biologia.
9. Applicare la teoria della selezione naturale ad un dato adattamento, suggerendo una spiegazione logica di come l'adattamento possa essersi evoluto.

L' evoluzione è il processo con il quale le popolazione di organismi cambiano nel tempo. La teoria evoluzionistica è diventa il più importante concetto unificante della biologia. Come sarà discusso in seguito, l'evoluzione coinvolge il passaggio di geni per nuovi tratti da una generazione all'altra, generando differenze nelle popolazioni.
Alcuni elementi tipici di una prospettiva evoluzionistica sono presenti in tutti i campi della biologia. I biologi cercano di capire la struttura, la funzione e il comportamento degli organismi e le loro interazioni considerandoli alla luce di un lungo e continuo processo evolutivo. Anche se il discorso sull'evoluzione sarà affrontato in maniera più approfondita nel Capitolo 18 , daremo qui dei brevi cenni che permetteranno di capire altri aspetti della biologia. Innanzitutto, esamineremo il modo in cui i biologi classificano i milioni di organismi diversi che si sono evoluti, e in seguito riassumeremo i meccanismi che guidano l'evoluzione.

### I biologi usano un sistema binomiale per la nomenclatura degli organismi

Sono state scientificamente identificate circa 1,8 milioni di specie di organismi (attualmente esistenti) e i biologi stimano che ne restino ancora milioni da scoprire. Per studiare la vita, abbiamo bisogno di un sistema per organizzare, classificare e assegnare un nome alle sue molteplici forme. La sistematica è il campo della biologia che studia la diversità degli organismi e le loro correlazioni evolutive. Un aspetto della sistematica, chiamato tassonomia , è la scienza che studia la nomenclatura e la classificazione degli organismi. Nel XVIII secolo, il botanico svedese Carlo Linneo elaborò un metodo di nomenclatura e classificazione gerarchico. I biologi utilizzano ancora oggi questo sistema, con qualche modifica.

La specie è un gruppo di organismi con simile struttura, funzione e comportamento. Una specie consiste in una o più popolazioni i cui membri sono capaci di accoppiarsi tra loro; in natura essi non si accoppiano con membri di altre specie. I membri di una popolazione contribuiscono a un comune pool genico (tutti i geni presenti in una popolazione) e derivano da un antenato comune. Le specie strettamente correlate tra loro possono essere unite in un livello di classificazione superiore, il genere.

Il sistema di Linneo viene anche detto sistema di nomenclatura binomiale poiché a ciascuna specie è assegnato un nome doppio. La prima parte del nome indica il genere, la seconda parte, l' epiteto specifico , indica una particolare specie appartenente a quel genere. Il nome specifico spesso descrive una certa

caratteristica dell'organismo ed è sempre preceduto dal nome generico scritto per intero oppure abbreviato. L'iniziale del nome che indica il genere è sempre maiuscola, mentre l'iniziale del nome che indica la specie è minuscola. Entrambi i nomi sono scritti in corsivo o sottolineati. Ad esempio, il cane, *Canis familiaris* (abbreviato C. familiaris ), e il lupo selvatico, *Canis lupus* ( C. lupus ), appartengono allo stesso genere; invece, il gatto ( Felis catus ) appartiene ad un altro genere. Il nome scientifico della quercia americana è *Quercus alba*, mentre il nome della quercia europea è *Quercus robur*. Un'altra pianta, il salice bianco, *Salix alba,* appartiene ad un genere diverso. Il nome scientifico della nostra specie è Homo sapiens ("uomo saggio").

## La classificazione tassonomica è gerarchica

Così come le specie strettamente correlate possono essere raggruppate in un genere, un certo numero di generi tra loro correlati costituisce una famiglia . A loro volta, le famiglie possono essere raggruppate in ordini , gli ordini in classi e le classi in phyla (sing., phylum ). I phyla possono essere raggruppati in regni , e i regni sono raggruppati in domini . Ad ogni livello, ciascun raggruppamento formale rappresenta un taxon (pl., taxa ). Da notare che ogni taxon è più ampio di quello che segue; insieme, essi formano una gerarchia che va dalle specie ai domini ( TABELLA 1-1 ; FIG. 1-10 ).

Consideriamo un esempio specifico. La famiglia dei Canidi comprende tutti i carnivori (animali che mangiano prevalentemente carne) simili al cane. Questa famiglia comprende 12 generi e circa 34 specie viventi. Le famiglie dei Canidi, degli Ursidi (orsi) e dei Felidi (animali simili al gatto), insieme a molte altre famiglie che si cibano prevalentemente di carne, appartengono all'ordine dei Carnivori. Questi, insieme ai Primati (l'ordine al quale appartengono l'uomo e gli scimpanzé) ed altri ordini, appartengono alla classe Mammalia (mammiferi). La classe Mammalia è raggruppata, insieme a diverse altre classi che includono i pesci, gli anfibi, i rettili e gli uccelli, nel subphylum Vertebrata. I vertebrati appartengono al phylum Chordata, che fa parte del regno Animalia. Gli animali sono assegnati al dominio Eukarya.

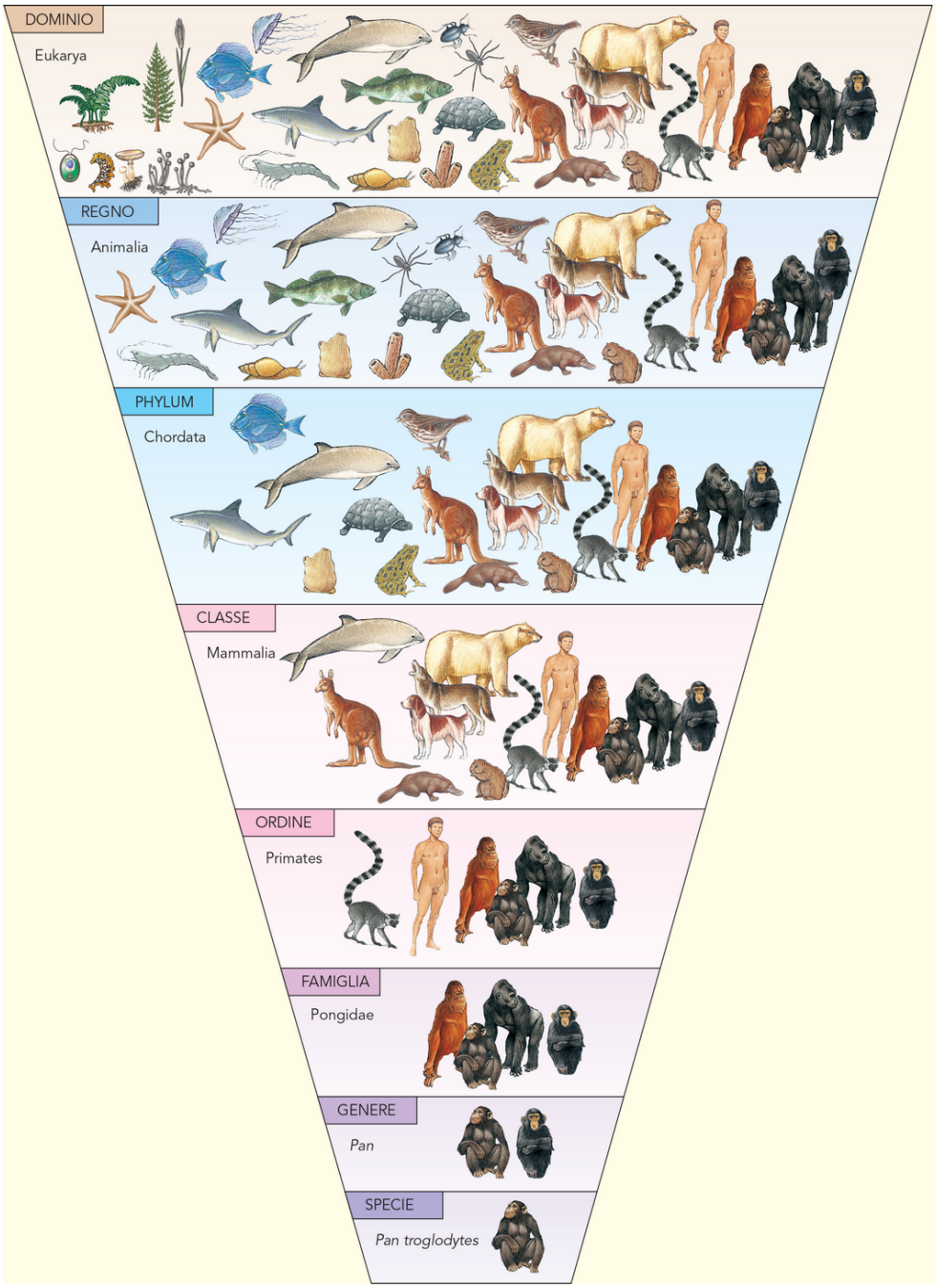
## L'albero della vita comprende tre domini e set diversi regni

La sistematica si è evoluta con l'acquisizione di nuove tecnologie che consentono di stabilire una comune origine fra i gruppi di organismi. Come apprenderemo i biologi cercano di classificare gli organismi basandosi su correlazioni evolutive. Queste correlazioni sono basate sulle caratteristiche condivise che distinguono un particolare gruppo. Un gruppo di organismi con un comune antenato è un clade . I sistematici hanno sviluppato un albero della vita , ovvero un albero genealogico che mostra le correlazioni tra gli organismi. Queste correlazioni fra organismi si basano su caratteristiche condivise, incluse le similarità nella struttura, nello sviluppo, nel comportamento e nelle molecole, così come sui reperti fossili. La FIGURA 1-11 è un cladogramma, un diagramma ad albero che mostra l'albero della vita come è attualmente interpetrato. Quando i ricercatori riportano nuove scoperte la classificazione degli organismi cambia e i rami dell'albero della vita devono essere ridisegnati. Benché la realizzazione dell'albero della vita sia un lavoro ancora in corso, la maggior parte dei biologi attualmente assegna gli organismi a tre domini e a diversi regni o clade.

I batteri sono da tempo riconosciuti come procarioti unicellulari; essi differiscono da tutti gli altri organismi (eccetto che dagli Archea) in quanto procarioti . Il microbiologo Carl Woese è stato un pioniere nello sviluppo di approcci molecolari alla sistematica. Woese e i suoi colleghi selezionarono una molecola nota come RNA ribosomale (rRNA) della subunità minore, che partecipa al processo di sintesi proteica in tutti gli organismi. Poiché la sua struttura molecolare è alquanto differente nei vari organismi, Woese ipotizzò che la composizione molecolare dell'rRNA fosse più simile in organismi strettamente correlati che in organismi lontanamente imparentati.

| Categoria | Gatto | Uomo | Quercia bianca |
|---|---|---|---|
| Dominio | Eukarya | Eukarya | Eukarya |
| Regno | Animalia | Animalia | Plantae |
| Phylum | Chordata | Chordata | Anthophyta |
| Subphylum | Vertebrata | Vertebrata | Nessuno |
| Classe | Mammalia | Mammalia | Eudicotyledones |
| Ordine | Carnivora | Primates | Fagales |
| Famiglia | Felidae | Hominidae | Fagaceae |
| Genere | *Felis* | *Homo* | *Quercus* |
| Specie | *Felis catus* | *Homo sapiens* | *Quercus alba* |

TABELLA 1-1 *Classificazione del gatto, dell'uomo e della quercia bianca*

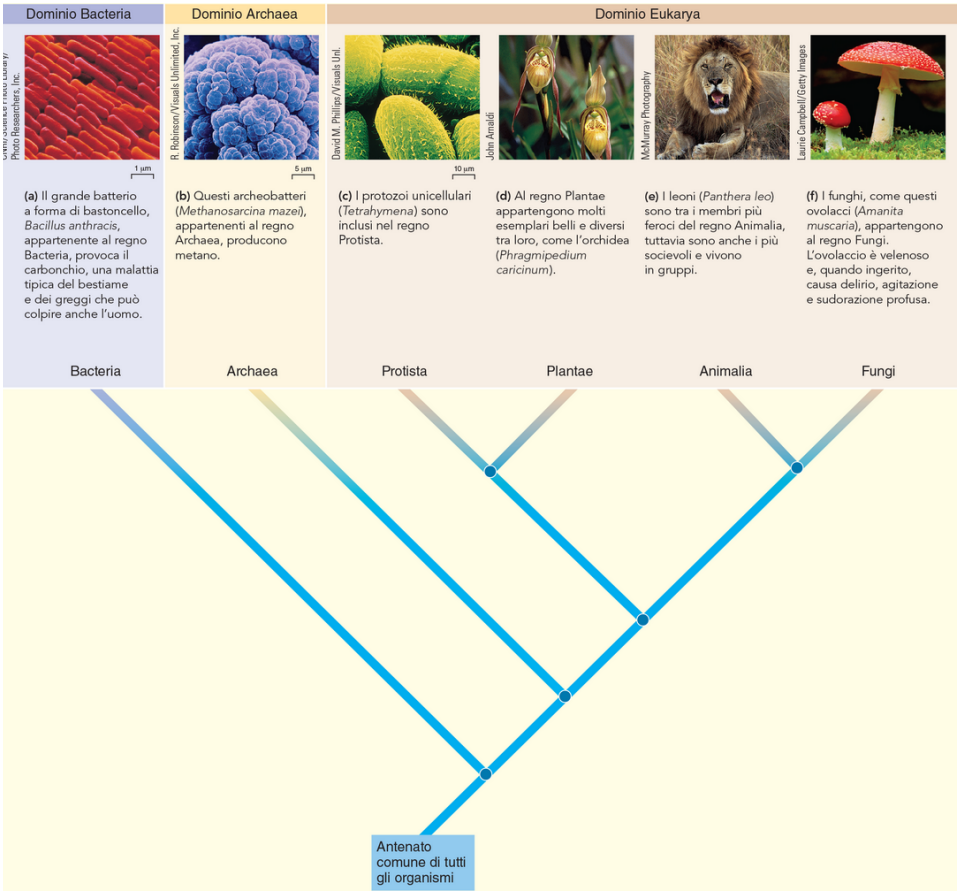



**PUNTO CHIAVE** I biologi utilizzano uno schema di classificazione gerarchico con una serie di categorie tassonomiche che vanno dalla specie al dominio; ciascuna categoria è più generale ed inclusiva di quella che segue.

FIGURA 1-10 Classificazione dello scimpanzé ( Pan troglodytes )

I risultati di Woese hanno dimostrato che esistono due gruppi distinti di procarioti. Egli ha stabilito il livello tassonomico di dominio ed ha assegnato i procarioti a due domini: Bacteria ed Archaea . Gli eucarioti , organismi con cellule eucariotiche, sono classificati nel dominio Eukarya.
Il lavoro di Woese fu ampiamente accettato nella metà degli anni ’90.

*Il sistema di classificazione utilizzato in questo testo prevede che ogni organismo venga assegnato ad uno dei sei regni.* Ai domini dei procarioti corrispondono due regni: il regno Archaea corrisponde al dominio Archaea e il regno Bacteria corrisponde al dominio Bacteria. I rimanenti 4 regni sono assegnati al dominio Eukarya.
I Protisti (per esempio alghe, muffe mucillaginose, amebe e ciliati) sono unicellulari, coloniali o semplici oppure organismi pluricellulari semplici che hanno un’organizzazione cellulare eucariota. La parola protista, dal greco “primo in assoluto”, riflette l’idea che i Protisti furono i primi eucarioti ad evolversi. I protisti sono principalmente organismi acquatici con differenti strutture, tipi di riproduzione, modi di nutrizione e modi di vivere.
Alcuni protisti si sono adattati a svolgere la fotosintesi. In base soprattutto a dati molecolari che hanno chiarito molte correlazioni evolutive tra eucarioti, i protisti non sono più considerati un regno. Come apprenderemo nel Capitolo 26 , molti cladi di protisti sono stati identificati e molti biologi adesso classificano i protisti in cinque “supergruppi”.
I membri del regno Plantae sono organismi pluricellulari complessi in grado di svolgere attività fotosintetica. Alcune caratteristiche delle piante sono la cuticola (una copertura cerosa che ricopre le parti esposte all’aria riducendo le perdite d’acqua) e gli stomi (piccole aperture presenti nel fusto e nelle foglie che permettono lo scambio gassoso); molte piante possiedono gametangi pluricellulari (organi che proteggono le cellule riproduttive in via di sviluppo). Il regno Plantae comprende sia le piante non vascolarizzate (i muschi) che quelle vascolarizzate (felci, conifere, piante a fiori), che hanno tessuti vascolarizzati per il trasporto di materiali attraverso il corpo della pianta. La maggior parte delle piante è adattata ad ambienti terrestri.




**PUNTO CHIAVE** Questo cladogramma illustra le relazioni evolutive tra i tre settori e tra i principali gruppi di organismi che appartengono a questi domini.

FIGURA 1-11 Una panoramica dei regni della vita
I biologi assegnano ciascun organismo a tre domini e a diversi regni e altri gruppi. I protisti non formano clade e non sono più considerati un regno. Essi sono suddivisi in cinque "supergruppi" (non mostrati).

Il regno Fungi è composto da lieviti, muffe e funghi. Questi organismi non sono fotosintetici; essi ottengono nutrienti mediante la secrezione di enzimi digestivi e l'assorbimento del cibo predigerito. Il regno Animalia è formato da organismi pluricellulari che devono mangiare altri organismi per trarne nutrimento. Gli animali superiori hanno un alto grado di specializzazione dei tessuti e di organizzazione del corpo. Tutto ciò ha dato luogo ad organi di senso complessi, al sistema nervoso e al sistema muscolare. La maggior parte degli animali si riproduce sessualmente; hanno cellule uovo grandi e non mobili (non si muovono da un posto all'altro) e piccole cellule spermatiche con flagello che li spingono nel loro viaggio per trovare la cellula uovo.
Abbiamo fornito una presentazione dei gruppi di organismi che costituiscono l'albero della vita. Nel testo, si farà riferimento a questi gruppi ogni volta che verranno presi in considerazione i diversi problemi che gli esseri viventi devono affrontare e i vari tipi di adattamento che si sono sviluppati in risposta ad essi. Una più dettagliata presentazione della diversità della vita si può trovare nei Capitoli 23 - 32 .

## Le specie si adattano in risposta ai cambiamenti ambientali

Ciascun organismo è il prodotto di complesse interazioni tra i geni ereditati dai suoi antenati e le condizioni ambientali. Se tutti gli organismi appartenenti ad una specie fossero identici tra loro, ogni cambiamento ambientale potrebbe rivelarsi disastroso per tutti e la specie si estinguerebbe. Gli adattamenti ai cambiamenti ambientali sono il risultato di processi evolutivi che avvengono in lunghi periodi e coinvolgono molte generazioni.

## La selezione naturale è un importante meccanismo mediante il quale procede l'evoluzione

Sebbene il concetto di evoluzione sia stato affrontato attraverso i secoli da filosofie naturalisti, Charles Darwin e Alfred Wallace furono i primi a portare all'attenzione generale la teoria dell'evoluzione e a suggerire un meccanismo plausibile, la selezione naturale , che potesse spiegarla. Nel suo libro *L'Origine delle specie attraverso la selezione naturale,* pubblicato nel 1859, Darwin sintetizzò molte delle nuove scoperte della biologia e della geologia. Egli presentò numerose prove del fatto che le forme di vita presenti sulla Terra discendono, attraverso varie modifiche, da forme preesistenti. Il suo lavoro suscitò molte controversie tra religiosi e scienziati, alcune delle quali non ancora sopite.
La teoria di Darwin ha delineato la moderna biologia; inoltre, ha dato spunto a molte ricerche scientifiche che hanno fornito ulteriori prove del fatto che l'evoluzione è alla base della gran diversità esistente tra gli organismi che vivono attualmente sul nostro pianeta. Ancora oggi, i dettagli del processo dell'evoluzione sono fra i maggiori argomenti di ricerca e dibattito.
Darwin basò la sua teoria della selezione naturale sulle seguenti osservazioni:

1. Ogni membro di una specie è diverso dagli altri.
2. Nascono molti più organismi di quelli in grado di sopravvivere fino alla riproduzione ( FIG. 1-12 ).
3. Dal momento che sono generati più individui di quanti l'ambiente possa sostenere, gli organismi devono competere per le risorse necessarie ma limitate, come il cibo, la luce del sole e lo spazio.

Inoltre alcuni organismi vengono uccisi da predatori, da organismi patogeni o da condizioni naturali sfavorevoli, come cambiamenti climatici. Quali organismi è più probabile che sopravvivano?

4. Gli individui che possiedono caratteristiche vantaggiose per ottenere ed utilizzare le risorse, fuggire dai predatori, resistere agli agenti patogeni e contrastare i cambiamenti nell'ambiente sopravvivono più facilmente fino al raggiungimento della maturità riproduttiva. Gli organismi che sopravvivono si riproducono e trasmettono le caratteristiche vantaggiose alla loro prole e alle generazioni future. In questo modo, quegli individui che sono meglio adattati, in media, si riproducono di più rispetto al resto della popolazione. A causa di questa riproduzione differenziale, una percentuale maggiore di individui si adatta alle condizioni e agli ostacoli ambientali prevalenti. L'ambiente seleziona gli organismi che sono meglio adattati per la sopravvivenza.

J. Serrao/Photo Researchers, Inc.

←FIGURA 1-12 *Masse di uova della rana dei boschi* (Rana sylvatica). Sono prodotte molte più uova di quante riusciranno a svilupparsi in rane adulte. Eventi casuali sono in larga misura responsabili nel determinare quali di questi organismi in via di sviluppo schiuderanno, diverranno adulti e si riprodurranno. Tuttavia, anche certi caratteri che ciascun organismo può avere contribuiscono alla probabilità di successo nel proprio ambiente. Sebbene non tutti gli organismi siano prolifici come la rana, la generalizzazione che nascono più organismi rispetto a quelli che sopravvivono è vera per tutti gli esseri viventi.

FIGURA 1-13→ Adattamento e diversificazione negli uccelli "honeycreeper" delle Hawaii Tutte e tre le specie qui mostrate sono a rischio di estinzione, principalmente a causa della distruzione dei loro habitat ad opera dell'uomo.

Jack Jeffrey, Inc.

**(a)** Il becco di questo maschio 'Akiapola'au (*Hemignathus munroi*) è adattato per estrarre le larve degli insetti dalla corteccia. La mandibola inferiore è utilizzata per beccare e togliere la corteccia, mentre quella superiore e la lingua rimuovono la preda.

Jack Jeffrey, Inc.

**(b)** 'I'iwi (*Vestiaria coccinea*) sui fiori di 'Ohi'a. Il becco è adattato per la suzione del nettare dai fiori tubolari.

Jack Jeffrey, Inc.

**(c)** Palila (*Loxiodes bailleui*) su un albero. Il becco grosso e corto è utilizzato per cibarsi dei semi non maturi dell'albero; l'uccello si ciba anche di insetti, bacche e giovani foglie.

Occorre sottolineare che *l'adattamento comporta cambiamenti nelle popolazioni piuttosto che nei singoli individui.*
Mentre Darwin non conosceva il DNA e non poteva comprendere il meccanismo dell'ereditarietà, noi siamo invece in grado di comprendere che le differenze esistenti tra gli organismi sono il risultato di geni differenti che codificano ciascuna caratteristica. Alla base di queste variazioni ci sono mutazioni casuali, cioè cambiamenti di natura chimica o fisica nel DNA che sono persistenti e che possono essere ereditati. *Le mutazioni modificano l'informazione genetica e forniscono la materia prima per l'evoluzione.*

## Le popolazioni si evolvono in funzione di pressioni selettive derivate da cambiamenti ambientali

Tutti i geni presenti in una popolazione ne costituiscono il pool genico . Una popolazione, in virtù del suo pool genico, è un serbatoio di variazioni. La selezione naturale agisce sugli individui facenti parte di una popolazione e favorisce quegli organismi con caratteristiche tali da permettere loro di far fronte alle pressioni esercitate dall'ambiente. Tali organismi sono quelli che più probabilmente sopravvivranno e genereranno prole. Poiché questi organismi vincenti possono trasmettere la loro "ricetta" genetica per la sopravvivenza, i loro caratteri diventano quelli più frequenti nella popolazione. Se si considerano lunghi periodi di tempo, poiché gli organismi cambiano continuamente (e poiché l'ambiente stesso cambia continuamente operando pressioni selettive diverse), i membri di una popolazione diventano sempre meglio adattati al loro ambiente e si modificano progressivamente rispetto ai loro antenati.
Quando i membri di una popolazione si adattano alla pressione esercitata dall'ambiente e sviluppano nuove opportunità per trovare il cibo o per salvarsi dalla predazione, la popolazione si diversifica e possono evolvere nuove specie. Un buon esempio è rappresentato da un gruppo di uccelli correlati, gli "honeycreeper" delle Hawaii ( *N.d.T. Gli honeycreeper appartengono alla famiglia Drepanididae*).
Quando i loro antenati raggiunsero per la prima volta le isole, erano presenti pochi altri uccelli e quindi vi era poca competizione. La variabilità genetica esistente tra gli honeycreeper permise ad alcuni di essi di spostarsi in zone differenti dal punto di vista trofico (della nutrizione) e, nel tempo, si ebbe l'evoluzione di specie con vari tipi di becchi ( FIG. 1-13 , vedi anche Capitolo 20 e Fig. 20-18 ). Attualmente, alcuni di questi

uccelli hanno becchi molto lunghi e curvati per permettere la suzione del nettare da fiori tubulari. Altri hanno becchi grossi e corti per catturare gli insetti e altri ancora sono adattati per mangiare i semi.

**Verifica**

- Che cos'è il sistema di nomenclatura binomiale?
- Quali sono i tre domini e i sei regni di organismi viventi?
- Come potreste spiegare gli artigli e i denti affilati delle tigri in termini di selezione naturale?

## 1.7 IL PROCEDIMENTO SCIENTIFICO

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Progettare un esperimento attraverso cui si possa verificare una data ipotesi, utilizzando la procedura e la terminologia del metodo scientifico.
11. Comparare gli approcci riduzionistico e dei sistemi alla ricerca biologica.

La biologia è una scienza. La parola scienza deriva dal latino *scire*, che significa sapere. La scienza è un modo di pensare ed un metodo per studiare sistematicamente il mondo che ci circonda. Noi verifichiamo idee e, sulla base dei nostri risultati, modifichiamo o rigettiamo tali idee. Il procedimento scientifico è investigativo, dinamico e spesso controverso. Le osservazioni fatte, le questioni poste e il modo di condurre gli esperimenti dipendono dalla creatività dello scienziato stesso. Comunque, il procedimento varia nel tempo in quanto è influenzato da fattori culturali, sociali, storici e tecnologici.

Al contrario, il metodo scientifico comporta una serie di passaggi ordinati. Utilizzando il metodo scientifico, gli scienziati fanno osservazioni accurate, si pongono domande critiche, sviluppano ipotesi (affermazioni verificabili). Basandosi sulle proprie ipotesi, fanno delle predizioni che possano essere verificate attraverso ulteriori osservazioni oppure realizzando degli esperimenti. Raccolgono dati , informazioni che possono analizzare, spesso con l'ausilio di computer e metodi statistici sofisticati. Alla fine, interpretano i risultati dei loro esperimenti e ne traggono delle conclusioni. Come sarà discusso in seguito, gli scienziati avanzano numerose ipotesi che non possono essere verificate utilizzando in modo rigido tutti i passaggi del metodo scientifico. Piuttosto, il metodo scientifico viene adoperato come una struttura o una guida generalizzata.

I biologi lavorano sia in laboratorio sia sul campo ( FIG. 1-14 ). I campi della ricerca spaziano dallo studio della struttura dei batteri e dei virus all'interazione delle comunità nella nostra biosfera. Se il lettore deciderà di diventare un biologo ricercatore, potrà aiutare a svelare i misteri del cervello umano, scoprire nuovi ormoni che favoriscono la fioritura delle piante, identificare nuove specie di animali o batteri, o sviluppare nuove strategie di utilizzo delle cellule staminali per la cura di malattie come il cancro, l'AIDS o le malattie cardiache. Le applicazioni della ricerca biologica di base hanno portato allo sviluppo di tecnologie per i trapianti di rene, fegato e cuore, per la manipolazione dei geni, per il trattamento di molte patologie e per l'incremento della produzione mondiale di cibo. I biologi sono stati una forza determinante nel miglioramento della qualità della vita di cui molti di noi godono. Il lettore potrebbe anche decidere di dedicarsi ad alcuni campi della biologia applicata, come le scienze ambientali, l'odontoiatria, la farmacologia, la medicina o la veterinaria.

### La scienza procede per ragionamenti sistematici

La scienza procede in modo sistematico e pone molta attenzione nell'organizzare, e spesso quantificare, le conoscenze acquisite rendendole accessibili a tutti coloro che desiderano lavorarci. Sotto questo aspetto, la scienza è una questione sia personale che sociale e non è misteriosa. Chiunque ne comprenda le regole e le procedure può raccoglierne la sfida. Ciò che caratterizza la scienza è il persistente utilizzo di metodi rigorosi per l'analisi dei problemi. La scienza cerca di fornire precise informazioni su quegli aspetti dell'universo accessibili ai suoi metodi di indagine. Non cerca di sostituirsi alla filosofia, alla religione o all'arte; ma essere scienziati non preclude la possibilità di esprimersi in altri campi dell'intelletto umano ed il fatto di essere artisti non impedisce di essere anche scienziati.

Mark Moffett/Minden Pictures

FIGURA 1-14 Biologi al lavoro
Questo biologo, che sta studiando la foresta pluviale in Costa Rica, partecipa agli sforzi internazionali per lo studio ed il mantenimento delle foreste pluviali tropicali analizzando le interazioni tra gli organismi e gli effetti delle attività dell'uomo sulle foreste pluviali.

### Il ragionamento deduttivo parte da principi generali

I ragionamenti sui quali si basa il pensiero scientifico sono di tipo deduttivo ed induttivo. Nel ragionamento deduttivo, si inizia da alcune informazioni, chiamate premesse, giungendo a conclusioni che si basano su queste informazioni. Il sistema deduttivo parte da principi generali per arrivare a conclusioni specifiche. Ad esempio, se si accetta la premessa che tutti gli uccelli hanno le ali e che i passerotti sono uccelli, si può concludere deduttivamente che i passerotti hanno le ali. Il ragionamento deduttivo aiuta a scoprire la relazione tra fatti conosciuti. Un fatto è un'informazione, o conoscenza, basata sull'evidenza.

### Il ragionamento induttivo parte da osservazioni specifiche

Il ragionamento induttivo è l'opposto di quello deduttivo: si parte da osservazioni specifiche, dalle quali si tenta di trarre delle conclusioni oppure di scoprire un principio generale. Per esempio, se sappiamo che i passerotti hanno le ali e sono uccelli, e sappiamo che i pettirossi, le aquile, i piccioni e i falchi hanno le ali e sono uccelli, potremmo indurre che tutti gli uccelli hanno le ali. In questo caso, il metodo induttivo può essere usato per organizzare dati diversi in categorie utilizzabili, rispondendo a questa domanda: "che cosa hanno in comune tutti questi fatti?".

La debolezza di questo metodo è che le conclusioni derivate dall'osservazione di molti esempi sono estese a tutti i possibili esempi (generalizzazione). Formulando un principio generale, si passa da molte osservazioni a tutti i possibili esempi ( salto induttivo ). In altro modo non si potrebbe mai arrivare a generalizzazioni. Tuttavia, bisogna essere attenti alle eccezioni e alla possibilità che la conclusione non sia valida. Per esempio, il kiwi della Nuova Zelanda è un uccello senza ali funzionali ( FIG. 1-15 ). Una generalizzazione universale non potrà mai essere dimostrata definitivamente. Nelle conclusioni induttive, le generalizzazioni derivano dalla creatività della mente dell'uomo e la creatività, anche se ammirevole, non è infallibile.

## Gli scienziati fanno osservazioni accurate e si pongono domande critiche

Nel 1928, il batteriologo britannico Alexander Fleming osservò che una delle sue colture batteriche era stata contaminata da una muffa blu. Egli la rimosse ma, prima di farlo, notò che l'area contaminata dalla muffa era circondata da una zona in cui le colonie batteriche non crescevano bene. I batteri erano organismi patogeni del genere Staphylococcus, in grado di provocare ascessi ed infezioni della pelle. Di conseguenza, qualsiasi cosa potesse ucciderli era degna di interesse. Fleming conservò questa muffa, che risultò poi essere una varietà di Penicillium (muffa blu del pane). Egli isolò l'antibiotico penicillina dalla muffa. Tuttavia, ebbe difficoltà con le tecniche di coltura.

C. Dani/Peter Arnold

FIGURA 1-15 Questo animale è un uccello?
Il kiwi della Nuova Zelanda ha grosso modo le dimensioni di un pollo. Le sue piccole ali di 5 cm non sono funzionali per il volo. Superstite di un antico ordine di uccelli, il kiwi ha piume simili a peli ed altre caratteristiche che lo qualificano come un uccello.

Fleming, pur riconoscendo i potenziali benefici della penicillina, non sviluppò le tecniche chimiche necessarie per la sua purificazione e trascorsero più di dieci anni prima che si facesse un uso cospicuo di questo medicinale. Nel 1939, H. Florey e E. Chain svilupparono il metodo chimico per estrarre e quindi produrre il principio attivo penicillina dalla muffa. Florey portò la metodologia in alcuni laboratori degli USA e la penicillina fu prodotta per curare i soldati feriti durante la II Guerra Mondiale. Nel 1945, Fleming, Florey e Chain ricevettero il premio Nobel per la medicina.

## Il caso gioca spesso un ruolo importante nelle scoperte scientifiche

Fleming non si era riproposto di scoprire la penicillina. Egli ha beneficiato della crescita casuale di una muffa in una delle sue piastre di coltura. Eppure, ci si può meravigliare pensando a quante volte la stessa muffa fosse cresciuta nelle colture di altri batteriologi, i quali non erano riusciti a fare nessun collegamento, limitandosi a gettare via le loro colture contaminate. Fleming ha avuto una certa dose di fortuna, ma la sua mente era preparata a fare osservazioni e formulare interrogativi e la sua penna a pubblicare tali osservazioni. Di solito, le scoperte importanti sono fatte da coloro che hanno l'abitudine di osservare la natura in modo critico riuscendo a riconoscere un fenomeno o un problema. Ovviamente, è necessario anche avere a disposizione la tecnologia appropriata per studiare il problema.

## Un'ipotesi è un'affermazione verificabile

Gli scienziati fanno osservazioni accurate, si pongono domande critiche e sviluppano ipotesi. Un' ipotesi è una spiegazione potenziale di osservazioni o fenomeni. Le ipotesi possono essere formulate in forma di affermazioni del tipo "se... allora..." Ad esempio, se gli studenti dediti alla biologia introduttiva frequentano i corsi, allora essi all'esame avranno un voto più alto degli studenti che non frequentano i corsi.
Nei primi passaggi di una ricerca, uno scienziato pensa ad un certo numero di ipotesi possibili. Una buona ipotesi dovrebbe avere i seguenti requisiti: (1) Essere coerente con fatti ben stabiliti. (2) Essere analizzabile, cioè deve poter generare delle conclusioni definitive sia che i risultati siano positivi che negativi. Inoltre, i risultati devono essere riproducibili anche da osservatori indipendenti tra loro. (3) Essere confutabile, cioè deve esistere la possibilità di dimostrarne la non veridicità.
Dopo aver avanzato delle ipotesi, lo scienziato decide quale potrebbe e dovrebbe essere sottoposta a test sperimentali. Ma allora perché non testarle tutte? Tempo e denaro sono fattori da tenere in considerazione qualora si conduca una ricerca; bisogna quindi stabilire delle priorità per decidere quale delle ipotesi debba essere verificata per prima.

## Un'ipotesi confutabile può essere verificata

In ambito scientifico, un'ipotesi ben formulata può essere verificata. Se non si trovano prove che la sostengano, l'ipotesi viene rigettata. In altre parole, si può dimostrare che un'ipotesi è falsa. Anche i risultati che non supportano l'ipotesi possono rivelarsi preziosi e portare a nuove ipotesi. Infatti, se i risultati non vanno a sostegno di un'ipotesi, lo scienziato può utilizzarli per sviluppare ipotesi correlate.
Consideriamo ora la seguente ipotesi: tutte le femmine dei mammiferi (animali dotati di peli e che allattano la loro prole) portano in grembo la loro prole. L'ipotesi è basata sull'osservazione che cani, gatti, mucche, leoni ed esseri umani sono tutti mammiferi e tutti portano in grembo la loro prole. Ammettiamo che una nuova specie, la specie X, sia identificata come appartenente alla classe dei mammiferi. I biologi potrebbero ipotizzare che le femmine della specie X porteranno in grembo i loro piccoli. (Si tratta di un ragionamento induttivo o deduttivo?). Se una femmina della nuova specie partorisce prole viva, allora l'ipotesi è supportata.
Prima che l'emisfero meridionale fosse esplorato, chiunque avrebbe creduto a tale ipotesi senza porsi domande, in quanto tutti gli animali conosciuti il cui corpo era ricoperto di peli e che erano in grado di allattare portavano in grembo la loro prole. Fu scoperto però che due animali australiani (l'ornitorinco dal becco d'oca e l'echidna) avevano la pelliccia, allattavano la loro prole, ma deponevano uova ( FIG. 1-16 ). L'ipotesi era quindi falsa, indipendentemente da quante volte fosse stata in precedenza convalidata. Di conseguenza, i biologi o dovevano considerare sia l'ornitorinco che l'echidna non mammiferi oppure dovevano allargare la definizione di mammiferi per comprendere anche loro (scelsero questa seconda possibilità).

Tom McHugh/Photo Researchers, Inc.

FIGURA 1-16 Questo animale è un mammifero?
L'ornitorinco dal becco d'oca ( Ornithorhynchus anatinus ) è classificato come mammifero in quanto è coperto di peli ed allatta la sua prole.
Tuttavia, a differenza di quanto avviene per la maggioranza dei mammiferi, esso depone uova.

Non si può considerare vera un'ipotesi solo perché alcune previsioni (ciò che abbiamo pensato e abbiamo sino ad ora verificato) si sono avverate. Dopo tutto, esse potrebbero essere vere per pura coincidenza. Infatti, un'ipotesi può essere supportata dai dati, ma non si può realmente dimostrare che sia vera.
Un' ipotesi non confutabile è un'ipotesi che non possiamo provare che sia falsa, in quanto non può essere investigata scientificamente. Credere in un'ipotesi non confutabile, come l'esistenza di entità invisibili e non rilevabili, è qualcosa che necessita una razionalizzazione su piani diversi da quelli scientifici.

## I modelli sono importanti per sviluppare e verificare le ipotesi I modelli sono importanti per sviluppare e verificare le ipotesi

Esistono molte fonti potenziali per la formulazione di ipotesi, incluse le osservazioni preliminari dirette o anche le simulazioni al computer. In biologia, le ipotesi possono essere derivate sempre più da modelli che gli scienziati hanno sviluppato per fornire una spiegazione comprensibile di un gran numero di precedenti osservazioni. Esempi di tali modelli verificabili includono il modello di struttura del DNA e il modello di struttura della membrana plasmatica (vedi Capitolo 5 ).

Talvolta, il progetto migliore per un esperimento può essere stabilito effettuando delle simulazioni al computer. In tal caso, vengono fatti dei test e delle valutazioni virtuali prima di condurre l'esperimento in laboratorio o sul campo. I modelli e le simulazioni al computer fanno risparmiare tempo e denaro.

## Molte previsioni possono essere verificate con gli esperimenti

Un'ipotesi è un'idea astratta; tuttavia, sulla base delle loro ipotesi, gli scienziati possono fare previsioni verificabili. Ad esempio, potremmo prevedere che gli studenti di biologia che studiano 10 ore faranno un esame migliore degli studenti che non studiano. Quindi, una previsione è una conseguenza logica e deduttiva di un'ipotesi e non deve essere un evento futuro.

Una previsione può essere avvalorata mediante esperimenti controllati. I primi biologi osservarono che il nucleo era la parte più evidente della cellula ed ipotizzarono che esso potesse essere essenziale per il corretto funzionamento della cellula stessa. Di conseguenza, la sua asportazione avrebbe causato la morte della cellula. Fu eseguito un esperimento nel quale il nucleo di una ameba unicellulare venne asportato chirurgicamente. Dopo tale intervento, l'ameba continuò a vivere, a muoversi, ma non a crescere, e dopo pochi giorni morì. Questi risultati suggerirono che il nucleo fosse necessario per quei processi metabolici che portano alla crescita e alla riproduzione della cellula.

I ricercatori si chiesero, però, se l'operazione stessa, e non la perdita del nucleo, potesse essere stata la causa della morte dell'ameba. Essi condussero un esperimento di controllo nel quale due gruppi di amebe furono sottoposti allo stesso trauma ( FIG. 1-17 ). Nel gruppo sperimentale, il nucleo fu rimosso, mentre nel gruppo di controllo no. Un gruppo sperimentale differisce teoricamente dal gruppo di controllo solo per la variabile che si sta studiando. In questo caso, nel gruppo di controllo la microansa fu inserita dentro l'ameba e spinta dentro la cellula simulando l'operazione di rimozione del nucleo, che tuttavia non fu rimosso.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

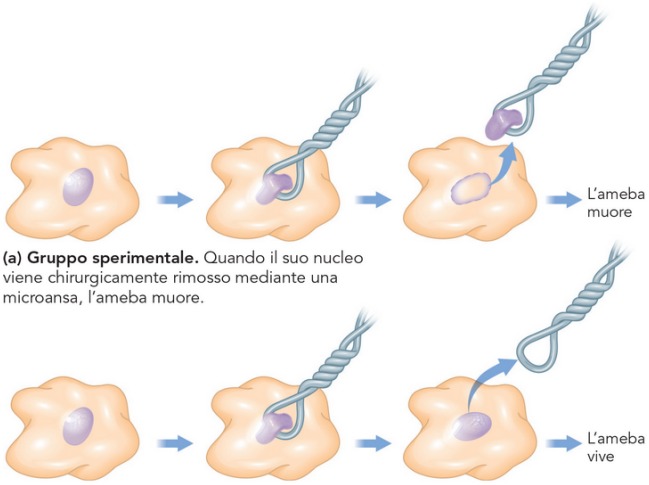
*PORSI DOMANDE CRITICHE*: Perché il nucleo è così grande? Qual è la sua importanza?

*SVILUPPARE UN'IPOTESI*: Le cellule risentiranno negativamente della perdita del loro nucleo.

*EFFETTUARE ESPERIMENTI*: usando una microansa, i ricercatori hanno rimosso il nucleo da ogni ameba del gruppo sperimentale. Le amebe del gruppo di controllo sono state sottoposte alla stessa procedura chirurgica, ma il loro nucleo non è stato rimosso.

*RISULTATI:* Le amebe prive di nucleo sono morte. Le amebe del gruppo di controllo sono sopravvissute.

*CONCLUSIONI:* Le amebe non possono vivere senza nucleo. L'ipotesi è supportata.




**(a) Gruppo sperimentale.** Quando il suo nucleo viene chirurgicamente rimosso mediante una microansa, l'ameba muore.

**(b) Gruppo di controllo.** Un'ameba di controllo sottoposta ad una manipolazione simile (compresa l'inserzione della microansa), ma senza la rimozione del nucleo, non muore.

Le am p[k,] ebe di questo gruppo recuperarono, crebbero e si divisero, mentre le amebe senza nucleo morirono. Questo confermò l'ipotesi di partenza secondo la quale il nucleo è necessario per la vita della cellula: è la rimozione del nucleo, non la semplice operazione, a causare la morte delle amebe.

## I ricercatori devono evitare i preconcetti

Negli esperimenti scientifici occorre cercare di evitare i preconcetti. Per prevenirli, la maggior parte degli esperimenti in medicina è effettuata secondo il metodo del "doppio cieco". Quando un farmaco deve essere saggiato, ad un gruppo di pazienti è somministrato il nuovo medicinale, mentre ad un secondo gruppo (gruppo di controllo) è somministrato un placebo, cioè un'innocua pillola di amido simile al farmaco per dimensioni, forma, colore e gusto. Questo è uno studio a doppiocieco perché né il paziente né il medico sanno chi assume il farmaco sperimentale e chi il placebo. Le pillole o le terapie sono codificate in modo tale che solo quando l'esperimento è concluso e si hanno dei risultati è decifrato il codice. Non tutti gli esperimenti possono essere così lineari: spesso è difficile disporre di gruppi di controllo adeguati.

## Gli scienziati interpretano i risultati dei loro esperimenti e ne traggono conclusioni

Gli scienziati raccolgono i dati di un esperimento, interpretano i risultati e formulano le conclusioni. Per esempio, nell'esperimento dell'ameba descritto prima, i ricercatori conclusero che il nucleo era essenziale per la vita della cellula. Anche i risultati che non supportano l'ipotesi possono rivelarsi preziosi e portare a nuove ipotesi. Infatti, se i risultati non vanno a sostegno di un'ipotesi, lo scienziato può utilizzarli per sviluppare ipotesi correlate.

Consideriamo un altro esperimento. Alcuni gruppi di ricerca che studiano le popolazioni di scimpanzé in Africa hanno osservato che questi animali sono capaci di apprendere specifiche modalità di utilizzo degli strumenti l'uno dall'altro. Un comportamento che una popolazione apprende da altri e trasmette alle generazioni successive è ciò che noi chiamiamo cultura. In passato, la maggior parte dei biologi riteneva che la cultura fosse patrimonio esclusivo degli esseri umani. Non è stato semplice verificare questo tipo di apprendimento sul campo e l'idea è stata molto controversa.

I biologi si sono posti domande critiche riguardo a come gli scimpanzé abbiano imparato ad usare gli strumenti osservandosi a vicenda. Ricercatori del Yerkes National Primate Research Center di Atlanta hanno sviluppato l'ipotesi che gli scimpanzé possano imparare particolari modi di utilizzare gli strumenti da altri scimpanzé ( FIG. 1-18 ). I ricercatori hanno previsto che, se avessero insegnato ad uno scimpanzé ad usare un rametto per raccogliere il cibo da un contenitore, altri scimpanzé avrebbero appreso la tecnica da quello istruito. Essi hanno quindi diviso gli scimpanzé in due gruppi sperimentali da 16. Hanno poi insegnato ad una femmina di alto rango di ciascun gruppo ad usare un rametto per raccogliere il cibo da un apparecchio, ma con due metodi diversi. Ad una hanno insegnato a ficcare il rametto nell'apparecchio per liberare il cibo; all'altra hanno insegnato ad utilizzare il rametto per sollevare un uncino per rimuovere un blocco, consentendo al cibo di rotolare fuori dall'apparecchio.

Agli scimpanzé di un terzo gruppo, il gruppo di controllo, i ricercatori hanno dato accesso ai rametti e all'apparecchio contenente il cibo, ma non hanno insegnato loro ad usare i rametti. Tutti gli scimpanzé del gruppo di controllo hanno manipolato l'apparecchio con i rametti, ma nessuno di essi è riuscito ad estrarne il cibo.

Quando le femmine istruite sono state reinserite nei loro gruppi, gli altri scimpanzé hanno osservato in che modo esse usavano i rametti e la gran parte di essi ha cominciato ad utilizzarli nello stesso modo. Gli scimpanzé di ciascun gruppo hanno appreso la specifica modalità di utilizzo del rametto che era stata insegnata alla femmina. La maggior parte ha utilizzato il bastone per ottenerne cibo almeno dieci volte. Due mesi dopo, l'apparecchio è stato ripresentato agli scimpanzé. Ancora una volta, la maggior parte di essi ha usato la tecnica appresa per ottenere il cibo. Dunque, i risultati dell'esperimento hanno supportato l'ipotesi. I ricercatori hanno concluso che gli scimpanzé sono capaci di trasmettere culturalmente la tecnologia appresa.

### Gli errori di campionamento possono portare a conclusioni non accurate

Conclusioni non corrette possono essere dovute ad errori di campionamento. Dal momento che non è possibile verificare tutti i casi possibili (i ricercatori non possono studiare ogni ameba od ogni popolazione di scimpanzè), ci si deve accontentare di un campione. Come si può sapere se il campione è realmente rappresentativo? Prima di tutto, se il campione è troppo piccolo, esso potrebbe non essere rappresentativo per fattori casuali. Un esperimento con solo due, o anche nove, amebe potrebbe non fornire dati credibili generalizzabili alle altre amebe. Se verifichiamo un ampio numero di casi, saremo più probabilmente in grado di trarre conclusioni scientifiche accurate ( FIG. 1-19 ). Lo scienziato cerca di provare con un certo livello di confidenza che ogni specifica conclusione ha una certa probabilità statistica di essere giusta.

### Gli esperimenti devono essere riproducibili

Quando i ricercatori pubblicano le loro scoperte su una rivista scientifica, normalmente includono una descrizione di metodi e procedure utilizzati in modo tale che altri scienziati possano ripetere gli esperimenti. Se i risultati sono riprodotti, le conclusioni risultano rafforzate.

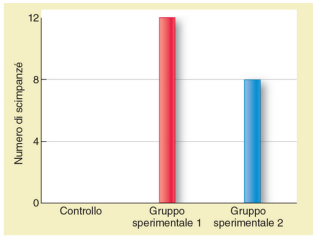
## Una teoria è supportata da ipotesi verificate

I non scienziati spesso usano la parola teoria in modo scorretto, riferendosi ad un'ipotesi. Una teoria scientifica è in realtà una spiegazione integrata di un certo numero di ipotesi, ciascuna suffragata da risultati consistenti derivanti da numerosi esperimenti ed osservazioni. Una teoria scientifica è in grado di correlare fatti che in precedenza non sembravano correlati. Una buona teoria cresce e si rafforza con l'acquisizione di nuovi risultati. Essa può predire nuovi scenari, suggerendo nuove relazioni tra fenomeni, e può eventualmente suggerire nuove applicazioni pratiche.
Una teoria scientifica, mostrando la relazione esistente tra classi di fatti, semplifica e chiarifica la comprensione dei fenomeni naturali. Einstein scrisse: "In tutta la storia della scienza, dai filosofigreci ai moderni fisici, è sempre esistita la tendenza a ridurre la complessità dei fenomeni naturali a semplici e fondamentali idee e relazioni". In effetti, lo sviluppo di teorie è uno dei principali obiettivi della scienza.

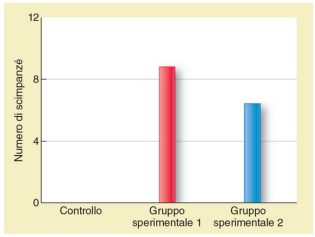
**ESPERIMENTO CHIAVE**

PORSI DOMANDE CRITICHE : Gli scimpanzé apprendono l'uso di strumenti osservandosi l'un l'altro?
SVILUPPARE UN'IPOTESI : Gli scimpanzé sono capaci di apprendere determinate modalità di utilizzo degli strumenti osservando altri scimpanzé.

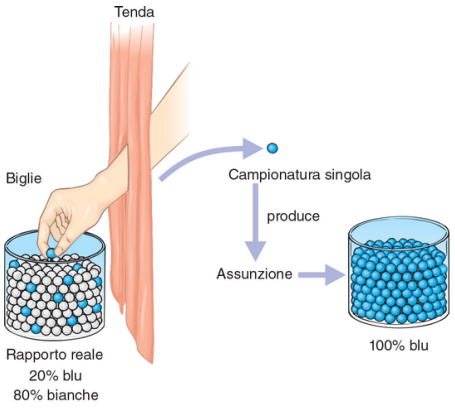
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Ad una femmina di ciascuno dei due gruppi di 16 scimpanzé è stato insegnato ad usare un rametto in un determinato modo per ottenere il cibo. I due scimpanzé istruiti sono stati quindi reintrodotti nei loro rispettivi gruppi. Agli scimpanzé di un gruppo di controllo non è stato insegnato ad usare il rametto.



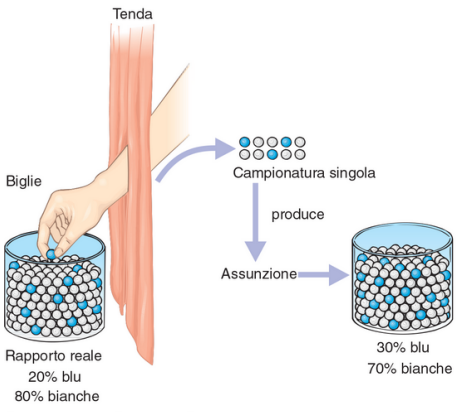
(a) Numero di scimpanzé che hanno impiegato con successo il metodo specifico di utilizzo dello strumento.




RISULTATI: Gli scimpanzé di ciascun gruppo sperimentale hanno osservato l'uso del rametto da parte dell'individuo istruito e la maggior parte di essi ha cominciato ad usare il rametto nello stesso modo. In un test effettuato due mesi più tardi, molti degli scimpanzé di ciascun gruppo continuavano ad usare il rametto
I risultati qui presentati sono stati semplificati e si basano sul numero di scimpanzé che hanno mostrato di usare il metodo appreso perlomeno 10 volte.
Tutti gli scimpanzé di ciascun gruppo, tranne uno, hanno appreso la tecnica, ma alcuni di essi l'hanno messa in atto solo poche volte.
Alcuni scimpanzé hanno imparato autonomamente il metodo alternativo e l'hanno utilizzato. Tuttavia, la maggior parte di di essi ha adottato il metodo che i ricercatori avevano insegnato ad un membro del loro gruppo.
CONCLUSIONI: Gli scimpanzé apprendono modalità specifiche di utilizzo degli strumenti osservando altri scimpanzé. L'ipotesi è supportata.



(a) Prendere in esame un singolo campione può portare ad un errore di campionamento. Se l'unica biglia presa è blu, si potrebbe assumere che tutte le biglie siano blu.



(b) Maggiore è il numero di campioni presi, maggiore è la probabilità che si faccia un'asserzione valida.

FIGURA 1-19 Probabilità statistica

## Molte ipotesi non possono essere verificate mediante esperimenti diretti

Alcune teorie ampiamente accettate non si basano sulla verifica di ipotesi mediante esperimenti ordinari. Spesso, tali teorie descrivono eventi verificatisi in un passato remoto. Non possiamo osservare direttamente l'origine dell'universo da uno stato denso ed incandescente che si è verificata circa 13,7 miliardi di anni fa (teoria del Big Bang). Tuttavia, i fisici e i cosmologi sono stati in grado di formulare numerose ipotesi correlate al Big Bang e di verificare molte delle previsioni scaturite da tali ipotesi.
Analogamente, gli esseri umani non sono stati testimoni dell'evoluzione dei principali gruppi di organismi, dal momento che tale processo ha avuto luogo nel corso di milioni di anni e prima che si evolvesse la specie umana. Tuttavia, sono state avanzate numerose ipotesi relative all'evoluzione e le previsioni basate su di esse sono state verificate. Ad esempio, se gli organismi complessi si sono evoluti da forme di vita semplici, dovremmo ritrovare i fossili degli organismi più semplici negli strati rocciosi più antichi. Esplorando strati sempre più recenti, ci aspettiamo quindi di trovare organismi sempre più complessi. In effetti, gli scienziati hanno riscontrato questo tipo di progressione dai fossili più semplici a quelli più complessi.

Oltre che dai fossili, le osservazioni a sostegno dell'evoluzione provengono da numerose fonti, tra cui le similarità fisiche e molecolari tra gli organismi. Altre prove derivano da studi recenti ed attuali dell'evoluzione in corso. Infatti, molti aspetti dell'evoluzione in corso possono essere studiati in laboratorio o sul campo. Le prove a sostegno dell'evoluzione sono talmente convincenti che oggi quasi tutti gli scienziati accettano l'evoluzione come una parte integrante della biologia.

## I cambiamenti di paradigma permettono nuove scoperte

Un paradigma è un insieme di assunzioni o concetti che costituisce un modo di pensare alla realtà. Ad esempio, dai tempi di Aristotele fino alla metà del XIX secolo, i biologi ritenevano che gli organismi potessero essere o piante (regno Plantae) o animali (regno Animalia), e questo concetto era profondamente radicato. Tuttavia, con lo sviluppo dei microscopi, i ricercatori scoprirono forme di vita piccolissime –

batteri e protisti – che non potevano essere incluse né tra le piante né tra gli animali. Alcuni biologi furono capaci di effettuare un cambiamento di paradigma , ovvero modificarono la loro visione della realtà per tenere conto di questa nuova conoscenza. Così, assegnarono gli organismi appena scoperti a nuovi regni. In un più recente cambiamento di paradigma, i biologi hanno rivisto la loro idea le cellule cerebrali che possediamo alla nascita sono tutte quelle che avremo. Adesso sappiamo che alcune aree del cervello continuano a produrre nuovi neuroni durante tutto il corso della vita.

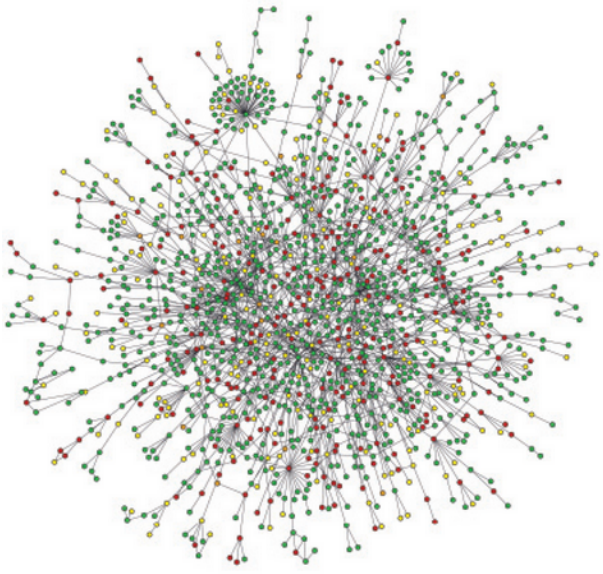
## La biologia dei sistemi integra diversi livelli di informazione

Nell'approccio riduzionistico alla biologia, i ricercatori studiano i componenti più semplici dei processi biologici. Il loro obiettivo è quello di sintetizzare la conoscenza di molte piccole parti per comprendere il tutto. Il riduzionismo è stato (e continua ad essere) importante nella ricerca biologica. Tuttavia, via via che i biologi e i loro strumenti divenivano sempre più sofisticati, sono state generate enormi quantità di dati, che hanno portato la scienza della biologia ad un livello differente.

La biologia dei sistemi è un campo della biologia che si basa sulle informazioni fornite dall'approccio riduzionistico, aggiungendovi ampi gruppi di dati generati dai computer. La biologia dei sistemi viene anche definita biologia integrativa o biologia integrativa dei sistemi. Il riduzionismo e la biologia dei sistemi sono approcci complementari. Usando il riduzionismo, i biologi hanno ottenuto informazioni di base sui componenti, come molecole, geni, cellule ed organi. I biologi dei sistemi, che si focalizzano sui sistemi nel loro insieme piuttosto che sui singoli componenti, necessitano di queste conoscenze basilari per poter studiare, ad esempio, le interazioni tra varie parti e livelli di un organismo.

I biologi dei sistemi integrano dati relativi a vari livelli di complessità con lo scopo di comprendere il grande disegno – come funzionano i sistemi biologici. Ad esempio, i biologi dei sistemi stanno sviluppando modelli di diversi aspetti delle funzioni cellulari. La normale funzione cellulare dipende dalla precisa azione di centinaia di proteine che rilevano segnali ricevuti da altre cellule. Le proteine inoltre, rilevano segnali da una parte all'altra della cellula. I ricercatori stanno producendo mappe dettagliate di tracciati molecolari che mantengono la funzione cellulare ( FIG. 1-20 ).

Un gruppo di ricercatori ha sviluppato un modello costituito da circa 8.000 segnali chimici coinvolti in una rete molecolare che conduce alla morte cellulare programmata. Mediante la comprensione della comunicazione cellulare, delle interazioni di geni e proteine nelle vie metaboliche e dei processi fisiologici, i biologi dei sistemi sperano infine di sviluppare un modello dell'intero organismo. La biologia dei sistemi è sempre più utilizzata per studiare i processi delle malattie. Per esempio, possono essere mappate le interazioni fra l'agente patogeno e la cellula ospitante.



Hawoong Jeong, University of Notre Dame/Science Photo Library

FIGURA 1-20 **Mappa che mostra le interazioni fra proteine in una cellula di lievito ( *Saccharomyces cerevisiae* ).**
Ciascun punto rappresenta una proteina in questo fungo unicellulare. Le linee collegano le proteine che interagiscono fra loro. Le proteine maggiormente connesse sono più critiche per il funzionamento della cellula. Molte di queste interazioni sono state identificate anche nelle cellule umane. Specifiche proteine sono state rimosse eliminando i geni che le codificavano. Le proteine sono state colorate in base all'effetto che la loro rimozione ha sulla cellula di lievito: *rosso* , letale; *verde* , non letale; *arancione* , crescita lenta; *giallo* , effetti sconosciuti.

Lo sviluppo della biologia dei sistemi è stato alimentato dall'enorme quantità di dati generata dal Progetto Genoma Umano. I ricercatori impegnati in questo progetto hanno identificato le sequenze di DNA che compongono i 25.000 geni stimati del genoma umano, l'insieme completo dei geni che costituiscono il materiale genetico umano. Il software sviluppato per il Progetto Genoma Umano ha la capacità di analizzare cospicui gruppi di dati. Tali programmi sono adesso utilizzati per integrare dati relativi alle interazioni tra proteine e molti altri aspetti della biologia molecolare. I biologi dei sistemi considerano la

biologia in termini di sistemi di informazioni. I loro studi dipendono sempre più da principi di matematica, statistica ed ingegneria.

## La scienza ha limitazioni etiche

La ricerca scientifica dipende dall'impegno verso ideali concreti quali la verità e l'obbligo di comunicare i risultati. L'onestà è di particolare importanza in campo scientifico. Consideriamo l'enorme danno (sebbene limitato nel tempo) fatto tutte le volte che un ricercatore privo di principi, la cui carriera può dipendere dalla pubblicazione di un lavoro di ricerca, coscientemente rende noti dati fasulli. Finché l'inganno rimane nascosto, altri ricercatori potrebbero investire rilevanti somme di denaro e molte ore del loro prezioso lavoro impegnandosi in linee di ricerca inutili perché ispirate da risultati non veri. La frode può anche essere pericolosa, specialmente nella ricerca medica. Fortunatamente, la scienza tende a correggersi da sola utilizzando essa stessa procedimenti scientifici. Prima o poi, i risultati sperimentali ottenuti da altri faranno sorgere dubbi sui dati fasulli.

Scienza e tecnologia interagiscono continuamente. Come gli scienziati facendo ricerche di base riportano nuove scoperte, ingegneri e altri inventori sviluppano nuovi prodotti. Molti di questi prodotti contribuiscono alla nostra qualità di vita. La nuova tecnologia inoltre, procura agli scienziati strumenti più potenti per la loro ricerca ed aumenta il potenziale per nuove scoperte. Per esempio pochi anni fa, determinare il genoma di un eucariota richiedeva diversi locali riempiti di macchine che fossero in gradi di sequenziale i geni. Questo progetto inoltre costava milioni di dollari. Le nuove tecnologie hanno rivoluzionato il sequenziamento dei geni, permettendo di determinare rapidamente genomi complessi, con meno equipaggiamento e ad un prezzo di gran lunga minore. I Progetti sono in via di determinare i genomi di 10.000 vertebrati.

Scienza e tecnologia continuano a cambiare la società e questi cambiamenti comportano nuove sfide. Oltre all'impegno etico nei confronti del loro lavoro, gli scienziati affrontano molti problemi sociali e politici che riguardano svariati campi, come la ricerca genetica, le cellule staminali, la clonazione, la sperimentazione umana ed animale. Per esempio, alcune delle cellule staminali che sembrano possedere il potenziale maggiore per il trattamento di malattie umane sono presenti negli embrioni precoci. Le cellule devono essere prelevate da embrioni di 5-6 giorni e quindi coltivate in laboratorio. A questo stadio, l'embrione consiste in un gruppo di cellule lungo circa 0,15 mm. Queste cellule potrebbero essere ingegnerizzate per il trattamento di patologie come l'infarto cardiaco, l'ictus cerebrale, il Parkinson e l'Alzheimer. Le stesse cellule potrebbero salvare la vita agli ustionati e forse essere modificate per trattare certi tipi di tumore. La società necessita di conoscere se i potenziali benefici di ogni tipo di ricerca superano i problemi etici connessi al loro utilizzo.

L'era del genoma porta con sé problemi e responsabilità etiche. In che modo le persone potranno salvaguardare la privacy delle informazioni genetiche? Per esempio, supponiamo di avere una familiarità per il cancro al seno e di apprendere da un test genetico di avere una mutazione BRCA. Queste mutazioni aumentano il rischio di sviluppare un cancro al seno e altri tumori. Come potremo essere certi che la conoscenza dei nostri codici genetici individuali non sarà usata contro di noi nel momento in cui stipuleremo un contratto di lavoro o un'assicurazione sulla salute? Gli scienziati hanno il dovere di essere eticamente responsabili e di contribuire ad informare la gente sul loro lavoro e sui benefici e i rischi ad esso connessi. È interessante sottolineare che, nelle fasi iniziali del Progetto Genoma Umano, parte dei finanziamenti fu destinata alla ricerca sulle implicazioni etiche, legali e sociali dei risultati.

## Verifica

- Quali sono le caratteristiche di una buona ipotesi?
- Cosa si intende per esperimento "controllato"?
- Che cos'è la biologia dei sistemi?

### SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

1.1

1. Descrivere i tre temi fondamentali della biologia.
    - I tre temi fondamentali della biologia sono l'evoluzione, la trasmissione dell'informazione e l'energia per la vita. Il processo dell' evoluzione determina cambiamenti delle popolazioni nel tempo e spiega in che modo l'antenato degli organismi possa essere fatto risalire a forme di vita primordiali. Le informazioni devono essere trasmesse all'interno delle cellule, tra le cellule, tra gli organismi e da una generazione all'altra. La vita richiede un continuo apporto di energia dal sole.

1.2

2. Effettuare una distinzione tra viventi e non viventi descrivendo le caratteristiche che contraddistinguono gli organismi viventi.
    - Tutti gli esseri viventi sono composti da una o più cellule . Gli esseri viventi crescono grazie all'aumento delle dimensioni e/o del numero delle cellule.
    - Per metabolismo si intendono tutte quelle attività chimiche che avvengono in un organismo e che includono tutte le reazioni chimiche essenziali per la nutrizione, la crescita, la riparazione e la conversione dell'energia in forme utilizzabili. L' omeostasi è la tendenza di un organismo a mantenere costante l'ambiente interno.
    - Gli organismi rispondono agli stimoli , cambiamenti fisici o chimici del loro ambiente esterno ed interno. Normalmente, le risposte coinvolgono il movimento.
    - Nella riproduzione asessuata, la prole è identica al singolo genitore; nella riproduzione sessuata, la prole è il prodotto della fusione dei gameti e i geni sono forniti da entrambi i genitori.
    - Le popolazioni si evolvono e si adattano all'ambiente in cui vivono. Gli adattamenti sono dei tratti che aumentano la capacità di un organismo di sopravvivere nel proprio ambiente.

1.3

3. Costruire una gerarchia dell'organizzazione biologica, includendo i livelli di un singolo organismo e i livelli ecologici.
    - L'organizzazione biologica è gerarchica. Un organismo complesso è organizzato a livello chimico, cellulare, tissutale , di organo , di sistema e di organismo . Le cellule si associano a formare tessuti che svolgono funzioni specifiche. Nella maggior parte degli organismi pluricellulari, i tessuti si organizzano a formare strutture funzionali chiamate organi, mentre un gruppo organizzato di tessuti ed organi costituisce un sistema di organi. Funzionando in maniera coordinata, i sistemi di organi costituiscono un organismo pluricellulare complesso.
    - L'unità di base dell'organizzazione ecologica è la popolazione . Varie popolazioni formano una comunità ; una comunità e l'ambiente fisico nel quale essa vive si indicano come ecosistema ; l'insieme di tutti gli ecosistemi presenti sul nostro pianeta forma la biosfera .

1.4

4. Riassumere l'importanza della trasmissione dell'informazione per i sistemi viventi, fornendo esempi specifici.
    - Gli organismi trasmettono l'informazione tramite segnali chimici, elettrici e comportamentali.
    - Il DNA , che costituisce i geni , è il materiale ereditario. L'informazione codificata nel DNA è trasmessa da una generazione all'altra. Il DNA contiene le istruzioni per lo sviluppo di un organismo e per lo svolgimento dei processi vitali. Il DNA codifica le proteine , molecole importanti nel determinare la struttura e la funzione delle cellule e dei tessuti.
    - Gli ormoni , messaggeri chimici in grado di trasmettere informazioni da una parte all'altra dell'organismo, rappresentano un importante tipo di segnalazione cellulare .
    - Molti organismi utilizzano segnali elettrici per trasmettere l'informazione; la maggior parte degli animali ha un sistema nervoso che trasmette impulsi elettrici e rilascia neurotrasmettitori .

1.5

5. Riassumere il flusso di energia attraverso gli ecosistemi, mettendo a confronto il ruolo di produttori, consumatori e decompositori.
    - Le attività delle cellule viventi richiedono energia; la vita dipende da un continuo apporto di energia dal sole. Nel processo di fotosintesi , le piante, le alghe e certi batteri utilizzano l'energia solare per sintetizzare molecole complesse partendo da anidride carbonica e acqua.
    - Tutte le cellule effettuano la respirazione cellulare , un processo biochimico attraverso il quale ricavano l'energia che i produttori hanno immagazzinato nei nutrienti (carboidrati). Parte di questa energia è utilizzata per sintetizzare i materiali necessari o per svolgere altre attività.
    - Un ecosistema autosufficiente include i produttori , o autotrofi , che generano il loro stesso cibo, i consumatori , che mangiano i produttori o gli organismi che hanno mangiato i produttori, e i decompositori , che ottengono energia degradando le sostanze di rifiuto e gli organismi morti. Consumatori e decompositori sono eterotrofi , organismi che dipendono dai produttori per l'energia, il cibo e l'ossigeno.

1.6

6. Descrivere il sistema di nomenclatura binomiale utilizzando vari esempi specifici e classificare un organismo (come l'uomo) per dominio, regno, phylum, classe, ordine, famiglia, genere e specie.
    - Sul nostro pianeta si sono evolute milioni di specie. Una specie è un gruppo di organismi con struttura, funzione e comportamento simili, che in natura si incrociano solo tra di loro. I membri di una specie possiedono un pool di geni comune e condividono un antenato comune.
    - I biologi utilizzano un sistema di nomenclatura binomiale, nel quale il nome di ciascuna specie è composto dal nome del genere e da un epiteto specifico .
    - La classificazione tassonomica è gerarchica ed include la specie, il genere, la famiglia , l' ordine , la classe , il phylum , il regno e il dominio . Ogni raggruppamento viene indicato come taxon . Un gruppo di organismi con un comune antenato è un clade
7. Identificare i tre domini e i regni di organismi viventi e fornire esempi di organismi assegnati a ciascun gruppo.
    - I batteri e gli archeobatteri hanno cellule procariotiche ; tutti gli altri organismi hanno cellule eucariotiche . I procarioti costituiscono due dei tre domini.
    - Gli organismi possono essere classificati in tre domini, Archaea , Bacteria e Eukarya , e diversi regni: Archaea , Bacteria , Fungi (lieviti e muffe), Plantae ed Animalia . I Protisti (per esempio alghe, muffe d'acqua e amebe) sono adesso assegnate a cinque "supergruppi".
8. Fornire una breve visione d'insieme della teoria dell'evoluzione e spiegare perché essa rappresenta il principale concetto unificante della biologia.
    - L' evoluzione è il processo attraverso il quale le popolazioni cambiano nel tempo in risposta alle modificazioni ambientali. La teoria dell'evoluzione spiega in che modo si siano generati milioni di specie e ci aiuta a comprendere la struttura, la funzione, il comportamento e le interazioni degli organismi.
    - La selezione naturale , il meccanismo attraverso il quale l'evoluzione procede, favorisce gli organismi dotati di quei caratteri che meglio si adattano ai cambiamenti ambientali. Charles Darwin basò la sua teoria della selezione naturale sulle osservazioni che gli individui di una specie variano; gli organismi producono più prole di quella che riesce a sopravvivere fino alla riproduzione; gli individui che sono meglio adattati all'ambiente hanno più probabilità di sopravvivere e di riprodursi; gli organismi vincenti trasmettono i loro geni alla prole e i loro caratteri saranno più frequenti nella popolazione.
    - La fonte di variabilità in una popolazione è la mutazione casuale.
9. Applicare la teoria della selezione naturale ad un dato adattamento, suggerendo una spiegazione logica di come l'adattamento possa essersi evoluto.
    - Quando gli antenati degli "honeycreeper" delle Hawaii raggiunsero per la prima volta le isole, erano presenti pochi altri uccelli e quindi vi era poca competizione per il cibo. Attraverso numerose generazioni, gli "honeycreeper" con becchi più lunghi e curvi divennero adattati a nutrirsi del nettare dei fiori tubulari. Probabilmente, gli individui che possedevano i becchi più lunghi e più curvi erano più capaci di sopravvivere in una tale zona trofica (di nutrimento) e vivevano abbastanza a lungo da trasmettere i propri geni alla prole. Quelli che possedevano un becco più corto e robusto avevano maggiore successo nel catturare gli insetti ed anch'essi trasmettevano i propri geni alle generazioni successive. Alla fine, si sono evolute diverse specie, adattate a specifiche zone.

1.7

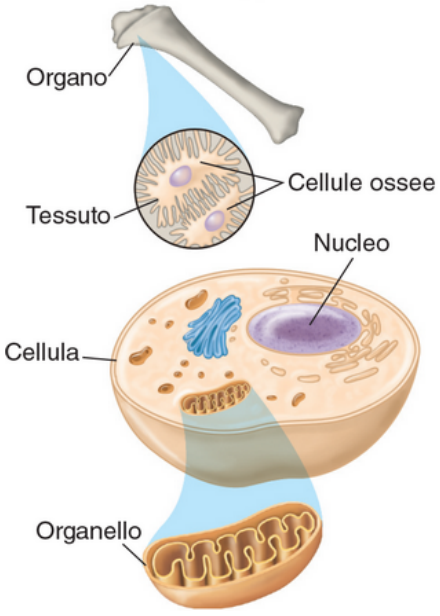
10. Progettare un esperimento attraverso cui si possa verificare una data ipotesi, utilizzando la procedura e la terminologia del metodo scientifico.
    - Il procedimento scientifico è un approccio dinamico all'indagine. Il metodo scientifico è uno strumento che gli scienziati usano nel loro lavoro; include diverse fasi: osservare, riconoscere un problema o porsi domande critiche, sviluppare ipotesi, fare predizioni che siano verificabili, progettare esperimenti, interpretare i risultati e trarre conclusioni che supportino o confutino l'ipotesi.
    - Il ragionamento deduttivo e il ragionamento induttivo sono due categorie di processo di ragionamento sistematico usate nel metodo scientifico. Il ragionamento deduttivo procede da principi generali verso specifiche conclusioni e ci aiuta a scoprire le correlazioni tra fatti noti. Il ragionamento induttivo inizia con specifiche osservazioni e deriva da queste delle conclusioni. Il ragionamento induttivo ci aiuta a scoprire i principi generali.
    - Un' ipotesi è una potenziale spiegazione di osservazioni o fenomeni. Un'ipotesi può essere verificata. Se non si trova nessuna prova che la supporti, viene rigettata.

- Un esperimento scientifico adeguatamente progettato deve includere sia un gruppo di controllo che un gruppo sperimentale e deve essere il più libero possibile da preconcetti. Il gruppo di controllo differisce dal gruppo sperimentale solo per quella variabile che si sta studiando.
- Una teoria scientifica è una spiegazione integrata di alcuni aspetti del mondo naturale basata su un certo numero di ipotesi, ciascuna supportata da risultati coerenti derivanti da numerose osservazioni o esperimenti.

11. Comparare gli approcci riduzionistico e dei sistemi alla ricerca biologica.
    - Usando il riduzionismo, i ricercatori studiano i componenti più semplici dei processi biologici, come le molecole o le cellule.
    - La biologia dei sistemi utilizza le conoscenze fornite dal riduzionismo. I biologi dei sistemi integrano dati relativi a vari livelli di complessità con lo scopo di comprendere il funzionamento dei sistemi biologici.

**AUTOVERIFICHE**

1. L'omeostasi: (a) è la tendenza di un organismo a mantenere un ambiente interno costante; (b) generalmente dipende dal movimento delle ciglia; (c) è la risposta a lungo termine degli organismi ai cambiamenti ambientali; (d) avviene a livello di ecosistema, non nelle cellule o negli organismi; (e) può essere sessuata o asessuata.
2. La divisione binaria di un'ameba è un esempio di: (a) locomozione; (b) neurotrasmissione; (c) riproduzione asessuata; (d) riproduzione sessuata; (e) metabolismo.
3. Le cellule: (a) sono i mattoni che costituiscono gli organismi viventi; (b) hanno sempre il nucleo; (c) non si trovano tra i batteri; (d) le risposte a, b e c sono corrette; (e) solo le risposte a e b sono corrette.
4. Quale delle seguenti sequenze descrive correttamente i livelli di organizzazione biologica? 1) Sistemi di organi; 2) chimico; 3) tessuto; 4) organo; 5) cellula.




2, 3, 5, 4, 1
2. (b) 5, 3, 4, 1, 2
3. (c) 2, 5, 3, 1, 4
4. (d)2, 5, 3, 4, 1
5. (e) 5, 2, 3, 4, 1

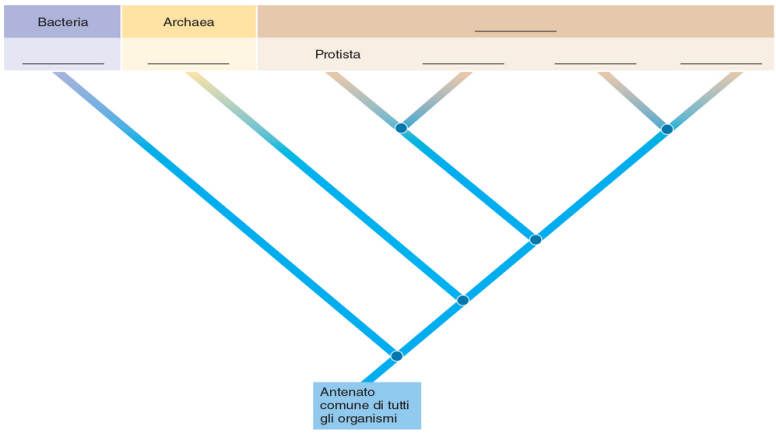
5. Quale delle seguenti sequenze descrive correttamente i livelli di organizzazione ecologica? 1) Comunità; 2) organismo; 3) ecosistema; 4) popolzione; 5) biosfera.

1. 5, 3, 1, 4, 2
2. 2, 4, 1, 3, 5
3. 2, 1, 4, 3, 5
4. 4, 2, 1, 3, 5
5. 2, 4, 3, 1, 5

6. Il DNA: (a) costituisce i geni; (b) trasmette l'informazione da una specie all'altra; (c) non può essere cambiato; (d) è un neurotrasmettitore; (e) è prodotto durante la respirazione cellulare.
7. La respirazione cellulare: (a) è un processo in cui la luce del sole è utilizzata per sintetizzare componenti cellulari con il rilascio di energia; (b) avviene solo negli eterotrofi; (c) è svolta sia negli organismi autotrofiche negli eterotrofi; (d) causa variazioni chimiche nel DNA; (e) avviene in risposta ai cambiamenti ambientali.
8. I funghi sono assegnati al dominio (a) Protista; (b) Archea; (c) Bacteria; (d) Eucarya; (e) Plantae.
9. Il nome scientifico del mais o granoturco è Zea mays. Zea è (a) lo specifico epiteto; (b) il genere; (c) la classe; (d) il regno; (e) il phylum.
10. Darwin ipotizzò che l'evoluzione potesse avvenire per mezzo di: (a) mutazioni; (b) variazioni negli individui di una specie; (c) selezione naturale; (d) interazione di ormoni; (e) risposte omeostatiche ad ogni cambiamento ambientale
11. Idealmente, un gruppo sperimentale differisce da un gruppo di controllo: (a) solo rispetto all'ipotesi che deve essere testata; (b) solo rispetto alla variabile che si sta studiando; (c) perché è meno soggetto a preconcetti; (d) perché è meno vulnerabile ad errori di campionamento; (e) perché i suoi soggetti sono più affidabili.
12. Un biologo dei sistemi lavora più probabilmente su: (a) una migliore comprensione dei componenti delle cellule; (b) lo sviluppi di un migliore sistema di classificazione degli organismi; (c) lo sviluppo di una nuova serie di passaggi per il metodo scientifico; (d) la ricerca di una serie di reazioni per la

comunicazione di informazioni all'interno della cellula; (e) l'identificazione delle connessioni e delle interazioni dei neuroni per ottenere informazioni sul funzionamento del cervello.

13. Identificate il dominio e i regni scrivendo il nome di ciascuno sulle linee vuote.




**PENSIERO CRITICO**

1. Cosa accadrebbe se un meccanismo omeostatico fallisse? Descrivete un meccanismo omeostatico in atto nel vostro organismo (diverso dalla regolazione dei livelli di glucosio citata nel capitolo).
2. Confrontate l'approccio riduzionistico con la biologia dei sistemi. In che modo i due approcci sono complementari? Quale approccio è più adatto a considerare le proprietà emergenti?
3. Quali sono alcune caratteristiche di una buona ipotesi? Fornite un esempio.
4. Fate una predizione ed escogitate un adeguato esperimento controllato per testare ciascuna delle seguenti ipotesi: (a) Una varietà di muffa trovata nel vostro giardino non produce alcun antibiotico efficace. (b) Il tasso di crescita di un semenzale di fagioli è influenzato dalla temperatura. (c) Gli estrogeni alleviano i sintomi del morbo di Alzheimer nelle donne anziane.
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA . In che modo l'evoluzione dipende dalla trasmissione dell'informazione? In che modo la trasmissione dell'informazione dipende dall'evoluzione?
6. CONNESSIONE EVOLUTIVA . In che modo la comprensione dei processi evolutivi potrebbe aiutare un biologo a svolgere ricerche: (a) sul Comportamento Animale, ad esempio sul comportamento di caccia dei leoni; (b) sullo sviluppo di un nuovo antibiotico per sostituirne uno a cui i batteri sono diventati resistenti; (c) sulla conservazione di una specifica pianta in una foresta pluviale?
7. ANALIZZARE I DATI . Paragonate i due grafici nella Figura 1-18 . Quale informazione mostra il secondo grafico? Quale possibile spiegazione puoi dare per le differenze mostrare tra i due grafici?
8. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ . La nuova tecnologia sta consentendo agli scienziati di sviluppare efficaci terapie geniche per curare serie malattie. In futuro la terapia genica potrebbe essere utilizzata per curare condizioni come la dipendenza o il disordine bipolare. Cosa accadrebbe se la terapia genica potesse essere utilizzata per creare bambini con abilità atletiche o artistiche oppure un alto QI? Hai delle osservazioni riguardo alla eticità di queste possibilità? Se così, dove e come porresti il limite?

# Articolo II. Atomi e molecole:la base chimica della vita 2

La conoscenza della chimica è essenziale per la comprensione degli organismi viventi e del loro funzionamento. Questo giaguaro e la vegetazione della foresta pluviale, così come i vari insetti e microrganismi non visibili, hanno in comune numerose proprietà fondamentali che riguardano sia la loro composizione chimica che i processi metabolici basilari. Queste similitudini chimiche sono la dimostrazione che tutti gli organismi si sono evoluti partendo da un antenato comune e spiegano perché buona parte di quello che i biologi apprendono dallo studio in laboratorio di batteri o ratti possa essere applicato ad altri organismi, uomo compreso. Inoltre, i principi fisici e chimici di base che regolano gli organismi non costituiscono una peculiarità degli esseri viventi, ma possono essere applicati anche ai sistemi non viventi.

Il successo del Progetto Genoma Umano e degli studi ad esso correlati si basa essenzialmente sulla biochimica e sulla biologia molecolare , la chimica e la fisica delle molecole che costituiscono la materia vivente. Un biochimico può studiare le precise interazioni fra gli atomi e le molecole cellulari che permettono il flusso di energia essenziale per la vita, e un biologo molecolare può studiare come le proteine interagiscono con il DNA

in modo da controllare l'espressione di determinatigeni. La comprensione della chimica è in ogni caso indispensabile per tutti i biologi. Un biologo evoluzionista può studiare le relazioni evolutive comparando il DNA di diversi tipi di organismi. Un ecologo può studiare come l'energia sia trasferita tra gli organismi che popolano un estuario o monitorare gli effetti biologici causati dal cambiamento di salinità dell'acqua. Un botanico può studiare i composti prodotti esclusivamente dalle piante e anche diventare un chimico quando cerca nuove fonti di agenti terapeutici.

In questo capitolo vengono forniti i principi fondamentali per comprendere come la struttura degli atomi determini il modo in cui questi formano legami chimici per dare origine a composti complessi. La maggior parte della trattazione sarà focalizzata su sostanze semplici e di piccole dimensioni dette composti inorganici . Tra i composti inorganici più importanti da un punto di vista biologico troviamo l'acqua, gli acidi, le basi e i sali semplici. Particolare attenzione verrà data all'acqua, il composto più abbondante negli organismi e sulla Terra, esaminando come le sue proprietà uniche possano influenzare sia gli organismi che l'ambiente. Nel Capitolo 3 , la discussione verrà allargata ai composti organici , generalmente più complessi e di grandi dimensioni, che contengono sempre atomi di carbonio. In tutti i composti organici, eccetto quelli più semplici, due o più atomi di carbonio sono uniti tra loro per formare lo scheletro della molecola.

## 2.1 ELEMENTI E ATOMI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Elencare Elencare i principali elementi chimici presenti negli esseri viventi e citare una funzione importante di ciascuno di essi.
1. Paragonare le proprietà fisiche (massa e carica) e la posizione di elettroni, protoni e neutroni. Fare una distinzione tra il numero atomico e il numero di massa di un atomo.
1. Definire i termini orbitale e guscio elettronico . Mettere in relazione i gusci elettronici con i livelli energetici principali.

Gli elementi sono sostanze che non possono essere scisse in sostanze più semplici mediante reazioni chimiche ordinarie. Gli scienziati hanno assegnato a ciascun elemento un simbolo chimico , di solito la prima o le prime due lettere del suo nome inglese o latino. Ad esempio, O è il simbolo dell'ossigeno, C del carbonio, H dell'idrogeno, N dell'azoto e Na del sodio (dal latino *natrium*). Sono solo quattro (ossigeno, carbonio, idrogeno ed azoto) gli elementi che costituiscono più del 96% della massa della maggior parte degli organismi. Altri, come calcio, fosforo, potassio e magnesio, sono anch'essi presenti, ma in quantità minore. Alcuni elementi, come iodio e rame, sono detti elementi in tracce in quanto sono richiesti in quantità minime. La TABELLA 2-1 elenca gli elementi che costituiscono gli organismi e spiega brevemente perché ciascuno di essi sia importante nelle piante e negli animali.
L'atomo è la più piccola porzione di un elemento che mantiene tutte le proprietà chimiche di quell'elemento. L'atomo è molto più piccolo di qualsiasi particella visibile al microscopio ottico. Gli studiosi, utilizzando particolari microscopi elettronici a scansione con ingrandimenti superiori a 5 milioni di volte, sono stati in grado di fotografare le posizioni di alcuni atomi di grandi dimensioni all'interno di molecole.
I componenti degli atomi sono minuscole particelle di materia (tutto ciò che ha una massa ed occupa spazio) note come particelle subatomiche. I fisici hanno scoperto un numero considerevole di particelle subatomiche, ma per i nostri scopi ne verranno considerate solo tre: elettroni, protoni e neutroni. Un elettrone è una particella che possiede una carica elettrica negativa unitaria, un protone possiede una carica positiva unitaria, un neutrone è una particella priva di carica. In un atomo elettricamente neutro, il numero di elettroni è uguale al numero di protoni.
L'insieme di protoni e neutroni costituisce il nucleo atomico . Gli elettroni non hanno una collocazione fissa e si muovono nello spazio che si trova intorno al nucleo atomico.

### Ogni atomo viene identificato in maniera univoca dal numero dei suoi protoni

Ciascun elemento ha nel nucleo atomico un numero fisso di protoni. Tale numero, chiamato numero atomico , è scritto in basso a sinistra del simbolo chimico. Pertanto, 1 H indica che il nucleo dell'idrogeno contiene un protone e 8 O che il nucleo dell'ossigeno contiene 8 protoni. Il numero atomico identifica l'atomo e definisce l'elemento.

| Elemento* (simbolo chimico) | Funzioni |
|---|---|
| O Ossigeno | Necessario per la respirazione cellulare; presente nella maggior parte dei composti organici; componente dell'acqua |
| C Carbonio | Costituisce lo scheletro delle molecole organiche; può formare quattro legami con altri atomi |
| H Idrogeno | Presente in tutti i composti organici; componente dell'acqua; lo ione idrogeno ($H^+$) è coinvolto in alcuni trasferimenti di energia |
| N Azoto | Componente delle proteine e degli acidi nucleici; componente della clorofilla nelle piante |
| Ca Calcio | Componente strutturale delle ossa e dei denti; lo ione calcio ($Ca^{2+}$) è importante per la contrazione muscolare, la conduzione dell'impulso nervoso e la coagulazione del sangue; associato alla parete cellulare delle piante |
| P Fosforo | Componente degli acidi nucleici e di fosfolipidi di membrana; importante nel trasferimento di energia; componente strutturale delle ossa |
| K Potassio | Lo ione potassio ($K^+$) è un importante ione positivo (catione) dei liquidi interstiziali (tissutali) degli animali; importante nella funzione nervosa e nella contrazione muscolare; controlla l'apertura degli stomi nelle piante |
| S Zolfo | Presente nella maggior parte delle proteine |
| Na Sodio | Lo ione sodio ($Na^+$) è un importante ione positivo (catione) dei liquidi interstiziali degli animali; fondamentale nell'omeostasi dei liquidi; essenziale nella conduzione dell'impulso nervoso; importante nella fotosintesi delle piante |
| Mg Magnesio | Necessario nel sangue e in altri tessuti animali; attiva molti importanti sistemi enzimatici; componente della clorofilla nelle piante |
| Cl Cloro | Lo ione cloro ($Cl^-$) è il principale ione negativo (anione) dei liquidi interstiziali degli animali; importante nel bilancio idrico; essenziale per la fotosintesi |
| Fe Ferro | Costituente dell'emoglobina negli animali, attiva certi enzimi |

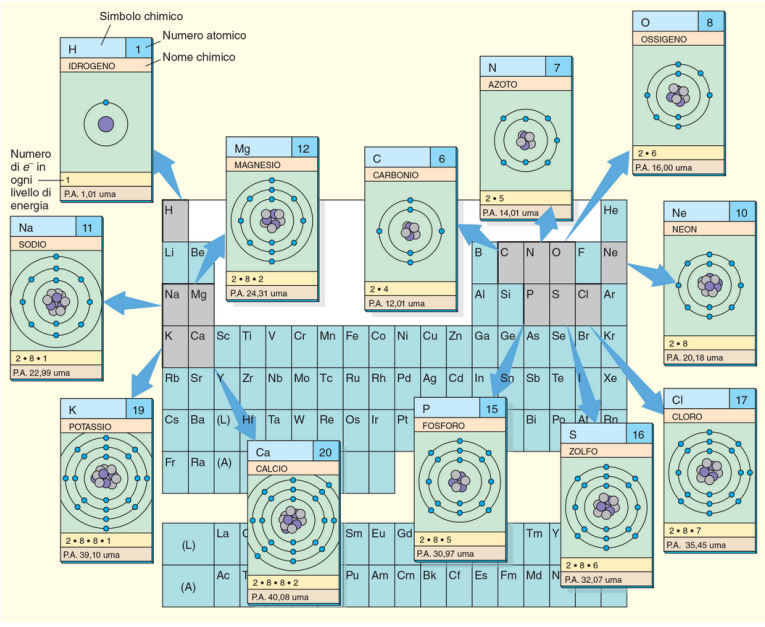
TABELLA 2-1 *Funzioni degli elementi negli organismi*

Nella tavola periodica ( FIG. 2-1 e Appendice A), gli elementi sono sistemati in un ordine che dipende dal loro numero atomico. Essa costituisce un mezzo estremamente utile poiché permette di correlare simultaneamente molte delle relazioni esistenti tra i diversi elementi.
Nella Figura 2-1 sono anche illustrate le configurazioni elettroniche di diversi elementi importanti per gli organismi. Questi modelli di Bohr , che ci mostrano gli elettroni disposti in una serie di cerchi concentrici intorno al nucleo, sono di immediato utilizzo ma non sono accurati. Lo spazio intorno al nucleo è in realtà estremamente grande rispetto al nucleo stesso e, come si vedrà più avanti, in effetti gli elettroni non girano intorno al nucleo seguendo delle orbite concentriche prefissate.
La somma dei protoni e dei neutroni determina la massa atomica

La massa di una particella subatomica è estremamente piccola, troppo piccola per essere espressa in grammi o anche in microgrammi 1 . Tali masse vengono perciò espresse in termini di unità di massa atomica ( uma ), dette anche dalton in onore di John Dalton, che formulò una teoria atomica all'inizio del XIX secolo. Una uma è circa uguale alla massa di un protone o di un neutrone. Protoni e neutroni costituiscono quasi tutta la massa dell'atomo. Un elettrone ha una massa pari a 1/1800 della massa di un protone o di un neutrone.

**PUNTO CHIAVE La tavola periodica fornisce informazioni sugli elementi: la composizione, la struttura e il comportamento chimico.**

La massa atomica di un atomo è un numero che indica approssimativamente quanta materia è contenuta in esso in rapporto ad un atomo di un altro elemento. Tale valore può essere calcolato sommando il numero di protoni e di neutroni ed esprimendo il risultato in unità di massa atomica o dalton 2 . La massa degli elettroni viene invece trascurata in quanto troppo piccola. Il numero di massa atomica viene indicato in alto a sinistra del simbolo chimico. Ad esem pio, la forma comune dell'atomo di ossigeno, che ha nel suo nucleo 8 protoni e 8 neutroni,



ha numero atomico 8 e una massa di 16 unità di massa atomica e viene indicato con il simbolo 8 16°.
Le caratteristiche di protoni, elettroni e neutroni sono riassunte nella seguente tabella:

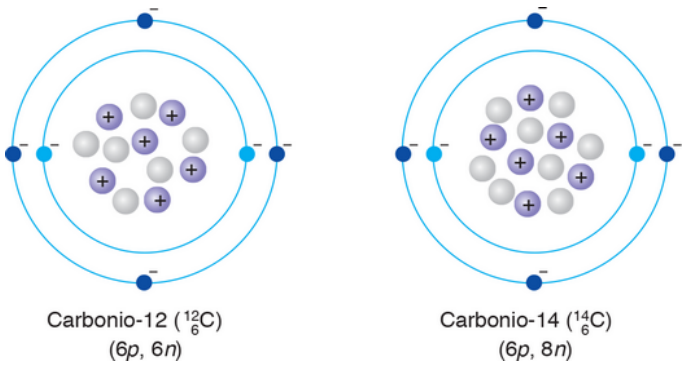
| Particella | Carica | Massa approssimativa | Posizione |
|---|---|---|---|
| Protone | Positiva | 1 uma | Nucleo |
| Neutrone | Neutra | 1 uma | Nucleo |
| Elettrone | Negativa | Appross. 1/1800 uma | Al di fuori del nucleo |

[1 Le tabelle delle unità di misura comunemente utilizzate per le misurazioni scientifiche sono riportate nella III di copertina
2. Diversamente dal peso, la massa non dipende dalla forza di gravità. Tuttavia, per comodità, considereremo che massa e peso siano equivalenti. Il peso atomico ha lo stesso valore numerico della massa atomica, ma non le stesse unità di misura.]

## Gli isotopi di un elemento differiscono per il numero di neutroni

La maggior parte degli elementi è costituita da una miscela di atomi che hanno un numero diverso di neutroni e perciò massa differente. Tali atomi sono chiamati isotopi . Isotopi di uno stesso elemento hanno lo stesso numero di protoni ed elettroni, mentre differiscono per il numero di neutroni. I tre isotopi dell'idrogeno, 1 1 H (idrogeno comune), 1 2 H (deuterio) e 1 3 H (trizio)(trizio), contengono rispettivamente 0, 1 e 2 neutroni.

Nella FIGURA 2-2 sono illustrati i modelli di Bohr dei due isotopi del carbonio, 6 12 C e 6 14 C . La massa di un elemento viene espressa come la media delle masse dei suoi isotopi (pesata sulla loro naturale abbondanza relativa). Ad esempio, la massa atomica dell'idrogeno non corrisponde ad 1,0 uma ma ad 1,0079 uma, in quanto in natura sono presenti piccole quantità di deuterio e trizio, oltre al più abbondante idrogeno comune.




Dal momento che posseggono lo stesso numero di elettroni, tutti gli isotopi di un dato elemento hanno essenzialmente le stesse caratteristiche chimiche. Tuttavia, alcuni isotopi sono instabili e tendono a rompersi o a decadere verso un isotopo più stabile (divenendo solitamente un elemento diverso); tali radioisotopi emettono radiazioni quando decadono. Ad esempio, il decadimento radioattivo del 6 14 C comporta la decomposizione di un neutrone, che forma un protone ed un elettrone veloce, emesso dall'atomo sotto forma di radiazione e noto come particella beta ( β ). Il risultato è la conversione in un atomo stabile, che è la forma comune dell'azoto, 6 14 N . Esistono strumenti estremamente sofisticati in grado di misurare questa ed altri tipi di radiazione. Il decadimento radioattivo può essere anche rivelato per mezzo della autoradiografia , in cui la radiazione provoca la comparsa di granuli di argento di colore scuro su una lastra fotografica ( FIG. 2-3 ). Poiché i differenti isotopi di un dato elemento mostrano le stesse caratteristiche chimiche, nelle molecole essi sono sostanzialmente intercambiabili. Le molecole che contengono i radioisotopi nell'organismo sono normalmente metabolizzate e/o localizzate in modo simile alle controparti non radioattive, e quindi possono sostituirle. Per questo motivo, alcuni radioisotopi, come il 3 H (trizio), il 14 C ed il 32 P, costituiscono un mezzo molto utile per la datazione dei fossili (vedi Fig. 18-10 ), per seguire le vie metaboliche, per determinare la sequenza dell'informazione genetica nel DNA (vedi Fig. 15-10 ) e per comprendere il trasporto degli zuccheri nelle piante.

In medicina, i radioisotopi sono utilizzati sia per la diagnostica che per la terapia. La localizzazione e/o il metabolismo di un ormone o di un farmaco nel corpo umano possono essere seguiti marcando tali sostanze con radioisotopi come il carbonio–14 o il trizio. I radioisotopi sono utilizzati anche per valutare la funzionalità della ghiandola tiroidea, per ottenere immagini del flusso nelle arterie che portano sangue al cuore e per studiare molti altri aspetti della fisiologia e della biochimica del corpo umano. Dal momento che le radiazioni possono interferire con la divisione cellulare, i radioisotopi sono stati utilizzati nel trattamento dei tumori (patologie caratterizzate da una rapida divisione cellulare).

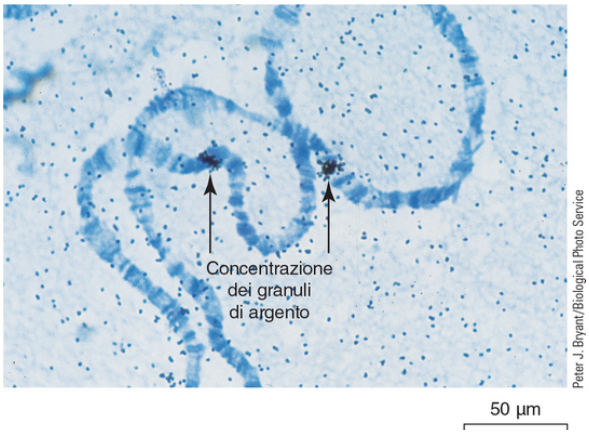



FIGURA 2-3 *Autoradiografia I cromosomi del moscerino della frutta* ( Drosophila melanogaster ) mostrati in questa micrografia ottica sono stati coperti con una speciale pellicola fotografica dove i granuli di argento ( macchie scure ) vengono prodotti quando il trizio ( 3 H) incorporato nel DNA subisce un

decadimento radioattivo. La concentrazione dei granuli di argento ( frecce ) identifica la posizione di specifiche molecole di DNA.

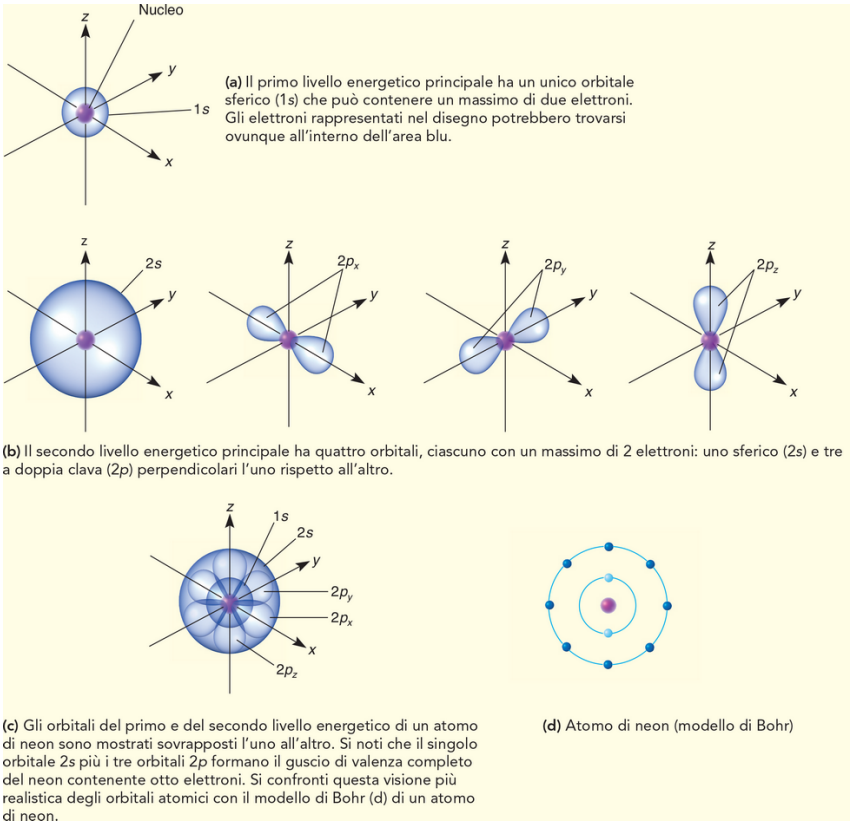
### Gli elettroni si muovono in orbitali corrispondenti ai livelli energetici

Gli elettroni si muovono rapidamente in quelle particolari regioni dello spazio 3-D dette orbitali . Ciascun orbitale contiene al mas simo due elettroni. Poiché non è possibile conoscere la posizione di un dato elettrone in ogni dato momento, è più corretto rappresentare gli orbitali come "nubi elettroniche", ovvero aree ombreggiate la cui densità è proporzionale alla probabilità che un elettrone sia presente in quel punto in ogni dato istante. L'energia di un elettrone dipende dall'orbitale che esso occupa. Elettroni posti in orbitali con energie simili si dice che hanno lo stesso livello energetico principale e costituiscono un guscio elettronico ( FIG. 2-4 ).

In generale, elettroni che occupano gusci elettronici distanti dal nucleo hanno maggiore energia di quelli che occupano gusci vicini al nucleo. Questo perché è necessaria energia per allontanare un elettrone carico negativamente dal nucleo che è carico positivamente. Gli elettroni con maggiore energia, noti come elettroni di valenza , occupano il guscio di valenza , che costituisce il cerchio più esterno del modello di Bohr. Come vedremo nei paragrafi seguenti, sono gli elettroni di valenza a giocare un ruolo chiave nelle reazioni chimiche.

**PUNTO CHIAVE** Gli elettroni occupano orbitali corrispondenti a livelli energetici.

Un elettrone, se riceve energia, può spostarsi verso un orbitale più esterno; viceversa, può rilasciare energia e scendere ad un livello energetico più basso, ovvero in un orbitale più vicino al nucleo. Le variazioni dei livelli energetici degli elettroni hanno un ruolo importante nelle trasformazioni energetiche che avvengono negli organismi. Nella fotosintesi, ad esempio, l'energia luminosa assorbita dalle molecole di clorofilla sposta gli elettroni ad un livello energetico più alto (vedi Fig. 9-3 ).




**(a)** Il primo livello energetico principale ha un unico orbitale sferico (1*s*) che può contenere un massimo di due elettroni. Gli elettroni rappresentati nel disegno potrebbero trovarsi ovunque all'interno dell'area blu.

**(b)** Il secondo livello energetico principale ha quattro orbitali, ciascuno con un massimo di 2 elettroni: uno sferico (2*s*) e tre a doppia clava (2*p*) perpendicolari l'uno rispetto all'altro.

**(c)** Gli orbitali del primo e del secondo livello energetico di un atomo di neon sono mostrati sovrapposti l'uno all'altro. Si noti che il singolo orbitale 2*s* più i tre orbitali 2*p* formano il guscio di valenza completo del neon contenente otto elettroni. Si confronti questa visione più realistica degli orbitali atomici con il modello di Bohr (d) di un atomo di neon.

**(d)** Atomo di neon (modello di Bohr)

### Verifica

- Il numero atomico è lo stesso per tutti gli atomi di un elemento? E la massa atomica?
- Che cos'è un radioisotopo? In che modo i radioisotopi possono essere utilizzati nella ricerca biologica?
- Che relazione c'è, in termini energetici, tra gli elettroni che occupano diversi orbitali dello stesso guscio elettronico?

## 2.2 LE REAZIONI CHIMICHE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Spiegare in che modo il numero degli elettroni di valenza di un atomo è correlato alle sue proprietà chimiche.
1. Fare una distinzione tra formule chimiche semplici, molecolari e di struttura.
1. Spiegare per quale motivo il concetto di mole è così utile per i chimici.

Il comportamento chimico di un atomo è determinato dal numero e dalla disposizione degli elettroni di valenza . Il guscio di valenza dell'idrogeno o dell'elio è completo, cioè stabile, quando contiene 2 elettroni. Il guscio di valenza di tutti gli altri atomi è completo se contiene 8 elettroni. Quando il guscio di valenza non è completo, l'atomo tende a cedere, acquisire o condividere elettroni per completare il guscio esterno. I gusci di valenza di tutti gli isotopi di uno stesso elemento sono uguali; è per questo che essi hanno proprietà chimiche simili e possono sostituirsi tra di loro nelle reazioni chimiche (ad esempio, il trizio può sostituire l'idrogeno comune).

Gli elementi che si trovano nella stessa colonna verticale, cioè nello stesso gruppo , della tavola periodica hanno proprietà chimiche simili, in quanto i loro gusci di valenza hanno tendenze simili a cedere, acquisire o condividere elettroni. Ad esempio, il cloro e il bromo, che fanno parte degli alogeni, sono molto reattivi. Poiché i loro i gusci di valenza possiedono 7 elettroni, nelle reazioni chimiche essi tendono ad accettare un elettrone. Al contrario, l'idrogeno, il sodio e il potassio hanno un unico elettrone di valenza che essi tendono a cedere o a condividere con un altro atomo. L'elio (He) e il neon (Ne) sono " gas nobili ". Si tratta di gas non reattivi in quanto i loro gusci di valenza sono completi. Notate in Figura 2-1 i gusci di valenza incompleti di alcuni elementi importanti negli organismi viventi (carbonio, idrogeno, ossigeno e azoto) e comparateli con il guscio di valenza completo del neon ( FIG. 2-4d ).

## Gli atomi formano composti e molecole

Due o più atomi possono combinarsi chimicamente. Quando atomi di elementi *diversi* si combinano, il risultato è un composto chimico. Un composto chimico consiste di atomi di due o più elementi differenti combinati in un rapporto fisso. Per esempio, l'acqua è un composto chimico costituito da idrogeno e ossigeno in rapporto 2:1, mentre il comune sale da cucina, il cloruro di sodio, è un composto chimico costituito da sodio e cloro in rapporto 1:1.
Quando due o più atomi si combinano chimicamente, si formano unità chiamate molecole . Per esempio, quando si combinano due atomi di ossigeno, si forma una molecola di ossigeno. L'acqua è un composto molecolare, in cui ogni molecola è formata da due atomi di idrogeno e da uno di ossigeno. Però, come vedremo, non tutti i composti sono costituiti da molecole. Il cloruro di sodio è un esempio di composto non molecolare.

## Formule chimiche semplici, molecolari e di struttura forniscono informazioni diverse

Una formula chimica è il modo più abbreviato per descrivere la composizione chimica di una sostanza. I simboli chimici identificano gli atomi presenti, e i numeri in pedice il rapporto tra gli atomi. Esistono diversi tipi di formule chimiche, ognuno dei quali fornisce specifiche informazioni.
In una formula semplice (anche nota come *formula empirica* ), i numeri in pedice forniscono il più piccolo rapporto tra gli atomi presenti in un composto. Per esempio, la formula semplice per l'idrazina è $NH_2$ , ad indicare che esiste un rapporto 1:2 tra l'azoto e l'idrogeno. (Da notare che, quando è presente un singolo atomo di un tipo, il pedice 1 non viene mai riportato).
In una formula molecolare , i numeri in pedice indicano il numero reale di ogni tipo di atomo nella molecola. La formula molecolare dell'idrazina è $N_2H_4$ , ad indicare che ogni molecola di idrazina consiste di due atomi di azoto e di quattro atomi di idrogeno. La formula molecolare dell'acqua è $H_2O$, indicando che ogni molecola consiste di due atomi di idrogeno e di uno di ossigeno.
Una formula di struttura non mostra solamente il tipo e il numero degli atomi in una molecola, ma anche la loro organizzazione reciproca. Ad esempio, la formula di struttura dell'acqua è H—O—H. Come apprenderete nel Capitolo 3 , accade frequentemente che molecole organiche complesse con differenti formule di struttura abbiano la stessa formula molecolare.

## Una mole di qualsiasi sostanza contiene lo stesso numero di unità

La massa molecolare di un composto è la somma delle masse atomiche degli atomi che compongono ogni molecola; quindi, la massa molecolare dell'acqua, $H_2O$, corrisponde a (idrogeno:2 × 1 uma) + (ossigeno: 1 × 16 uma), ovvero 18 uma. (A causa della presenza degli isotopi, i valori di massa atomica non sono mai numeri interi; tuttavia, per agevolare i calcoli, tutti i valori di massa atomica sono arrotondati). La massa molecolare del glucosio ($C_6H_{12}O_6$ ), composto chiave nel metabolismo cellulare, corrisponde a (carbonio: 6 × 12 uma) + (idrogeno: 12 × 1 uma) + (ossigeno: 6 × 16 uma), ovvero 180 uma.

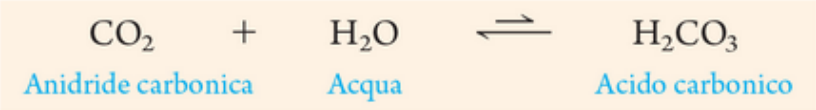
La mole (mol) è la quantità di composto la cui massa in grammi è equivalente alla sua massa atomica o molecolare. Quindi, 1 mole di acqua è 18 grammi (g), e una mole di glucosio ha una massa di 180 grammi. Il concetto di mole è utile in quanto permette di paragonare tra loro atomi e molecole di massa molto diversa. Questo perché *una mole di ciascuna sostanza contiene sempre esattamente lo stesso numero di unità* , sia che si tratti di piccoli atomi che di grandi molecole. Il numero di unità in una mole, del fisico italiano Amedeo Avogadro che lo calcolò per primo. Così, una mole (180 grammi) di glucosio contiene $6{,}02 \times 10^{23}$ molecole, esattamente come una mole (2 grammi) di idrogeno molecolare ($H_2$ ). Anche se è impossibile contare uno ad uno gli atomi e le molecole, questo numero permette agli scienziati di calcolarne il numero semplicemente pesando il campione. I biologi molecolari generalmente hanno a che fare con valori più piccoli, come le millimoli (mmol, ovvero un millesimo di mole) o le micromoli (μ mol, ovvero un milionesimo di mole).
Il concetto di mole permette anche di paragonare tra loro le soluzioni. Una soluzione 1 molare, indicata come 1 M , contiene 1 mole di una data sostanza sciolta in 1 litro di soluzione. Possiamo quindi confrontare 1 litro di una soluzione 1 M di glucosio con 1 litro di una soluzione 1 M di saccarosio (zucchero da tavola).

Queste soluzioni differiscono per la massa dello zucchero disciolto (rispettivamente 180 e 340 grammi), ma entrambe contengono 6,02 × 10 23 molecole di zucchero.

### Le equazioni chimiche descrivono le reazioni chimiche

Durante ogni momento della vita di un organismo, sia esso un batterio, un fungo o una farfalla, avvengono molte e complesse reazioni chimiche. Le reazioni chimiche, come ad esempio quella tra glucosio e ossigeno, possono essere descritte utilizzando equazioni chimiche:

In un'equazione chimica, i reagenti (le sostanze che partecipano alla reazione) vengono scritti dalla parte sinistra dell'equazione, mentre i prodotti (le sostanze che si formano nella reazione) vengono scritti dal lato destro. La freccia significa "produce" ed indica la direzione nella quale la reazione tende a procedere.
Le singole specie chimiche reagiscono sempre in rapporti ben precisi tra loro. Il numero che precede il simbolo chimico o la formula (noto come coefficiente ) indica il numero relativo di atomi o molecole che partecipano alla reazione. Ad esempio, 1 mole di glucosio, quando viene bruciata o metabolizzata, reagisce con 6 moli di ossigeno per dare 6 moli di anidride carbonica e 6 moli di acqua.
Molte reazioni chimiche possono procedere simultaneamente verso destra e, all'inverso, verso sinistra; all' equilibrio dinamico , le velocità di reazione nei due sensi sono uguali (vedi Cap. 7 ). Le reazioni reversibili sono indicate da una doppia freccia:




In questo esempio, le frecce hanno lunghezze differenti ad indicare che, all'equilibrio, ci sono più reagenti (CO 2 e H 2 O) che prodotto (H 2 CO 3 ).

### Verifica

- Perché un radioisotopo può sostituire un atomo ordinario (non radioattivo) dello stesso elemento in una molecola?
- Quale tipo di formula chimica fornisce un maggior numero di informazioni?
- Quanti atomi sono contenuti in 1 grammo di atomi di idrogeno?

## 2.3 I LEGAMI CHIMICHI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Fare una distinzione tra legami covalenti, legami ionici, legami a idrogeno ed interazioni di van der Waals. Paragonarli in base ai meccanismi con cui si formano e alle loro forze relative.

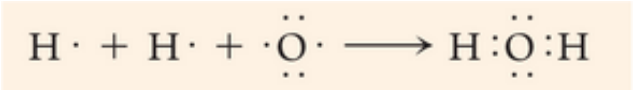
Gli atomi di una molecola sono tenuti insieme da forze attrattive chiamate legami chimici . Ciascun legame chimico rappresenta una certa quantità di energia chimica potenziale. L' energia di legame è l'energia necessaria per rompere tale legame. Gli elettroni di valenza definiscono quanti legami un determinato atomo può formare. I due principali tipi di legame chimico forte sono il legame covalente e il legame ionico.

### Nei legami covalenti gli elettroni vengono condivisi

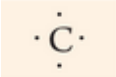
I legami covalenti comportano la condivisione degli elettroni tra gli atomi, in modo tale che ogni atomo abbia un guscio di valenza completo. Una molecola è costituita da atomi uniti mediante legami covalenti. Un semplice esempio di legame covalente è quello che unisce due atomi di idrogeno nell'idrogeno molecolare, H 2 . Ogni atomo di idrogeno ha un solo elettrone, ma per completare il suo guscio di valenza ne sono necessari due. Gli atomi di idrogeno hanno la stessa capacità di attrarre elettroni, quindi nessuno dei condividono i loro unici elettroni in modo tale che essi vengano attratti dai due protoni presenti nei nuclei dei due atomi di idrogeno. Di conseguenza, i due elettroni ruotano intorno ad entrambi i nuclei, tenendo uniti i due atomi. Allo stesso modo, anche atomi diversi possono essere uniti da legami covalenti a formare molecole; il composto che ne risulta è un composto covalente .

Un modo semplice per rappresentare gli elettroni che si trovano nel guscio di valenza di un atomo è quello di usare dei puntini sistemati intorno al simbolo chimico dell'elemento. Una tale rappresentazione è chiamata *struttura di Lewis* dell'atomo, in onore di G.N. Lewis, il chimico americano che ideò questo tipo

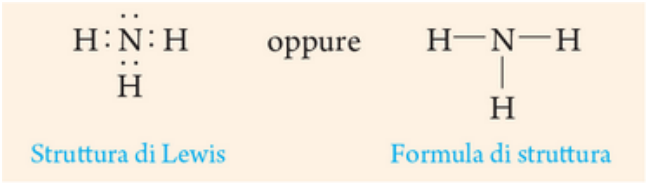
di notazione. In una molecola di acqua, due atomi di idrogeno sono legati in modo covalente ad un atomo di ossigeno:



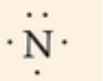
L'ossigeno ha 6 elettroni di valenza; condividendo i suoi elettroni con due atomi di idrogeno, può completare il suo livello più esterno con 8 elettroni; allo stesso tempo, ciascun atomo di idrogeno completa il suo livello esterno con due elettroni. (Da notare che nella formula di struttura H—O—H ciascuna linea rappresenta un doppietto di elettroni condiviso. Nella formula di struttura non vengono di solito rappresentati gli elettroni non condivisi).
L'atomo di carbonio ha nel guscio più esterno 4 elettroni disponibili per legami covalenti:



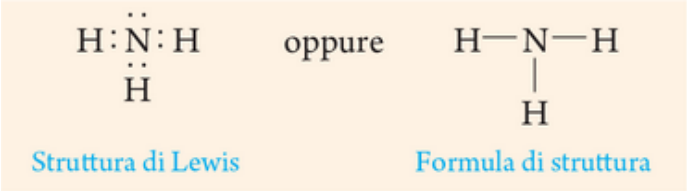
Quando un atomo di carbonio e 4 atomi di idrogeno condividono i loro elettroni, si forma una molecola di metano, $CH_4$ :




L'atomo di azoto ha 5 elettroni nel guscio di valenza. È opportuno ricordare che ciascuno orbitale può contenere al massimo due elettroni. Generalmente, due elettroni vanno ad occupare un unico orbitale, lasciandone tre disponibili per essere condivisi con altri atomi:



Quando un atomo di azoto condivide i suoi elettroni con tre atomi di idrogeno, si forma l'ammoniaca, $NH_3$




Quando un doppietto di elettroni viene condiviso tra due atomi, si forma un legame covalente semplice ( FIG. 2-5a ). Due atomi di ossigeno raggiungono la stabilità formando legami covalenti tra di loro. Ciascun atomo di ossigeno ha 6 elettroni nel guscio esterno e, per divenire stabile, i due atomi condividono due paia di elettroni formando l'ossigeno molecolare ( FIG. 2-5b ). Quando due doppietti di elettroni vengono condivisi in questo modo, si forma un doppio legame covalente , che viene rappresentato con due linee continue parallele. Allo stesso modo, un triplo legame covalente (rappresentato da tre linee continue parallele) si forma quando vengono condivise tre coppie di elettroni.

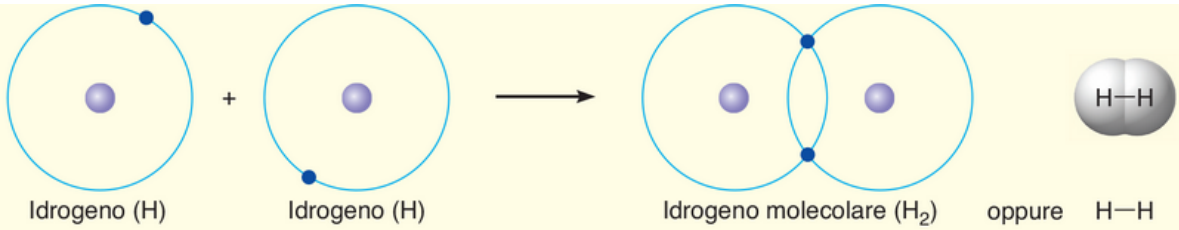
Il numero di legami covalenti che si vengono generalmente a formare tra atomi normalmente presenti nelle molecole importanti da un punto di vista biologico è riassunto nella tabella affianco.

| Atomo | Simbolo | Legami covalenti |
|---|---|---|
| Idrogeno | H | 1 |
| Ossigeno | O | 2 |
| Carbonio | C | 4 |
| Azoto | N | 3 |
| Fosforo | P | 5 |
| Zolfo | S | 2 |

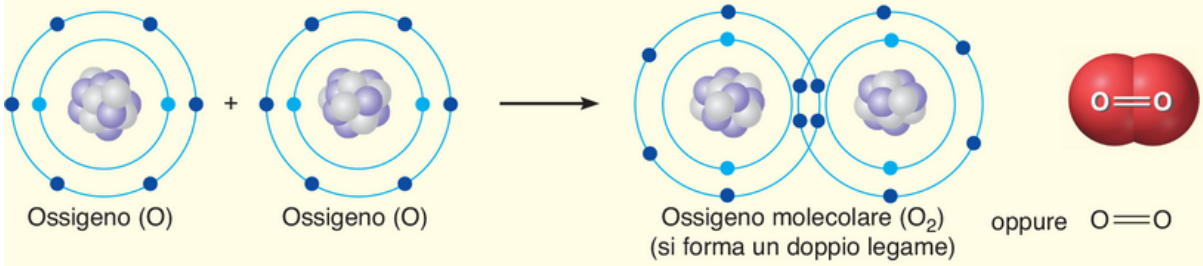
### La funzione di una molecola dipende dalla sua forma

Oltre ad essere composta da atomi con determinate proprietà, ogni molecola ha dimensioni e forma caratteristiche. Sebbene una molecola possa, entro certi limiti, cambiare configurazione, le funzioni delle molecole nelle cellule viventi dipendono in largamisura dalla loro forma geometrica. Ad esempio, una molecola formata da due atomi può essere considerata lineare, mentre le molecole formate da più di due

atomi possono avere forme più complicate. La forma geometrica fa sì che all'interno di una molecola si abbia tra gli atomi la distanza ottimale per controbilanciare la repulsione dei doppietti elettronici.




**(a) Formazione di un legame covalente semplice.** Due atomi di idrogeno raggiungono la stabilità, condividendo due elettroni, formando così una molecola di idrogeno. Nella formula di struttura sulla destra, il trattino tra i due atomi di idrogeno rappresenta un legame covalente semplice.




**(b) Formazione di un doppio legame covalente.** Due atomi di ossigeno condividono due coppie di elettroni per formare l'ossigeno molecolare, dotato di un doppio legame covalente. I trattini paralleli nella formula di struttura rappresentano un doppio legame covalente.

**PUNTO CHIAVE**
I legami covalenti si formano quando gli atomi condividono gli elettroni.

FIGURA 2-5 *Condivisione degli elettroni nei composti covalenti*

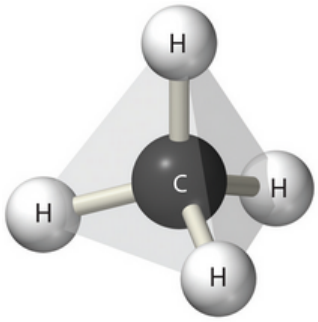



FIGURA 2-6 *Ibridazione degli orbitali nel metano* →
I quattro atomi di idrogeno sono situati ai vertici di un tetraedro a causa dell'ibridazione degli orbitali del guscio di valenza del carbonio.

Quando un atomo si lega covalentemente con altri atomi, si può avere un riarrangiamento degli orbitali del guscio di valenza in un processo conosciuto come ibridazione degli orbitali e ciò determina la forma della molecola che ne deriva. Quando 4 atomi di idrogeno si combinano con un atomo di carbonio per dare una molecola di metano (CH 4 ), gli orbitali del guscio di valenza del carbonio vengono ibridati dando origine ad una struttura geometrica a tetraedro con un atomo di idrogeno ad ognuno dei 4 vertici ( FIG. 2-6 ; vedi Fig. 3-2a ).
Analizzeremo in maggior dettaglio l'importanza della forma molecolare nel Capitolo 3 e nella discussione sulle proprietà dell'acqua in questo capitolo.

### I legami covalenti possono essere polari o apolari

Gli atomi di elementi diversi differiscono per la loro affinità per gli elettroni. L' elettronegatività è la misura dell'attrazione di un atomo per gli elettroni all'interno dei legami chimici. Atomi molto elettronegativi, come ossigeno, azoto, fluoro e cloro, sono definiti "avidi di elettroni". Se gli atomi di una molecola hanno elettronegatività uguale, gli elettroni sono condivisi in maniera equivalente e il legame covalente viene detto apolare . Ad esempio, i legami covalenti dell'idrogeno molecolare, dell'ossigeno molecolare e del metano sono apolari.

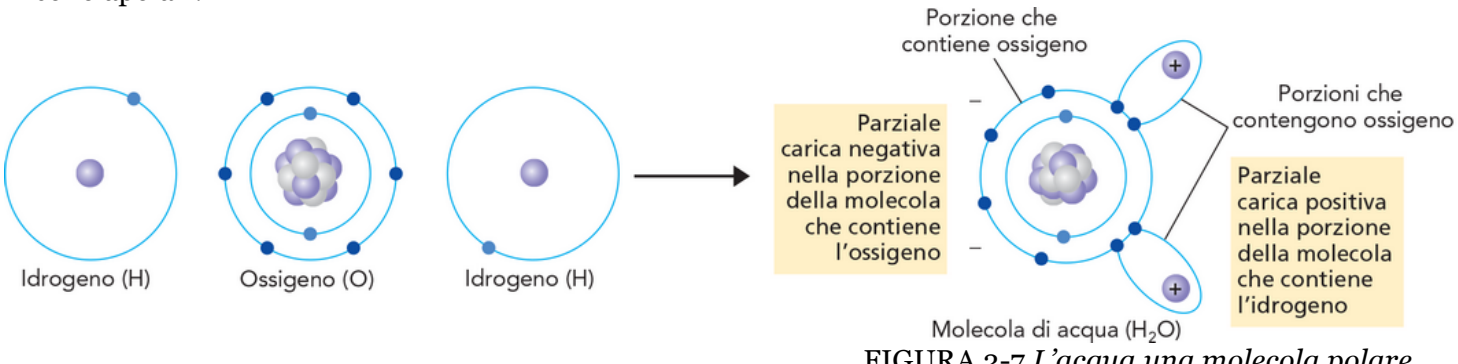



FIGURA 2-7 *L'acqua,una molecola polare*

È da notare che gli elettroni tendono a stare più vicini al nucleo dell'ossigeno che non a quelli dell'idrogeno. Questo dà luogo ad una parziale carica negativa sulla parte della molecola contenente l'ossigeno e una parziale carica positiva

sulla parte in cui si trova l'idrogeno. Sebbene l'acqua sia una molecola nel complesso elettricamente neutra, la si può definire un composto covalente polare.

Nel legame covalente tra due elementi differenti, ad esempio H ossigeno ed idrogeno, l'elettronegatività degli atomi può essere diversa. Gli elettroni sono attratti dal nucleo atomico dell'elemento che ha per essi maggior affinità (in questo caso l'ossigeno). Il legame covalente tra atomi con elettronegatività diversa viene chiamato legame covalente polare . Tale legame ha due estremità (o poli) diverse, una con parziale carica positiva e l'altra con parziale carica negativa. Nell'acqua, entrambi i legami covalenti sono polari a causa della parziale carica positiva addensata sull'idrogeno e della parziale carica negativa addensata sull'ossigeno, dove è più probabile trovare gli elettroni "condivisi".
I legami covalenti differiscono nel loro grado di polarità, andando da quelli in cui gli elettroni sono equamente condivisi (come nella molecola dell'idrogeno) a quelli in cui gli elettroni sono molto più vicini ad un atomo rispetto all'altro (come nella molecola dell'acqua). L'ossigeno è abbastanza elettronegativo e forma legami covalenti polari con carbonio, idrogeno e molti altri atomi. L'azoto è anch'esso elettronegativo, pur essendolo meno dell'ossigeno.
Una molecola con uno o più legami covalenti polari può essere definita polare, sebbene sia nel complesso elettricamente neutra. Una molecola polare ha un'estremità con una carica parziale positiva e l'altra con una carica parziale negativa. Un esempio è dato dall'acqua ( FIG. 2-7 ) . Dal momento che gli atomi sono disposti a forma di "V" piuttosto che linearmente, l'estremità dell'ossigeno costituisce il polo negativo, mentre l'estremità contenente i due idrogeni costituisce il polo positivo.

## I legami ionici si formano tra anioni e cationi

Alcuni atomi o gruppi di atomi non sono elettricamente neutri. Una particella con una o più unità di carica elettrica è detta ione . Quando un atomo accetta o perde uno o più elettroni, diventa uno ione. Se un atomo ha 1, 2 o 3 elettroni nel guscio di valenza,tende a cederli ad altri atomi. Di conseguenza, tale atomo diventa carico positivamente, poiché il numero di protoni nel nucleo è superiore al numero di elettroni che vi orbitano intorno. Questi ioni carichi positivamente vengono detti cationi . Gli atomi che hanno 5, 6 o 7 elettroni di valenza tendono ad accettare elettroni da altri atomi e a diventare anioni carichi negativamente. È importante capire che gli ioni hanno proprietà alquanto diverse da quelle dell'atomo elettricamente neutro dal quale derivano. Ad esempio, pur essendo il cloro un veleno, gli ioni cloruro (Cl – ) sono essenziali per la vita (vedi Tabella 2-1 ). Cationi ed anioni, grazie alle loro cariche elettriche che sono alla base di molte interazioni, sono coinvolti nelle trasformazioni energetiche che avvengono nelle cellule, nella trasmissione degli impulsi nervosi, nella contrazione muscolare ed in molti altri processi vitali ( FIG. 2-8 ).

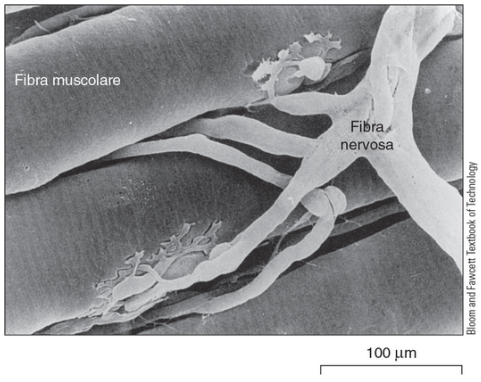



FIGURA 2-*8 Gli ioni e i processi biologici*
Gli ioni sodio, potassio e cloruro sono ioni essenziali alla fibra nervosa per stimolare la fibra muscolare alla contrazione. Gli ioni calcio nella fibra muscolare sono essenziali per la contrazione.

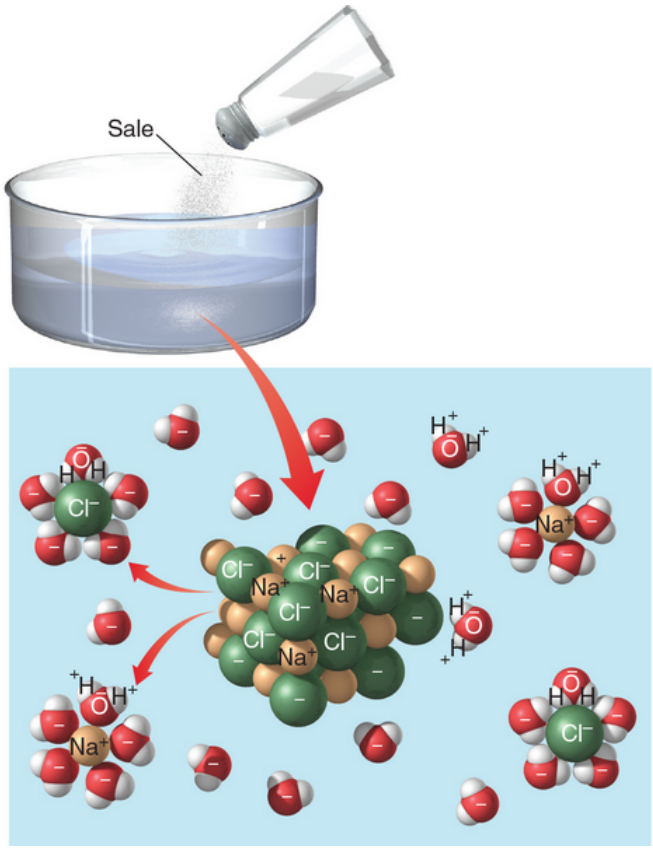


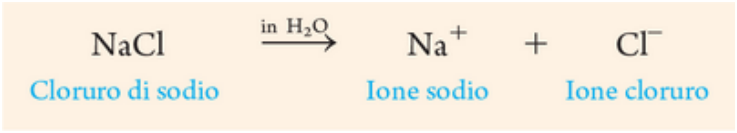

FIGURA 2-8 *Legame ionico*
Donando il suo unico elettrone di valenza al cloro, che ha sette elettroni di valenza, il sodio si trasforma nello ione sodio a carica positiva. Con questo elettrone in più, il cloro completa il suo guscio esterno trasformandosi nello ione cloruro a carica negativa. Questi ioni si attraggono l'un l'altro a causa delle loro cariche elettriche opposte, formando il cloruro di sodio, che è un composto ionico.

FIGURA 2-10 *Idratazione di un composto ionico.*
Quando il cristallo di NaCl viene messo in acqua, gli ioni

sodio e cloruro si separano. Quando l'NaCl si sarà sciolto, ciascuno ione Na + e Cl – sarà circondato da molecole di acqua elettricamente attratte da esso.

Anche un gruppo di atomi legati covalentemente può diventare uno ione ( ione poliatomico ). Diversamente da un atomo, un gruppo di atomi può perdere o accettare protoni (derivati dagli atomi di idrogeno) così come elettroni; pertanto, esso può divenire un catione se perde uno o più elettroni o se guadagna uno o più protoni, mentre si trasforma in un anione se acquista uno o più elettroni oppure se perde uno o più protoni.
Un legame ionico si viene a formare come conseguenza dell'attrazione tra la carica positiva di un catione e la carica negativa di un anione. Un composto ionico è una sostanza costituita da cationi ed anioni legati mediante le loro cariche di segno opposto. Un buon esempio di come si formano i legami ionici è l'attrazione tra ioni sodio e cloruro. Un atomo di sodio ha un elettrone nel guscio di valenza; esso non può quindi completare il guscio più esterno acquistando da altri atomi 7 elettroni, perché avrebbe una carica negativa troppo sbilanciata. Invece, cede l'unico elettrone di valenza ad un atomo molto elettronegativo, come il cloro, che agisce da accettore di elettroni ( FIG. 2-9 ). Il cloro non può cedere tutti e sette gli elettroni che si trovano nel guscio di valenza, perché altrimenti avrebbe una carica positiva troppo grande. Invece, può sottrarre un elettrone ad un donatore, in questo esempio il sodio, per completare il suo guscio di valenza.
Quando il sodio reagisce con il cloro, il suo elettrone di valenza viene trasferito completamente al cloro. Il sodio diviene così un catione con carica positiva unitaria (Na + ), mentre il cloro diventa un anione con carica negativa unitaria (Cl – ). Questi ioni si attraggono l'un l'altro grazie alle loro cariche opposte e sono tenuti insieme da questa attrazione elettrica propria dei legami ionici per formare NaCl, cloruro di sodio, il comune sale da cucina.

Il termine molecola non spiega adeguatamente le proprietà dei composti ionici come NaCl. Quando NaCl è un cristallo allo stato solido, ciascuno ione è in effetti circondato da sei ioni di carica opposta. La formula semplice NaCl indica che gli ioni sodio e gli ioni cloruro sono presenti in un rapporto 1:1, ma nel cristallo reale non sono presenti singole molecole costituite da uno ione Na + e da uno ione Cl – . Se posti in acqua, i composti tenuti insieme da legami ionici, come il cloruro di sodio, hanno la tendenza a dissociarsi nei loro singoli ioni:




In un composto ionico nella sua forma solida, cioè in assenza di acqua, i legami ionici sono molto forti. L'acqua, però, è un eccellente solvente ; come liquido, è in grado di sciogliere molte sostanze, e in particolare le sostanze polari o ioniche, grazie alla sua polarità. Le cariche parziali positive (localizzate sugli atomi di idrogeno) e le cariche parziali negative (sull'atomo di ossigeno) di ciascuna molecola di acqua attraggono e circondano cationi ed anioni presenti sulla superficie di un solido ionico. Di conseguenza, il solido si scioglie. Una sostanza disciolta è detta anche soluto . In soluzione, ciascun catione ed anione del composto ionico è circondato dalle estremità delle molecole di acqua con carica opposta. Questo processo è noto come idratazione ( FIG.2-10 ). Gli ioni idratati interagiscono tra loro in una certa misura, ma i legami ionici transitori che si formano sono molto più deboli rispetto a quelli del cristallo solido.

## I legami a idrogeno sono attrazioni deboli

Il legame a idrogeno è un altro tipo di legame importante dal punto di vista biologico. Quando l'idrogeno si combina con l'ossigeno (o con un altro atomo relativamente elettronegativo, come l'azoto), su di esso si accumula una carica positiva parziale, in quanto il suo elettrone si va a posizionare più vicino all'atomo di ossigeno. I legami a idrogeno si formano tra un atomo con una parziale carica negativa ed un atomo di idrogeno legato covalentemente all'ossigeno o all'azoto ( FIG. 2-11 ). Gli atomi coinvolti possono far parte della stessa molecola oppure essere in due molecole diverse. Le molecole di acqua interagiscono tra loro dando origine a legami a idrogeno.
I legami a idrogeno si formano e si rompono rapidamente. Sebbene ogni legame sia relativamente debole, se presenti in gran numero, i legami a idrogeno sono nel loro insieme forti. Inoltre, essi hanno lunghezza e orientamento specifici. Come vedremo nel Capitolo 3 , queste caratteristiche rivestono un ruolo molto importante nel determinare la struttura tridimensionale di molecole di grandi dimensioni, quali il DNA e le proteine.

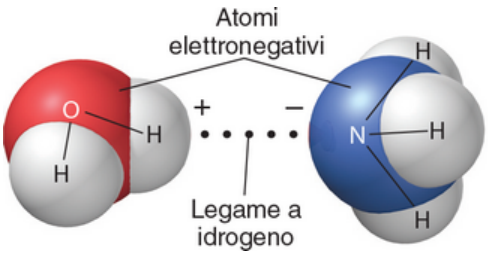



FIGURA 2-11 *Legame a idrogeno*
Un legame a idrogeno ( linea tratteggiata ) si può formare tra due molecole che presentano regioni con cariche parziali di segno opposto. In questo esempio, l'atomo di azoto della molecola di ammoniaca è legato all'atomo di idrogeno della molecola d'acqua per mezzo di un legame a idrogeno.

### Le interazioni di van der Waals sono forze deboli

Anche le molecole apolari, elettricamente neutre, possono sviluppare in modo transiente regioni con deboli cariche positive e negative. Tali cariche lievi si sviluppano in conseguenza del fatto che gli elettroni sono in costante movimento. Una regione con un eccesso temporaneo di elettroni avrà una debole carica negativa, mentre una regione con un difetto temporaneo di elettroni avrà una debole carica positiva. Molecole adiacenti possono pertanto interagire mediante regioni con carica temporanea opposta. Tali forze attrattive, dette interazioni di van der Waals , agiscono su distanze molto brevi e sono più deboli e meno specifiche degli altri tipi di interazioni che abbiamo considerato. Risultano importanti principalmente quando sono presenti in gran numero e quando la forma delle molecole consente uno stretto contatto tra gli atomi. Benché una singola interazione sia estremamente debole, la forza di legame di un gran numero di esse nell'insieme può essere significativa.

### Verifica

- Tutti i composti sono costituiti da molecole? Spiegate.
- In che modo un atomo o una molecola può diventare un anione o un catione?
- Qual è la differenza tra legame ionico e covalente?
- In quali circostanze forze deboli come i legami a idrogeno e le interazioni di van der Waals giocano un ruolo significativo nei sistemi biologici?

## 2.4 LE REAZIONI REDOX

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Fare una distinzione tra i termini *ossidazione e riduzione* , e mettere in relazione questi processi con il trasferimento di energia.

Molte delle trasformazioni energetiche che avvengono nella cellula coinvolgono reazioni in cui un elettrone viene trasferito da una sostanza ad un'altra. Questo avviene perché il trasferimento di un elettrone implica anche il trasferimento dell'energia ad esso associata. Tale trasferimento elettronico è detto ossido-riduzione o reazione redox . Ossidazione e riduzione sono due processi che avvengono sempre insieme. L' ossidazione è un processo chimico nel quale un atomo, ione o molecola perde elettroni. La riduzione è un processo chimico nel quale un atomo, ione o molecola acquista elettroni. (Il termine fa riferimento al fatto che il guadagno di un elettrone determina una riduzione di una qualsiasi carica positiva presente).
La formazione della ruggine, che è la combinazione di ferro (simbolo Fe) con ossigeno, è un esempio molto comune di reazione di ossido-riduzione:

$$4\,Fe + 3\,O_2 \longrightarrow 2\,Fe_2O_3$$

Ossido di ferro (III)

Nella formazione della ruggine, ogni atomo di ferro si ossida perdendo 3 elettroni.

$$4\,Fe \longrightarrow 4\,Fe^{3+} + 12e^-$$

Il simbolo e – rappresenta un elettrone, mentre l'apice + in Fe 3+ indica il deficit di elettroni. (Quando un atomo perde un elettrone, acquisisce 1 unità di carica positiva dovuta al fatto che ha un protone in eccesso. Nel nostro esempio, ciascun atomo di ferro perde 3 elettroni ed acquisisce 3 unità di carica positiva). Ricordate che l'atomo di ossigeno è molto elettronegativo ed è in grado di rimuovere elettroni da altri atomi. In questa reazione, l'ossigeno si riduce accettando elettroni dal ferro.

$$3\,O_2 + 12e^- \longrightarrow 6\,O^{2-}$$

Ossidazione e riduzione avvengono sempre contemporaneamente, perché una sostanza deve accettare gli elettroni che sono allontanati dall'altra. In una reazione redox, l' agente ossidante accetta uno o più elettroni, riducendosi. Esistono altri agenti ossidanti oltre all'ossigeno, ma l'ossigeno è così comune da aver dato il nome a questo processo. L'altro composto che partecipa alla reazione, l' agente riducente , cede uno o più elettroni, ossidandosi. Nel nostro esempio, si è avuto un trasferimento completo di elettroni dal ferro (l'agente riducente) all'ossigeno (l'agente ossidante). Similmente, in Figura 2-9 , un elettrone è stato trasferito dal sodio (l'agente riducente) al cloro (l'agente ossidante).

Gli elettroni non vengono allontanati dai composti covalenti con molta facilità, a meno che non venga rimosso un atomo intero. Quasi sempre, nelle cellule viventi l'ossidazione comporta la perdita di un atomo di idrogeno (un elettrone più un protone che lo segue); il contrario avviene per la riduzione ( Capitolo 7 ).

**Verifica**

- Perché ossidazione e riduzione devono avvenire simultaneamente?
- Perché le reazioni redox sono importanti in taluni trasferimenti di energia?

## 2.5 L'ACQUA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Spiegare in che modo i legami a idrogeno tra molecole di acqua adiacenti governano molte delle proprietà dell'acqua.

La maggior parte degli organismi è costituita soprattutto da acqua. Nei tessuti umani, la sua percentuale va dal 20% delle ossa all'85% delle cellule cerebrali. Circa il 70% del nostro peso corporeo è dovuto all'acqua, e può arrivare al 95% nelle meduse e in alcune piante acquatiche. Dall'acqua, attraverso la fotosintesi, si genera l'ossigeno dell'aria che respiriamo e i suoi atomi di idrogeno sono incorporati in molti composti organici. L'acqua è anche il solvente nel quale avviene la maggior parte delle reazioni biologiche e partecipa a molte reazioni chimiche sia come reagente che come prodotto.

L'acqua non solo è un importante costituente degli organismi, ma è anche uno dei principali fattori ambientali che ne influenzano l'esistenza ( FIG. 2-12 ). Sono molti, infatti, gli organismi che vivono nel mare, nei laghi, nei fiumi e negli stagni. Le particolari proprietà chimiche e fisiche dell'acqua hanno consentito la comparsa degli esseri viventi sulla Terra, la loro sopravvivenza e la loro evoluzione.

### Tra le molecole d'acqua si formano legami a idrogeno

Le molecole d'acqua sono polari, hanno cioè un'estremità con una carica parziale positiva e l'altra con una carica parziale negativa ( FIG. 2-7 ). Nello stato liquido e nello stato solido (ghiaccio), le molecole di acqua sono tenute insieme da legami a idrogeno. L'atomo di idrogeno di ogni singola molecola d'acqua, con la sua carica parziale positiva, viene attratto dall'atomo di ossigeno, con parziale carica negativa, di una molecola vicina: si viene a formare così il legame a idrogeno. L'atomo di ossigeno in una molecola di acqua presenta due addensamenti di parziale carica negativa, mentre ciascuno dei due atomi di idrogeno possiede una parziale carica positiva. Ciascuna molecola d'acqua può formare legami a idrogeno con un massimo di 4 molecole di acqua circostanti ( FIG. 2-13 ).

Le molecole d'acqua, grazie alla presenza di legami a idrogeno, hanno una forte tendenza ad attaccarsi le une alle altre, sono cioè coesive . A causa della natura coesiva delle molecole di acqua, qualsiasi forza esercitata su una parte di una colonna di acqua sarà trasmessa a tutta la colonna. Il principale meccanismo del movimento di acqua nelle piante dipende da ciò (vedi Capitolo 35 ). Le molecole di acqua sono anche adesive , cioè si attaccano anche ad una grande quantità di altre sostanze (cioè tutte quelle sostanze che presentano delle cariche sugli atomi e sulle molecole che si trovano sulle loro superfici). Queste forze di adesione spiegano come l'acqua possa bagnare le superfici.

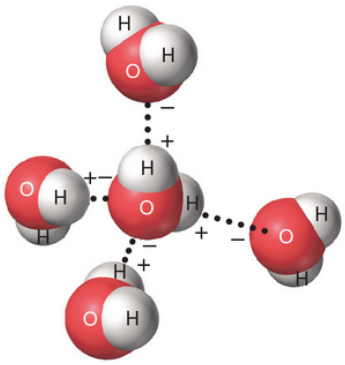
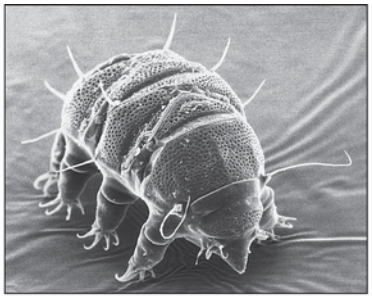



FIGURA 2-13 *Legami a idrogeno tra molecole di acqua*
Ciascuna molecola di acqua può formare legami a idrogeno ( linee punteggiate ) con quattro molecole di acqua vicine.

Le forze di adesione e di coesione sono alla base dell'azione capillare dell'acqua, la tendenza cioè a risalire all'interno di tubi molto stretti persino contro la forza di gravità ( FIG. 2-14 ). Grazie all'azione capillare, l'acqua riesce anche a passare negli spazi microscopici esistenti tra le particelle di terreno e a penetrare nelle radici delle piante.



Diane R. Nelson

**(a)** Comunemente conosciuti come "orsi d'acqua", i tardigradi, come questi che appartengono al genere *Echiniscus*, sono piccoli animali (meno di 1,2 mm di lunghezza) che normalmente vivono negli ambienti umidi, come può esserlo uno strato sottile di acqua sul *muschio*.

100 µm

Robert O. Schuster, courtesy of Diane R. Nelson

**(b)** Se sottoposti ad essiccazione, i tardigradi assumono una forma a barile e rimangono in questo stato senza muoversi, ma vivi, per periodi lunghi fino a 100 anni. Quando vengono reidratati, riassumono aspetto ed attività consueti.

10 µm

←FIGURA 2-12 *Gli effetti dell'acqua su un organismo*

L'acqua ha un alto grado di tensione superficiale grazie alla coesività delle sue molecole, le quali presentano un maggior grado di attrazione le une con le altre piuttosto che con le molecole che si trovano nell'aria. Di conseguenza, le molecole d'acqua che sono in superficie si stringono tra di loro formando uno strato piuttosto resistente, in quanto ricevono una spinta verso il basso dovuta all'attrazione delle altre molecole di acqua che si trovano sotto di esse ( FIG. 2-15 ).

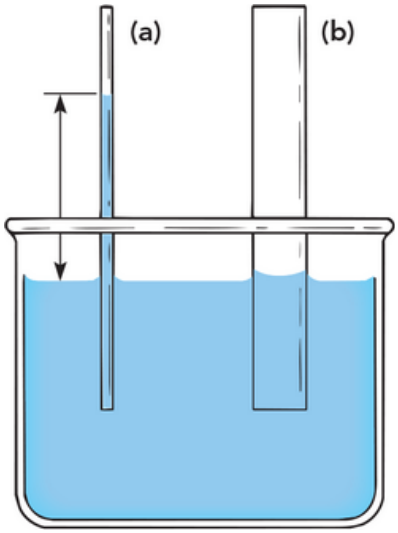
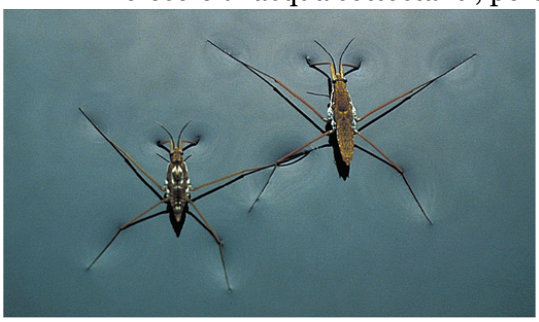



FIGURA 2-14→
Azione capillare
(a) In un tubo stretto, si verifica adesione tra le molecole d'acqua e la parete di vetro del tubo. Altre molecole di acqua vengono così "tirate su" dalle forze coesive che sono dovute alla presenza dei legami a idrogeno tra le molecole di acqua. (b) In un tubo di diametro più grande, una percentuale minore di molecole d'acqua riveste le pareti di vetro del tubo. Di conseguenza, le forze adesive non sono forti abbastanza da superare le forze coesive tra le molecole di acqua sottostanti, pertanto il livello dell'acqua nel tubo sale di poco.



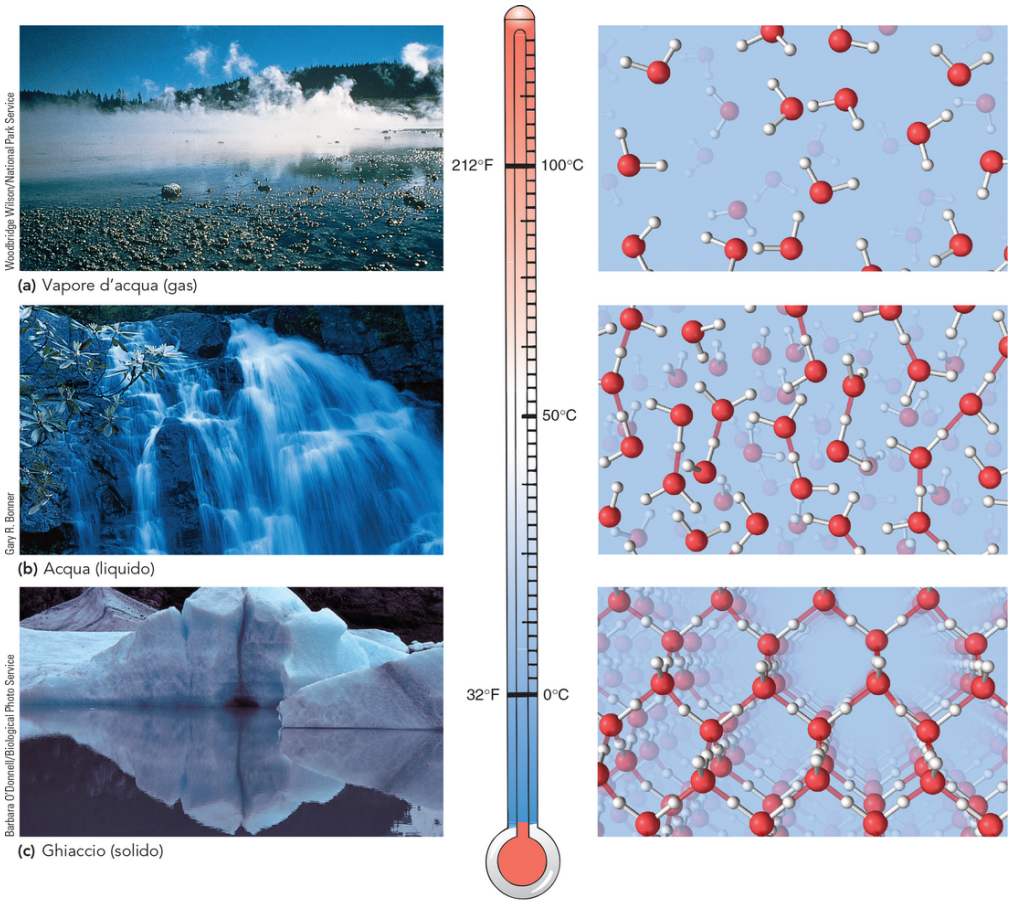
←FIGURA 2-15
*Tensione superficiale dell'acqua*
I legami a idrogeno tra le molecole di acqua sono responsabili della tensione superficiale dell'acqua, che determina l'aspetto a fossette della superficie mentre questi insetti (Gerris) vi camminano sopra. Sottili peli alle estremità delle zampe di questi insetti creano dei "cuscinetti" d'aria altamente idrorepellenti.

## Le molecole d'acqua interagiscono con le sostanze idrofiliche mediante la formazione di legami a idrogeno

A causa della polarità delle sue molecole, l'acqua è un ottimo solvente in grado di sciogliere molti tipi di composti, soprattutto quelli ionici e quelli polari. Si è già discusso di come le molecole di acqua, grazie alla loro polarità, siano in grado di far dissociare i composti ionici (vedi FIG. 2-10 ). A causa delle sue proprietà di solvente e della tendenza degli atomi di alcuni composti a formare ioni una volta in soluzione, l'acqua svolge un ruolo molto importante nel facilitare le reazioni chimiche. Le sostanze che interagiscono rapidamente con l'acqua sono dette idrofiliche ("che amano l'acqua"); ad esempio, lo zucchero da tavola (saccarosio, composto polare) e il sale da tavola (NaCl, composto ionico) si sciolgono rapidamente in acqua. Tuttavia, negli organismi non tutte le sostanze sono idrofiliche. Molte sostanze idrofobiche ("che temono l'acqua") che si trovano negli esseri viventi sono particolarmente importanti per la loro capacità di formare strutture che non si sciolgono in acqua. Tra gruppi di molecole apolari si stabiliscono interazioni idrofobiche. Tali molecole sono insolubili in acqua e tendono a raggrupparsi. Questo non è dovuto alla formazione di legami tra le molecole apolari, ma piuttosto al fatto che le molecole d'acqua unite mediante legami a idrogeno tendono ad escludere le molecole apolari e, in un certo senso, a farle raggruppare. Le interazioni idrofobiche forniscono la spiegazione del perché l'olio tenda a formare agglomerati quando aggiunto all'acqua. Esempi di sostanze idrofobiche includono gli acidi grassi ed il colesterolo, discussi nel Capitolo 3.

## L'acqua contribuisce a mantenere costante la temperatura

La presenza di legami a idrogeno fornisce una spiegazione del modo in cui l'acqua risponde alle variazioni di temperatura. L'acqua esiste in tre forme, che differiscono per il grado di formazione di legami a idrogeno: gas (vapore), liquido e ghiaccio, un solido cristallino ( FIG. 2-16 ). I legami a idrogeno si rompono e si formano ogniqualvolta l'acqua passa da uno stato all'altro.




←FIGURA 2-16
*Le tre forme dell'acqua*
(a) Quando l'acqua bolle, come in questa sorgente calda del Parco Nazionale di Yellowstone, molti legami a idrogeno si spezzano, causando la formazione del vapore, che consiste di minuscole gocce d'acqua. Se successivamente la maggior parte dei rimanenti legami a idrogeno si rompe, le molecole iniziano a muoversi più liberamente come vapore d'acqua (gas). (b) Le molecole di acqua allo stato liquido formano, rompono e riformano continuamente legami a idrogeno. (c) Nel ghiaccio, ogni molecola di acqua forma quattro legami a idrogeno con le molecole adiacenti, dando luogo ad una struttura cristallina regolare.

L'aumento di temperatura di una sostanza comporta un apporto di energia termica che fa muovere le sue molecole con maggiore velocità, cioè ne aumenta l'energia di movimento, detta energia cinetica (vedi Capitolo 7 ). Il termine calore si riferisce alla quantità totale di energia cinetica in un campione di sostanza; la temperatura è una misura dell'energia cinetica media delle particelle. Alcuni dei legami a idrogeno che tengono insieme le molecole di acqua devono essere rotti per permettere alle molecole di muoversi più liberamente. Molta dell'energia fornita al sistema viene utilizzata per rompere i legami a idrogeno e solo una parte dell'energia termica è disponibile per accelerare il movimento delle molecole di acqua, e quindi per l'aumento di temperatura. All'inverso, quando l'acqua liquida diventa ghiaccio, si devono formare legami a idrogeno addizionali, rendendo le molecole meno libere di muoversi e liberando così nell'ambiente una gran quantità di calore.

Il calore di evaporazione , la quantità di energia termica necessaria per far passare 1 grammo di una sostanza dallo stato liquido a quello gassoso, è espresso in unità chiamate calorie . Una caloria (cal) è la quantità di energia termica (equivalente a 4,184 joule [ J]) necessaria per innalzare di 1 grado Celsius (C) la temperatura di 1 grammo di acqua. L'acqua ha un elevato calore di evaporazione (540 cal) poiché le sue molecole sono tenute insieme dai legami a idrogeno. Il calore di evaporazione della maggior parte delle comuni sostanze liquide è molto più basso. Quando un campione di acqua viene riscaldato, alcune molecole si muovono più velocemente rispetto alle altre (hanno più energia termica). Queste molecole in rapido movimento tendono ad abbandonare la fase liquida più facilmente per entrare nella fase di vapore (vedi FIG. 2-16a ). Quando ciò avviene, esse portano con sé la loro energia termica, abbassando quindi la temperatura del campione, un processo chiamato raff reddamento per evaporazione . Per questo motivo, il corpo umano può dissipare l'eccesso di calore sotto forma di sudore che evapora dalla pelle, e le foglie posson mantenersi fresche sotto il sole cocente grazie all'evaporazione di acqua dalla loro superficie.

I legami a idrogeno sono responsabili anche del fatto che l'acqua possiede un elevato calore specifico ; questo significa che è necessaria una quantità piuttosto grande di energia per innalzare la temperatura dell'acqua. Il calore specifico dell'acqua è 1 cal/g di acqua per grado Celsius. La maggior parte delle altre sostanze comuni, come i metalli, il vetro e l'alcol etilico, ha valori di calore specifico molto più bassi. Per esempio, il calore specifico dell'alcol etilico è di 0,59 cal/g/1°C (2,46 J/g/1°C).

Poiché per innalzare la temperatura dell'acqua è necessario l'apporto di così tanto calore (così come l'abbassamento di temperatura determina la perdita di molto calore), gli oceani e tutte le altre grandi masse di acqua hanno una temperatura relativamente costante. Di conseguenza, gli organismi che vivono negli oceani usufruiscono di un ambiente a temperatura abbastanza costante. Le proprietà dell'acqua sono

fondamentali per stabilizzare la temperatura terrestre. Sebbene l'acqua superficiale sia solo uno strato sottile in relazione al volume della Terra, la quantità è enorme se comparata alla massa di terra esposta. Tale massa di acqua limita sia l'eccessivo riscaldamento provocato dal calore sia il raffreddamento dovuto alle basse temperature.

I legami a idrogeno conferiscono al ghiaccio caratteristiche uniche con conseguenze ambientali importanti. L'acqua si espande quando congela perché i legami a idrogeno che legano le molecole di acqua nella struttura cristallina tengono le molecole ad una distanza tale da conferire al ghiaccio una densità di circa il 10% inferiore rispetto alla densità dell'acqua in forma liquida ( FIG. 2-16c ). Quando il ghiaccio viene riscaldato in modo che la sua temperatura salga al di sopra di 0°C (32°F), i legami a idrogeno si rompono, permettendo alle molecole di avvicinarsi. La densità dell'acqua è massima a 4°C; al di sopra di questo valore, l'acqua comincia ad espandersi di nuovo, all'aumentare della velocità delle sue molecole. Di conseguenza, il ghiaccio galleggia sull'acqua fredda, più densa.

Questa peculiare proprietà dell'acqua è stata importante per l'evoluzione della vita. Se il ghiaccio avesse una densità maggiore dell'acqua, esso affonderebbe; col tempo, tutti i bacini, i laghi e persino gli oceani gelerebbero dal fondo alla superficie, rendendo impossibile la vita. Quando una massa profonda di acqua si raffredda, si ricopre di ghiaccio galleggiante. Il ghiaccio isola l'acqua sotto di esso, rallentando il congelamento e permettendo quindi ad una varietà di organismi di sopravvivere sotto la superficie ghiacciata.
L'alto contenuto di acqua degli organismi consente loro di mantenere una temperatura interna relativamente costante. Tale minimizzazione delle variazioni di temperatura è importante in quanto le reazioni biologiche avvengono solo all'interno di piccoli intervalli di temperatura.

**Verifica**

- Perché l'acqua può formare legami a idrogeno?
- Quali proprietà dell'acqua sono determinate dai legami a idrogeno? In che modo tali proprietà contribuiscono a fare dell'acqua un componente essenziale degli organismi?
- Come possono delle forze deboli, come i legami a idrogeno, avere effetti significativi sugli organismi?

## 2.6 ACIDI, BASI E SALI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Confrontare gli acidi e le basi ed illustrarne le proprietà.
11. Ricavare il valore di pH di una soluzione dalla concentrazione degli ioni idrogeno (in moli per litro) e spiegare in che modo i tamponi contribuiscono a minimizzare le variazioni di pH.
12. Illustrare la composizione dei sali e spiegare perché essi sono importanti all'interno degli organismi.

Una caratteristica delle molecole d'acqua è la loro bassa tendenza a ionizzarsi , ovvero a dissociarsi in ioni idrogeno (H + ) e ioni idrossido (OH – ). L'H + si combina immediatamente con la regione carica negativamente di una molecola d'acqua per dare lo ione idronio (H 3 O + ). Tuttavia, per convenzione si usa l'H + anziché il più corretto H 3 O + . Nell'acqua pura, si ionizza solo un piccolissimo numero di molecole; inoltre, la tendenza dell'acqua a dissociarsi viene controbilanciata dalla tendenza degli ioni idrogeno e degli ioni idrossido a ricombinarsi per ridare acqua:

$$HOH \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

Poiché ogni molecola di acqua si scinde in uno ione idrogeno e uno ione idrossido, le concentrazioni di questi due ioni nell'acqua pura sono esattamente uguali (0,0000001 o 10 –7 moli per litro per ciascuno ione). Questo tipo di soluzione è detta neutra , né acida né basica (alcalina).
Un acido è una sostanza che in soluzione si dissocia producendo ioni H + ed anioni.

$$\text{Acido} \longrightarrow H^+ + \text{Anione}$$

Un acido è quindi un *donatore* di protoni. (È opportuno ricordare che lo ione idrogeno non è altro che un protone). L'acido cloridrico (HCl) è un comune acido inorganico.

Una base è un *accettore* di protoni. La maggior parte delle basi è rappresentata da sostanze che, sciolte in acqua, si dissociano cedendo uno ione OH – ed un catione.

$$NaOH \longrightarrow Na^+ + OH^-$$
$$OH^- + H^+ \longrightarrow H_2O$$

Uno ione idrossido può agire come base combinandosi con un protone per formare acqua. L'idrossido di sodio (NaOH) è una comune base inorganica. Alcune basi non si dissociano dando direttamente ioni idrossido. L'ammoniaca (NH 3 ), ad esempio, si comporta come una base accettando un protone dall'acqua, dando così origine allo ione ammonio (NH 4 + ) e rilasciando uno ione idrossido.

$$NH_3 + H_2O \longrightarrow NH_4^+ + OH^-$$

## Il pH è una misura conveniente dell'acidità

Il grado di acidità di una soluzione viene generalmente espresso in termini di pH , definito come il logaritmo negativo (in base 10) della concentrazione degli ioni idrogeno (espressa in moli/litro):

$$pH = -\log_{10}[H^+]$$

Le parentesi quadre significano concentrazione; pertanto, il termine [H + ] indica "la concentrazione degli ioni idrogeno" espressa in moli/litro, in quanto ci interessa il numero di ioni idrogeno per litro. Dato che l'intervallo dei valori di pH possibili è molto ampio, la scala logaritmica (con una differenza di 10 volte tra unità successive) è più conveniente rispetto alla scala lineare.

Le concentrazioni di ioni idrogeno sono quasi sempre inferiori ad una mole/litro. Un grammo di ioni idrogeno sciolti inun litro di acqua (soluzione 1 molare) non sembra essere una quantità particolarmente alta, tuttavia tale soluzione sarebbe estremamente acida. Il logaritmo di un numero inferiore ad 1 è un numero negativo; perciò, il logaritmo negativo corrisponde a valori di pH positivi . (Si possono produrre soluzioni con valori di pH inferiori a zero, ma non sono riscontrabili nelle condizioni biologiche).

I valori di pH, se numeri interi, sono facili da calcolare. Consideriamo, ad esempio, l'acqua pura, che ha una concentrazione di ioni idrogeno pari a 0,0000001 (10 –7 moli/litro). Il logaritmo in questo caso è –7, il logaritmo negativo è 7 e quindi il pH è 7. La TABELLA 2-2 illustra il modo in cui si possono calcolare i valori di pH dalle concentrazioni degli ioni idrogeno, e viceversa. Per confronto, la tabella include anche le concentrazioni degli ioni idrossido, che possono essere calcolate in base al fatto che il prodotto delle concentrazioni di ioni idrogeno e di ioni idrossido è 1 × 10 –14 :

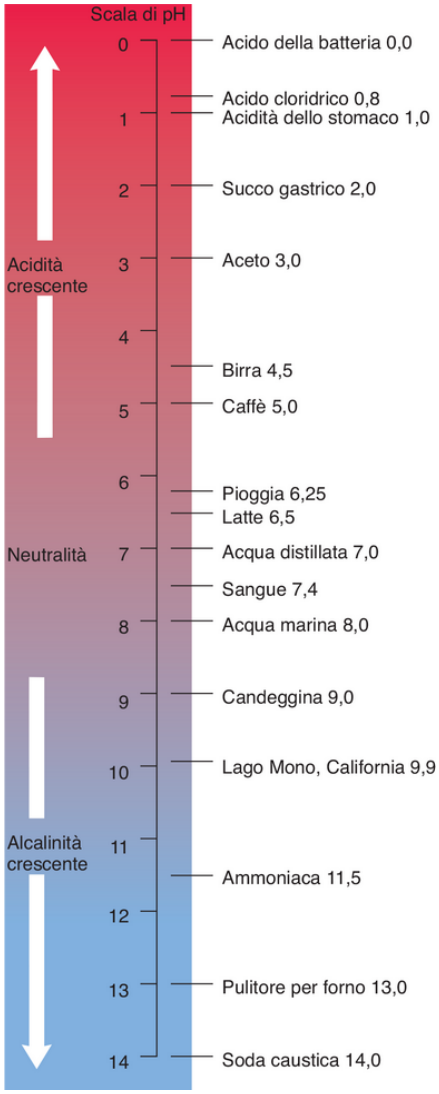
$$[H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14}$$

Nell'acqua pura, la concentrazione di ioni idrogeno è 10 –7 , pertanto anche la concentrazione di ioni idrossido è 10 –7 . Tale soluzione, in cui le concentrazioni sono uguali, è neutra . Le soluzioni acide (con un eccesso di ioni idrogeno) hanno valori di pH inferiori a 7. La concentrazione di ioni idrogeno di una soluzione a pH 1 è dieci volte maggiore di quella di una soluzione a pH 2. Le soluzioni basiche (con un eccesso di ioni idrossido) hanno valori di pH maggiori di 7.

TABELLA 2-2 →
*Calcolo dei valori di pH e delle concentrazioni degli ioni idrossido a partire dalle concentrazioni degli ioni idrogeno*

| Sostanza | $[H^+]$* | log $[H^+]$ | pH | $[OH^-]^\dagger$ |
|---|---|---|---|---|
| Succo gastrico | 0,01; $10^{-2}$ | −2 | 2 | $10^{-12}$ |
| Acqua pura, soluzione neutra | 0,0000001; $10^{-7}$ | −7 | 7 | $10^{-7}$ |
| Ammoniaca | 0,00000000001; $10^{-11}$ | −11 | 11 | $10^{-3}$ |

I valori di pH di alcune sostanze comuni sono riportati in FIGURA 2-17 . Sebbene esistano dei compartimenti molto acidi (vedi Capitolo 4 ), il contenuto delle cellule sia animali che vegetali è per lo più né fortemente acido né fortemente basico: si tratta piuttosto di miscele essenzialmente neutre di sostanze acide e basiche. Nonostante determinati batteri si siano adattati a vivere in ambienti estremamente acidi (Capitolo "Batteri e archeobatteri"), ogni sostanziale cambiamento di pH è incompatibile con la vita per la




maggior parte delle cellule. Il pH della maggior parte delle cellule vegetali ed animali (e del loro ambiente) è generalmente compreso tra 7,2 e 7,4.

← FIGURA 2-17 *I valori di pH di alcune soluzioni comuni*
Una soluzione neutra (pH 7) contiene una concentrazione uguale di H e OH – . Le soluzioni acide, con una concentrazione maggiore di H + rispetto a OH – , hanno valori di pH inferiori a 7; valori di pH superiori a 7 caratterizzano le soluzioni basiche, che hanno un eccesso di OH – .

## I tamponi minimizzano i cambiamenti di pH

Sono molti i meccanismi omeostatici che intervengono per il mantenimento di adeguati valori di pH. Ad esempio, il pH del sangue umano è circa 7,4 e deve sempre essere mantenuto tale. Se il sangue divenisse troppo acido (ad esempio, in seguito ad una disfunzione respiratoria), potrebbe verificarsi uno stato di coma o persino la morte. Un'eccessiva alcalinità potrebbe avere come conseguenza un'ipereccitabilità del sistema nervoso fino alle convulsioni. Gli organismi contengono molti tamponi naturali. Un tampone è una sostanza, o una combinazione di sostanze, che si oppone alle variazioni di pH dovute all'aggiunta di un acido o una base. Un sistema tampone è costituito da un acido debole oppure da una base debole. Un acido o una base debole non si ionizzano completamente. Ciò significa che in ogni istante solo una parte delle molecole è ionizzata, mentre la maggior parte rimane indissociata.
Uno dei più comuni sistemi tampone è presente nel sangue dei vertebrati (vedi Capitolo 46 ). L'anidride carbonica, prodotto di scarto del metabolismo cellulare, entrando nel sangue, il cui costituente principale è l'acqua, forma acido carbonico, un acido debole che si dissocia parzialmente in ione bicarbonato e ione idrogeno. Il sistema tampone è descritto dalla seguente espressione:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Anidride carbonica — Acqua — Acido carbonico — Ione bicarbonato

Tutte le reazioni sono reversibili, come indicato dalle doppie frecce. Essendo l'acido carbonico debole, ne sono sempre presenti molecole indissociate, così come per tutti gli altri componenti del sistema. L'espressione descrive il sistema all' *equilibrio dinamico*, cioè quando le velocità di reazione in entrambi i sensi sono uguali e le concentrazioni relative dei componenti non cambiano. Un sistema all'equilibrio dinamico tende a rimanere in questo stato fintanto che non interviene una modificazione, che causa il suo spostamento per minimizzare il cambiamento, fino al raggiungimento di un nuovo equilibrio dinamico. Una modificazione può essere rappresentata dal cambiamento della concentrazione di uno qualsiasi dei componenti. Un sistema all'equilibrio può di conseguenza essere "spostato verso destra" aggiungendo reagenti o togliendo prodotti; viceversa, può essere "spostato a sinistra" aggiungendo prodotti o togliendo reagenti.
In questo sistema, i prodotti più importanti sono gli ioni idrogeno. Aggiungendoli in eccesso, il sistema viene temporaneamente spostato a sinistra, in quanto essi reagiscono con gli ioni bicarbonato per dare acido carbonico. Alla fine, si stabilisce un nuovo equilibrio dinamico; a questo punto, la concentrazione degli ioni idrogeno è simile a quella di origine, e il prodotto tra le concentrazioni di ioni idrogeno e ioni idrossido è riportato al valore di equilibrio di $1 \times 10^{-14}$ .
Se si aggiungono ioni idrossido, questi si combinano con gli ioni idrogeno per dare acqua, rimuovendo così un prodotto e spostando la reazione verso destra. A questo punto, un'ulteriore quantità di acido carbonico si ionizza, sostituendo gli ioni idrogeno rimossi.
Gli organismi contengono molti acidi e basi deboli che costituiscono un'importante riserva di tamponi, i quali prevengono valori di pH estremi.

## I sali si formano dalla reazione tra un acido ed una base

Quando si mescolano un acido ed una base in acqua, gli ioni H + , provenienti dall'acido, formano con gli ioni OH – , provenienti dalla base, una molecola di acqua. Ciò che rimane dell'acido (un anione) si combina

con ciò che rimane della base (un catione) per formare un sale. Ad esempio, l'acido cloridrico reagisce con l'idrossido di sodio per formare acqua e cloruro di sodio:

$$HCl + NaOH \longrightarrow H_2O + NaCl$$

Un sale è un composto nel quale l'atomo di idrogeno dell'acido è stato rimpiazzato da un altro catione. Il cloruro di sodio, NaCl, è un sale nel quale lo ione idrogeno dell'HCl è stato rimpiazzato dal catione Na + . Quando un sale, un acido o una base vengono sciolti in acqua, le loro particelle cariche dissociate possono condurre corrente elettrica: queste sostanze sono chiamate elettroliti . Zuccheri, alcoli e molte altre sostanze non formano ioni in soluzione, pertanto non conducono corrente elettrica e sono detti non elettroliti . Cellule e fluidi extracellulari (come il sangue) di un animale o di una pianta contengono una gran varietà di sali disciolti. Questi sali sono la fonte di molti importanti ioni minerali essenziali per il bilancio dei fluidi e per l'equilibrio acido-base. Gli ioni nitrato e ammonio nel suolo sono fonti importanti di azoto per le piante. Negli animali, gli ioni sono importanti per la funzione neuromuscolare, per la coagulazione del sangue, per la formazione del tessuto osseo e per molti altri aspetti della fisiologia corporea. I principali cationi sono sodio, potassio, calcio e magnesio e i principali anioni sono cloruro, bicarbonato, solfato e fosfato. Le concentrazioni e le relative quantità dei vari cationi ed anioni vengono mantenute rigorosamente costanti. Ogni variazione marcata dà luogo a disfunzioni cellulari che possono portare alla morte della cellula.

**Verifica**

- Una soluzione ha una concentrazione di ioni idrogeno pari a 0,01 mol/L. Qual è il suo pH? Qual è la concentrazione di ioni idrossido? È una soluzione acida, basica o neutra? In che modo questa soluzione differisce da una soluzione a pH 1?
- Quali conseguenze avrebbe l'aggiunta o la rimozione di un reagente o di un prodotto su una reazione reversibile che si trovi all'equilibrio dinamico?
- Perché i tamponi sono importanti negli organismi? Perché gli acidi e le basi forti non possono fungere da tamponi?
- Perché gli acidi, le basi e i sali sono definiti elettroliti?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIET TIVI DI APPRENDIMENT O

2.1

1. Elencare i principali elementi chimici presenti negli esseri viventi e citare una funzione importante per ciascuno di essi.
    - Un elemento è una sostanza che non può essere scissa in sostanze più semplici per mezzo di reazioni chimiche ordinarie. Circa il 96% della massa di un organismo è costituito da: carbonio, che forma lo scheletro delle molecole organiche; idrogeno e ossigeno, i componenti dell'acqua; azoto, un componente delle proteine e degli acidi nucleici.

11. Paragonare le proprietà fisiche (massa e carica) e le posizioni di elettroni, protoni e neutroni. Fare una distinzione tra il numero atomico e il numero di massa di un atomo.
    - Ogni atomo è costituito da un nucleo che contiene protoni carichi positivamente e neutroni privi di carica. Gli elettroni carichi negativamente circondano il nucleo.
    - Un atomo è identificato come appartenente ad un determinato elemento dal suo numero di protoni ( numero atomico ). La massa atomica di un atomo è uguale alla somma dei suoi protoni e neutroni.
    - Ogni singolo protone o neutrone ha una massa equivalente ad una unità di massa atomica . La massa di un singolo elettrone è soltanto 1/1800 uma circa.

12. Definire i termini orbitale e guscio elettronico. Mettere in relazione i gusci elettronici con i livelli energetici principali.
    - Nello spazio esterno al nucleo, gli elettroni si muovono rapidamente in orbitali elettronici. Un guscio elettronico è costituito da elettroni che si trovano in orbitali dello stesso livello di energia principale . Gli elettroni presenti in un guscio distante dal nucleo hanno maggiore energia di quelli presenti in un guscio più vicino al nucleo.

2.2

13. Spiegare in che modo il numero di elettroni di valenza di un atomo è correlato alle sue proprietà chimiche.
    - Le proprietà chimiche di un atomo sono determinate primariamente dal numero e dall'organizzazione dei suoi elettroni più energetici, noti come elettroni di valenza . Il guscio di valenza della maggior parte degli atomi è completo quando contiene 8 elettroni; quello

dell'idrogeno o dell'elio è completo quando ne contiene 2. Un atomo tende a perdere, acquistare o condividere elettroni per riempire il proprio guscio di valenza.

14. Fare una distinzione tra formule chimiche semplici, molecolari e di struttura.
    - Atomi diversi sono tenuti insieme da legami chimici a formare i composti . Una formula chimica definisce il tipo e il numero relativo di atomi che sono presenti in una sostanza.
    - Una formula semplice definisce il più piccolo rapporto intero tra gli atomi che compongono una sostanza. Una formula molecolare fornisce il numero effettivo di ciascun tipo di atomo presente in una molecola. Una formula di struttura mostra la disposizione degli atomi in una molecola.
15. Spiegare per quale motivo il concetto di mole è così utile per i chimici.
    - Una mole (la massa atomica o molecolare espressa in grammi) di qualsiasi sostanza contiene 6,02 × 10 23 atomi, molecole o ioni e consente agli scienziati di "contare" le particelle pesando un campione. Questo numero è noto come numero di Avogadro .

2.3

16. Fare una distinzione tra legami covalenti, legami ionici, legami a idrogeno ed interazioni di van der Waals. Paragonarli in base ai meccanismi con cui si formano ed alle loro forze relative
    - I legami covalenti sono legami forti e stabili che si formano quando gli atomi condividono gli elettroni di valenza formando le molecole. Quando si formano i legami covalenti, gli orbitali degli elettroni di valenza possono riarrangiarsi, con un processo chiamato ibridazione degli orbitali . I legami covalenti sono apolari se gli elettroni sono condivisi equamente tra i due atomi. I legami covalenti sono polari se uno dei due atomi è più elettronegativo (ha maggiore affinità per gli elettroni) rispetto all'altro.
    - Un legame ionico si forma tra un catione carico positivamente ed un anione carico negativamente. I legami ionici sono forti in ambiente non acquoso, ma relativamente deboli in soluzione acquosa.
    - I legami a idrogeno sono legami relativamente deboli che si formano quando un atomo di idrogeno con una carica parziale positiva viene attratto da un atomo (di solito ossigeno o azoto) con una parziale carica negativa, che si trova in un'altra molecola o in un'altra parte della stessa molecola.
    - Le interazioni di van der Waals sono forze deboli che si basano sull'oscillazione delle cariche elettriche.

2.4

17. Fare una distinzione tra i termini ossidazione e riduzione, e mettere in relazione questi processi con il trasferimento di energia.
    - Le reazioni di ossidazione e di riduzione ( reazioni redox ) sono processi chimici in cui gli elettroni (e la loro energia) sono trasferiti da un agente riducente ad un agente ossidante. Nel processodi ossidazione, un atomo, uno ione o una molecola perde elettroni (e la loro energia). Nel processo di riduzione, un atomo, uno ione o una molecola acquista elettroni (e la loro energia).

2.5

18. Spiegare in che modo i legami a idrogeno tra molecole di acqua adiacenti governino molte delle proprietà dell'acqua.
    - L'acqua è una molecola polare poiché un'estremità ha una parziale carica positiva e l'altra una parziale carica negativa. Essendo una molecola polare, l'acqua è un ottimo solvente per soluti ionici o polari.
    - Le molecole di acqua hanno proprietà di coesione perché formano legami a idrogeno tra loro; esse hanno anche proprietà di adesione dovute alla formazione di legami a idrogeno con sostanze che presentano regioni ioniche o polari.
    - Poiché per aumentare la temperatura dell'acqua è necessario rompere i legami a idrogeno, essa ha un elevato calore specifico , il quale consente agli organismi di mantenere una temperatura interna relativamente costante; tale proprietà fa sì che gli oceani e le altre grandi masse d'acqua mantengano una temperatura costante.
    - L'acqua ha un elevato calore di evaporazione . Perché le molecole passino allo stato di vapore, devono essere rotti i legami a idrogeno. Queste molecole portano con sé una grande quantità di calore, il che determina il raffreddamento per evaporazione .
    - I legami a idrogeno tra molecole di acqua nel ghiaccio fanno sì che esso sia meno denso dell'acqua liquida. Il fatto che il ghiaccio galleggi rende l'ambiente acquatico meno estremo di come sarebbe se esso affondasse.

2.6

19. Paragonare gli acidi e le basi ed illustrare le loro proprietà.

- Gli acidi sono donatori di protoni (ioni idrogeno, H + ); le basi sono accettori di protoni. Un acido in soluzione si dissocia dando H + ed un anione. Molte basi in soluzione si dissociano dando ioni idrossido (OH – ), che possono accettare protoni per formare acqua.

20. Ricavare il valore di pH di una soluzione dalla concentrazione degli ioni idrogeno (in moli per litro) e spiegare in che modo i tamponi contribuiscono a minimizzare le variazioni di pH.
    - Il pH è il logaritmo negativo della concentrazione di ioni idrogeno di una soluzione (espressa in moli per litro). Una soluzione neutra, ovvero con uguali concentrazioni di H + e di OH (10 −7 mol/L), ha pH 7, una soluzione acida ha un pH inferiore a 7, una soluzione basica ha un pH superiore a 7.
    - Un sistema tampone contiene un acido debole oppure una base debole. Un tampone si oppone ai cambiamenti di pH di una soluzione qualora vengano aggiunti acidi o basi.
    - 12 Illustrare la composizione dei sali e spiegare perché essi sono importanti all'interno degli organismi.
    - Un sale è un composto nel quale l'atomo di idrogeno di un acido viene sostituito da un altro catione. I sali forniscono ioni minerali essenziali per le funzioni vitali.

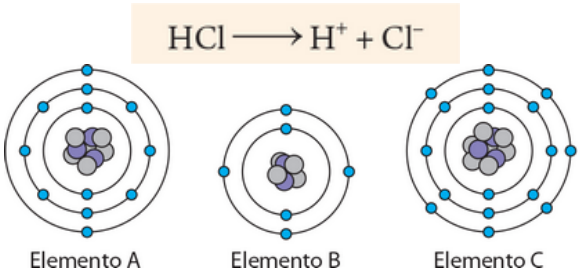
## AUTOVERIFICHE

1. Di quale dei seguenti elementi sono state scambiate le proprietà o le funzioni? (a) Il carbonio — forma lo scheletro dei composti organici; (b) l'azoto — è un componente delle proteine; (c) l'idrogeno — è molto elettronegativo; (d) l'ossigeno — può partecipare al legame a idrogeno; (e) tutte le risposte sono corrette.
2. 15 32 P , una delle forme radioattive del fosforo, possiede: (a) numero atomico 32; (b) massa atomica 15; (c) massa atomica 47; (d) 32 elettroni; (e) 17 neutroni.
3. Quale delle seguenti affermazioni permette di determinare che l'atomo A e l'atomo B sono isotopi dello stesso elemento? (a) Hanno entrambi 6 protoni; (b) entrambi hanno 4 neutroni; (c) in entrambi la somma degli elettroni e dei neutroni è pari a 14; (d) entrambi hanno 4 elettroni di valenza; (e) entrambi hanno massa atomica 14.
4. 1 1 H and 1 3 H hanno: (a) proprietà chimiche diverse poiché hanno numeri atomici diversi; (b) le stesse proprietà chimiche poiché hanno lo stesso numero di elettroni di valenza; (c) proprietà chimiche diverse poiché differiscono nel numero di protoni ed elettroni; (d) le stesse proprietà chimiche poiché hanno la stessa massa atomica; (e) le stesse proprietà chimiche poiché hanno lo stesso numero di protoni, elettroni e neutroni.
5. Gli orbitali che comprendono il guscio elettronico di valenza di un atomo: (a) sono organizzati in sfere concentriche; (b) contengono gli elettroni con minore energia; (c) possono cambiare forma in seguito alla formazione di legami covalenti; (d) non contengono mai più di 1 elettrone ciascuno; (e) più di una delle risposte precedenti è corretta.
6. Quale dei seguenti legami è ben correlato con le proprietà descritte? (a) Legami ionici — forti solamente se gli ioni che vi partecipano sono idratati; (b) legami a idrogeno — legano l'ossigeno e l'idrogeno per formare una singola molecola di acqua; (c) legami covalenti polari — possono instaurarsi tra due atomi dello stesso elemento; (d) legami covalenti — possono essere singoli, doppi o tripli; (e) legami a idrogeno — sono più forti dei legami covalenti.
7. In una reazione redox: (a) l'energia è trasferita dall'agente riducente a quello ossidante; (b) un agente riducente si ossida quando accetta un elettrone; (c) un agente ossidante accetta un protone; (d) un agente riducente cede un protone; (e) gli elettroni di un atomo vanno dal guscio di valenza ad un guscio più vicino al nucleo.
8. L'acqua ha un elevato calore specifico in quanto: (a) per aumentare la sua temperatura devono essere rotti i legami a idrogeno; (b) per aumentare la sua temperatura devono essere formati i legami a idrogeno; (c) è un cattivo isolante; (d) ha una bassa densità considerando le dimensioni della molecola; (e) è capace di ionizzarsi.
9. Una soluzione a pH 7 è considerata neutra perché: (a) la concentrazione di ioni idrogeno è 0 mol/L; (b) la concentrazione di ioni idrossido è 0 mol/L; (c) il prodotto delle concentrazioni di ioni idrogeno e ioni idrossido è 0 mol/L; (d) la concentrazione di ioni idrogeno è uguale alla concentrazione di ioni idrossido; (e) è apolare.
10. Una soluzione a pH 2 ha una concentrazione di ioni idrogeno che è _____ la concentrazione di ioni idrogeno di una soluzione a pH 4. (a) 1 2 (b) 1 100 (c) 2 volte (d) 10 volte (e) 100 volte.
11. Quali di queste sostanze non possono funzionare come tamponi? (a) L'acido fosforico, un acido debole (b) l'idrossido di sodio, una base forte (c) il cloruro di sodio, un sale che si ionizza completamente (d) a e c (e) b e c.
12. Quale delle seguenti affermazioni è vera ? (a) Il numero delle singole particelle (atomi, ioni o molecole) contenute in una mole varia in funzione della sostanza; (b) il numero di Avogadro

definisce il numero di particelle contenute in una mole di sostanza; (c) il numero di Avogadro è di 10 23 particelle; (d) una mole di 12 C ha una massa di 12 g; (e) b e d.

## PENSIERO CRITICO

1. L'elemento A ha due elettroni nel suo guscio di valenza (che è completo quando ne contiene 8). Vi aspettereste che l'elemento A condivida, ceda o accetti elettroni? Che cosa vi aspettereste dall'elemento B che ha 4 elettroni di valenza e dall'elemento C che ne ha 7?
2. Un legame a idrogeno che si forma tra due molecole di acqua ha solamente un ventesimo della forza di un legame covalente tra idrogeno ed ossigeno. Quali sarebbero le proprietà fisiche dell'acqua se tali legami a idrogeno fossero più forti (ad esempio, 1 10 della forza di un legame covalente)?
3. Considerate la seguente reazione in acqua:
4. Date un nome sia ai reagenti che ai prodotti. Questa espressioneci dice che la reazione è reversibile? HCl potrebbe essere utilizzato come tampone?
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA . La U.S. National Aeronautics and Space Administration (NASA) e la European Space Agency (ESA) hanno proposto iniziative mirate a trovare prove della presenza di vita (biosegni o biomarker) nelle atmosfere di pianeti lontani. Se saranno attuati, sia il progetto Terrestrial Planet Finder (NASA) sia il progetto Darwin (ESA) si avvarranno dell'uso di telescopi spaziali speciali per rilevare la presenza di vapor acqueo, ossigeno ed anidride carbonica nell'atmosfera. Perché l'acqua è considerata l'indicatore più importante del fatto che la vita possa essersi evoluta su questi pianeti? Quale di questi bioindicatori potrebbe essere considerato il più importante del fatto che la vita possa essersi evoluta su questi pianeti?




# Articolo III. La chimica della vita:composti organici 3

Le forme organiche e inorganiche del carbonio presenti in natura sono molto numerose. Molti tipi di composti organici saranno immagazzinati nel corpo del bambino nella foto durante la sua crescita. I composti organici sono quei composti in cui gli atomi di carbonio sono uniti tra loro da legami covalenti a formare lo scheletro delle molecole. Alcuni semplici composti del carbonio sono considerati inorganici se il carbonio non è legato ad altri atomi di carbonio o ad atomi di idrogeno. Il diossido di carbonio, che emettiamo come prodotto di rifiuto derivante dalla demolizione delle molecole organiche in un processo da cui viene ricavata energia, è un esempio di carbonio inorganico. I composti organici sono così chiamati perché un tempo si pensava che potessero essere prodotti solo dagli organismi viventi. Nel 1828, il chimico tedesco Friedrich Wühler sintetizzò l'urea, un prodotto metabolico di escrezione. Da quel momento, gli scienziati hanno scoperto come sintetizzare molte molecole organiche e hanno scoperto composti organici che non si ritrovano in alcun tipo di organismo.

I composti organici sono straordinariamente diversi; infatti, ne sono stati identificati più di 5 milioni. Ci sono molti motivi per cui le molecole organiche sono così diverse. I composti organici possonoessere prodotti in una grande varietà di forme tridimensionali. Inoltre, l'atomo di carbonio può formare legami con un maggior numero di elementi diversi rispetto agli altri atomi. L'aggiunta di gruppi contenenti altri atomi, come ossigeno, azoto, fosforo e zolfo, può cambiare profondamente le proprietà di una molecola organica. Un'ulteriore diversità è data dal fatto che la maggioranza dei composti organici che si trova negli organismi è rappresentata da macromolecole di grandi dimensioni, costruite dalle cellule a partire da subunità modulari più semplici. Ad esempio, le proteine sono costituite da composti più piccoli detti aminoacidi.

In questo capitolo, ci soffermeremo sui principali gruppi di composti organici fondamentali per la vita degli organismi, come i carboidrati, i lipidi, le proteine e gli acidi nucleici (DNA e RNA). Perché questi composti sono di fondamentale importanza per tutti i sistemi viventi? La risposta a questa domanda diventerà sempre più ovvia nel corso dei successivi capitoli, nei quali descriviamo la prova che tutti gli esseri viventi si sono evoluti da un comune antenato. L'evoluzione offre un'efficace spiegazione per le similarità delle

molecole che costituiscono le strutture delle cellule e dei tessuti, partecipano e regolano le reazioni metaboliche, trasmettono informazioni e forniscono l'energia per i processi vitali.

## 3.1 GLI ATOMI DI CARBONIO E LE MOLECOLE ORGANICHE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Descrivere le proprietà del carbonio che lo rendono il componente principale dei composti organici.
2. Definire il termine isomero e fare una distinzione tra i tre principali tipi di isomeri.
3. Identificare i principali gruppi funzionali presenti nei composti organici e descrivere le loro proprietà.
4. Spiegare che relazione c'è tra polimeri e macromolecole.

Il carbonio possiede proprietà particolari che gli permettono di formare grandi molecole complesse essenziali per la vita ( Fig. 3-1 ). Poiché un atomo di carbonio ha 4 elettroni di valenza, esso può completare il suo guscio di valenza formando quattro le-gami covalenti (vedi Fig. 2-2 ). Ciascun legame può unirlo ad un altro atomo di carbonio o ad un atomo di un altro elemento. Il carbonio è particolarmente adatto a fare da scheletro per molecole di grandi dimensioni, in quanto i legami carbonio-carbonio sono forti e non vengono rotti facilmente; tuttavia, essi non sono così forti da non poter essere rotti dalle cellule. I legami carbonio-carbonio non sono solo legami singoli (basati sulla condivisione di una sola coppia di elettroni); infatti, 2 atomi dicarbonio possono condividere 2 coppie di elettroni formando doppi legami:

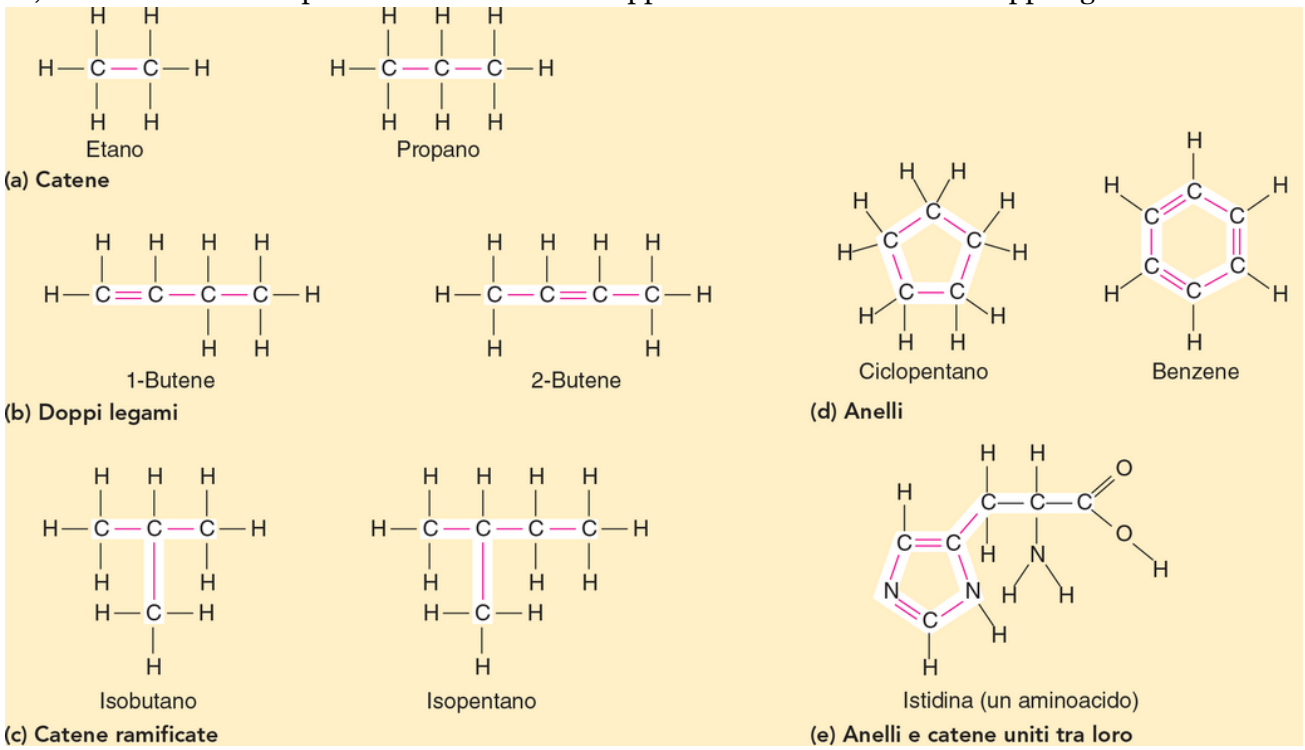
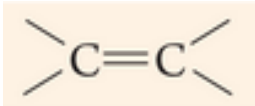



FIGURA 3-1 *Molecole organiche*

Notare che ciascun atomo di carbonio forma quattro legami covalenti, producendo un'ampia varietà di forme

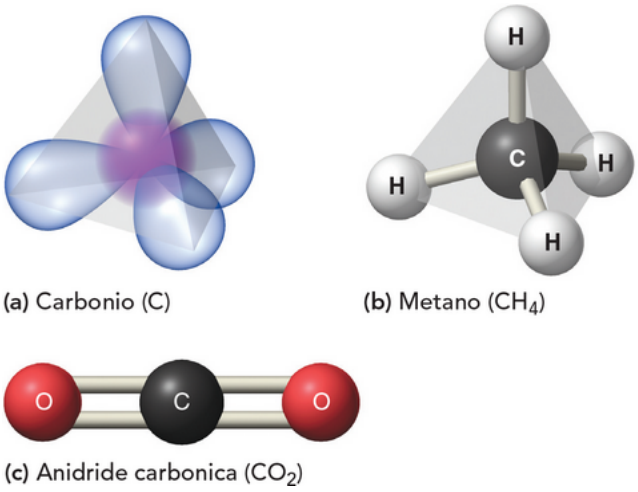


In alcuni composti si formano anche tripli legami:

Come mostrato in Figura 3-1 , gli idrocarburi , composti organici costituiti esclusivamente da carbonio ed idrogeno, possono formare catene ramificate e non, oppure anelli. In alcuni composti, catene ed anelli possono unirsi tra loro.

Le molecole che compongono la cellula possono essere assimilate ai componenti di una macchina. Ciascun componente ha una forma tale da permettergli di ricoprire determinati ruoli e di interagire con altri componenti che hanno una forma complementare. Analogamente, la forma di una molecola è importante nel determinarne le proprietà biologiche e le funzioni. Gli atomi di carbonio si possono legare tra loro e ad altri atomi per dare un gran numero di forme molecolari tridimensionali. Questo perché i quattro legami

covalenti del carbonio non sono complanari. Al contrario, come già detto nel Capitolo 2 , gli orbitali degli elettroni di valenza si allungano proiettandosi dall'atomo di carbonio in direzione dei vertici di un tetraedro ( Fig. 3-2 ). La struttura è altamente simmetrica, con un angolo di circa 109,5 gradi fra ogni coppia di questi legami. Per motivi di semplicità, molte delle figure di questo libro sono disegnate come rappresentazioni grafiche bidimensionali di molecole tridimensionali. Ad esempio, anche le semplici catene idrocarburiche come quelle della Figura 3-1 non sono lineari, ma hanno una struttura tridimensionale a zig zag. Generalmente, c'è libertà di rotazione intorno a ciascun legame singolo C—C. Questa proprietà conferisce alle molecole organiche una certa flessibilità e permette loro di assumere forme diverse a seconda del grado di rotazione di ciascun legame. I legami doppi e tripli non permettono alcuna rotazione; di conseguenza, le regioni della molecola contenenti tali legami tendono a non essere flessibili.



(a) Carbonio (C) (b) Metano ($CH_4$)

(c) Anidride carbonica ($CO_2$)

FIGURA 3-2 *I legami del carbonio*
(a) La disposizione tridimensionale dei legami dell'atomo di carbonio è responsabile (b) dell'architettura tetraedrica del metano. (c) Nell'anidride carbonica, gli atomi di ossigeno sono legati linearmente ad un atomo di carbonio centrale mediante doppi legami polari.

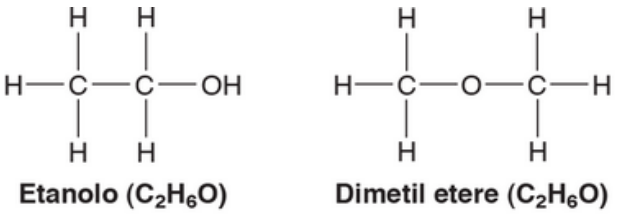
## Gli isomeri hanno la stessa formula molecolare, ma differenti strutture

Una delle ragioni alla base del grande numero di composti contenenti carbonio che si possono formare risiede nel fatto che gli stessi componenti possono legarsi tra loro in modi diversi dando origine ad una grande varietà di forme molecolari. I composti che hanno la stessa formula molecolare ma strutture differenti e, di conseguenza, proprietà differenti, sono chiamati isomeri . Gli isomeri non hanno proprietà fisico-chimiche uguali e possono avere nomi diversi. Le cellule sono in grado di distinguere tra isomeri diversi: generalmente, uno di essi è biologicamente attivo, mentre l'altro non lo è. Gli isomeri possono essere isomeri strutturali, isomeri geometrici ed enantiomeri.
Gli isomeri strutturali sono composti che differiscono per la disposizione covalente dei loro atomi. Ad esempio, la FIGURA 3-3a mostra due isomeri strutturali di formula molecolare C 2 H 6 O. I composti grandi hanno più isomeri di struttura possibili. Ci possono essere fino a 366.319 isomeri di C 20 H 42 .
Gli isomeri geometrici sono composti identici per quanto riguarda la disposizione dei loro legami covalenti, ma differenti per quanto riguarda il modo in cui sono disposti spazialmente i loro gruppi. Gli isomeri geometrici sono tipici di alcuni composti contenenti doppi legami carbonio-carbonio. Poiché i doppi legami non sono flessibili come quelli singoli, gli atomi legati ai carboni che costituiscono un doppio legame non sono in grado di ruotare liberamente intorno all'asse del legame. Tali isomeri cis-trans possono essere rappresentati come nella FIGURA 3-3b . Il termine cis (dal latino, "sullo stesso lato") indica che i due gruppi più grandi si trovano dallo stesso lato del doppio legame. Se essi si trovano invece su lati opposti del doppio legame, il composto è denominato isomero trans (dal latino, "su lati opposti').
Gli enantiomeri , o stereoisomeri, sono due molecole che sono l'immagine speculare l'una dell'altra ( Fig. 3-3c ). Ricordando che i quattro gruppi legati al singolo atomo di carbonio sono disposti ai vertici di un tetraedro, se i quattro gruppi legati sono tutti differenti tra loro, il carbonio centrale è definito asimmetrico. La Figura 3-3c mostra che i quattro gruppi possono disporsi intorno al carbonio asimmetrico in due modi diversi che sono l'immagine speculare l'uno dell'altro. Due molecole sono enantiomeri se non è possibile sovrapporle l'una sull'altra, qualsiasi sia la loro rotazione spaziale. Sebbene gli enantiomeri abbiano proprietà chimiche simili e proprietà fisiche identiche, le cellule sono in grado di distinguere tra i due isomeri, uno solo dei quali è di solito presente negli organismi.

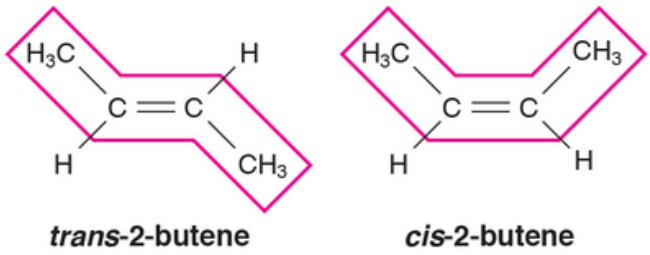
## I gruppi funzionali modificano le proprietà delle molecole organiche

L'esistenza degli isomeri non è l'unica ragione alla base della varietà esistente tra le molecole organiche. L'aggiunta di varie combinazioni atomiche può dare origine ad un'ampia gamma di molecole con proprietà differenti.
Poiché i legami covalenti tra idrogeno e carbonio sono apolari, gli idrocarburi non hanno regioni cariche. Per questo motivo, gli idrocarburi sono insolubili in acqua e tendono a raggrupparsi mediante interazioni idrofobiche . "Avversione per l'acqua", la traduzione letterale di idrofobico, è in qualche modo fuorviante. Gli idrocarburi possono interagire con l'acqua, ma in modo più debole di quanto non facciano le molecole d'acqua fra di loro attraverso i legami a idrogeno. Gli idrocarburi interagiscono debolmente anche fra di loro, però la principale ragione delle interazioni idrofobiche è che essi sono spinti ad interagire in quanto esclusi dalle molecole d'acqua unite dai legami a idrogeno.

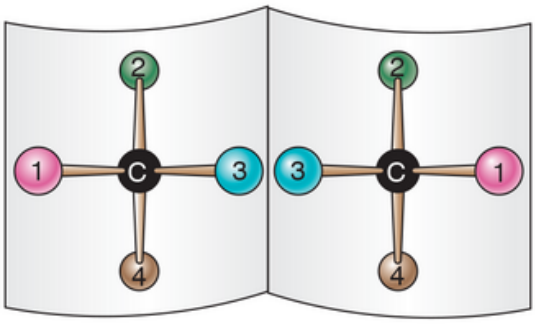
Comunque, le caratteristiche di una molecola organica possono essere cambiate quando uno o più atomi di idrogeno legati allo scheletro carbonioso di un idrocarburo sono sostituiti da altri gruppi di atomi, detti gruppi funzionali . In questo modo, i gruppi funzionali aiutano a determinare a quali tipi di reazioni chimiche i composti possono partecipare. La maggior parte dei gruppi funzionali dà luogo ad interazioni con altre molecole, come legami ionici e legami a idrogeno. I gruppi funzionali polari e ionici sono idrofilici perché si associano saldamente con le molecole polari dell'acqua.
Le proprietà delle principali classi di composti organici importanti dal punto di vista biologico — carboidrati, lipidi, proteine e acidi nucleici — sono la conseguenza dei diversi gruppi funzionali che contengono. Conoscendo quali tipi di gruppi funzionali sono presenti in un composto organico, se ne può prevedere il comportamento chimico. È da notare che il simbolo R viene usato per rappresentare la restante parte ( residuo ) della molecola a cui appartiene il gruppo funzionale. Ad esempio, il gruppo metilico , un comune gruppo idrocarburico apolare, viene abbreviato con R —CH 3 . Proseguendo nella lettura di questo paragrafo, fate riferimento alla TABELLA 3-1 per le formule di struttura complete di altri importanti gruppi funzionali e per informazioni aggiuntive.




(a) **Isomeri strutturali.** Differiscono per l'arrangiamento covalente dei loro atomi.




(b) **Isomeri geometrici o *cis-trans*.** Hanno legami covalenti identici, ma differiscono nell'ordine in cui i gruppi sono arrangiati nello spazio.



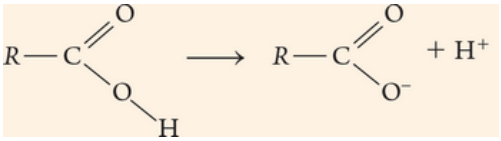
(c) **Enantiomeri.** Molecole che sono l'immagine speculare l'una dell'altra. Il carbonio centrale è asimmetrico in quanto legato a quattro gruppi diversi. A causa della loro struttura tridimensionale, le due figure non possono essere sovrapposte, qualsiasi sia la loro rotazione.

Il gruppo ossidrilico (che può essere abbreviato con R — OH), che non va confuso con lo ione idrossido (OH - ) del quale abbiamo parlato nel Capitolo 2 , è polare a causa della presenza di un atomo di ossigeno fortemente elettronegativo. Se un gruppo ossidrilico sostituisce uno degli idrogeni di un idrocarburo, si ottiene una molecola con proprietà molto diverse da quelle originali. Ad esempio, l'etano ( Fig. 3-1a ) è un idrocarburo che a temperatura ambiente si trova allo stato gassoso. Sostituendo un idrogeno con un gruppo ossidrilico, la molecola che ne risulta è l'alcol etilico, o etanolo, che si trova nelle bevande alcoliche ( Fig. 3-3a ). L'etanolo è coesivo in quanto i gruppi ossidrilici polari di molecole adiacenti interagiscono tra loro; pertanto, a temperatura ambiente l'etanolo è un liquido. Diversamente dall'etano, l'alcol etilico è solubile in acqua perché i gruppi ossidrilici polari interagiscono con le molecole di acqua, anch'esse polari.
Il gruppo carbonilico è costituito da un atomo di carbonio che lega con un doppio legame covalente un atomo di ossigeno. Questo doppio legame è polare a causa dell'elettronegatività dell'ossigeno; pertanto, il gruppo è idrofilico. La posizione del gruppo carbonilico all'interno di una molecola determina la classe alla quale questa molecola appartiene. Un'aldeide ( R — CHO) ha un gruppo carbonilico posizionato alla fine dello scheletro carbonioso; un chetone ( R —CO— R ) ha un gruppo carbonilico interno.

←FIGURA 3-3 *Isomeri*

Gli isomeri hanno la stessa formula molecolare, ma gli atomi sono disposti in maniera differente.
Il gruppo carbossilico in forma non ionizzata ( R — COOH) è costituito da un atomo di carbonio legato mediante un doppio legame covalente ad un atomo di ossigeno e da un legame covalente singolo ad un altro atomo di ossigeno, che a sua volta lega un atomo di idrogeno. Due atomi di ossigeno elettronegativi così vicini stabiliscono una condizione estremamente polarizzata che può far sì che l'atomo di idrogeno possa

perdere il suo elettrone ed essere rilasciato come ione idrogeno (H + ); il gruppo carbossilico ionizzato, pertanto, ha una carica negativa unitaria ( R —COO – ):

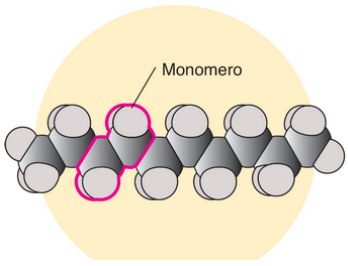


I gruppi carbossilici sono debolmente acidi, in quanto solamente una parte delle molecole si ionizza in questo modo. Tale gruppo può quindi esistere in uno dei due stati idrofilici: ionico o polare. I gruppi carbossilici sono costituenti essenziali degli aminoacidi.

TABELLA 3-1→ Alcuni gruppi funzionali biologicamente importanti

| Gruppo funzionale e descrizione | Formula di struttura | Classe di componenti caratterizzati dal gruppo |
|---|---|---|
| **Ossidrilico**<br>Polare perché l'ossigeno elettronegativo attrae gli elettroni del legame covalente | R—OH | Alcoli<br>Esempio, etanolo |
| **Carbonilico**<br>**Aldeidi:**<br>Il carbonio del gruppo carbonilico è legato con almeno un atomo di H; polare perché l'ossigeno elettronegativo attrae gli elettroni del legame covalente | | Aldeidi<br>Esempio, formaldeide |
| **Chetoni:**<br>Il carbonio del gruppo carbonilico è legato ad altri due atomi di carbonio; polare perché l'ossigeno elettronegativo attrae gli elettroni del legame covalente | | Chetoni<br>Esempio, acetone |
| **Carbossilico**<br>Debolmente acido; può rilasciare uno ione $H^+$ | Non ionizzato / Ionizzato | Acidi carbossilici (acidi organici)<br>Esempio, aminoacido |
| **Amminico**<br>Debolmente basico; può accettare uno ione $H^+$ | Non ionizzato / Ionizzato | Ammine<br>Esempio, aminoacido |
| **Fosfato**<br>Debolmente acido; possono essere rilasciati uno o due ioni $H^+$ | Non ionizzato / Ionizzato | Fosfati organici<br>Esempio, estere fosfato (come nell'ATP) |
| **Sulfidrilico**<br>Aiuta a stabilizzare la struttura interna delle proteine | R—SH | Tioli<br>Esempio, cisteina |

Un gruppo amminico ( R —NH 2 ) in forma non ionizzata è costituito da un atomo di azoto legato covalentemente a due atomi di idrogeno. I gruppi amminici sono debolmente basici; possono accettare uno ione idrogeno (protone), acquistando così una carica positiva unitaria. I gruppi amminici sono componenti degli aminoacidi e degli acidi nucleici.
Il gruppo fosfato ( R — PO 4 H 2 ) è debolmente acido. L'attrazione degli elettroni da parte degli atomi di ossigeno può determinare il rilascio di uno o due ioni idrogeno, producendo le forme ionizzate con una o due unità di carica negativa. I gruppi fosfato sono costituenti degli acidi nucleici e di alcuni lipidi.




←FIGURA 3-4 *Un semplice polimero*
Questo piccolo polimero di polietilene è formato dal legame tra monomeri di etilene a due atomi di carbonio (C 2 H 4 ). Il monomero è evidenziato in rosso. La struttura è rappresentata come modello a spazio pieno, che definisce accuratamente la reale struttura tridimensionale della molecola.

Il gruppo sulfidrilico ( R —SH) è costituito da un atomo di zolfo legato covalentemente ad un atomo di idrogeno e lo si ritrova in molecole dette tioli .

Come si vedrà più avanti, gli aminoacidi che contengono un gruppo sulfidrilico possono dare notevoli contributi alla struttura delle proteine.

### Molte molecole biologiche sono polimeri

Molte molecole biologiche, come le proteine e gli acidi nucleici, hanno dimensioni notevoli essendo costituite da migliaia di atomi. Tali molecole sono note come macromolecole e molte di queste sono polimeri formati dall'unione di composti organici più piccoli detti monomeri ( Fig. 3-4 ). Così come tutte le parole di questo libro sono state scritte combinando le 21 lettere dell'alfabeto, i monomeri possono essere raggruppati per dare origine ad una gamma infinita di molecole più grandi. Le migliaia di differenti composti organici complessi presenti negli esseri viventi sono costruite a partire da 40 piccoli e semplici monomeri. Ad esempio, i venti aminoacidi comuni sono monomeri che possono legarsi tra loro per formare polimeri noti come proteine.
I polimeri possono essere degradati nei monomeri che li compongono mediante reazioni di idrolisi ("rompere con l'acqua"). In una reazione regolata da uno specifico enzima (catalizzatore biologico), un idrogeno dell'acqua si attacca ad un monomero ed il gruppo ossidrilico dell'acqua si attacca al monomero adiacente ( Fig. 3-5 ).

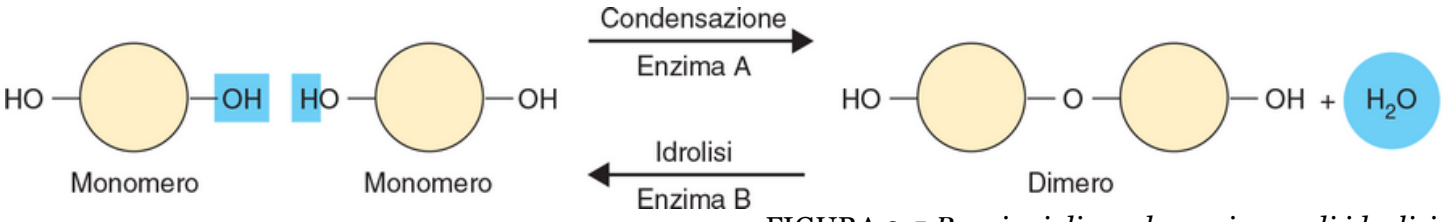



FIGURA 3-5 *Reazioni di condensazione e di idrolisi*
L'unione di due monomeri produce un dimero; l'incorporazione di ulteriori monomeri forma un polimero. Notare che le reazioni di condensazione e di idrolisi sono catalizzate da enzimi diversi.

Il processo di sintesi mediante il quale i monomeri vengono legati covalentemente è detto condensazione . Poiché durante le reazioni in cui i monomeri si uniscono viene eliminata una molecola di acqua, si usa spesso il termine sintesi per disidratazione per indicare questo processo ( Fig. 3-5 ). Tuttavia, nei sistemi biologici la sintesi di un polimero non è semplicemente l'opposto della scissione. I processi sintetici richiedono energia e sono regolati da enzimi diversi.
Nei paragrafi successivi, verranno esaminati i carboidrati, i lipidi, le proteine e gli acidi nucleici. Si inizierà con le forme più piccole e semplici di questi composti e si passerà poi ai legami di questi monomeri che danno origine alle macromolecole.

### Verifica

- In che modo le caratteristiche dei legami carbonio-carbonio influenzano la stabilità e la struttura tridimensionale delle molecole organiche?
- Disegnate delle coppie di semplici schizzi per paragonare (1) isomeri strutturali, (2) isomeri geometrici e (3) enantiomeri. Perché tali differenze sono importanti dal punto di vista biologico?
- Disegnate i seguenti gruppi funzionali: metilico, amminico, carbonilico, ossidrilico, carbossilico e fosfato. Per i gruppi acidi e basici, illustrare sia la forma ionizzata che quella non ionizzata.
- In che modo le caratteristiche di apolarità, polarità, acidità o basicità di un gruppo funzionale sono correlate alle sue proprietà di idrofilicità o idrofobicità?
- Perché l'equivalente di una molecola di acqua è importante sia nelle reazioni di condensazione che in quelle di idrolisi?

## 3.2 CARBOIDRATI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

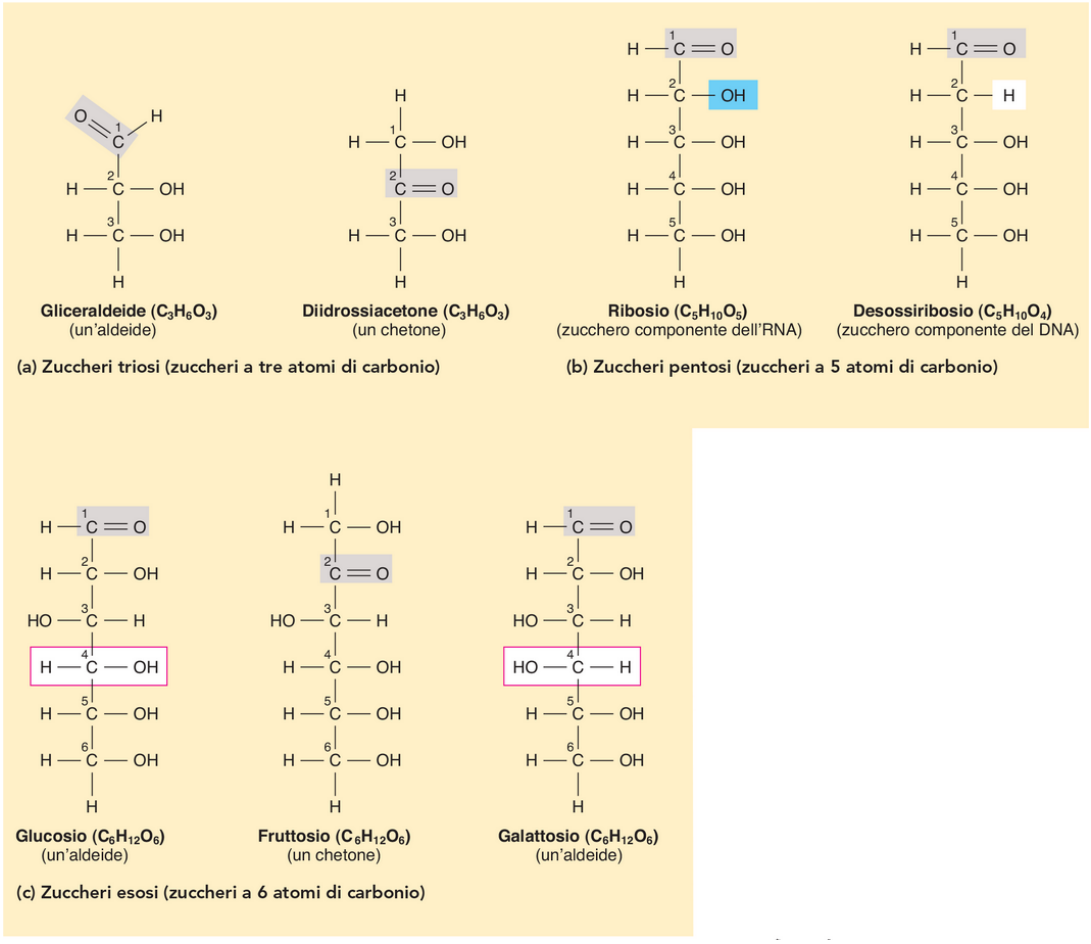
5. Distinguere i monosaccaridi, i disaccaridi e i polisaccaridi; paragonare i polisaccaridi di riserva con quelli strutturali.

Gli zuccheri, gli amidi e la cellulosa sono carboidrati . Gli zuccheri e gli amidi fungono da riserva di energia per le cellule; la cellulosa è il componente principale delle pareti delle cellule vegetali. I carboidrati contengono C, H ed O, in un rapporto di circa un atomo di carbonio per due di idrogeno e uno di ossigeno (CH 2 O) n . Lo stesso termine carboidrato, che significa "idrato delcarbonio" riflette il rapporto 2:1 tra idrogeno e ossigeno, lo stesso rapporto che si ha nell'acqua (H 2 O). I carboidrati possono contenere una

sola unità di zucchero (monosaccaridi), due unità di zuccheri (disaccaridi) o molte unità di zuccheri (polisaccaridi).

## I monosaccaridi sono zuccheri semplici

I monosaccaridi contengono generalmente da tre a sette atomi di carbonio. In un monosaccaride, a ciascun carbonio è legato un gruppo ossidrilico, tranne ad uno, il quale a sua volta è legato, mediante un doppio legame, ad un atomo di ossigeno per formare un gruppo carbonilico. Se il gruppo carbonilico è in posizione terminale, il monosaccaride è una aldeide; se invece è in un'altra posizione nella catena, il monosaccaride è un chetone. (Per convenzione, la numerazione dello scheletro carbonioso di uno zucchero inizia dal carbonio più vicino all'estremità carbonilica della catena aperta). Il gran numero di gruppi ossidrilici polari, insieme con il gruppo carbonilico, conferisce al monosaccaride proprietà idrofiliche. La FIGURA 3-6 mostra rappresentazioni bidimensionali semplificate di alcuni comuni monosaccaridi. I più semplici sono i due triosi, gliceraldeide e diidrossiacetone, con tre atomi di carbonio. Il ribosio e il desossiribosio sono pentosi, contengono cioè 5 atomi di carbonio, e sono i componenti degli acidi nucleici (DNA, RNA e composti correlati). Il glucosio, il fruttosio, il galattosio ed altri zuccheri contenenti 6 atomi di carbonio sono detti esosi. (Si noti che il nome dei carboidrati di solito ha come desinenza -osio).

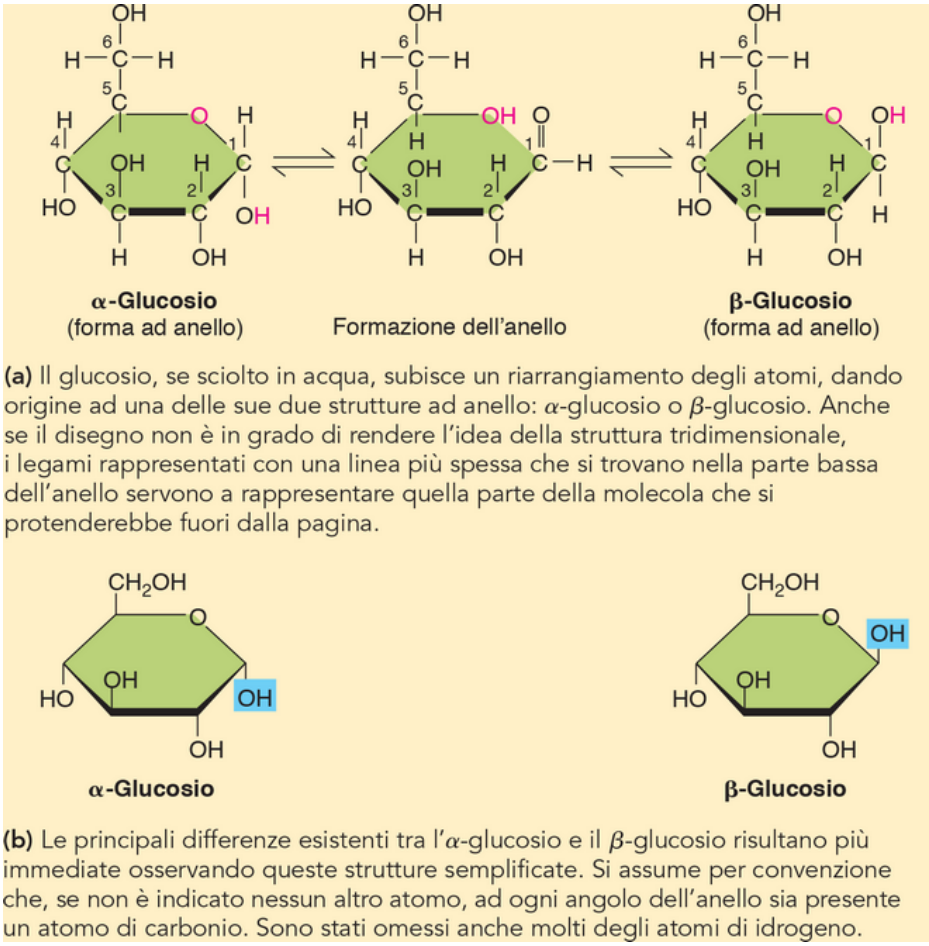



←FIGURA 3-6
*Monosaccaridi*
Struttura bidimensionale a catena di (a) triosi a tre atomi di carbonio, (b) pentosi a cinque atomi di carbonio e (c) esosi a sei atomi di carbonio. Anche se è conveniente rappresentare i monosaccaridi in questa forma, è più corretto rappresentare i pentosi e gli esosi nella forma ad anello (vedi Figura 3-7 ). Il gruppo carbonilico ( in grigio ) è terminale negli zuccheri aldeidici e interno in quelli chetonici. Il desossiribosio differisce dal ribosio per l'assenza di un ossigeno: un idrogeno ( in bianco ), al posto di un gruppo ossidrile ( in blu ), è legato al carbonio 2. Il glucosio e il galattosio sono enantiomeri che differiscono per la disposizione del gruppo ossidrilico e dell'idrogeno legati al carbonio 4 ( in rosso ).

Il glucosio (C 6 H 12 O 6 ), il monosaccaride più abbondante, è utilizzato come fonte di energia dalla maggior parte degli organismi. Durante la respirazione cellulare (vedi Capitolo 8 ), le cellule ossidano le molecole di glucosio, rilasciando l'energia immagazzinata, che può così essere usata per il lavoro cellulare. Il glucosio viene usato anche per la sintesi di altri composti, come gli aminoacidi e gli acidi grassi. Il glucosio è così importante nel metabolismo che la sua concentrazione viene mantenuta relativamente costante nel sangue dell'uomo e degli animali superiori (vedi Capitolo 49 ).
Il glucosio e il fruttosio sono isomeri strutturali, hanno cioè formule molecolari identiche ma una diversa disposizione degli atomi. Nel fruttosio, che è un chetone, il doppio legame ossigenocarbonio si trova all'interno della catena invece che nella parte terminale della catena, come avviene nel glucosio (che è un'aldeide). A causa di tali differenze, i due zuccheri hanno proprietà differenti. Ad esempio, il fruttosio, presente nel miele ed in alcuni frutti, è più dolce del glucosio.
Il glucosio e il galattosio differiscono tra loro per un altro motivo: entrambi sono esosi ed aldeidi, ma i loro atomi legati al carbonio asimmetrico 4 sono disposti in modo diverso; essi sono immagini speculari l'uno dell'altro (enantiomeri).

Le formule “lineari” riportate in Figura 3-6 danno un’idea chiara ma non realistica della struttura di alcuni monosaccaridi comuni. Come è già stato detto, le molecole non sono semplici strutture bidimensionali e le proprietà di ciascun composto dipendono in parte dalla sua struttura tridimensionale. Di conseguenza, le formule tridimensionali aiutano a comprendere le relazioni esistenti tra struttura molecolare e funzioni biologiche.
In soluzione, le molecole di glucosio e di altri pentosi ed esosi non sono catene lineari di atomi di carbonio, ma piuttosto anelli.
Il glucosio in soluzione (come nella cellula) esiste come anello a 5 atomi di carbonio e 1 di ossigeno. Tale configurazione è assunta quando i suoi atomi vanno incontro ad un riarrangiamento e si instaura un legame covalente tra il carbonio in posizione 1 e l’ossigeno legato al carbonio in posizione 5 ( Fig. 3-7 ). Quando il glucosio forma un anello, esistono due possibili isomeri che differiscono solo per l’orientamento del gruppo ossidrilico (—OH) legato al carbonio 1. Se il gruppo ossidrilico è dalla stessa parte del piano dell’anello rispetto al gruppo laterale —CH 2 OH, il glucosio viene chiamato β -glucosio.

FIGURA 3-7 Forme α e β del glucosio




**(a)** Il glucosio, se sciolto in acqua, subisce un riarrangiamento degli atomi, dando origine ad una delle sue due strutture ad anello: $\alpha$-glucosio o $\beta$-glucosio. Anche se il disegno non è in grado di rendere l’idea della struttura tridimensionale, i legami rappresentati con una linea più spessa che si trovano nella parte bassa dell’anello servono a rappresentare quella parte della molecola che si protenderebbe fuori dalla pagina.

**(b)** Le principali differenze esistenti tra l’$\alpha$-glucosio e il $\beta$-glucosio risultano più immediate osservando queste strutture semplificate. Si assume per convenzione che, se non è indicato nessun altro atomo, ad ogni angolo dell’anello sia presente un atomo di carbonio. Sono stati omessi anche molti degli atomi di idrogeno.

Quando invece i due gruppi si trovano su lati opposti del piano dell’anello, il composto è detto a -glucosio. Sebbene le differenze tra questi isomeri possano apparire irrisorie, esse hanno importanti conseguenze nel momento in cui gli anelli si uniscono a formare polimeri.

## I disaccaridi sono costituiti da due unità monosaccaridiche

Un disaccaride (due zuccheri) è costituito da due monosaccaridi ad anello legati l’uno all’altro mediante un legame glicosidico, che consiste di un ossigeno centrale legato covalentemente a due atomi di carbonio, uno per anello ( Fig. 3-8 ).
Il legame glicosidico di un disaccaride generalmente si forma tra il carbonio 1 di una molecola e il carbonio 4 della molecola adiacente. Il disaccaride maltosio (lo zucchero del malto) è costituito da due unità di α -glucosio unite covalentemente. Il saccarosio, il comune zucchero da tavola, è costituito da una unità di glucosioed una di fruttosio. Il lattosio (lo zucchero del latt e) è composto da una molecola di glucosio ed una di galattosio.
Come mostrato in Figura 3-8 , un disaccaride può essere idrolizzato, cioè rotto in due unità monosaccaridiche, per aggiunta di una molecola di acqua ( Fig. 3-8 ). Durante la digestione, il maltosio viene idrolizzato con formazione di due molecole di glucosio:

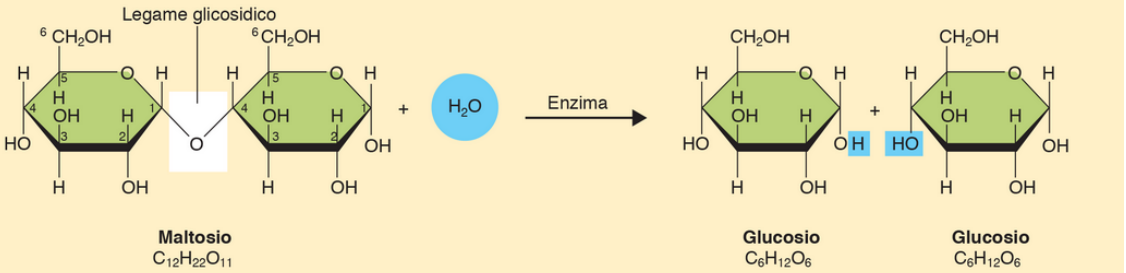
$$\text{Maltosio} + \text{Acqua} \longrightarrow \text{Glucosio} + \text{Glucosio}$$

Analogamente, il saccarosio viene idrolizzato per formare glucosio e fruttosio:

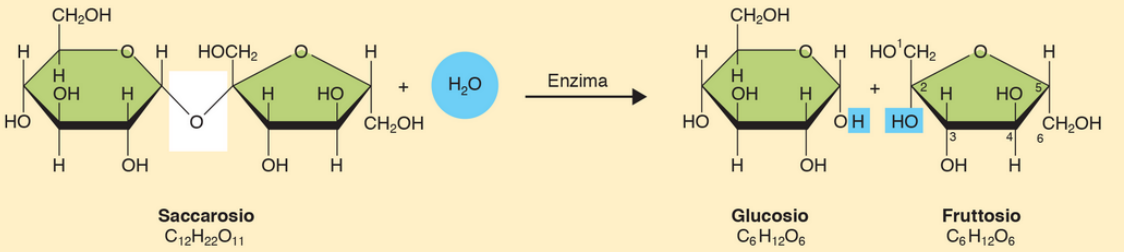
$$\text{Saccarosio} + \text{Acqua} \longrightarrow \text{Glucosio} + \text{Fruttosio}$$

## I polisaccaridi possono immagazzinare energia o avere funzioni strutturali

I carboidrati più abbondanti in natura sono i polisaccaridi , gruppo cui appartengono gli amidi, il glicogeno e la cellulosa. Un polisaccaride è una macromolecola costituita da unità ripetute di uno zucchero semplice, generalmente il glucosio. Sebbene il numero di unità saccaridiche possa variare, di solito una singola molecola è costituita da migliaia di unità. Il polisaccaride può essere costituito da una lunga catena lineare o ramificata.




**(a)** Il maltosio può essere scisso (come durante la digestione) per formare due molecole di glucosio. Il legame glicosidico viene rotto mediante una reazione di idrolisi che richiede l'aggiunta di acqua.




**(b)** Il saccarosio può essere idrolizzato per produrre una molecola di glucosio ed una di fruttosio.

←FIGURA 3-8
*Idrolisi dei disaccaridi*
Notare che è necessario un enzima affinché queste reazioni possano avvenire.

I polisaccaridi hanno proprietà molto diverse tra loro, sia perché sono costituiti da differenti isomeri sia perché le unità sono organizzate in maniera diversa. Quelli che possono essere facilmente scissi nelle loro subunità sono i più adatti ad immagazzinare energia, mentre l'architettura tridimensionale macromolecolare degli altri li rende particolarmente adatti a formare strutture stabili.

L'amido , tipico carboidrato di riserva dei vegetali, è un polimero costituito da subunità di α-glucosio. I monomeri sono uniti da legami α 1-4, il che significa che il carbonio 1 di un glucosio è legato al carbonio 4 del glucosio adiacente ( Fig. 3-9 ). L'amido si può presentare sotto due forme: l'amilosio e l'amilopectina. L'amilosio, la forma più semplice, non è ramificato, mentre l'amilopectina, la forma più comune, è costituita da circa mille unità che formano una catena ramificata. Le cellule vegetali accumulano l'amido sotto forma di granuli entro organuli specializzati chiamati amiloplasti ( Fig. 3-9a ); alcune cellule, come quelle delle patate, sono particolarmente ricche di amiloplasti.

Quando serve energia per svolgere lavoro cellulare, la pianta può idrolizzare l'amido rilasciando subunità di glucosio. Tutti gli organismi, inclusi l'uomo ed altri animali, posseggono enzimi in grado di rompere i legami α 1-4.

Il glicogeno (qualche volta definito amido animale) è la forma in cui le subunità di glucosio, unite da legami α 1-4, sono immagazzinate come fonte di energia nei tessuti animali. Il glicogeno è strutturalmente simile all'amido vegetale, ma è più ramificato e più idrosolubile. Nei vertebrati, il glicogeno si accumula soprattutto nel fegato e nelle cellule muscolari.

I carboidrati sono i composti organici più abbondanti sulla Terra e la cellulosa è il più abbondante tra i carboidrati, rappresentando più del 50% del carbonio vegetale ( Fig. 3-10 ). La cellulosa è un carboidrato strutturale. Il legno è costituito per il 50% da cellulosa e il cotone per il 90%. Le cellule vegetali sono circondate da una spessa parete cellulare costituita prevalentemente da cellulosa.

La cellulosa è un polisaccaride insolubile costituito da molte molecole di glucosio legate tra loro. I legami presenti sono diversi da quelli visti nell'amido. Se nell'amido le subunità di α -glucosio sono tenute insieme da legami α 1-4 glicosidici, nella cellulosa il monomero è il β -glucosio e i legami sono β 1-4 glicosidici. Questi legami non possono essere rotti dagli enzimi in grado di idrolizzare i legami α dell'amido.

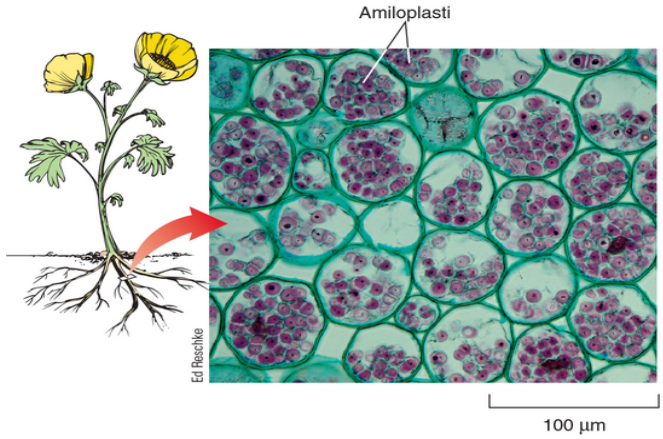
L'uomo, come molti altri organismi, non possiede gli enzimi in grado di digerire la cellulosa, la quale non può quindi essere utilizzata come nutrimento. Tuttavia, la cellulosa è un importante componente delle fibre presenti nella dieta ed aiuta l'intestino a funzionare adeguatamente.

Alcuni microrganismi possono digerire la cellulosa trasformandola in glucosio. Nell'apparato digerente di ovini e bovini, vivono batteri in grado di digerire la cellulosa, permettendo a questi erbivori di trarne nutrimento. Allo stesso modo, l'apparato digerente delle termiti contiene organismi unicellulari in grado di digerire la cellulosa (vedi Fig. 26-4b ).

Le molecole di cellulosa hanno caratteristiche tali da renderle adatte ad un ruolo strutturale. Le subunità di β -glucosio sono unite in modo tale da permettere la formazione di molti legami a idrogeno tra diverse molecole di cellulosa; pertanto, queste si aggregano in lunghi fasci di fibre, come mostrato in Figura 3-10a .

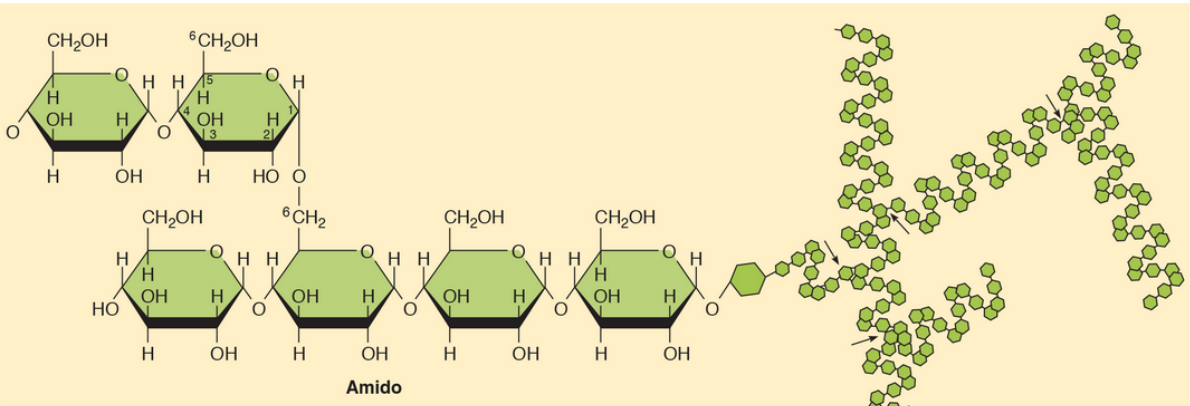
## Alcuni carboidrati complessi modificati svolgono ruoli particolari

Molti derivati dei monosaccaridi sono molecole importanti dal punto di vista biologico. Alcuni formano importanti componenti strutturali. Gli amminozuccheri, come la glucosammina ela galattosammina, sono composti nei quali un gruppo ossidrilico (—OH) è stato sostituito da un gruppo amminico (—NH 2 ). La galattosammina è presente nella cartilagine, che è un costituente del sistema scheletrico dei vertebrati. Subunità di N-acetilgluco-sammina (NAG), unite mediante legami glicosidici, compongono la chitina , il principale elemento dell'esoscheletro degli insetti, dei crostacei e di altri artropodi ( Fig. 3-11 ) e della parete cellulare dei funghi. La chitina forma strutture molto compatte in quanto, così come nella cellulosa, le sue molecole interagiscono attraverso legami a idrogeno multipli. Alcune strutture di chitina, come il rivestimento dell'aragosta, sono rese ulteriormente resistenti dall'aggiunta di carbonato di calcio (CaCO 3 , una forma inorganica del carbonio).




(a) L'amido (*in viola*) è immagazzinato in organelli specializzati, detti *amiloplasti*, in queste cellule di una radice di ranuncolo.

FIGURA 3-9 *L'amido, un polisaccaride di riserva*

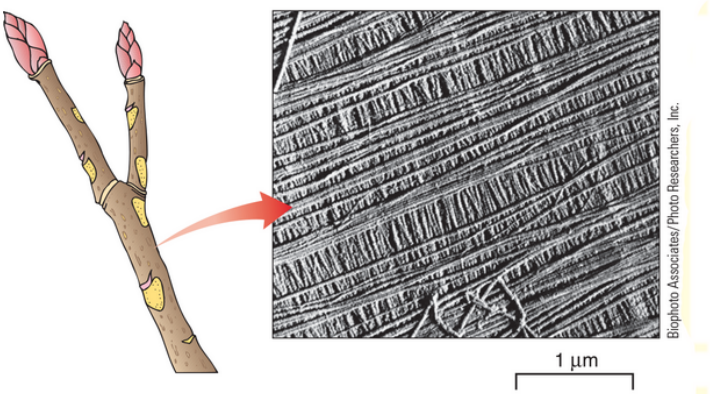



(b) L'amido è composto da molecole di α-glucosio unite da legami glicosidici. Ai punti di ramificazione ci sono legami tra il carbonio 6 del glucosio della catena principale e il carbonio 1 del glucosio della catena laterale.

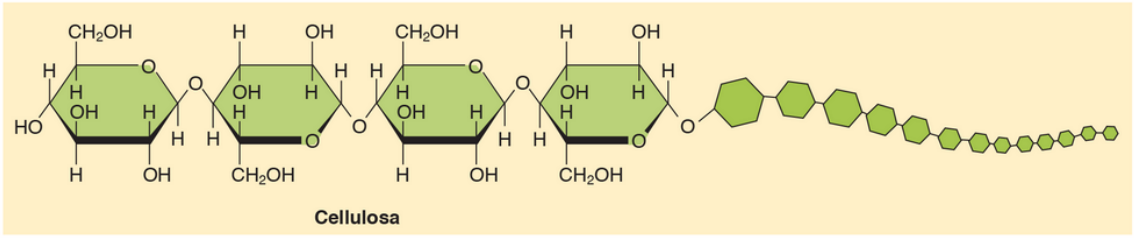
(c) L'amido ha catene altamente ramificate. Nella rappesentazione schematica, le frecce indicano i punti di ramificazione. Lo schema è semplificato perché nella realtà ciascuna catena ha una forma a spirale o elica resa stabile da legami a idrogeno tra i gruppi ossidrilici delle subunità di glucosio.

I carboidrati possono combinarsi con le proteine per formare le glicoproteine , presenti sulla superficie esterna di molte cellule non batteriche. Alcune di queste catene carboidratiche permettono alle cellule di aderire tra loro, mentre altre forniscono protezione. Molte delle proteine secrete dalle cellule sono glicoproteine. Queste includono i maggiori componenti del muco, un materiale protettivo complesso secreto dalle membrane mucose che tappezzano i sistemi respiratorio e digerente. I carboidrati possono combinarsi anche con i lipidi per formare glicolipidi, che sono presenti sulla superficie delle cellule animali e rivestono un ruolo importante nel riconoscimento e nell'interazione tra cellule.

FIGURA 3-10 La cellulosa, un polisaccaride strutturale

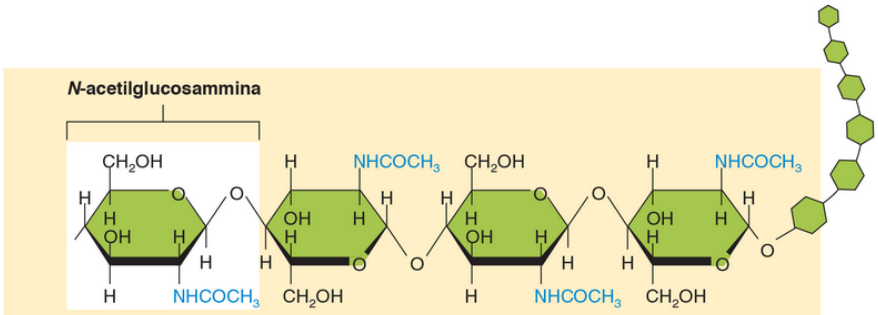



**(a) Fotografia al microscopio elettronico di fibre di cellulosa della parete cellulare.** Le fibre visibili nella fotografia sono costituite da fasci di molecole di cellulosa che interagiscono attraverso legami a idrogeno.




**(b) La molecola della cellulosa è un polisaccaride non ramificato.** Esso è costituito da circa 10.000 unità di $\beta$-glucosio unite da legami glicosidici.

FIGURA 3-11 La chitina, un polisaccaride strutturale




**(a)** La **chitina** è un polimero costituito da subunità di *N*-acetilglucosammina

**(b)** La chitina è un'importante componente dell'esoscheletro (copertura esterna) che questa libellula sta perdendo.

## Verifica

- Quali sono le caratteristiche relative ai legami a idrogeno che conferiscono ai polisaccaridi di riserva, come l'amido e il glicogeno, proprietà completamente diverse da quelle dei polisaccaridi strutturali, come la cellulosa e la chitina?
- Perché l'uomo non è capace di digerire la cellulosa?

# 3.3 LIPIDI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Distinguere i grassi, i fosfolipidi e gli steroidi, descrivendo la composizione, le caratteristiche e le funzioni biologiche di ciascun gruppo.

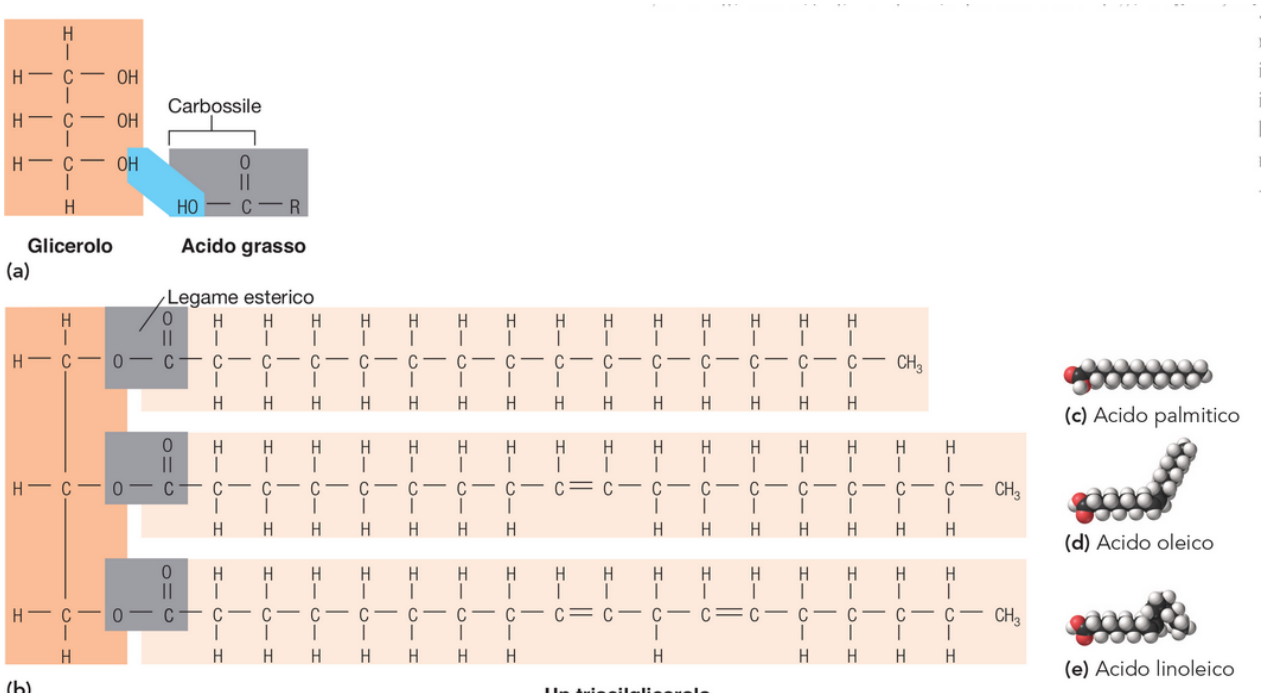
I lipidi costituiscono un gruppo eterogeneo di composti definiti non dalla loro struttura, come nel caso dei carboidrati, ma dal fatto che sono solubili nei solventi apolari (etere, cloroformio, ecc.) e relativamente insolubili in acqua. Le molecole lipidiche possiedono queste caratteristiche perché sono costituite essenzialmente da carbonio e idrogeno, con pochi gruppi funzionali contenenti ossigeno. Gli atomi di ossigeno sono tipici dei gruppi funzionali idrofilici; quindi i lipidi, essendo poveri di ossigeno, tendono ad essere idrofobici. Tra i lipidi più importanti dal punto di vista biologico ci sono i grassi, i fosfolipidi, gli steroidi, i carotenoidi (pigmenti vegetali arancioni e gialli) e le cere. Alcuni lipidi sono importanti carburanti biologici, altri fungono da componenti strutturali delle membrane cellulari ed altri ancora sono ormoni.

### II triacilglicerolo è costituito da glicerolo e da tre acidi grassi

I lipidi più abbondanti negli organismi viventi sono i triacilgli-ceroli (anche noti come trigliceridi ). Questi composti, comunemente chiamati grassi, costituiscono una riserva di energia alquanto economica poiché, quando vengono metabolizzati, forniscono più del doppio dell'energia per grammo rispetto ai carboidrati. I carboidrati e le proteine possono essere trasformati enzimaticamente in grassi ed immagazzinati nelle cellule del tessuto adiposo e in alcuni semi e frutti delle piante.

Un triacilglicerolo è costituito da glicerolo unito a 3 acidi grassi ( Fig. 3-12 ). Il glicerolo è un alcol a tre atomi di carbonio contenente 3 gruppi —OH. Un acido grasso è costituito da una non ramificata alla cui estremità si trova un gruppo carbossilico (—COOH). Una molecola di triacilglicerolo è formata mediante una serie di tre reazioni di condensazione: in ogni reazione, si forma una molecola d'acqua quando un gruppo ossidrilico del glicerolo reagisce con il gruppo carbossilico di un acido grasso, portando alla formazione di un legame covalente noto come legame esterico ( Fig. 3-12b ). La prima reazione produce un monoacilglicerolo ( monogliceride ), la seconda un diacilglicerolo ( digliceride ) e la terza un triacilglicerolo. Durante la digestione, i triacilgliceroli sono idrolizzati per produrre acidi grassi e glicerolo (vedi Capitolo 47 ). Il diacilglicerolo è una molecola importante utilizzata per inviare segnali all'interno della cellula (vedi Capitolo 6 e 49 ).

FIGURA 3-12 *Il triacilglicerolo, il principale lipide di riserva*
(a) Glicerolo ed acidi grassi sono i componenti dei grassi. (b) Il glicerolo è legato agli acidi grassi mediante legami esterici (in grigio). I modelli a spazio pieno mostrano la vera forma degli acidi grassi. (c) L'acido palmitico, un acido grasso saturo, ha una struttura a catena lineare. (d) L'acido oleico (monoinsaturo) e (e) l'acido linoleico (polinsaturo) sono piegati o attorcigliati in corrispondenza di ogni doppio legame carbonio-carbonio.



## Gli acidi grassi saturi e insaturi differiscono nelle proprietà fisiche

Generalmente, nei lipidi ci sono circa 30 diversi acidi grassi che hanno un numero pari di atomi di carbonio. Ad esempio, l'acido butirrico, presente nel burro rancido, ha 4 atomi di carbonio, e l'acido oleico, il più abbondante in natura, ha 18 atomi di carbonio e si trova nella maggior parte dei grassi animali e vegetali.

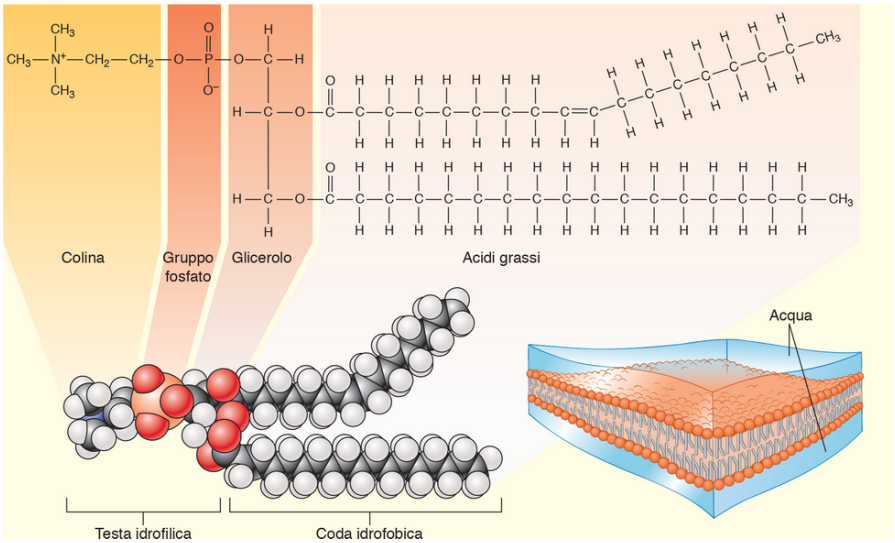
Gli acidi grassi saturi contengono il maggior numero possibile di atomi di idrogeno. L'acido palmitico, un acido grasso a 16 atomi di carbonio, è un acido grasso saturo comune ( Fig. 3-12c ). I grassi ricchi di acidi grassi saturi, come i grassi animali e i grassi vegetali solidi, a temperatura ambiente tendono ad essere solidi. Questo perché anche le molecole apolari neutre possono sviluppare regioni che transitoriamente presentano una debole carica positiva o negativa, in quanto il moto continuo dei loro elettroni fa sì che alcune regioni abbiano un eccesso temporaneo di elettroni ed altre un deficit temporaneo. Queste deboli cariche di segno opposto danno origine ad attrazioni tra molecole adiacenti, note come forze (o interazioni) di van der Waals ( Capitolo 2 ). Anche se le interazioni di van der Waals, prese singolarmente, sono deboli, possono tuttavia diventare forti qualora siano presenti in gran quantità lungo la catena idrocarburica. Tali interazioni tendono a rendere una sostanza più solida limitando le possibilità di movimento delle sue molecole.

Gli acidi grassi insaturi possiedono una o più coppie di atomi di carbonio adiacenti legati tra loro da un doppio legame e non sono quindi completamente saturati con l'idrogeno. Gli acidi grassi con un solo doppio legame sono detti monoinsaturi , mentre quelli con più di un doppio legame sono detti polinsaturi . L'acido oleico è un acido grasso monoinsaturo e l'acido linoleico è un comune acido grasso polinsaturo ( Fig. 3-12d ed e ). I grassi contenenti un'alta percentuale di acidi grassi monoo polinsaturi tendono ad essere liquidi a temperatura ambiente. Ciò è dovuto al fatto che ciascun doppio legame produce una "piega" nella catena idrocarburica che impedisce l'allineamento con la catena adiacente, limitando così le interazioni di van der Waals.

Di solito, nei processi alimentari, gli olii da cucina vengono totalmente o parzialmente idrogenati per ottenere la margarina ed altri prodotti, convertendo gli acidi grassi insaturi in acidi grassi saturi e rendendo in tal modo i grassi più solidi a temperatura ambiente. Un tale processo rende il grasso meno salutare; infatti, è noto che l'introduzione di acidi grassi saturi con la dieta aumenta il rischio di malattie cardiovascolari (vedi Capitolo 44 ). Il processo di idrogenazione ha anche un altro effetto. Notate che nell'acido oleico e nell'acido linoleico (acidi grassi insaturi naturali), mostrati in Figura 3-12 , i due atomi di idrogeno che fiancheggiano ciascun doppio legame si trovano sullo stesso lato della catena idrocarburica (configurazione cis ).Quando gli acidi grassi vengono idrogenati artificialmente, i doppi legami possono subire un riarrangiamento che li porta in configurazione trans, un arrangiamento analogo a quello illustrato in Figura 3-3b . Gli acidi grassi trans sono tecnicamente insaturi, ma presentano molte delle proprietà degli acidi grassi saturi. Poiché la configurazione trans non produce una piega in corrispondenza del doppio le game, gli acidi grassi trans sono più solidi a temperatura ambiente e, come gli acidi grassi saturi, aumentano il rischio di malattie cardiovascolari.
Sono almeno due gli acidi grassi insaturi essenziali, che devono essere presenti in ogni dieta in quanto il corpo umano non può sintetizzarli: l'acido linoleico e l'acido arachidonico. Tuttavia, le quantità necessarie sono piccole e solo raramente sono state osservate carenze; non esiste, invece, la necessità di introdurre acidi grassi saturi con la dieta.

## I fosfolipidi sono componenti delle membrane cellulari

I fosfolipidi appartengono ad una importante classe di lipidi, quella dei lipidi anfipatici , le cui molecole sono caratterizzate dall'avere un'estremità idrofilica ed una idrofobica ( Fig. 3-13 ). Le due estremità della molecola del fosfolipide differiscono tra loro sia dal punto di vista fisico che chimico. Un fosfolipide consiste di una molecola di glicerolo attaccata da un lato a due acidi grassi e dall'altro ad un gruppo fosfato legato ad un composto organico come la colina. Il composto organico generalmente contiene azoto. (È bene notare che il fosforo e l'azoto sono assenti nei triacilgliceroli, come mostrato in Figura 3-12b ). La parte della molecola che contiene gli acidi grassi (costituita da 2 "code" idrocarburiche) è idrofobica e insolubile in acqua; la parte costituita da glicerolo, fosfato e base organica ("testa" della molecola), invece, è ionizzabile e molto idrosolubile. Le caratteristiche anfipatiche di queste molecole lipidiche permettono la formazione in acqua di doppi strati lipidici; questo le rende particolarmente adatte a funzionare come componenti fondamentali delle membrane cellulari (vedi Capitolo 5 ).




**PUNTO CHIAVE**
Quando i fosfolipidi interagiscono con l'acqua si forma un doppio strato lipidico

## I carotenoidi e molti altri pigmenti derivano da unità di isoprene

I pigmenti vegetali arancioni e gialli detti carotenoidi vengono classificati tra i lipidi in quanto insolubili in acqua e con consistenza oleosa. Questi pigmenti, che si trovano nelle cellule di tutte le piante, hanno un ruolo molto importante nella fotosintesi. I carotenoidi, come il β - carotene, e molti altri importanti pigmenti sono costituiti da monomeri idrocarburici a 5 atomi di carbonio noti come unità isopreniche ( Fig. 3-14 ).

Molti animali convertono i carotenoidi in vitamina A, la quale può essere convertita nel pigmento visivo retinale . Tre gruppi di animali — molluschi, insetti e vertebrati — hanno occhi che utilizzano il retinale nel processo di ricezione della luce.

Da notare che i carotenoidi, la vitamina A e il retinale mostrano una struttura in cui si alternano doppi e singoli legami. Quando la luce colpisce la molecola, gli elettroni che formano questi legami si possono muovere facilmente. Queste molecole sono pigmenti; essi tendono ad essere molto colorati poiché gli elettroni mobili causano un forte assorbimento della luce di certe lunghezze d'onda e la riflessione di altre lunghezze d'onda.

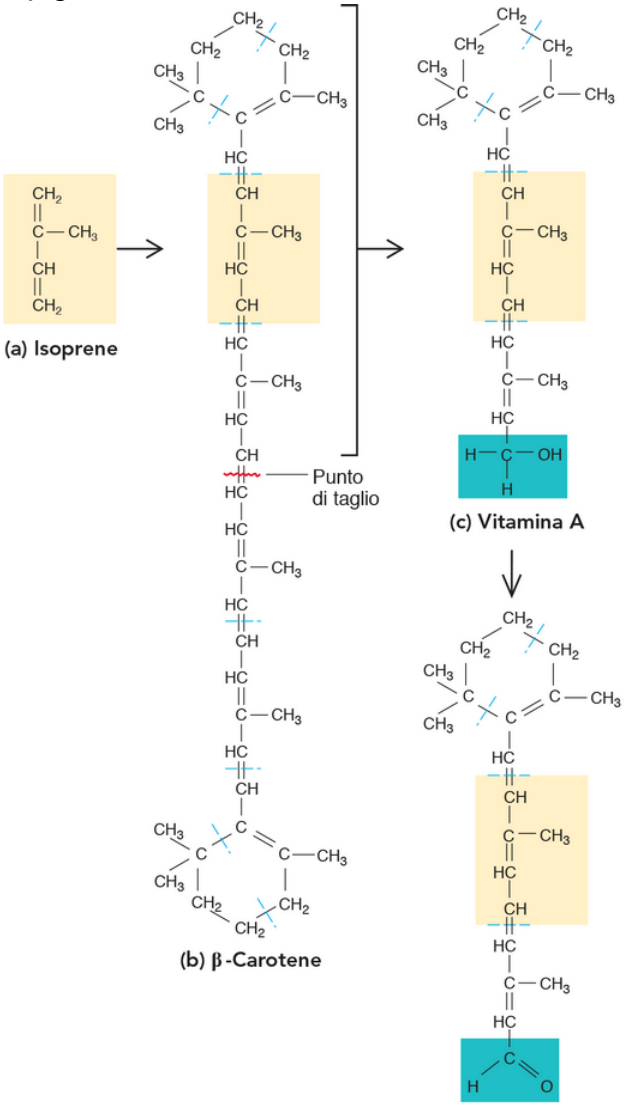



FIGURA 3-14 *Composti derivati dall'isoprene*. → (a) Una subunità isoprenica. (b) Il β-carotene, con le linee tratteggiate che indicano i confi ni tra le diverse subunità isopreniche. La linea rossa ondulata indica il punto in cui molti animali sono in grado di tagliare la molecola per produrre due molecole di (c) vitamina A. La vitamina A è convertita nel pigmento visivo (d) retinale.

## Gli steroidi contengono quattro anelli carboniosi

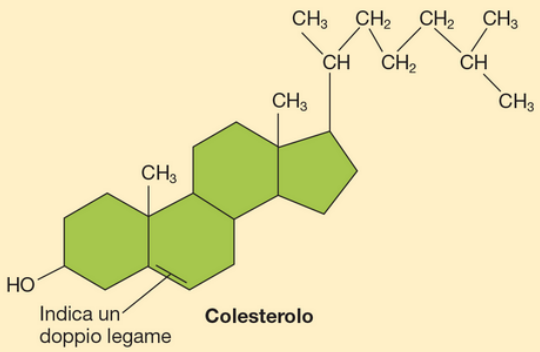
Uno steroide è formato da atomi di carbonio disposti in 4 anelli uniti tra loro; tre anelli sono a 6 atomi di carbonio e il quarto è a cinque atomi di carbonio ( Fig. 3-15 ). La lunghezza e la struttura delle catene laterali che si estendono da questi anelli fanno sì che gli steroidi possano essere distinti tra loro. Gli steroidi sono sintetizzati a partire da unità isopreniche, come i carotenoidi.

Tra gli steroidi più importanti dal punto di vista biologico, ricordiamo il colesterolo, i sali biliari, gli ormoni sessuali, il cortisolo e gli altri ormoni secreti dalla corteccia surrenale. Il colesterolo è un

componente strutturale fondamentale delle membrane cellulari degli animali; però, quando vi è un eccesso di colesterolo nel sangue, si possono formare delle placche sulle pareti delle arterie, aumentando il rischio di malattie cardiovascolari (vedi Capitolo 44 ).
Le membrane delle cellule vegetali contengono molecole simili al colesterolo. È interessante notare che alcune di queste molecole sono in grado di bloccare l'assorbimento di colesterolo da parte dell'intestino. I sali biliari emulsionano i grassi presenti nell'intestino in modo tale da favorirne l'idrolisi per via enzimatica. Gli ormoni steroidei regolano alcuni aspetti del metabolismo di una varietà di animali e piante.

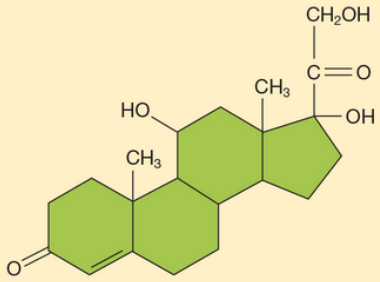
### Alcuni mediatori chimici sono lipidi

Le cellule animali secernono composti chimici che permettono loro di comunicare o di regolare le proprie attività. Alcuni mediatori chimici sono prodotti per modificazione degli acidi grassi derivanti dai fosfolipidi di membrana. Tra questi, si possono includere le prostaglandine, che svolgono ruoli differenti, come quello di scatenare il processo infiammatorio e di determinare la contrazione della muscolatura liscia. Alcuni ormoni, come la neotenina degli insetti, sono anch'essi derivati degli acidi grassi (vedi Capitolo 49 ).



**Colesterolo**

**(a)** Il **colesterolo** è un componente essenziale delle membrane delle cellule animali.



**Cortisolo**

**(b)** Il **cortisolo** è un ormone steroideo secreto dalla ghiandola surrenale.

FIGURA 3-15 *Steroidi*
Uno steroide contiene 4 anelli condensati — tre a sei atomi di carbonio ed uno a cinque atomi di carbonio (mostrati in verde). Notare che alcuni atomi di carbonio sono "condivisi" tra due anelli. In queste strutture semplificate, a ciascun angolo dell'anello è presente un atomo di carbonio e gli idrogeni che si attaccano direttamente agli atomi di carbonio non sono stati disegnati. Gli steroidi si distinguono principalmente per i gruppi funzionali ad essi legati.

### Verifica

- Perché gli acidi grassi saturi, insaturi e trans presentano proprietà differenti?
- Perché i fosfolipidi formano doppi strati lipidici in ambiente acquoso?

## 3.4 LE PROTEINE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Fornire una descrizione completa della struttura e delle funzioni delle proteine.
8. Illustrare le caratteristiche comuni a tutti gli aminoacidi e spiegare in che modo essi vengono raggruppati in classi in base alle caratteristiche delle loro catene laterali.
9. Fare una distinzione tra i quattro livelli di organizzazione delle molecole proteiche.

Le proteine, macromolecole costituite da aminoacidi, sono i componenti cellulari più versatili. Come sarà discusso nel Capitolo 16, gli scienziati sono riusciti a sequenziare virtualmente tutta l'informazione genetica di una cellula umana, mentre l'informazione genetica di molti altri organismi è ancora oggetto di studio. Alcuni potrebbero pensare che il sequenziamento dei geni umani rappresenti la fine della storia, ma è solamente l'inizio. Molte informazioni genetiche sono utilizzate per specificare le proteine, ed è stato predetto che la maggior parte del ventunesimo secolo sarà spesa per comprendere il funzionamento di queste macromolecole straordinariamente versatili, che sono di importanza basilare per la chimica della vita. In effetti, le proteine sono praticamente coinvolte in tutti gli aspetti del metabolismo, in quanto la maggior parte degli enzimi (molecole che accelerano le migliaia di differenti reazioni chimiche che avvengono in un organismo) sono proteine.

| Classi di proteine | Funzioni ed esempi |
|---|---|
| Enzimi | Catalizzano specifiche reazioni chimiche |
| Proteine strutturali | Rafforzano e proteggono le cellule e i tessuti (ad es. il collagene rafforza i tessuti animali) |
| Proteine di riserva | Nutrienti di riserva; particolarmente abbondanti nelle uova (ad es. l'ovoalbumina nell'albume dell'uovo) e nei semi (ad es. la zeina nei semi di grano) |
| Proteine di trasporto | Trasportano specifiche sostanze tra le cellule (ad es. l'emoglobina trasporta l'ossigeno nei globuli rossi); spostano specifiche sostanze attraverso la membrana cellulare (ad es. ioni, glucosio, aminoacidi) |
| Proteine di regolazione | Alcune sono ormoni (insulina); alcune controllano l'espressione di specifici geni |
| Proteine di movimento | Partecipano al movimento cellulare (ad es. actina e miosina sono fondamentali per la contrazione muscolare) |
| Proteine di difesa | Proteine che proteggono da agenti estranei (ad es. gli anticorpi giocano un ruolo fondamentale nel sistema immunitario) |

TABELLA 3-2 Principali classi di proteine e loro funzioni

Le proteine possono essere assemblate in una notevole varietà di forme, che fanno sì che esse possano funzionare come maggiori componenti strutturali delle cellule e dei tessuti. Per queste ragioni, la crescita e la riparazione, così come il mantenimento di un organismo, dipendono da questi composti. Come mostrato nella TABELLA 3-2 , le proteine svolgono un'ampia varietà di funzioni specializzate. Ogni tipo cellulare contiene caratteristiche forme, distribuzioni e concentrazioni di proteine che determinano la struttura e la funzione della cellula stessa. Una cellula muscolare contiene grandi quantità delle proteine miosina e actina, responsabili sia della sua struttura che della sua capacità di contrarsi. La proteina emoglobina, presente nei globuli rossi, è responsabile della funzione specializzata di trasporto dell'ossigeno.

## Gli aminoacidi sono le subunità delle proteine

Gli aminoacidi, i costituenti delle proteine, hanno un gruppo amminico (—NH 2 ) e un gruppo carbossilico (—COOH) legati allostesso atomo di carbonio asimmetrico, il carbonio alfa . In una soluzione a pH neutro, gli aminoacidi sono ioni bipolari e questa è la forma nella quale generalmente si presentano a pH cellulare. Il gruppo carbossilico (—COOH) dona un protone e si dissocia come —COO - , mentre il gruppo amminico (— + 3 NH) accetta un protone e diventa —NH 3 ( Fig. 3-16 ). Grazie alla capacità dei loro gruppi amminici e carbossilici di accettare e rilasciare protoni, gli aminoacidi in soluzione si oppongono ai cambiamenti di pH e possono essere considerati importanti tamponi biologici.

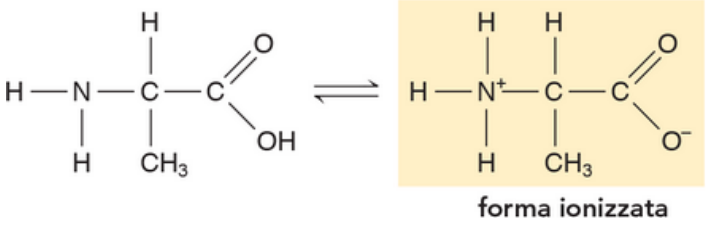



FIGURA 3-16 *Un aminoacido a pH 7* Nelle cellule viventi, gli aminoacidi esistono prevalentemente in forma ionizzata, come ioni dipolari.

Nelle proteine, si trovano di solito 20 aminoacidi diversi, ciascuno caratterizzato da un gruppo R legato al carbonio α ( Fig. 3-17 ). La glicina, l'aminoacido più semplice, ha come gruppo R un atomo di idrogeno, mentre l'alanina ha un gruppo metilico (—CH 3 ). Gli aminoacidi in Figura 3-17 sono stati suddivisi a seconda delle proprietà delle loro catene laterali. Questi ampi raggruppamenti in realtà comprendono aminoacidi con proprietà molto diverse tra loro. Gli aminoacidi classificati come non polari tendono ad avere proprietà idrofobiche, mentre quelli classificati come polari sono più idrofilici.

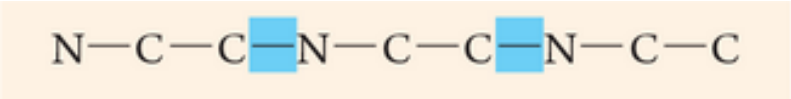
Gli aminoacidi acidi hanno catene laterali che contengono un gruppo carbossilico il quale, a pH cellulare, è dissociato e pertanto carico negativamente. Gli aminoacidi basici diventano carichi positivamente quando il gruppo amminico presente nella catena laterale accetta uno ione idrogeno. Le catene laterali, sia acide che basiche, sono ioniche al pH cellulare e pertanto risultano idrofiliche.

Alcune proteine contengono anche aminoacidi diversi dai 20 più comuni. Questi aminoacidi rari sono prodotti per modificazione di quelli comuni, dopo che questi sono entrati a far parte della proteina. Ad esempio, la lisina e la prolina possono essere trasformate in idrossilisina e idrossiprolina dopo essere state incorporate nel collagene. Questi aminoacidi possono formare ponti tra le catene peptidiche che costituiscono il collagene. Tali ponti sono responsabili della stabilità e della grande robustezza delle molecole di collagene, che è il componente principale della cartilagine, dell'osso e di altri tessuti connettivi. Tranne poche eccezioni, piante e batteri sono in grado di sintetizzare, a partire da sostanze semplici, tutti gli aminoacidi necessari. Se è disponibile la materia prima, le cellule animali possono sintetizzare alcuni, ma non tutti, gli aminoacidi. Quelli che gli animali non possono sintetizzare e che devono essere assunti con la

dieta sono noti come aminoacidi essenziali . Gli animali differiscono per le loro capacità biosintetiche; gli aminoacidi che sono essenziali per una specie non lo sono per un'altra.
Gli aminoacidi essenziali per l'uomo sono: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, istidina. Per i bambini, bisogna aggiungere alla lista anche l'arginina, poiché essi non ne sintetizzano quantità sufficienti per so-stenere la crescita.

## I legami peptidici uniscono gli aminoacidi

Gli aminoacidi si combinano tra loro legando il carbonio del gruppo carbossilico di una molecola all'azoto del gruppo amminico di un'altra mediante una reazione di condensazione ( Fig. 3-18 ). Il legame covalente che tiene insieme due aminoacidi è detto legame peptidico . Quando si combinano due aminoacidi, si forma un dipeptide ; una catena più lunga di aminoacidi è un polipeptide . Una proteina è costituita da una o più catene polipeptidiche. Ogni polipeptide ha un gruppo amminico libero ad un'estremità e un gruppo carbossilico libero all'altra (appartenente all'ultimo aminoacido aggiunto alla catena). I gruppi amminici e carbossilici degli altri monomeri (eccetto quelli delle catene laterali) vanno a far parte dei legami peptidici. Il processo, assai complesso, mediante il quale viene sintetizzata una catena polipeptidica verrà discusso nel Capitolo 13 .



Un polipeptide può contenere centinaia di aminoacidi legati in un ordine lineare specifico. Lo scheletro della catena consiste in una sequenza ripetuta più tutti gli altri atomi, *eccetto quelli delle catene laterali*, che sporgono da questa struttura portante.
Dovrebbe essere chiaro che è possibile ottenere un numero quasi infinito di proteine diverse che differiscono l'una dall'altra per il numero, il tipo e la disposizione degli aminoacidi che le costituiscono. I 20 tipi di aminoacidi delle proteine biologiche possono essere considerati come le lettere di un alfabeto proteico; ciascuna proteina è una lunghissima frase formata da lettere aminoacidiche.

## Le proteine hanno quattro livelli di organizzazione

Le catene polipeptidiche che formano una proteina sono attorcigliate o ripiegate per formare una macromolecola con una specifica conformazione tridimensionale. Alcune catene polipeptidiche formano lunghe fibre, mentre nelle proteine globulari le catene polipeptidiche sono ripiegate in una forma compatta grossolanamente sferica. Vi è una stretta correlazione tra la conformazione di una proteina e la sua funzione. Ad esempio, un tipico enzima è una proteina globulare con una forma unica che gli permette di catalizzare una specifica reazione chimica. Analogamente, la forma di un ormone proteico gli consente di combinarsi con il recettore presente sulla sua cellula bersaglio (la cellula su cui l'ormone agisce). Nelle molecole proteiche si possono distinguere quattro diversi livelli di organizzazione: struttura primaria, secondaria, terziaria e quaternaria.

### La struttura primaria è la sequenza aminoacidica

La sequenza aminoacidica di una catena polipeptidica rappresenta la sua struttura primaria . Questa sequenza viene specificata dalle istruzioni contenute in un gene, come si vedrà nel Capitolo 13 . Utilizzando metodiche analitiche, i ricercatori sono in grado di determinare l'esatta sequenza aminoacidica di una molecola proteica, e oggigiorno è nota la struttura primaria di migliaia di proteine. Per esempio, il glucagone, un ormone secreto dal pancreas, è un piccolo polipeptide costituito solamente da 29 aminoacidi ( Fig. 3-19 ).

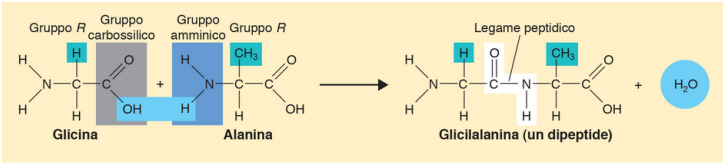
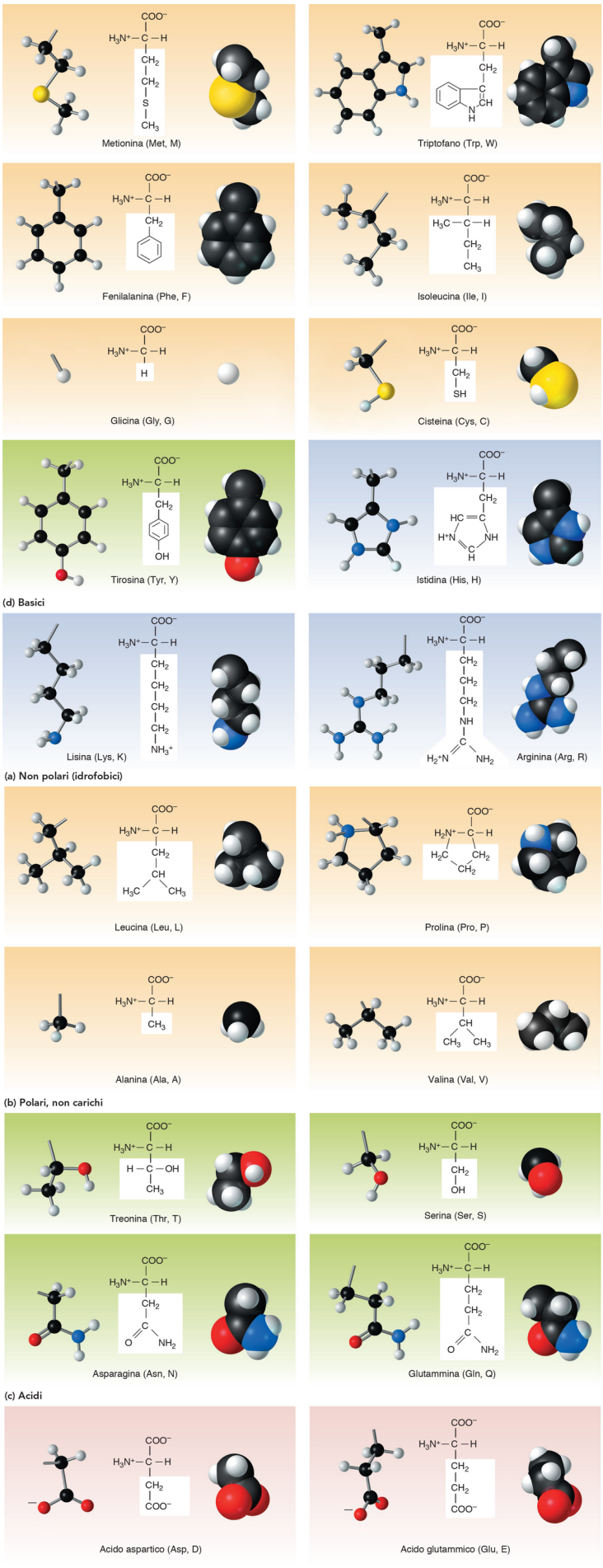



FIGURA 3-18 *Legami peptidici*
Un dipeptide si forma per rimozione dell'equivalente di una molecola di acqua dal gruppo carbossilico di un aminoacido e dal gruppo amminico di un altro aminoacido (reazione di condensazione). Il legame peptidico che ne risulta è un legame covalente carbonio-azoto. Notare che il carbonio è anche parte di un gruppo carbonilico, e che l'azoto è anche legato covalentemente ad un idrogeno. Si possono aggiungere anche altri aminoacidi per formare una lunga catena polipeptidica con un gruppo amminico libero ad una estremità ed un gruppo carbossilico libero all'altra.

La struttura primaria è sempre rappresentata in una semplice forma lineare "a filo di perle"; comunque, la conformazione globale di una proteina è assai più complessa, coinvolgendo interazioni tra i vari aminoacidi che formano la struttura primaria della molecola. Quindi, i livelli superiori della struttura — secondario, terziario e quaternario — in definitiva derivano dalla specifica sequenza aminoacidica (cioè dalla struttura primaria).



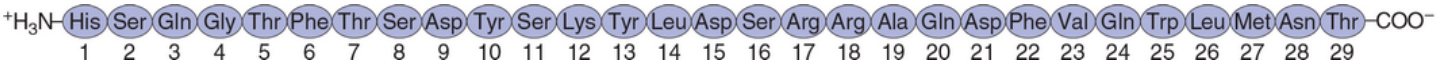

←FIGURA 3-17 *I 20 aminoacidi comuni*
(a) Gli aminoacidi non polari hanno catene laterali relativamente idrofobiche, mentre (b) gli aminoacidi polari hanno catene laterali relativamente idrofiliche. I gruppi carbossilici e i gruppi amminici sono elettricamente carichi al pH cellulare; di conseguenza (c) gli aminoacidi acidi e (d) gli aminoacidi basici sono idrofilici. Accanto ai nomi degli aminoacidi sono mostrate le abbreviazioni standard a tre lettere e ad una lettera.

## La struttura secondaria deriva dai legami a idrogeno tra elementi dello scheletro aminoacidico

In alcune regioni di un polipeptide si trovano strutture secondarie molto regolari. I due tipi più comuni di struttura secondaria sono la α -elica e il foglietto β -ripiegato; le indicazioni α e β si riferiscono semplicemente all'ordine con il quale questi due tipi di strutture secondarie sono state scoperte. Una α -elica è una regione in cui una catena polipeptidica forma un avvolgimento elicoidale uniforme ( Fig. 3-20a ). La struttura ad elica è determinata e mantenuta dalla formazione di legami a idrogeno tra gli scheletri aminoacidici che si trovano in successione nella spirale. Ciascun legame a idrogeno si instaura tra un ossigeno con una carica parziale negativa ed un idrogeno con una carica parziale positiva. L'ossigeno proviene dal residuo del gruppo carbossilico di un aminoacido, mentre l'idrogeno fa parte del residuo del gruppo amminico dell'aminoacido che si trova in quarta posizione rispetto al precedente nella catena. Di conseguenza, in ciascuna spirale dell'elica si trovano 3,6 aminoacidi. Ciascun aminoacido dell' α -elica è quindi legato per mezzo di un legame a idrogeno.

L' α -elica è l'unità di base strutturale delle proteine fibrose, presenti in lana, capelli, pelle e unghie. L'elasticità di queste fibre è dovuta alla combinazione di fattori fisici (forma ad elica) e chimici (legami a idrogeno). Benché i legami a idrogeno mantengano la struttura elicoidale, questi legami possono essere rotti permettendo alle fibre di stirarsi sotto tensione (come il filo del telefono). Quando la tensione viene rilasciata, la fibra si riavvolge e i legami a idrogeno si riformano. Ciò spiega perché i capelli possono essere tirati fino ad un certo punto per tornare poi alla loro lunghezza originaria.

FIGURA 3-19 *Struttura primaria di un polipeptide*




Il glucagone è un polipeptide molto piccolo costituito da 29 aminoacidi. La sequenza lineare degli aminoacidi è rappresentata da ovali che contengono i corrispondenti nomi abbreviati (vedi Fig. 3-17 ).

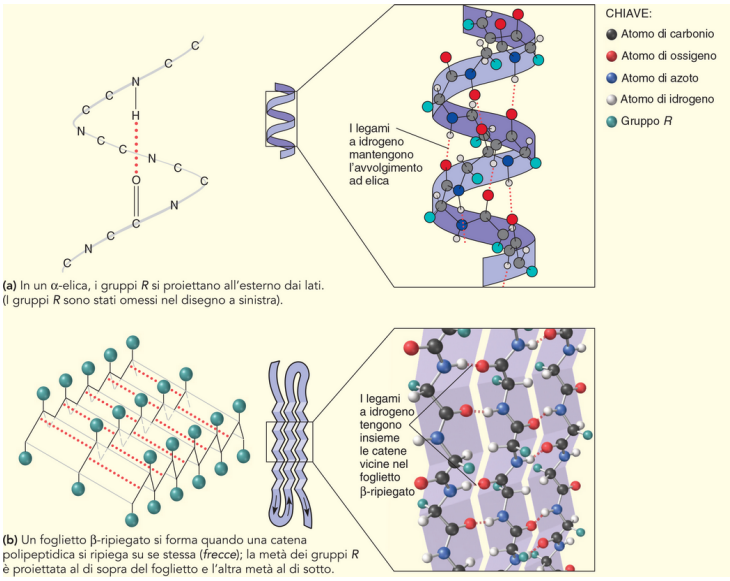
Nella struttura a foglietto β -ripiegato i legami a idrogeno si formano tra catene polipeptidiche differenti o anche tra regioni differenti di una stessa catena polipeptidica ripiegata su se stessa ( Fig. 3-20b ). Tutte le catene sono completamente distese ma, poiché ciascuna di queste ha una struttura a zig zag, il "foglietto" che ne deriva ha una conformazione generale pieghettata (simile ad un foglio di carta che è stato piegato a ventaglio).
Un foglietto ripiegato è flessibile piuttosto che elastico. Ciò deriva dal fatto che la distanza fra le ripiegature è fissa, essendo determinata dai forti legami covalenti degli scheletri polipeptidici. La fibroina, la proteina della seta, è caratterizzata da una strut-tura a foglietto b-ripiegato, così come i nuclei di molte proteine globulari.
È abbastanza comune che un polipeptide a singola catena comprenda sia regioni ad α -elica che regioni con conformazione a foglietto β -ripiegato. Anche le proprietà di alcuni materiali biologici complessi sono dovute a queste combinazioni. La tela del ragno è costituita di un materiale estremamente forte, flessibile ed elastico. Ancora una volta, si vede che funzione e struttura ope-rano insieme, in quanto queste proprietà derivano dal fatto che la tela del ragno è costituita da un insieme di proteine con conformazione ad α -elica (che conferiscono elasticità) e a foglietto β -ripiegato (che conferiscono forza).

## La struttura terziaria dipende dalle interazioni tra le catene laterali

La struttura terziaria di una molecola proteica è la forma complessiva assunta da ciascuna catena polipeptidica ( Fig. 3-21 ). Questa struttura tridimensionale è determinata da quattro fattori principali che implicano interazioni tra i gruppi R (catene laterali) lungo la stessa catena polipeptidica. Questi includono interazioni deboli (legami a idrogeno, legami ionici e interazioni idrofobiche) e legami covalenti.

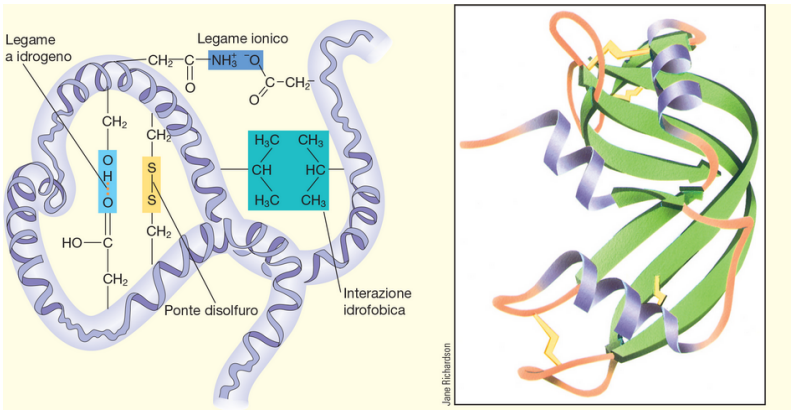
**PUNTO CHIAVE** La struttura secondaria è altamente regolare.

1. Legami a idrogeno che si formano tra i gruppi R di alcune subunità aminoacidiche.
2. Legami ionici tra i gruppi R carichi positivamente e quelli carichi negativamente.
3. Interazioni idrofobiche dovute alla tendenza dei gruppi R apolari a disporsi all'interno della struttura globulare, lontano dall'acqua circostante.
4. Legami covalenti, noti come ponti disolfuro (—S—S—), che legano gli atomi di zolfo di due unità di cisteina. Un ponte disolfuro si forma quando i gruppi sulfidrilici di due cisteine reagiscono tra loro, con l'eliminazione dei due atomi di idro geno e la formazione di un legame covalente tra i due atomi di zolfo che rimangono.




## La struttura quaternaria deriva dalle interazioni tra i polipeptidi

Molte proteine sono costituite da due o più catene polipeptidiche, che interagiscono in modo specifico per dare una molecola proteica biologicamente attiva. La struttura quaternaria deriva dalla disposizione tridimensionale delle catene polipeptidiche (ciascuna delle quali ha una sua struttura primaria, secondaria e terziaria). Gli stessi tipi di interazione che danno origine alle strutture secondaria e terziaria contribuiscono anche alla struttura quaternaria; esse includono legami a idrogeno, legami ionici, interazioni idrofobiche e ponti disolfuro.




**(a)** I ponti disolfuro, i legami a idrogeno, le interazioni idrofobiche e i legami ionici tra i gruppi *R* tengono insieme le parti della molecola nella forma prestabilita.

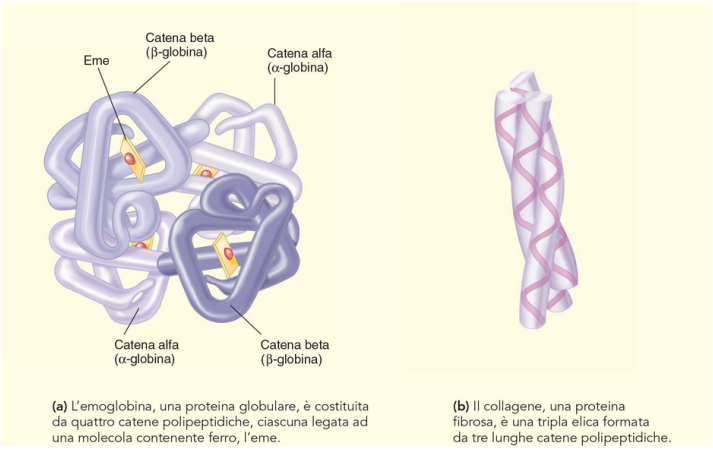
**(b)** In questo disegno, le regioni ad α-elica sono rappresentate con spirali viola, i foglietti β-ripiegati con larghi nastri verdi e le regioni di connessione con nastri marroncini più stretti. Le interazioni tra i gruppi *R* che stabilizzano le curvature e i ripiegamenti che conferiscono alla molecola la sua conformazione complessiva (struttura terziaria) sono rappresentate in giallo. La proteina mostrata è la ribonucleasi A bovina.

**PUNTO CHIAVE** La struttura terziaria dipende dalle interazioni tra le catene laterali.

Ad esempio, una molecola di anticorpo funzionale è costituita da quattro catene polipeptidiche unite da ponti disolfuro. I ponti disolfuro sono una caratteristica comune a molte proteine secrete dalle cellule, quali gli anticorpi; questi legami forti stabilizzano le molecole che si trovano nell'ambiente extracellulare.
L'emoglobina, la proteina dei globuli rossi responsabile del trasporto dell'ossigeno, è un esempio di proteina globulare con struttura quaternaria ( Fig. 3-22a ).
L'emoglobina è costituita da 574 aminoacidi organizzati in 4 catene polipeptidiche, due catene alfa identiche e due catene beta identiche. Il collagene, citato precedentemente, ha una struttura quaternaria di tipo fibroso che si adatta molto bene alla funzione di fornire resistenza ai tessuti ani-mali. È costituito da tre catene polipeptidiche avvolte l'una sull'altra e unite da legami crociati fra i loro aminoacidi ( Fig. 3-22b ).
La sequenza amminoacidica di una proteina determina la sua conformazione

Nel 1972 il ricercatore statunitense Christian B. Anfinsen ha ricevuto il Premio Nobel per la chimica in merito ai suoi studi sul ripiegamento delle proteine, i quali dimostrarono che, almeno in determinate condizioni sperimentali in vitro (fuori da una cellula vivente), un polipeptide può spontaneamente andare incontro a processi di ripiegamento che lo conducono ad assumere la sua conformazione normale e funzionale. A partire dall'innovativo lavoro di Anfisen, molti ricercatori, studiando varie proteine e utilizzando una serie di approcci altamente sofisticati, hanno accumulato prove che supportano la conclusione ampiamente accettata che la sequenza di aminoacidi è il fattore principale che determina la conformazione della proteina .
Comunque, poiché le condizioni in vivo (nella cellula) sono piuttosto diverse dalle condizioni di laboratorio, le proteine non necessariamente si ripiegano spontaneamente. Al contrario, in anni recenti si è evidenziato che proteine note come chaperoni molecolari mediano il ripiegamento di certe proteine. Si pensa che gli chaperoni molecolari rendano il processo di ripiegamento più ordinato ed efficiente e non permett ano alle proteine parzialmente ripiegate di aggregarsi in modo non appropriato. Tutt avia, non vi sono prove a favore del fatto che gli chaperoni molecolari dettino realmente lo schema di ripiegamento. Per questa ragione, l'esistenza di tali molecole non costituisce una prova contro la tesi secondo la quale è la sequenza aminoacidica a determinare la conformazione.

**PUNTO CHIAVE** Le proteine costituite da due o più catene polipeptidiche posseggono una struttura quaternaria.




**(a)** L'emoglobina, una proteina globulare, è costituita da quattro catene polipeptidiche, ciascuna legata ad una molecola contenente ferro, l'eme.

**(b)** Il collagene, una proteina fibrosa, è una tripla elica formata da tre lunghe catene polipeptidiche.

## La conformazione di una proteina ne determina la funzione

La struttura di una proteina contribuisce a determinarne la sua attività biologica. Ogni proteina può avere varie regioni strutt urali, ognuna con una sua propria funzione. Molte proteine sono modulari, costituite cioè da due o più regioni globulari, dette domini, collegate da regioni meno compatte della catena polipeptidica.
Ciascun dominio può avere una funzione diversa. Ad esempio, una proteina può avere un dominio che la fa attaccare ad una membrana ed un altro che la fa funzionare da enzima. L'attività biologica di una proteina può essere modificata da cambiamenti nella sequenza aminoacidica che portano a cambiamenti nella sua conformazione. La malattia genetica nota come *anemia falciforme*, ad esempio, è dovuta ad una mutazione che porta alla sostituzione dell'aminoacido acido glutammico con la valina in posizione 6 (il sesto aminoacido dall'estremità ammino-terminale) della catena beta dell'emoglobina. La sostituzione della valina (aminoacido con catena laterale apolare) all'acido glutammico (con catena laterale carica) rende

l'emoglobina meno solubile e più propensa a formare strutt ure cristalline. Questa alterazione dell'emoglobina agisce sui globuli rossi conferendo loro la forma a falce che caratterizza questa malattia(vedi Fig. 16-8 ).
Cambiamenti della struttura tridimensionale di una proteina possono alterare la sua attività biologica. Quando una proteina viene scaldata, sottoposta a significativi cambiamenti di pH o trattata con prodotti chimici, la sua struttura terziaria diventa disordinata e le catene peptidiche si aprono producendo una conformazione meno ordinata. Questo srotolamento, principalmente dovuto alla rottura di legami a idrogeno e legami ionici, è associato alla perdita dell'attività biologica della proteina. Tale cambiamento di conformazione e la conseguente perdita di attività biologica vengono definiti *denaturazione* della proteina. Ad esempio, un enzima denaturato perde la sua capacità di catalizzare le reazioni chimiche. Un esempio quotidiano di denaturazione lo abbiamo quando friggiamo un uovo. La consistenza della proteina dell'albume, nota come albumina , diventa solida. Normalmente, la denaturazione non è reversibile (non si può "sfriggere" un uovo). Tuttavia, in certe condizioni, alcune proteine denaturate possono tornare alla loro forma ed attività biologica originarie quando vengono ripristinate le condizioni ambientali normali.

### La conformazione delle proteine è studiata con una varietà di metodi

La conformazione di una proteina può essere determinata direttamente attraverso analisi sofisticate, come la diffrazione ai raggi X discussa nel Capitolo 12 . Poiché tali studi sono tediosi e costosi, sono stati fatti notevoli sforzi per sviluppare approcci alternativi che essenzialmente si basano sulle enormi banche dati generate dal Progetto Genoma Umano e da progetti correlati.
Oggi, la sequenza aminoacidica di una proteina può essere determinata rapidamente attraverso l'applicazione di tecniche di ingegneria genetica (vedi Capitolo 15 ) o attraverso tecnologie sofisticate come la spettrometria di massa. Si stanno facendo molti sforzi per utilizzare efficacemente questi dati per prevedere i livelli superiori della struttura di una proteina. Come abbiamo visto,le catene laterali possono interagire in modi relativamente prevedibili, attraverso legami ionici, legami a idrogeno, ecc. Inoltre, regioni con certi tipi di catene laterali sembrano più propense a formare α -eliche o foglietti β -ripiegati. Programmi computerizzati molto complessi sono utilizzati per fare tali previsioni, ma sono imprecisi a causa delle molte possibili combinazioni di schemi di ripiegamento.
Il computer è una parte essenziale di un'altra strategia. Una volta che la sequenza aminoacidica di un polipeptide è stata determinata, i ricercatori impiegano il computer per controllare i database, allo scopo di trovare polipeptidi con sequenze simili. Se le conformazioni di qualcuno di questi polipeptidi o parti di essi sono già state determinate direttamente mediante diffrazione ai raggi X o altre tecniche, queste informazioni possono essere estrapolate per fare correlazioni analoghe tra la sequenza aminoacidica e la struttura tridimensionale della proteina in studio. Queste previsioni stanno diventando sempre più attendibili, dato che quotidianamente sempre più informazioni sono aggiunte ai database.

### Le proteine malripiegate sono coinvolte in alcune malattie umane

Gli studi sui meccanismi di ripiegamento delle proteine e sulla relazione tra l'attività di una proteina e la sua conformazione sono sempre più importanti per la medicina. Per esempio, come trattato nel Capitolo 19 , il morbo della mucca pazza e simili malattie umane e di altri animali sono causate da proteine *malripiegate* (*misfolded*) chiamate *prioni*. Altre gravi malattie nelle quali le proteine malripiegate hanno un importante ruolo includono il morbo di Alzheimer (vedi Capitolo 41 ) e la malattia di Huntington (vedi Capitolo 16 ).

## Verifica

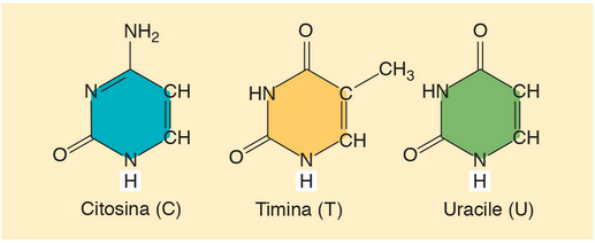
- Scrivete la formula di struttura di un aminoacido semplice. Qual è l'importanza del gruppo carbossilico, del gruppo amminico e del gruppo R?
- In che modo la struttura primaria di un polipeptide influisce sulle sue strutture secondaria e terziaria?

# 3.5 GLI ACIDI NUCLEICI

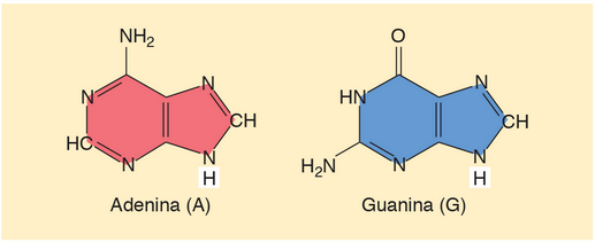
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Descrivere i componenti di un nucleotide. Elencare alcuni acidi nucleici e nucleotidi e discutere l'importanza di questi composti negli organismi viventi.

Gli acidi nucleici trasmettono l'informazione ereditaria e determinano quali proteine debbano essere sintetizzate dalla cellula. Nelle cellule ci sono due tipi di acidi nucleici: l' acido ribonucleico (RNA) e l' acido desossiribonucleico (DNA) . Il DNA costituisce i geni, il materiale ereditario della cellula, e contiene le istruzioni per sintetizzare tutte le proteine e tutto l'RNA necessari per l'organismo. L'RNA interviene nel complesso processo in cui gli aminoacidi vengono legati tra loro per formare i polipeptidi. Alcuni tipi di RNA, noti come ribozimi , possono addirittura funzionare come catalizzatori specifici. Come le proteine, anche gli acidi nucleici sono molecole grandi e complesse. Il nome acido nucleico riflette il fatto che essi sono acidi e sono stati isolati per la prima volta da Miescher nel 1870 da nuclei di cellule del pus.




**(a) Pirimidine.** Le tre principali basi pirimidiniche che si trovano nei nucleotidi sono la citosina, la timina (solo nel DNA) e l'uracile (solo nell'RNA).




**(b) Purine.** Le due principali basi puriniche che si trovano nei nucleotidi sono l'adenina e la guanina.

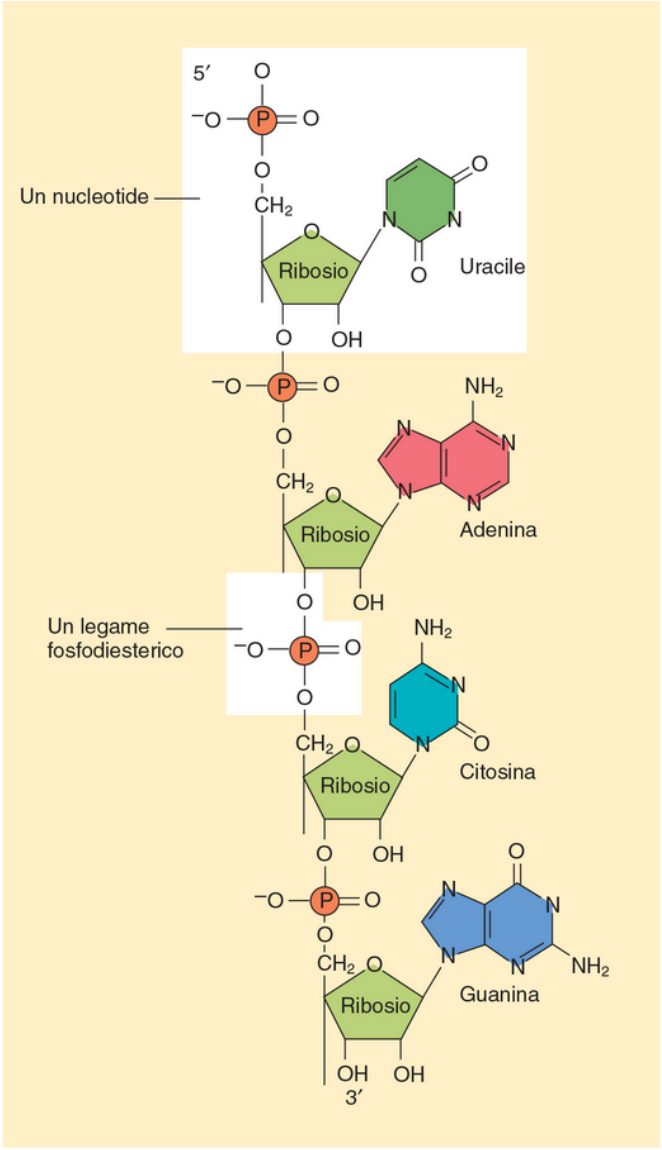
FIGURA 3-23 I componenti dei nucleotidi
Gli atomi di idrogeno indicati dai quadratini sono rimossi quando la base si lega ad uno zucchero.

Gli acidi nucleici sono polimeri di nucleotidi , unità molecolari costituite da: (1) uno zucchero a 5 atomi di carbonio, ribosio (nell'RNA) o desossiribosio (nel DNA), (2) uno o più gruppi fosfato che rendono la molecola acida, (3) una base azotata (composto eterociclico contenente azoto). La base azotata può essere a doppio anello, come nelle purine , o ad anello singolo, come nelle pirimidine ( Fig. 3-23 ). Il DNA contiene le purine adenina ( A ) e guanina ( G ) e le pirimidine citosina ( C ) e timina (T), oltre allo zucchero desossiribosio e al fosfato. L'RNA contiene le purine adenina e guanina e le pirimidine citosina e uracile ( U ), oltre allo zucchero ribosio e al fosfato. Le molecole degli acidi nucleici sono costituite da catene lineari di nucleotidi uniti tra loro da un legame fosfodiesterico costituito da un gruppo fosfato attaccato allo zucchero che si lega covalentemente allo zucchero del nucleotide adiacente ( Fig. 3-24 ). È da notare che ogni nucleotide è identificato dalla sua specifica base, e i nucleotidi possono essere legati tra loro in qualsiasi sequenza. L'informazione specifica dell'acido nucleico è racchiusa nella sequenza peculiare dei nucleotidi presenti nella catena, che costituisce un tipo di codice (vedi Cap. 13 ). Mentre l'RNA è generalmente composto da una catena nucleotidica, il DNA è composto da due catene nucleotidiche unite da legami a idrogeno ed avvolte l'una sull'altra a formare una doppia elica (vedi Fig. 1-7 ).

### Alcuni nucleotidi svolgono un ruolo importante nei trasferimenti di energia e in altre funzioni cellulari

Oltre ad essere importanti come subunità del DNA e dell'RNA, i nucleotidi sono fondamentali per altre funzioni cellulari vitali.

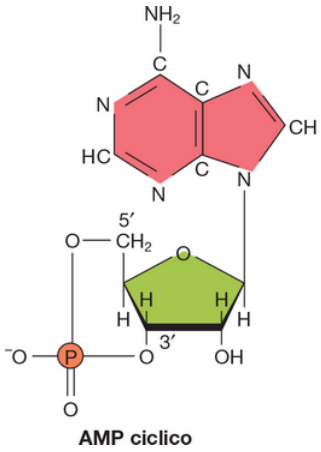
L' *adenosina trifosfato* ( ATP ), costituita da adenina, ribosio e tre fosfati ( Fig. 7-5 ), è la più importante molecola energetica della cellula (vedi Capitolo 7 ). I due gruppi fosfato terminali sono uniti al nucleotide mediante legami covalenti, che vengono solitamente simboleggiati con linee ondulate per indicare che l'ATP può trasferire un gruppo fosfato ad un'altra molecola, rendendola più reattiva. In questo modo, l'ATP può cedere parte della sua energia chimica. Molta dell'energia chimica disponibile per la cellula è associata ai gruppi fosfato dell'ATP. Analogamente all'ATP, il guanosina trifosfato ( GTP ), un nucleotide che con-tiene la base guanina, può trasferire energia cedendo un gruppo fosfato ed ha anche un ruolo importante nella segnalazione cellulare (vedi Capitolo 6).




← FIGURA 3-24 *L'RNA, un acido nucleico*
I nucleotidi, ciascuno con una specifica base, sono legati tra loro mediante legami fosfodiesterici.

Un nucleotide può essere trasformato in una forma alternativa con specifiche funzioni cellulari. L'ATP, ad esempio, è convertito in adenosina monofosfato ciclico ( cAMP ) grazie all'enzima adenilato ciclasi ( Fig. 3-25 ). Il cAMP media l'effetto di alcuni ormoni e regola alcuni aspetti della fi siologia cellulare, come la segnalazione cellulare. Una molecola analoga, il guanosina monofosfato ciclico ( cGMP ), riveste anch'essa un ruolo importante in alcuni processi di segnalazione cellulare.

FIGURA 3-25 → Adenosina monofosfato ciclico (cAMP) Il singolo fosfato fa parte di un anello che unisce due regioni diverse del ribosio




Le cellule contengono diversi dinucleotidi che rivestono una certa importanza nei processi metabolici. Ad esempio, come discusso nel Capitolo 7 , il nicotinammide adenin-dinucleotide ( NAD + ) svolge un ruolo fondamentale nelle ossido-riduzioni biologiche che avvengono all'interno delle cellule. Può esistere in una forma ossidata ( NAD + ) che si trasforma nella forma ridotta ( NADH ) quando accetta elettroni (in associazione con idrogeno; vedi Fig. 7-7 ). Gli elettroni di questi atomi di idrogeno, insieme alla loro energia, possono essere trasferiti ad altre molecole.

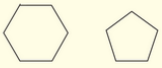
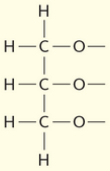
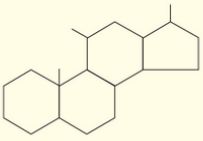
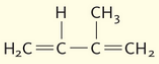
**Verifica**

- In che modo la struttura di un nucleotide è correlata alla sua funzione?

# 3.6 IDENTIFICAZIONE DELLE MOLECOLE BIOLOGICHE

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Paragonare le funzioni e la composizione chimica dei principali gruppi di composti organici: carboidrati, lipidi, proteine ed acidi nucleici.

| Classe ed elementi componenti | Descrizione | Come riconoscerli | Principali funzioni nei sistemi viventi |
|---|---|---|---|
| Carboidrati<br>C, H, O | Contengono approssimativamente 1C:2H:1O (ma possono perdere ossigeno quando le unità di zucchero si legano, come negli acidi nucleici e nelle glicoproteine) | Contare gli atomi di carbonio, idrogeno ed ossigeno. | Carburante cellulare; riserva di energia, componenti strutturali della parete delle cellule vegetali; componenti di altri composti come gli acidi nucleici e le glicoproteine |
| | 1. *Monosaccaridi* (zuccheri semplici). Principalmente molecole a 5 atomi di carbonio (pentosi), come il ribosio, oppure a 6 atomi di carbonio (esosi), come il glucosio o il fruttosio | Guardare la forma dell'anello:  | Carburante cellulare; componenti di altri composti |
| | 2. *Disaccaridi.* Due unità di monosaccaridi legate da un legame glicosidico (ad es., il maltosio, il saccarosio) | Contare le unità monomeriche. | Componenti di altri composti; zuccheri trasportati nelle piante |
| | 3. *Polisaccaridi.* Molte unità di zucchero legate da legami glicosidici (ad es. glicogeno, cellulosa) | Contare le unità monomeriche. | Riserva energetica; componenti strutturali della parete delle cellule vegetali |
| Lipidi<br>C, H, O<br>(talvolta N, P) | Contengono meno ossigeno rispetto a carbonio e idrogeno se confrontati con i carboidrati. | | Riserva di energia; carburante cellulare; componenti strutturali delle cellule; isolante termico |
| | 1. *Grassi neutri.* Combinazioni di glicerolo con acidi grassi (da 1 a 3). I monogliceridi contengono un acido grasso; i digliceridi contengono due acidi grassi; i trigliceridi contengono tre acidi grassi. Se gli acidi grassi contengono doppi legami carbonio-carbonio (C=C), sono detti insaturi; altrimenti sono saturi. | Cercare il glicerolo ad una estremità della molecola:  | Carburante cellulare; riserva energetica |
| | 2. *Fosfolipidi.* Composti da glicerolo legato ad uno o due acidi grassi e ad una base organica contenente fosforo | Cercare il glicerolo e la catena laterale contenente fosforo e azoto. | Componenti delle membrane cellulari |
| | 3. *Steroidi.* Molecole complesse contenenti atomi di carbonio organizzati a formare 4 anelli attaccati. (Tre anelli contentono sei atomi di carbonio, il quarto ne contine cinque) | Guardare i quattro anelli legati tra loro:  | Alcuni sono ormoni, altri includono colesterolo, sali biliari, vitamina D, componenti delle membrane cellulari |
| | 4. *Carotenoidi.* Pigmenti arancioni e gialli; consistono di unità isopreniche | Cercare le unità isopreniche.  | Il retinale (importante nella fotoricezione) e la vitamina A sono formati a partire da carotenoidi |
| Proteine<br>C, H, O, N<br>(di solito S) | Uno o più polipeptidi (catene di aminoacidi) avvolti e ripiegati in modi caratteristici | Cercare le unità aminoacidiche mediante legami C—N. | Funzionano come enzimi; componenti strutturali; proteine muscolari; emoglobina |
| Acidi nucleici<br>C, H, O, N, P | Scheletro composto da un'alternanza di pentosi e fosfati, da cui si proiettano le basi azotate. Il DNA contiene come zucchero il desossiribosio e come basi la guanina, la citosina, l'adenina, e la timina. L'RNA contiene come zucchero il ribosio e come basi la guanina, la citosina, l'adenina e l'uracile. Ogni subunità molecolare, detta nucleotide, è formata da un pentoso, un fosfato ed una base azotata. | Cercare lo scheletro pentosofosfato.<br>Il DNA forma una doppia elica. | Conservazione, trasmissione ed espressione dell'informazione genetica. |

←TABELLA 3-3 Classi di composti organici biologicamente importante

Anche se le principali classi di molecole biologiche sembrano formare una gamma molto complessa, si possono distinguere immediatamente osservando le loro caratteristiche principali, che sono riassunte nella TABELLA 3-3 .

**Verifica**

- Come potete distinguere uno zucchero pentoso da uno zucchero esoso? Un disaccaride da uno steroide? Un aminoacido da un monosaccaride? Un fosfolipide da un triacilglicerolo? Una proteina da un polisaccaride? Un acido nucleico da una proteina?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

3.1

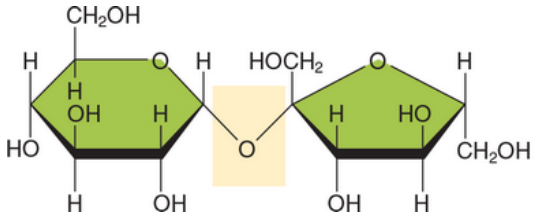
1. Descrivere le proprietà del carbonio che lo rendono il componente principale dei composti organici.
   - Ogni atomo di carbonio può formare quattro legami covalenti con altri atomi; tali legami possono essere singoli, doppi o tripli. Gli atomi di carbonio possono formare catene lineari o ramificate oppure anelli. Il carbonio forma legami covalenti con un maggior numero di altri elementi rispetto ad ogni altro atomo.
2. Definire il termine isomero e fare una distinzione tra i tre principali tipi di isomeri.
   - Gli isomeri sono composti che hanno la stessa formula molecolare ma strutture differenti.
   - Gli isomeri strutturali differiscono per la disposizione covalente dei loro atomi. Gli isomeri geometrici, o isomeri cis-trans, differiscono per la disposizione spaziale dei loro atomi. Gli

enantiomeri sono isomeri che sono immagini speculari l'uno dell'altro. Le cellule sono in grado di distinguere tali configurazioni.

3. Identificare i principali gruppi funzionali presenti nei composti organici e descrivere le loro proprietà.
   - Gli idrocarburi , composti organici costituiti solo da carbonio e idrogeno, sono apolari e idrofobici . Il gruppo metilico è un gruppo idrocarburico.
   - I gruppi funzionali polari e ionici interagiscono tra loro e sono idrofilici . Le cariche parziali su atomi che si trovano alle estremità opposte di un legame conferiscono al gruppo funzionale proprietà polari. I gruppi ossidrilico e carbonilico sono polari.
   - I gruppi carbossilico e fosfato sono acidi ed assumono carica negativa quando rilasciano ioni idrogeno. Il gruppo amminico è basico e diventa carico positivamente quando accetta uno ione idrogeno.
4. Spiegare che relazione c'è tra polimeri e macromolecole.
   - Lunghe catene di monomeri (composti organici simili), legati tra loro tramite reazioni di condensazione , sono dette polimeri . Grandi polimeri, come i polisaccaridi, le proteine e il DNA, sono definiti macromolecole . Le macromolecole possono essere scisse tramite reazioni di idrolisi.

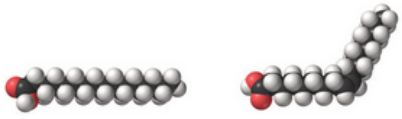
3.2

5. Distinguere i monosaccaridi, i disaccaridi e i polisaccaridi; paragonare i polisaccaridi di riserva con quelli strutturali.
   - I carboidrati contengono carbonio, idrogeno e ossigeno in un rapporto approssimativo di 1C:2H:1O. I monosaccaridi sono zuccheri semplici, come il glucosio, il fruttosio e il ribosio. Due monosaccaridi possono legarsi con un legame glicosidico formando un disaccaride , come il maltosio o il saccarosio.
   - La maggior parte dei carboidrati è costituita da polisaccaridi , lunghe catene di unità ripetute di uno zucchero semplice. I carboidrati sono immagazzinati in modo tipico dalle piante sotto forma di amido e dagli animali sotto forma di glicogeno . Le pareti delle cellule vegetali sono costituite principalmente dal polisaccaride strutturale cellulosa .




3.3

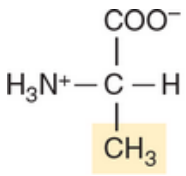
6. Distinguere i grassi, i fosfolipidi e gli steroidi, descrivendo la composizione, le caratteristiche e le funzioni biologiche di ciascun gruppo.
   - I lipidi sono costituiti principalmente da regioni contenenti idrogeno e carbonio, con pochi gruppi funzionali contenenti ossigeno (polari o ionici). I lipidi hanno consistenza grassa o oleosa e sono relativamente insolubili in acqua.
   - I triacilgliceroli , la principale forma di deposito di grassi nell'organismo, sono costituiti da una molecola di glicerolo legata a tre acidi grassi . I monoacilgliceroli e i diacilgliceroli contengono uno e due acidi grassi, rispettivamente. Un acido grasso può essere saturo o insaturo .
   - I fosfolipidi sono componenti strutturali delle membrane cellulari. Un fosfolipide consiste in una molecola di glicerolo che lega ad un'estremità due acidi grassi e all'altra estremità un gruppo fosfato, legato a sua volta ad un composto organico come la colina.
   - Le molecole steroidee sono costituite da atomi di carbonio organizzati in quattro anelli condensati. Gli steroidi più importanti sono il colesterolo, i sali biliari ed alcuni ormoni.



3.4

7. Fornire una descrizione completa della struttura e delle funzioni delle proteine.
   - Le proteine sono molecole grandi e complesse costituite da subunità più semplici, chiamate aminoacidi , unite tra loro da l egami peptidici . Due aminoacidi si combinano per formare

un dipeptide . Una catena più lunga di aminoacidi è un polipeptide . Le proteine sono la classe più versatile di molecole biologiche, svolgendo una varietà di funzioni come enzimi , componenti strutturali e regolatori cellulari.
    - Le proteine risultano dalla diversa organizzazione in sequenza di 20 aminoacidi.
8. Illustrare le caratteristiche comuni a tutti gli aminoacidi e spiegare in che modo essi vengono raggruppati in classi in base alle caratteristiche delle loro catene laterali.
    - Tutti gli aminoacidi contengono un gruppo amminico ed un gruppo carbossilico. Gli aminoacidi differiscono tra loro nelle catene laterali, che ne determinano le proprietà chimiche - apolari, polari, acide o basiche. Gli aminoacidi generalmente esistono come ioni dipolari al pH cellulare e fungono da importanti tamponi biologici.
9. Fare una distinzione tra i quattro livelli di organizzazione delle molecole proteiche.
    - La struttura primaria è la sequenza lineare di aminoacidi nella catena polipeptidica.
    - La struttura secondaria è una conformazione regolare, come una α -elica o un foglietto β - ripiegato ; essa è dovuta ai legami a idrogeno tra elementi dello scheletro aminoacidico.
    - La struttura terziaria è la forma complessiva delle catene polipeptidiche, determinata dalle proprietà chimiche e dalle interazioni delle catene laterali di aminoacidi specifici. I legami a idrogeno, i legami ionici, le interazioni idrofobiche e i ponti disolfuro contribuiscono tutti alla struttura terziaria.
    - La struttura quaternaria è determinata dall'associazione di due o più catene polipeptidiche.



3.5

10. Descrivere i componenti di un nucleotide. Elencare alcuni acidi nucleici e nucleotidi e discutere l'importanza di questi composti negli organismi viventi.
    - Gli acidi nucleici DNA ed RNA , composti da lunghe catene di subunità nucleotidiche, immagazzinano e trasferiscono le informazioni che regolano la sequenza aminoacidica delle proteine e quindi la struttura e le funzioni di un organismo.
    - I nucleotidi sono costituiti da una base azotata a due anelli ( purina ) o a singolo anello ( pirimidina ), da uno zucchero a cinque atomi di carbonio ( ribosio o deossiribosio ) e da uno o più gruppi fosfato.
    - L' ATP ( adenosina trifosfato )è un nucleotide particolarmente importante nel metabolismo energetico. Anche il NAD + è coinvolto nel metabolismo energetico per il suo ruolo di accettore di elettroni (idrogeno) nelle reazioni di ossido-riduzione biologiche.

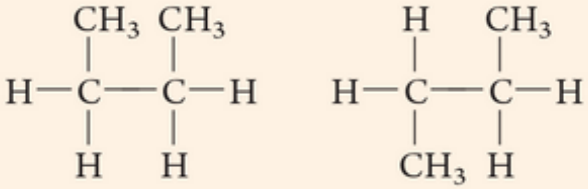
3.6

11. Paragonare le funzioni e la composizione chimica dei principali gruppi di composti organici: carboidrati, lipidi, proteine ed acidi nucleici.
    - Riesaminare la Tabella 3-3 .

## AUTOVERIFICHE

1. Il carbonio è adatto a costituire lo scheletro delle molecole organiche perché: (a) forma legami sia covalenti sia ionici; (b) i suoi legami covalenti sono disposti in modo non regolare nello spazio tridimensionale; (c) i suoi legami covalenti sono i più forti tra tutti i legami esistenti; (d) si può legare ad un gran numero di atomi diversi; (e) tutti i legami che forma sono polari.
2. Le strutture qui illustrate sono: (a) enantiomeri; (b) visioni differenti della stessa molecola; (c) isomeri geometrici (cistrans); (d) sia isomeri geometrici sia enantiomeri; (e) isomeri strutturali.

1. $—CH_3$
2. $—CH_2—COO^-$
3. $—CH_2—CH_2—NH_3^+$
4. $—CH_2—CH_2—COO^-$
5. $—CH_2—OH$



3. Quale delle seguenti molecole è apolare? (a) Acqua (H 2 O); (b) ammoniaca (NH 3 ); (c) metano (CH 4 ); (d) etano (C 2 H 6 ); (e) più di una delle precedenti.
4. Il processo di sintesi con cui i monomeri sono legati covalentemente è chiamato: (a) idrolisi; (b) isomerizzazione; (c) condensazione; (d) legame glicosidico; (e) legame esterico.
5. Un monosaccaride classificato come zucchero aldeidico contiene: (a) un gruppo carbossilico terminale; (b) un gruppo carbossilico interno; (c) un gruppo carbonilico terminale; (d) un gruppo carbonilico interno; (e) un gruppo carbossilico terminale e un gruppo carbonilico interno.
6. I polisaccaridi strutturali tipicamente: (a) hanno numerosi legami a idrogeno tra molecole adiacenti; (b) sono molto più idrofilici rispetto ai polisaccaridi di riserva; (c) hanno legami covalenti molto più forti rispetto ai polisaccaridi di riserva; (d) sono costituiti da un'alternanza di unità di ae fi-glucosio; (e) formano strutture elicoidali all'interno della cellula.
7. Gli acidi grassi saturi sono così chiamati perché saturati con: (a) idrogeno; (b) acqua; (c) gruppi ossidrilici; (d) glicerolo; (e) doppi legami.
8. Gli acidi grassi nei fosfolipidi e nei triacilgliceroli interagiscono tra loro tramite (a) ponti disolfuro (b) interazioni di van der Waals (c) legami covalenti (d) legami a idrogeno (e) gli acidi grassi non interagiscono tra loro.
9. Quali delle seguenti coppie di gruppi laterali di aminoacidi si associano più facilmente tra loro formando legami ionici?

1. —CH 3
2. —CH 2 —COO –
3. —CH 2 —CH 2 —NH 3 +
4. —CH 2 —CH 2 —COO –
5. —CH 2 —OH

(a) 1 e 2; (b) 2 e 4; (c) 1 e 5; (d) 2 e 5; (e) 3 e 4.

10. Quali dei seguenti livelli di struttura di una proteina possono essere influenzati dai legami a idrogeno? (a) Primaria e secondaria; (b) primaria e terziaria; (c) secondaria, terziaria e quaternaria; (d) primaria, secondaria e terziaria; (e) primaria, secondaria, terziaria e quaternaria.
11. Quali delle seguenti interazioni tra gruppi R sono le più forti? (a) Interazioni idrofobiche; (b) legami a idrogeno; (c) legami ionici; (d) legami peptidici; (e) ponti disolfuro.
12. Ciascun legame fosfodiesterico del DNA o dell'RNA comprende un gruppo fosfato legato mediante legami covalenti a: (a) due basi; (b) due zuccheri; (c) due ulteriori fosfati; (d) uno zucchero, una base e un fosfato; (e) uno zucchero e una base.

## PENSIERO CRITICO

1. Così come l'ossigeno, lo zolfo forma due legami covalenti. Tuttavia, è di gran lunga meno elettronegativo; infatti, è elettronegativo circa come il carbonio. Come potrebbero essere alterate le proprietà delle varie classi di molecole biologiche se tutto l'ossigeno fosse sostituito con atomi di zolfo?

2. I legami a idrogeno e le interazioni di van der Waals sono molto più deboli dei legami covalenti; ciononostante sono fondamentali per gli organismi. Perché?

3. CONNESSIONE EVOLUTIVA. In che modo tutte le specie si assomigliano biochimicamente? Perché? Come fanno le specie a differire l'una dall'altra biochimicamente? Perché?
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Il numero totale di sequenze aminoacidiche possibili per una catena polipeptidica è sbalorditivo. Dato che esistono 20 aminoacidi, potenzialmente potrebbero esistere 20 100 diverse sequenze aminoacidiche (un numero inverosimilmente elevato) solo per i polipeptidi costituiti da appena 100 aminoacidi. In realtà, il numero di polipeptidi diversi presenti negli organismi è solo una piccolissima frazione di esso. Come mai?

5. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Ogni aminoacido potrebbe potenzialmente esistere in forma di uno di due possibili enantiomeri,noti come forma D e forma l (sulla base della disposizione dei gruppi legati al carbonio a asimmetrico). Tuttavia, nelle proteine di tutti gli organismi sono presenti soltanto gli l-aminoacidi. Cosa suggerisce questo relativamente all'evoluzione delle proteine?

# Articolo IV. Organizzazione della cellula 4

La cellula è la più piccola unità in grado di svolgere tutte le attività vitali. Se fornite dei nutrienti essenziali e di un ambiente adeguato, alcune cellule possono vivere e crescere in laboratorio per diversi anni. Al contrario, nessuna parte isolata di una cellula è in grado di sopravvivere da sola. Mentre leggete questo capitolo, ricordate la discussione sui sistemi biologici nel Capitolo 1 . Anche quando descriviamo singoli componenti delle cellule, discuteremo di come questi interagiscono tra di loro, generando sistemi biologici complessi all'interno della cellula. La cellula stessa è un sistema biologico estremamente complicato; gruppi di cellule costituiscono tessuti, organi ed organismi. Ciascuno di questi rappresenta un sistema biologico.

La maggior parte dei procarioti e molti protisti e funghi sono costituiti da una singola cellula. Al contrario, la maggior parte delle piante e degli animali è formata da milioni di cellule. Le cellule sono le unità di base degli organismi multicellulari complessi. Benché le cellule di questi organismi siano fondamentalmente simili, esse sono anche straordinariamente diverse e versatili. Possono essere modificate in svariati modi per effettuare funzioni specializzate.

La cellula è composta da una vasta gamma di ioni inorganici ed organici e di molecole come acqua, sali, carboidrati, lipidi, proteine e acidi nucleici. Queste molecole si organizzano per formare le strutture intracellulari ed entrano nei processi biochimici cellulari. Le cellule immagazzinano l' informazione genetica nelle molecole di DNA, le quali vengono fedelmente duplicate. Questa informazione viene trasmessa alla progenie durante la divisione cellulare. L'informazione contenuta nel DNA codifica proteine specifiche che, a loro volta, determinano la struttura e le funzioni della cellula.

Le cellule scambiano materiale ed energia con l'ambiente. Tutte le cellule viventi necessitano di una o più fonti energetiche, ma è raro che una cellula possa riuscire ad avere energia in una forma utilizzabile immediatamente. Le cellule trasformano l'energia da una forma ad un'altra e tale energia è utilizzata per svolgere diverse attività, che vanno dal lavoro meccanico alla sintesi chimica. Le cellule trasformano l'energia in una forma utilizzabile, che è l'energia chimica immagazzinata nell'ATP (adenosina trifosfato, vedi Capitolo 3 ). Sia le reazioni chimiche che convertono l'energia da una forma all'altra, che i meccanismi che permettono il trasferimento dell'informazione sono essenzialmente gli stessi in tutte le cellule, dai batteri fino ai grandi organismi pluricellulari, quali piante ed animali.

Con il progredire della tecnologia, i biologi cellulari hanno avuto a disposizione strumenti sempre più sofisticati da utilizzare nelle loro ricerche, finalizzate ad una migliore comprensione della struttura e della funzione delle cellule. Per esempio, le ricerche sul citoscheletro, un'area attualmente molto attiva, sono notevolmente avanzate grazie al progredire delle tecniche di microscopia. Nella micrografia, possiamo osservare l'estesa distribuzione dei microtubuli nelle cellule. I microtubuli, componenti chiave del citoscheletro, aiutano a mantenere la forma cellulare, svolgono un ruolo nel movimento cellulare e facilitano il trasporto di materiali all'interno della cellula.

## 4.1 LA CELLULA: l'unità base della vita

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Illustrare la teoria cellulare e correlarla all'evoluzione della vita.
2. Spiegare la relazione esistente tra l'organizzazione della cellula e l'omeostasi.
3. Spiegare la relazione esistente tra le dimensioni della cellula e l'omeostasi.

Le cellule, i mattoni che costituiscono gli organismi, sono un ottimo esempio dell'unità di tutti gli organismi viventi.

### La teoria cellulare è un concetto unificante nella biologia

Due scienziati tedeschi, il botanico Matthias Schleiden nel 1838 e lo zoologo Theodor Schwann nel 1839 utilizzarono un ragionamento induttivo per arrivare alla conclusione che tutte le piante e gli animali sono costituiti da cellule. Questi ricercatori si basarono sulle proprie osservazioni e su quelle di altri scienziati per raggiungere le loro conclusioni. Più tardi, Rudolf Virchow, un altro scienziato tedesco, osservò la divisione cellulare e la formazione di cellule figlie. Nel 1855, Virchow asserì che le cellule si potevano formare solo per divisione di una cellula preesistente. Il lavoro di Schleiden, Schwann e Virchow contribuì fortemente allo

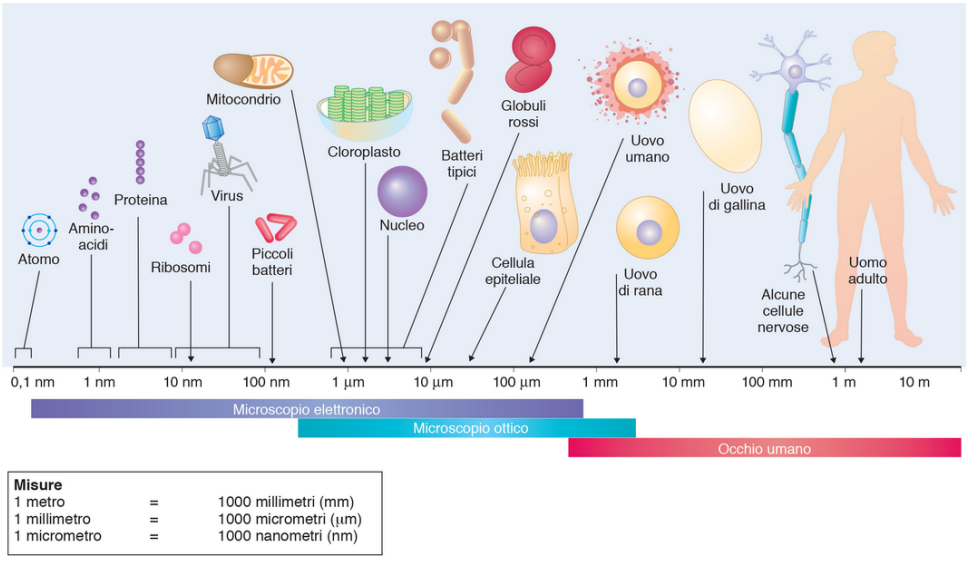
sviluppo della teoria cellulare , il concetto unificante che stabilisce che (1) le cellule rappresentano l'unità vivente fondamentale di funzione e di organizzazione di tutti gli organismi e (2) tutte le cellule derivano da altre cellule.
Intorno al 1880, un altro biologo tedesco, August Weismann, aggiunse un importante corollario al concetto di Virchow, sottolineando che tutte le cellule viventi hanno un antenato comune. Ciò è suggerito dalla somiglianza tra le loro strutture e tra le molecole che le costituiscono. Esaminando una varietà di organismi diversi, dai semplici batteri fino alle piante e agli animali più complessi, si possono riscontrare a livello cellulare somiglianze impressionanti. Studi accurati sulle caratteristiche comuni delle cellule ci aiutano a tracciare la storia evolutiva di vari gruppi di organismi e a fornire prove evidenti del fatto che gli organismi viventi abbiano effettivamente un'origine comune.

## L'organizzazione di tutte le cellule è fondamentalmente simile

L'organizzazione delle cellule e le loro piccole dimensioni consentono il mantenimento dell' omeostasi , ovvero di un ambiente interno appropriato. Le cellule sono soggette a continui cambiamenti nel loro ambiente, quali variazioni di concentrazione salina, di pH e di temperatura. Affinché i loro meccanismi biochimici continuino a funzionare, le cellule devono lavorare ininterrottamente per ripristinare le condizioni opportune. Affinché possa essere mantenuta l'omeostasi, il contenuto della cellula deve essere separato dall'ambiente esterno. La membrana plasmatica è una membrana di superficie strutturalmente distinta che circonda tutte le cellule. Rendendo l'interno della cellula un compartimento chiuso, la membrana plasmatica permette che la composizione chimica della cellula sia alquanto differente da quella dell'ambiente esterno; essa rappresenta una barriera estremamente selettiva tra il contenuto della cellula e l'ambiente. Le cellule scambiano materiale con l'ambiente e sono in grado di immagazzinare sostanze essenziali ed energia.
Le cellule tipicamente possiedono strutture interne, gli organuli , specializzate nello svolgere attività metaboliche, come la trasformazione dell'energia in forme utilizzabili, la sintesi di composti necessari, l'assemblaggio di strutture essenziali per il funzionamento e la riproduzione. Tutte le cellule possiedono le istruzioni genetiche codificate nel DNA, che è confinato in una regione limitata all'interno della cellula.

## Le dimensioni cellulari hanno un limite

Pur essendo le dimensioni cellulari estremamente variabili ( FIG. 4-1 ), la maggior parte delle cellule ha dimensioni microscopiche; pertanto, per misurarle si utilizzano unità di misura molto piccole. L'unità di base di misura lineare nel sistema metrico (vedi la terza pagina di copertina) è il metro (m). Un millimetro (mm) è la millesima parte di un metro ed è lungo all'incirca quanto il segmento in parentesi (-). Il micrometro ( µ m) è l'unità di misura più conveniente per misurare le cellule. Un segmento di 1 µ m è lungo un milionesimo di metro, o anche un millesimo di millimetro, troppo piccolo per essere visibile ad occhio nudo. Potrebbe sembrare difficile pensare ad unità di misura troppo piccole per essere visibili e quindi potrebbe essere utile ricordare che un micrometro sta ad un millimetro come un millimetro sta ad un metro (1/1000).




**Misure**

| | | |
|---|---|---|
| 1 metro | = | 1000 millimetri (mm) |
| 1 millimetro | = | 1000 micrometri (µm) |
| 1 micrometro | = | 1000 nanometri (nm) |

FIGURA 4-1
*Dimensioni biologiche e diversità delle cellule*
Le dimensioni relative dal livello chimico a quello di un intero organismo possono essere confrontate utilizzando una scala logaritmica (multipli di 10). Le cellule procariotiche dei batteri vanno tipicamente da 1 a 10 µ m di lunghezza. Le cellule eucariotiche hanno tipicamente un diametro che va dai 10 ai 30 µ m. I mitocondri hanno all'incirca le dimensioni di piccoli batteri, mentre i cloroplasti sono generalmente più grandi (circa 5 µ m di lunghezza). Le cellule uovo sono tra le cellule più grandi. Anche se microscopiche, alcune cellule nervose sono molto lunghe. Le cellule qui rappresentate non sono disegnate in scala.

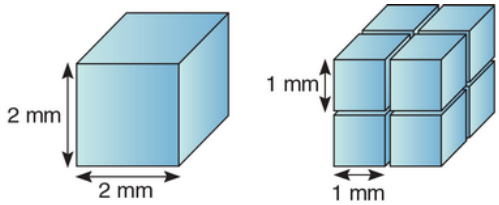
Per quanto piccolo, il micrometro è troppo grande per misurare la maggior parte dei componenti della cellula. A questo scopo, può essere utilizzato il nanometro (nm), che corrisponde ad un miliardesimo di metro, ovvero ad un millesimo di micrometro. Per addentrarsi nel concetto di nanometro, si può ricordare che un millimetro

è un millesimo di un metro, un micrometro è un millesimo di un millimetro ed un nanometro è un millesimo di un micrometro.

Alcune cellule di particolari alghe e di animali sono visibili persino ad occhio nudo. La cellula uovo umana, ad esempio, ha un diametro di 130 μ m, che corrisponde all'incirca alle dimensioni del punto che pone termine a questa frase. Le cellule più grandi sono le uova degli uccelli, le quali sono comunque peculiari in quanto la quasi totalità della loro massa (tuorlo e albume) costituisce una riserva di cibo. La parte funzionale della cellula è una massa microscopica che si trova sulla superficie del tuorlo.
Ma perché la maggior parte delle cellule è così piccola? Se si considera ciò che una cellula deve fare per mantenere l'omeostasi e crescere, si possono facilmente capire le ragioni delle sue ridotte dimensioni. Una cellula deve assumere nutrimento ed altri materiali e deve liberarsi dei prodotti di rifiuto generati dalle reazioni metaboliche. Tutto ciò che entra o esce dalla cellula deve passare attraverso la membrana plasmatica. La membrana plasmatica contiene "pompe" e canali specializzati che regolano selettivamente il passaggio di materiali dentro e fuori la cellula. La membrana plasmatica deve essere abbastanza grande, rispetto al volume cellulare, da rispondere alle necessità di regolazione del passaggio di materiale. Ciò significa che un fattore critico nel determinare le dimensioni di una cellula è il rapporto tra la sua area superficiale e il suo volume ( FIG. 4-2 ).
Man mano che la cellula si ingrandisce, il suo volume aumenta in misura maggiore rispetto all'area della superficie (cioè della sua membrana plasmatica) e ciò pone un limite alle dimensioni della cellula. Al di sopra delle dimensioni critiche, le numerose molecole necessarie per la cellula non potrebbero essere trasportate al suo interno con velocità adeguate. Inoltre, la cellula non sarebbe in grado di regolare la concentrazione dei diversi ioni o di trasportare all'esterno i materiali di rifiuto. Ovviamente, non tutte le cellule sono sferiche o cubiformi. Alcune cellule di grandi dimensioni hanno rapporti area superficiale/volume favorevoli grazie alla loro forma. Infatti, le variazioni di forma rappresentano una strategia per aumentare tale rapporto. Ad esempio, molte cellule vegetali di grandi dimensioni, per aumentare il loro rapporto superficie/volume, sono lunghe e sottili. Alcune cellule, come quelle epiteliali che rivestono l'intestino tenue, hanno estroflessioni della membrana plasmatica a forma di dita, dette microvilli , che aumentano notevolmente l'area superficiale utilizzata per assorbire i nutrienti ed altri materiali (vedi Fig. 47-10 ).
Un altro motivo per il quale le cellule sono piccole è che le molecole, una volta all'interno, devono essere trasportate in quei siti della cellula dove vengono trasformate. Poiché le cellule sono di piccole dimensioni, le distanze percorse dalle molecole al loro interno sono relativamente brevi. Pertanto, le molecole sono rapidamente disponibili per le attività cellulari.

## Dimensioni e forma delle cellule sono collegate alle loro funzioni

Le dimensioni e la forma delle cellule sono adattate alle loro funzioni. Alcune cellule, come l'ameba e il globulo bianco, possono cambiare forma quando si muovono. Le cellule spermatiche possiedono lunghe code a forma di frusta, chiamate flagelli, che vengono utilizzate per la locomozione. Le cellule nervose possiedono estensioni lunghe e sottili che permettono loro di trasmettere messaggi a grande distanza. Nell'uomo, le estensioni delle cellule nervose possono arrivare alla lunghezza di un metro ! Altre cellule, come alcune cellule epiteliali, hanno una forma quasi rettangolare e sono impilate come mattoni per formare tessuti simili a fogli. (Il tessuto epitaliale copre il corpo e riveste le cavità corporee.)




| | | | |
|---|---|---|---|
| Superficie ($mm^2$) | Superficie = altezza × larghezza × numero di facce × numero di cubi | 24 (2 × 2 × 6 × 1) | 48 (1 × 1 × 6 × 8) |
| Volume ($mm^3$) | Superficie = altezza × larghezza × lunghezza × numero di cubi | 8 (2 × 2 × 2 × 1) | 8 (1 × 1 × 1 × 8) |
| Rapporto Superficie/ Volume | Superficie/volume | 3 (24:8) | 6 (48:8) |

FIGURA 4-2
Rapporto tra superficie e volume
L'area di superficie di una cellula deve essere grande abbastanza rispetto al suo volume per permettere scambi adeguati di materiali con l'ambiente. Benché il volume sia lo stesso, otto cellule piccole hanno un'area di superficie (membrana plasmatica) per volume totale maggiore rispetto a quella posseduta da una grande cellula. Nell'esempio mostrato, il rapporto area di superficie totale/volume totale di otto cubi di 1 mm risulta essere il doppio di quello del singolo cubo grande.

**Verifica**

- In che modo la teoria cellulare ci aiuta a comprendere l'evoluzione della vita?
- In che modo la membrana plasmatica contribuisce al mantenimento dell'omeostasi?
- Perché il rapporto tra la superficie ed il volume di una cellula è importante nel determinare i limiti delle dimensioni cellulari?

## 4.2 METODICHE PER LO STUDIO DELLE CELLULE

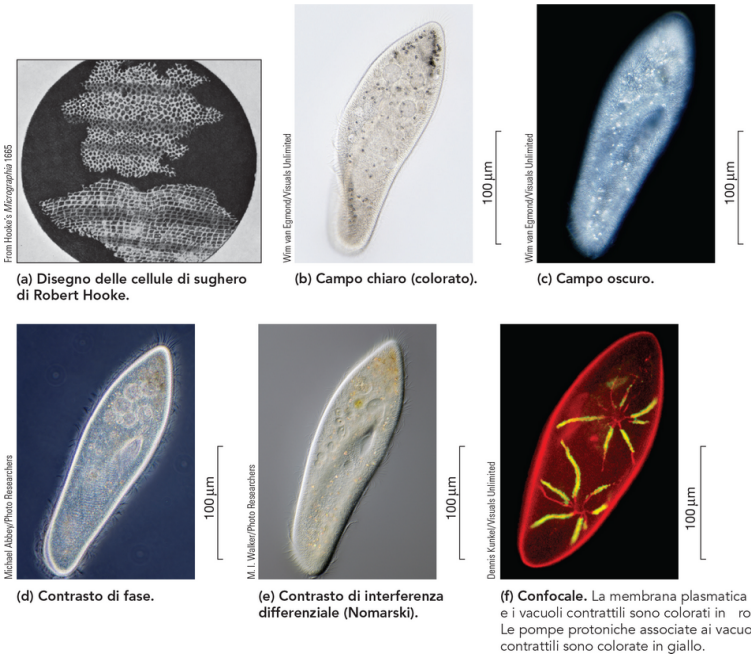
### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Descrivere le metodiche utilizzate dai biologi per lo studio delle cellule, inclusi la microscopia e il frazionamento cellulare.

Uno dei più importanti strumenti utilizzabili per studiare le strutture della cellula è il microscopio. Usando un microscopio da lui costruito, Robert Hooke, uno scienziato inglese, descrisse per primo le cellule, nel 1665, nel suo libro Micrographia. Hooke esaminò un pezzo di sughero e disegnò e descrisse ciò che aveva visto. Egli scelse il termine cellula perché la struttura gli ricordò le piccole stanze dove in quel periodo vivevano i monaci. In realtà, Hooke non vide delle cellule vive, ma piuttosto le pareti delle cellule morte del sughero ( FIG. 4-3 a). Molto più tardi, si scoprì che quello che si trovava all'interno delle pareti era la parte più importante delle cellule vive.
Pochi anni dopo la scoperta di Hooke e ispirato dal suo lavoro, il naturalista olandese Antonie van Leeuwenhoek riuscì a vedere alcune cellule viventi, utilizzando lenti da lui stesso costruite. Leeuwenhoek fu abbastanza bravo da costruire lenti che ingrandivano le immagini più di 200 volte. In questo modo, egli riuscì a visualizzare batteri, protisti, cellule del sangue e spermatiche. Leeuwenhoek fu tra i primi scienziati a visualizzare le cellule negli animali. Leeuwenhoek era un mercante e non possedeva un'adeguata preparazione scientifica. Tuttavia, la sua intelligenza, curiosità e diligenza nel condividere le sue scoperte con gli scienziati della Royal Society di Londra permisero di far conoscere il mondo microscopico all'interno della comunità scientifica. Sfortunatamente, Leeuwenhoek non divulgò le sue tecniche, e quindi passarono più di 100 anni prima che, verso la fine del 19° secolo, i microscopi fossero sufficientemente sviluppati da permettere ai biologi di focalizzare la loro attenzione sullo studio delle cellule.

#### I microscopi ottici sono utilizzati per studiare le cellule colorate o vive

Il microscopio ottico , il tipo più utilizzato a scopo didattico, consiste in un tubo con lenti di vetro a ciascuna estremità. Dal momento che contiene diverse lenti, il moderno microscopio ottico viene definito microscopio composto. La luce visibile passa sia attraverso il campione che deve essere osservato, sia attraverso le lenti. La luce viene rifratta dalle lenti ingrandendo l'immagine. Le immagini ottenute con i microscopi ottici sono indicate come micrografie ottiche.
Sono due le proprietà di un microscopio che determinano quanto un oggetto di piccole dimensioni possa essere visto con chiarezza: ingrandimento e potere risolutivo. L' ingrandimento corrisponde al rapporto tra le dimensioni dell'immagine vista al microscopio e le dimensioni effettive dell'oggetto. Il miglior microscopio ottico non riesce ad ingrandire un oggetto più di 2000 volte. La risoluzione , o potere risolutivo , è la capacità del microscopio di distinguere anche i più piccoli dettagli di un'immagine. È definita come la distanza minima tra due punti alla quale questi possono essere distinti l'uno dall'altro invece di apparire come un'unica massa. Il potere risolutivo dipende dalla qualità delle lenti e dalla lunghezza d'onda della sorgente luminosa. Quando la lunghezza d'onda diminuisce, la risoluzione aumenta.
La luce visibile utilizzata dal microscopio ottico ha lunghezze d'onda che vanno da 400 nm (violetto) a 700 nm (rosso); questo limita la risoluzione del microscopio ottico a dettagli non più piccoli del diametro di una piccola cellula batterica (circa 0,2 μ m). Dall'inizio del ventesimo secolo sono disponibili versioni più avanzate del microscopio ottico.
Poiché l'interno della maggior parte delle cellule è trasparente, è difficile distinguere specifiche strutture cellulari al microscopio ottico. I chimici organici hanno dato un grande contributo alla microscopia ottica sviluppando coloranti biologici che aumentano il contrasto dell'immagine. La colorazione ha permesso ai biologi di scoprire diverse strutture cellulari interne, dette organuli o organelli. Purtroppo, quasi tutti i metodi usati per preparare e colorare le cellule da osservare ne provocano la morte.




(a) Disegno delle cellule di sughero di Robert Hooke.

(b) Campo chiaro (colorato).

(c) Campo oscuro.

(d) Contrasto di fase.

(e) Contrasto di interferenza differenziale (Nomarski).

(f) **Confocale.** La membrana plasmatica e i vacuoli contrattili sono colorati in rosso. Le pompe protoniche associate ai vacuoli contrattili sono colorate in giallo.

**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*Le cellule sono troppo piccole per essere analizzate ad occhio nudo. I biologi utilizzano microscopi per osservare le cellule e le strutture contenute al loro interno. Sono stati messi a punto molti tipi di microscopi. Nella figura, sono riportate le micrografi e di un *Paramecium* (un protista ciliato) ottenute utilizzando diversi tipi di microscopi ottici.

*Come funziona?*Utilizzando un microscopio rudimentale, Robert Hooke osservò una sezione sottile di sughero e disegnò ciò che aveva visto. I biologi ora hanno a disposizione microscopi e tecniche più sofi sticate che permettono di vedere le cellule in maggior dettaglio. Nel microscopio ottico, un raggio di luce passa attraverso il campione che deve essere osservato ed attraverso delle lenti. Le lenti rinfrangono la luce e l'immagine risulta ingrandita. L'immagine in campo chiaro può essere intensificata mediante colorazione. I microscopi a contrasto di fase e a contrasto di interferenza differenziale amplificano i dettagli aumentando le differenze di densità ottica tra le diverse regioni cellulari.

Attualmente, le cellule vive possono essere studiate utilizzando microscopi ottici dotati di speciali sistemi ottici. Nella *microscopia in campo chiaro*, l'immagine si forma grazie alla trasmissione della luce attraverso una cellula (o un altro campione)( FIG. 4-3 b). Poiché c'è poco contrasto, i dettagli della struttura cellulare non sono visibili. Nella microscopia in campo oscuro, i raggi di luce sono diretti lateralmente e soltanto la luce diffusa dal campione attraversa le lenti.La cellula appare come un oggetto luminoso su di uno sfondo scuro ( FIG. 4-3 c). Non è necessaria la colorazione del campione.

La microscopia a contrasto di fase e la microscopia a contrasto di interferenza differenziale (Nomarski) sfruttano le differenze di densità all'interno della cellula ( FIG. 4-3 d ed e). Tali differenze di densità fanno sì che le varie regioni del citoplasma rifrangano la luce in maniera diversa. Utilizzando questi microscopi, gli scienziati possono osservare le cellule viventi in azione e le loro numerose strutture interne che cambiano continuamente forma e posizione.

I biologi cellulari utilizzano il microscopio a fluorescenza per individuare molecole specifiche all'interno delle cellule. Nel microscopio a fluorescenza, dei filtri trasmettono la luce emessa da molecole fluorescenti. I coloranti fluorescenti (come i colori che brillano al buio) sono molecole che assorbono l'energia luminosa ad una certa lunghezza d'onda e ne riemettono una parte ad una lunghezza d'onda superiore. Questi coloranti si legano specificamente al DNA o a determinate molecole proteiche. Le molecole assorbono la luce ultravioletta ed emettono una luce di colore diverso. Con questo tipo di colorazione, si può determinare la posizione delle molecole marcate. osservando la provenienza della luce fluorescente all'interno della cellula. I biologi usano spesso una molecola fluorescente chiamata proteina fluorescente verde (GFP), presente naturalmente in alcune meduse. La GFP si è rivelata preziosa per l'osservazione di specifiche proteine nelle cellule viventi.
Alcuni coloranti fluorescenti possono essere legati chimicamente agli anticorpi, molecole proteiche importanti nella difesa immunitaria, che si legano a regioni altamente specifiche di determinate molecole nella cellula. Ogni singolo tipo di anticorpo può legarsi ad un unico tipo di struttura, ad esempio ad una parte di una proteina o ad alcuni zuccheri di un certo polisaccaride. Per determinare la localizzazione di una proteina specifica all'interno della cellula, possono essere usati anticorpi fluorescenti purificati in grado di legarsi ad essa.

La microscopia confocale produce immagini più nitide della microscopia a fluorescenza standard ( FIG. 4-3 f). Le cellule viventi, marcate con un colorante fluorescente, vengono montate su un vetrino portaoggetti. Un raggio di luce ultravioletta, emesso da un laser, viene focalizzato ad una specifica profondità all'interno

delle cellule. Il tracciante fluorescente emette luce visibile e l'operatore può vedere un singolo piano focale della cellula. Il microscopio produce sezioni ottiche (vedi micrografia nell'introduzione del capitolo). Un computer riassembla le immagini cosicchè una serie di sezioni ottiche, acquisite a diversi piani della cellula, vengono utilizzate per costruire un'immagine tridimensionale. Le potenti metodiche di creazione di immagini al computer aumentano notevolmente la risoluzione delle strutture marcate con coloranti fluorescenti.

## Il microscopio elettronico fornisce immagini ad alta risoluzione che possono essere ingrandite enormemente

Anche se si utilizzano buoni microscopi ed opportune tecniche di marcatura, il normale microscopio ottico può solamente distinguere i dettagli più grossolani della cellula ( FIG. 4-4 a). In molti casi, può essere visto chiaramente solo il contorno di un organulo. Solo negli anni '50, con l'introduzione del microscopio elettronico (ME) , i ricercatori furono in grado di studiare i dettagli, ovvero l' ultrastruttura cellulare.
Il potere risolutivo dell'occhio umano adulto è di circa 100 μ m. Il miglior microscopio ottico ha un potere risolutivo di 0,2 μ m (200 nm) Al confronto, il microscopio elettronico ha un potere risolutivo di poco meno di 1 nm. Questo è possibile perché utilizza radiazioni con lunghezze d'onda molto brevi, nell'ordine di 0,1-0,2 nm, prodotte da un fascio di elettroni. Sebbene sia difficile ottenere questo grado di risoluzione con materiale biologico, ci si può avvicinare ad esso quando si esaminano molecole singole, come proteine o DNA. Questo alto grado di risoluzione permette di ottenere ingrandimenti di più di 1 milione di volte, se paragonati ai tipici ingrandimenti del microscopio ottico, compresi tra 1500 e 2000 volte.
L'immagine fornita dal microscopio elettronico non può essere vista direttamente. Il fascio elettronico di per sé è costituito da elettroni ad alto contenuto di energia che, essendo carichi negativamente, possono essere focalizzati da un elettromagnete, così come l'immagine in un microscopio ottico è focalizzata attraverso una lente di vetro ( FIG. 4-4 b). I due tipi di microscopio elettronico sono il microscopio elettronico a trasmissione (MET) e il microscopio elettronico a scansione (MES) . Gli acronimi MET e MES si utilizzano anche per indicare micrografie preparate con un ME a trasmissione o a scansione. Le micrografie elettroniche sono in bianco e nero. Esse vengono spesso colorate per evidenziare determinate strutture.
Per il microscopio elettronico a trasmissione, si devono preparare sezioni ultrasottili (da 50 a 100 nm), tagliando con una lama di vetro o di diamante le cellule o il tessuto inglobati in resina. Il preparato viene posto su di una piccola griglia metallica e il fascio di elettroni, dopo aver attraversato il campione, cade sulla lastra fotografica o sullo schermo fluorescente. Quando guardate una fotografia al MET in questo capitolo (o altrove), ricordate che essa rappresenta solamente una sezione sottile della cellula.
Utilizzando anticorpi coniugati con particelle di oro colloidale, è possibile osservare al microscopio elettronico molecole specifiche: le particelle d'oro, infatti, sono dense e bloccano il fascio elettronico, determinando sulla microfotografia la formazione di macchie nere ben definite che permettono di identificare la posizione della proteina riconosciuta dall'anticorpo.
Nel microscopio elettronico a scansione, il fascio elettronico non passa attraverso il campione, perché questo è rivestito da un sottile strato d'oro o di un altro metallo. Quando il fascio elettronico collide su vari punti del campione, vengono emessi elettroni secondari la cui intensità varia al variare dei contorni della superficie. Il modo in cui gli elettroni secondari vengono riemessi fornisce una immagine tridimensionale della superficie del campione ( FIG. 4-4 c). Il MES è in grado di dare informazioni sulla forma e sulle caratteristiche esterne del campione che non potrebbero essere ottenute con un microscopio a trasmissione.
È da notare che il microscopio ottico, il MET e il MES si basano tutti su principi simili. Un fascio di luce, o di elettroni, viene diretto da lenti condensatrici sul campione, che viene ingrandito dalla lente dell'obiettivo e dell'oculare nel caso del microscopio ottico, oppure dalle lenti dell'obiettivo e dalle lenti proiettori nel caso del MET. L'immagine MET è focalizzata su uno schermo a fluorescenza, mentre l'immagine MES viene trasmessa su di uno schermo televisivo. Le lenti dei microscopi elettronici sono in realtà elettromagneti che deviano il fascio elettronico.
Attualmente sono disponibili altri tipi di microscopi, tra cui due nuovi microscopi elettronici. Sono inoltre stati sviluppati dei microscopi digitali che utilizzano una telecamera per inviare ad un monitor delle immagini in formato digitale.

## I biologi utilizzano tecniche biochimiche per studiare i componenti cellulari

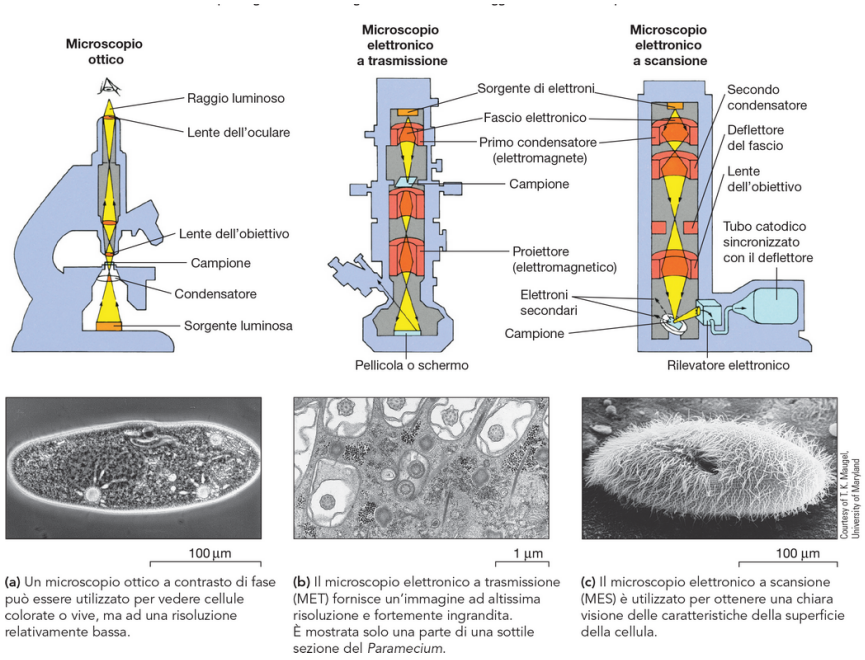
Il microscopio elettronico è uno strumento efficace per studiare la struttura cellulare, ma ha alcune limitazioni. Le metodiche di preparazione delle cellule per la microscopia elettronica le uccidono e possono

anche alterare la loro struttura. Inoltre, il microscopio elettronico generalmente fornisce solo poche indicazioni circa le funzioni degli organuli e degli altri componenti cellulari. Per poter conoscere la funzione effettiva degli organuli, i ricercatori utilizzano una varietà di tecniche biochimiche.

**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?* Il microscopio elettronico ha un potere risolutivo maggiore del microscopio ottico. Il microscopio elettronico può ingrandire un'immagine in misura molto maggiore di un microscopio ottico.

*Come funziona?* In un microscopio elettronico, un raggio di elettroni viene focalizzato sul campione o attraverso di esso. Lenti elettromagnetiche, diverse dalle lenti di vetro del microscopio ottico, vengono utilizzate per costruire un'immagine. Nella figura sono paragonate immagini diverse di una stessa cellula, il protista Paramecium, realizzate con un microscopio ottico a contrasto di fase e due tipi di microscopio elettronico. Questi tre microscopi producono immagini diverse delle cellule.




**(a)** Un microscopio ottico a contrasto di fase può essere utilizzato per vedere cellule colorate o vive, ma ad una risoluzione relativamente bassa.

**(b)** Il microscopio elettronico a trasmissione (MET) fornisce un'immagine ad altissima risoluzione e fortemente ingrandita. È mostrata solo una parte di una sottile sezione del *Paramecium*.

**(c)** Il microscopio elettronico a scansione (MES) è utilizzato per ottenere una chiara visione delle caratteristiche della superficie della cellula.

Il frazionamento cellulare è una tecnica per la separazione (frazionamento) delle diverse parti delle cellule, che possono così essere studiate con metodiche fisiche e chimiche. Le cellule vengono rotte delicatamente in un omogenizzatore e la miscela risultante, detta omogenato cellulare , viene sottoposta a centrifugazione FIG. 4-5 a). Un'ultracentrifuga è una centrifuga molto potente in grado di ruotare alla velocità di 100.000 rpm (rivoluzioni per minuto), generando una forza centrifuga di 500.000 G (dove G corrisponde alla forza di gravità). La forza centrifuga separa l'estratto in due frazioni: il pellet e il supernatante. Il pellet, che contiene il materiale più pesante, come i nuclei, si deposita sul fondo della provetta. Il supernatante, il liquido che si stratifica al di sopra del pellet, contiene particelle più leggere, molecole disciolte e ioni.

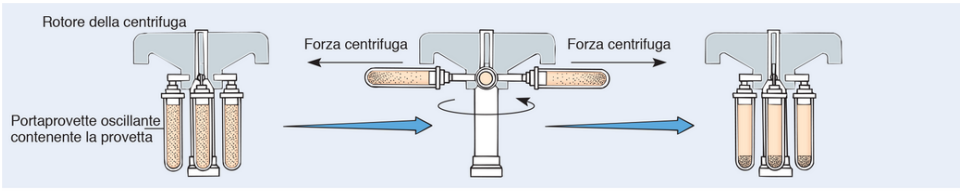
Dopo la rimozione del pellet, il supernatante può essere ulteriormente centrifugato a velocità più alte per ottenere un pellet che contiene i componenti cellulari relativamente più pesanti, come i mitocondri e i cloroplasti. Nella centrifugazione differenziale , il supernatante è centrifugato a velocità via via più alte, permettendo ai vari componenti cellulari di essere separati in base alle loro diverse dimensioni e densità ( FIG. 4-5 b).

I pellet possono essere risospesi e i loro componenti cellulari ulteriormente purificati per centrifugazione su gradiente di densità . In questa procedura, la provetta da centrifuga è riempita con una serie di soluzioni a densità decrescente. Ad esempio, si possono usare soluzioni di saccarosio. La concentrazione del saccarosio è più alta sul fondo della provetta e diminuisce gradualmente, così da essere più bassa nella parte alta della provetta. Il pellet risospeso viene stratificato in cima al gradiente di densità. A causa della diversa densità degli organuli, ciascuno di essi migrerà durante la centrifugazione. Ciascun tipo di organulo formerà una banda in quella determinata posizione del gradiente di saccarosio, in cui la densità della soluzione è uguale a quella dell'organulo ( FIG. 4-5 c). Gli organuli purificati possono successivamente essere studiati. Per esempio, possono essere esaminati per determinare quali proteine e altre molecole contengano, o quali reazioni chimiche si verifichino al loro interno.

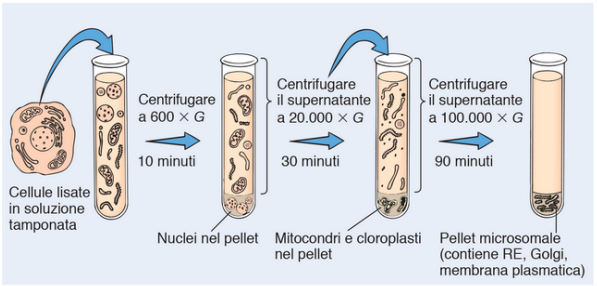
**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?* Il frazionamento cellulare viene utilizzato per separare (frazionare) i componenti cellulari in funzione della loro dimensione e densità.

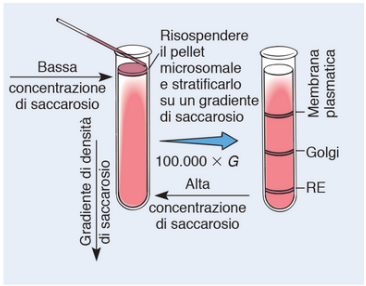
*Come funziona?*Le cellule vengono rotte in un frullatore. La miscela risultante (omogenato cellulare) viene poi centrifugata. Come risultato della forza centrifuga, i componenti cellulari più pesanti, i nuclei, formano un sedimento (pellet) sul fondo della provetta. Il supernatante (il liquido posizionato sopra al pellet) può essere centrifugato ad una velocità maggiore. I componenti più pesanti presenti nel supernatante, come mitocondri e cloroplasti, formano a loro volta un pellet e il supernatante puo essere centrifugato ad una velocità ancora maggiore. Il processo può essere ripetuto parecchie volte. I pellet possono essere ulteriormente purificati mediante centrifugazione in gradiente di densità (vedi il testo per spiegazioni più dettagliate).



**(a) Centrifugazione.** A causa della forza centrifuga, le particelle molto grandi o molto dense precipitano sul fondo della provetta e formano un pellet.



**(b) Centrifugazione differenziale.**



(c) Centrifugazione su gradiente di densità.

**Verifica**

- Qual è il maggior vantaggio del microscopio elettronico? Spiegate.
- Cos'è il frazionamento cellulare? Illustrate il processo.

## 4.3 CELLULE PROCARIOTE ED EUCARIOTE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Mettere a confronto le caratteristiche generali delle cellule procariotiche ed eucariotiche; confrontare le cellule vegetali ed animali.
5. Descrivere tre funzioni delle membrane cellulari.

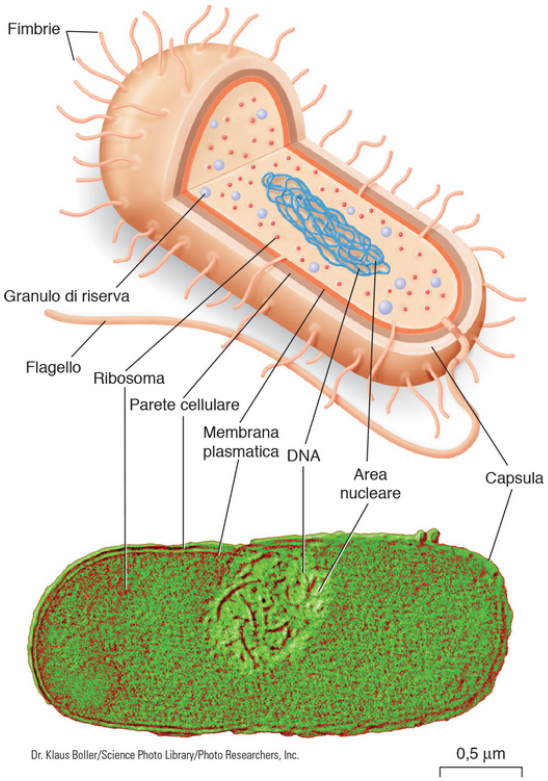
Come già detto nel Capitolo 1 , esistono due tipi di cellule: procariotiche ed eucariotiche . Le cellule procariotiche sono tipiche solamente di batteri ed archeobatteri. Tutti gli altri organismi noti sono costituiti da cellule eucariotiche.

### Le cellule procariotiche non contengono organelli circondati da membrane

Le cellule procariotiche sono tipicamente più piccole di quelle eucariotiche. Infatti, il diametro medio di una cellula procariotica è solo un decimo di quello di una cellula eucariotica. Nelle cellule procariotiche, il DNA non è racchiuso all'interno di un nucleo, ma è localizzato in una regione limitata della cellula, detta area nucleare o nucleoide . L'area nucleare non è delimitata da una membrana ( FIG. 4-6 ), a differenza del nucleo delle cellule eucariotiche. Il termine procariote, che significa "prima del nucleo", si riferisce a questa differenza fondamentale tra le cellule procari-otiche ed eucariotiche. Anche altri tipi di organelli delimitati da membrana non sono presenti nelle cellule procariotiche.

Come le cellule eucariotiche, le cellule procariotiche hanno una membrana plasmatica, che circonda la cellula. La membrana plasmatica delimita il contenuto della cellula, originando un compartimento interno. In alcune cellule procariotiche, la membrana plasmatica si può invaginare formando un complesso di membrane sulle quali possono avvenire reazioni metaboliche. Molte cellule procariotiche possono avere una parete cellulare , strutt ura che racchiude l'intera cellula, compresa la membrana plasmatica.

Molti procarioti possiedono flagelli , lunghe fibre che si protendono dalla superficie cellulare. I flagelli sono utilizzati come propulsori e sono fondamentali per la locomozione. La loro struttura è diversa da quella dei flagelli presenti nelle cellule eucariotiche. Alcuni procarioti hanno anche delle proiezioni simili a peli, denominate fimbrie, usate per aderire tra di loro o per ancorarsi alla superficie cellulare di altri organismi.




Il denso materiale interno delle cellule batteriche contiene i ribosomi , piccoli complessi di RNA e proteine in grado di sintetizzare polipeptidi. I ribosomi delle cellule procariotiche sono più piccoli rispetto a quelli delle cellule eucariotiche. Le cellule procariotiche presentano anche granuli di deposito che contengono glicogeno, lipidi o composti fosforilati. Questo capitolo è dedicato principalmente alle cellule eucariotiche. I procarioti saranno discussi in maggior dettaglio nel Capitolo "Batteri e archeobatteri".

←FIGURA 4-6 *Struttura di una cellula procariotica*
Questa MET colorata mostra una sottile sezione longitudinale di Escherichia coli (un batterio). Notare la prominente area nucleare contenente il materiale genetico (DNA). E. coli è un normale commensale dell'intestino umano, ma in certe condizioni alcuni ceppi possono causare infezioni.

## Sistemi di membrane dividono le cellule eucariotiche in compartimenti

Le cellule eucariotiche sono caratterizzate dalla presenza di organelli delimitati da membrana altamente organizzati, incluso un nucleo prominente, che contiene il DNA, il materiale ereditario. Il termine eucariote significa "vero nucleo". I primi biologi credevano che le cellule fossero costituite da un gel omogeneo, detto protoplasma. Con l'introduzione del microscopio elettronico e di altri moderni strumenti di ricerca, è stato possibile migliorare la conoscenza dell'ambiente interno della cellula. Ora sappiamo che la cellula è altamente organizzata e complessa ( FIGG. 4-7 - 4-10 ). La cellula eucariotica possiede una sua centrale di controllo, un sistema interno di trasporto, impianti energetici, fabbriche per la produzione di materiali essenziali, impianti di impacchettamento e persino un sistema di "autodistruzione".

La porzione di protoplasma al di fuori del nucleo viene chiamata citoplasma , mentre quella all'interno del nucleo viene chiamata nucleoplasma . Molti organuli sono sospesi nella componente fluida del citoplasma , normalmente chiamata citosol . Pertanto, il termine citoplasma include sia il citosol che tutti gli organuli, eccetto il nucleo.

I numerosi organuli specializzati delle cellule eucariotiche permettono di superare alcuni degli inconvenienti dovuti alle grandi dimensioni; per questo motivo, le cellule eucariotiche possono essere considerevolmente più grandi di quelle procariotiche. Le cellule eucariotiche differiscono da quelle procariotiche anche perché posseggono un'impalcatura di sostegno, o citoscheletro, importante per il mantenimento della forma della cellula e per il trasporto di materiali al suo interno.

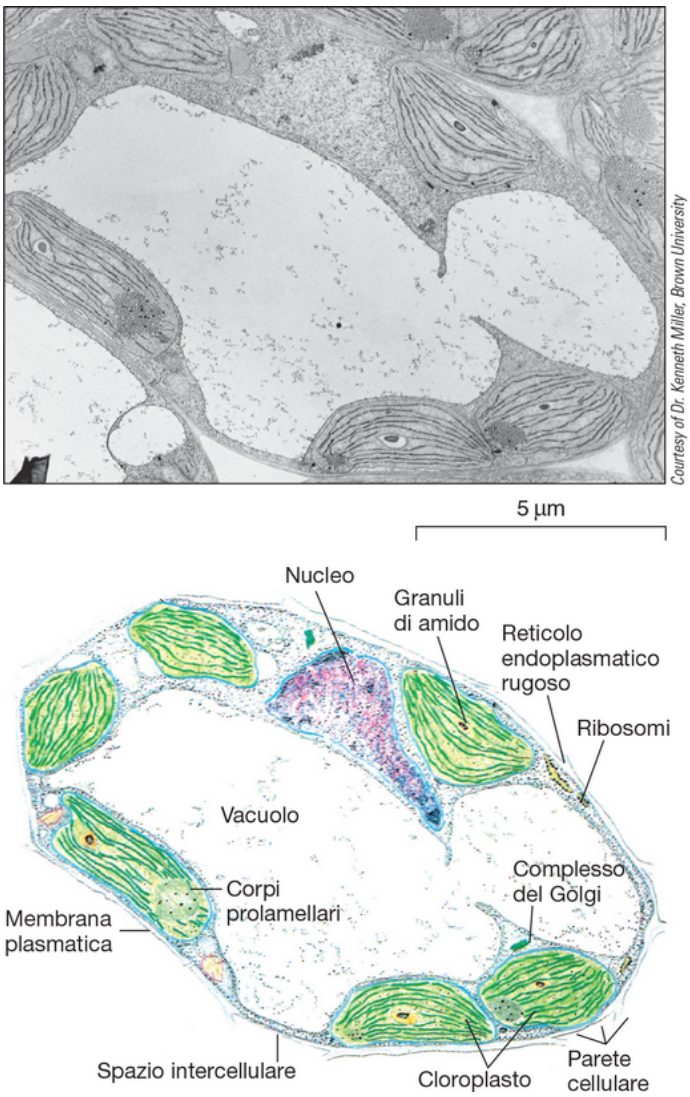
Alcuni organuli si trovano solo in determinati tipi cellulari. Ad esempio, i cloroplasti , strutture che catturano la luce solare per convertirla in altre forme di energia, sono presenti solamente nelle cellule che attuano la fotosintesi, ovvero in determinate cellule di piante ed alghe. La maggior parte delle cellule di batteri, funghi e piante è circondata da una parete cellulare esterna alla membrana plasmatica. Le cellule delle piante contengono anche un grande vacuolo delimitato da membrana. In questo capitolo saranno discusse queste ed altre differenze tra i principali tipi di cellule. Le cellule vegetali ed animali sono messe a confronto nelle Figure 4-7 , 4-8 4-9 , e 4-10 .

Le membrane cellulari hanno proprietà particolari che permettono agli organuli da esse delimitati di svolgere diverse funzioni. Ad esempio, poiché le membrane non possono mai avere estremità libere, gli organuli racchiudono sempre almeno uno spazio interno, o compartimento. Tali compartimenti circoscritti da membrane fanno sì che alcune attività cellulari siano localizzate all'interno di regioni cellulari specifiche. I reagenti concentrati in una piccola parte del volume cellulare vengono a contatto tra loro più facilmente e la velocità di reazione può di conseguenza aumentare notevolmente. Questi compartimenti servono anche per tenere alcuni composti particolarmente reattivi separati dalle altre parti della cellula, che potrebbero essere da questi danneggiate. La divisione in compartimenti permette, inoltre, che possano avvenire contempo-raneamente attività diverse. Le membrane funzionano anche come superfici di lavoro cellulare. Ad esempio, sono numerose le reazioni chimiche cellulari svolte da enzimi legati alle membrane. Organizzando gli enzimi che regolano le fasi successive di una serie di reazioni in posizioni vicine sulla superficie di una membrana, alcune reazioni chimiche a catena possono avvenire con maggiore rapidità.

Le membrane permettono anche di immagazzinare energia. La membrana costituisce una barriera assimilabile ad una diga fluviale. Come sarà discusso nel Capitolo 5 , tra i due lati della membrana esiste sia una differenza di carica elettrica che una differenza di concentrazione. Tali differenze costituiscono un gradiente elettrochimico. Gradienti di questo tipo immagazzinano energia in forma di energia potenziale (vedi Capitolo 7 ). Quando le particelle di una sostanza passano attraverso la membrana dal lato ad alta concentrazione a quello a bassa concentrazione, la cellula può trasformare parte della loro energia potenziale nell'energia chimica delle molecole di ATP. Il meccanismo della trasformazione energetica (discusso nei Capitoli 7 , 8 e 9 ) è un meccanismo basilare utilizzato dalle cellule per catturare e trasformare l'energia necessaria per la vita.

Nelle cellule eucariotiche, esistono numerose membrane considerate come parte del sistema di membrane interne detto sistema di endomembrane . Guardando le FIG. 4-7 FIGURE e 4-8 (vedi anche Figg. 4-9 e 4-10 ), si vede come le membrane dividano la cellula in diversi compartimenti: il nucleo, il reticolo endoplasmatico, il complesso del Golgi, i lisosomi, le vescicole e i vacuoli.

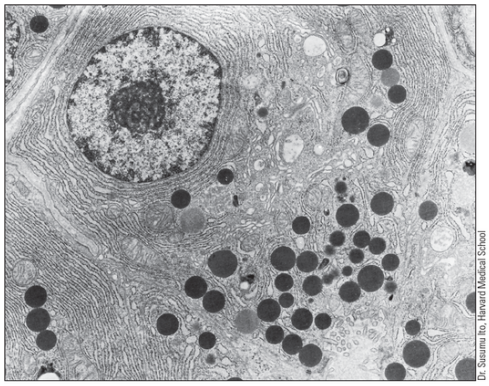
Tra questi, può essere inclusa anche la membrana plasmatica, la quale, anche se non interna, partecipa alle attività del sistema di endomembrane. Anche i mitocondri ed i cloroplasti costituiscono dei compartimenti separati, pur non essendo considerati parte del sistema di endomembrane, in quanto svolgono le loro funzioni indipendentemente dagli altri organuli membranosi.
Alcuni organuli hanno connessioni dirette tra le loro membrane e i diversi compartimenti. Altri trasportano materiali all'interno di vescicole , piccole sacche circondate da membrana che si formano per gemmazione dalla membrana di un altro organulo. Le vescicole possono anche trasportare il materiale da un organulo ad un altro. Seguendo una complessa serie di passaggi, una vescicola può "gemmare" da una membrana ed essere quindi trasportata ad un'altra membrana con la quale si fonde, rilasciando così il suo contenuto all'interno di un altro compartimento.

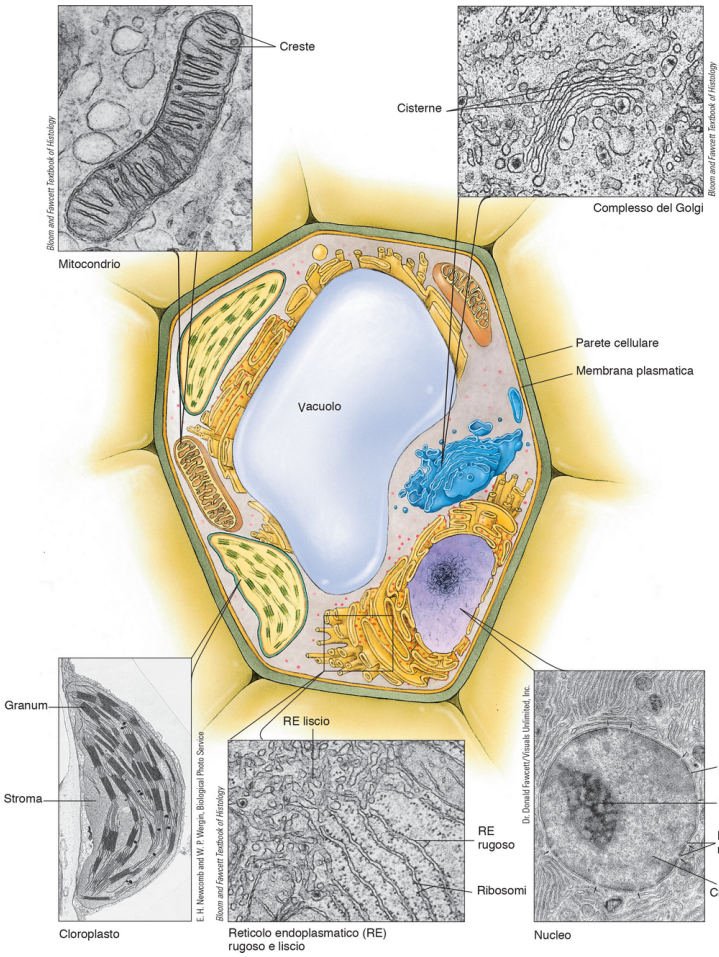


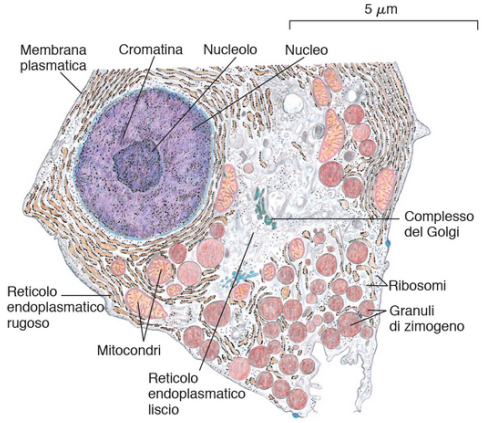

←FIGURA 4-7
*Immagine MET di una cellula vegetale e disegno interpretativo*
La maggior parte di questa sezione trasversale di una cellula fogliare di una giovane pianta di fagiolo (Phaseolus vulgaris) è dominata dal vacuolo. I corpi prolamellari sono strutture membranose tipiche dei cloroplasti in via di sviluppo. Sapete riconoscere le strutture nell'immagine MET in alto?

È presente la maggior parte delle strutture tipiche delle cellule animali. Tuttavia, come molte altre cellule, anche questa possiede strutture associate a funzioni specifiche. Le cellule pancreatiche, come quella mostrata qui, secernono una gran quantità di enzimi digestivi. I corpi grandi e scuri nell'immagine MET e le corrispondenti regioni colorate nel disegno sono granuli di zimogeno che contengono enzimi inattivi. Quando vengono secreti dalla cellula, tali enzimi catalizzano reazioni chimiche come la rottura dei legami peptidici delle proteine ingerite a livello dell'intestino. La maggior parte delle membrane visibili in questa sezione è parte del reticolo endoplasmatico rugoso, un organulo specializzato nella sintesi delle proteine. Sapete riconoscere le strutture nell'immagine MET in alto?

FIGURA 4-8 →
*Immagine MET di una cellula pancreatica umana e disegno interpretativo*

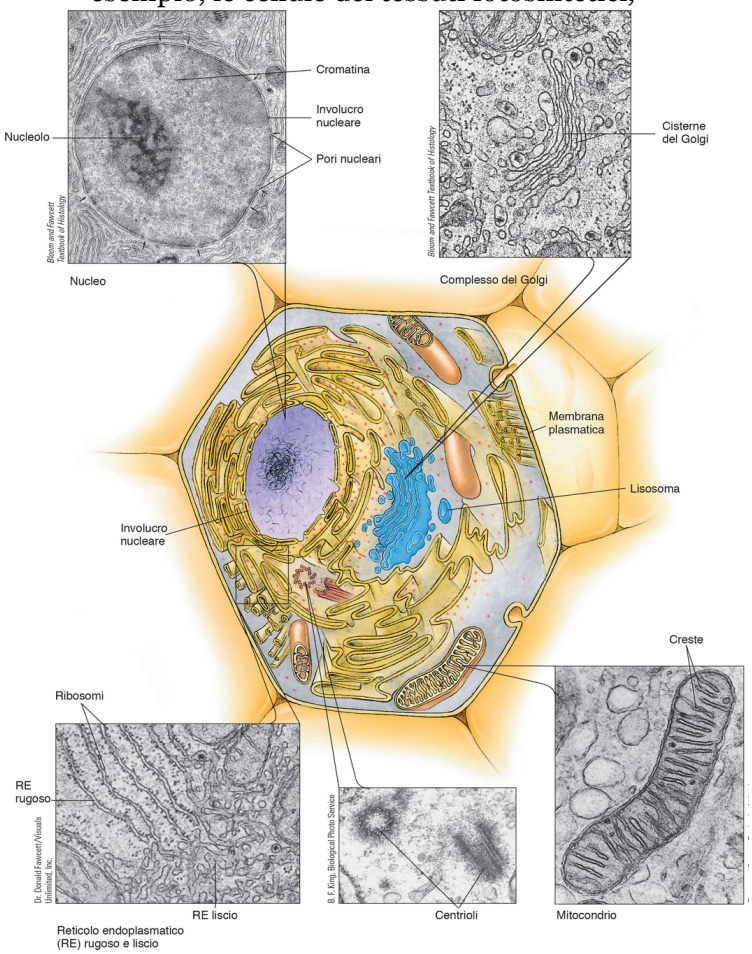



←FIGURA 4-9
*Schema composito di una cellula vegetale*
I cloroplasti, la parete cellulare e grandi vacuoli sono caratteristici delle cellule vegetali. Le immagini MET ci mostrano alcune strutture o regioni cellulari. Alcune cellule vegetali non possiedono tutti gli organuli qui illustrati. Ad esempio, le cellule dei tessuti fotosintetici, quali foglie e fusti, contengono i cloroplasti, mentre le cellule della radice no. Molti organelli, come il nucleo, i mitocondri e il reticolo endoplasmatico, sono caratteristici di tutte le cellule eucariotiche.

FIGURA 4-10 →
*Schema composito di una cellula animale*
Questa cellula animale generica è stata rappresentata in un contesto realistico, circondata dalle cellule vicine che la comprimono leggermente. Le immagini MET mostrano la struttura di vari organelli. A seconda del tipo di cellula, alcuni organuli possono essere più o meno sviluppati.




**Verifica**

- Quali sono due importanti differenze tra cellule procariotiche ed eucariotiche?
- Quali sono tre possibili differenze tra una cellula vegetale ed una cellula animale?
- In che modo gli organelli rivestiti da membrana facilitano il metabolismo cellulare?
- Quali organelli fanno parte del sistema di endomembrane?

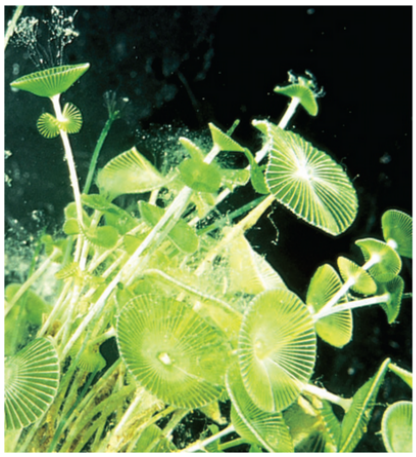
# 4.4 IL NUCLEO CELLULARE

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Descrivere la struttura e le funzioni del nucleo.

Il nucleo, l'organulo più rilevante della cellula, ha forma sferica od ovoidale ed un diametro medio di 5 µm. A causa delle sue dimensioni e del fatto che occupa una posizione relativamente fissa al centro della cellula, fin dall'inizio i ricercatori pensarono che il nucleo funzionasse da centro di controllo della cellula. Nel diciannovesimo secolo, i biologi scoprirono che un'alga marina, l'Acetabularia, è formata da un'unica cellula ( FIG. 4-11 ). Con i suoi 5 cm di lunghezza, Acetabularia ha dimensioni piccole per un'alga marina, ma gigantesche per una cellula. È formata da un piede che assomiglia ad una radice, un lungo stelo cilindrico e da un cappello simile ad una coppa. Il nucleo è localizzato nel piede, nel punto più lontano rispetto al cappello. Essendo un'unica gigantesca cellula, *l 'Acetabularia* si presta ad essere manipolata dai ricercatori.

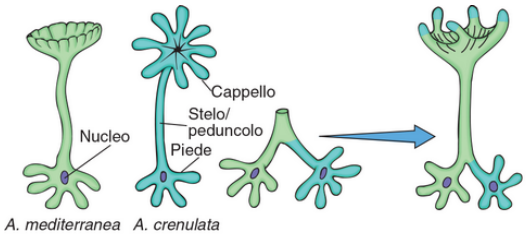
Se il cappello dell' Acetabularia viene sperimentalmente rimosso, ne cresce un altro entro poche settimane. Un tale meccanismo di rigenerazione è piuttosto comune negli organismi semplici. Il fenomeno suscitò l'attenzione degli scienziati, in special modo del biologo danese J. Hämmerling, che si domandò se esistesse una relazione tra il nucleo e le caratteristiche fisiche dell'alga. Hammerling (negli anni compresi tra il 1930 e 1950) eseguì dei brillanti esperimenti, che gettarono le basi per la maggior parte delle nostre attuali conoscenze sul nucleo. Alcuni dei suoi esperimenti sono riassunti nella FIGURA 4-12 . I biologi cellulari ampliarono queste prime scoperte fino a sviluppare le nostre attuali conoscenze sul flusso di informazioni e sui meccanismi di controllo a livello cellulare. Ora sappiamo che le cellule conservano l'informazione nella molecola del DNA e che la maggior parte del DNA cellulare è localizzato all'interno del nucleo.




←FIGURA 4-11 *Micrografi a ottica di Acetabularia*
Benché la traduzione letterale del suo nome sia "coppa per l'aceto", agli individui romantici la piccola alga Acetabularia ricorda la coppa di una sirena. L' Acetabularia , che è costituita da un'unica cellula, costituisce un ottimo modello per studiare la funzione del nucleo.

ESPERIMENTO CHIAVE *INTERROGATIVO:* Che cos'è che controlla la forma del cappello nell' *Acetabularia* ?
*IPOTESI:* Qualcosa che si trova nello stelo o nel piede dell' *Acetabularia* controlla la forma del cappello.
*ESPERIMENTO:* Hämmerling rimosse i cappelli ad *A. mediterranea* e ad *A. crenulata* . Quindi, innestò tra loro le due alghe prive di cappello ( FIG. a ).

FIGURA 4-12 *Acetabularia e il controllo delle attività cellulari*→




Il biologo J. Hämmerling utilizzò due specie di Acetabularia , un'alga marina formata da una singola cellula, per la maggior parte dei suoi esperimenti: A. mediterranea , con cappello liscio, e A. crenulata , con cappello suddiviso in una serie di protuberanze digitiformi. Se il cappello dell' Acetabularia viene rimosso, dopo poche settimane ne ricresce uno nuovo. Il tipo di cappello che si rigenera dipende dalla specie utilizzata nell'esperimento. Come ci si può immaginare, A. crenulata rigenera un cappello "sfrangiato", mentre A. mediterranea lo rigenera "liscio".

RISULTATI E CONCLUSIONI: Le alghe rigenerarono un cappello comune con caratteristiche intermedie rispetto a quelle delle due specie coinvolte. Questo esperimento dimostrò che qualcosa che era presente nello stelo o nel piede controllava la forma del cappello.

L' involucro nucleare è costituito da due membrane concentriche che separano il contenuto del nucleo dal citoplasma circostante ( FIG. 4-13 ). Queste membrane sono separate da circa 20-40 nm e ad intervalli si

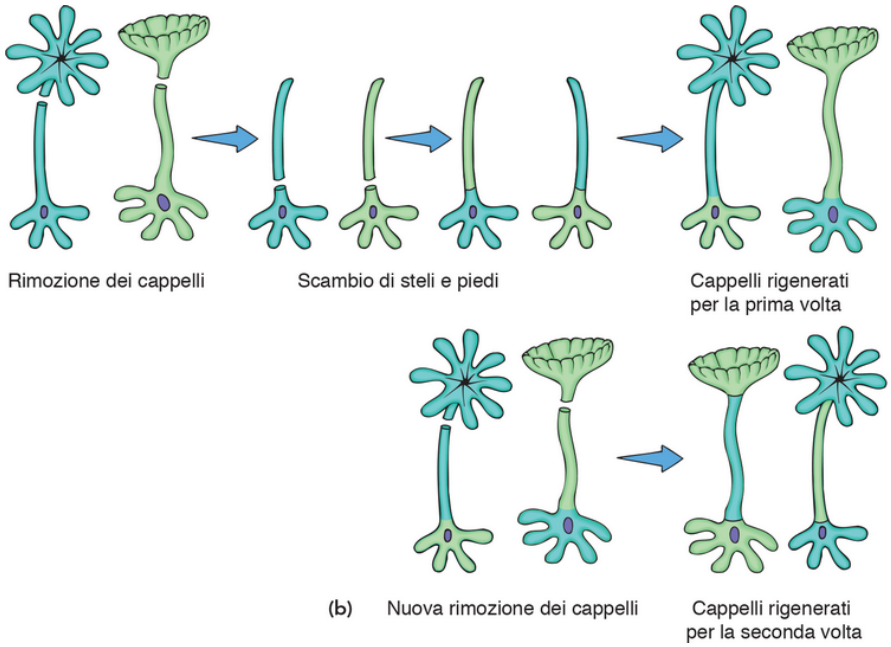
fondono formando i pori nucleari . Ciascun poro nucleare è costituito da un complesso proteico che comprende molte copie di circa 30 tipi differenti di proteine. I pori nucleari regolano il passaggio di materiali tra nucleoplasma e citoplasma.
Una rete fibrosa di filamenti proteici, detta lamina nucleare , forma il rivestimento interno dell'involucro nucleare. La lamina nucleare sostiene la membrana nucleare interna e favorisce l'organizzazione del contenuto nucleare. Inoltre, svolge un ruolo importante nella duplicazione del DNA e nella regolazione del ciclo cellulare. Mutazioni nei geni che codificano le proteine della lamina nucleare sono associate a diverse malattie genetiche umane, tra cui le distrofie muscolari e l'invecchiamento precoce.

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

*ESPERIMENTO 2*

*INTERROGATIVO:* La forma del cappello di *Acetabularia*è controllata dallo stelo o dal piede?
IPOTESI: Qualcosa che si trova nello stelo dell'*Acetabularia* controlla la forma del cappello.
ESPERIMENTO: Hämmerling rimosse i cappelli *A. mediterranea* e ad *A. crenulata* . Quindi, separarò gli steli dai piedi. Unendo le pareti cellulari delle due specie, riuscì ad attaccare una sezione dello stelo di una specie al piede dell'altra specie ( FIG. b.).

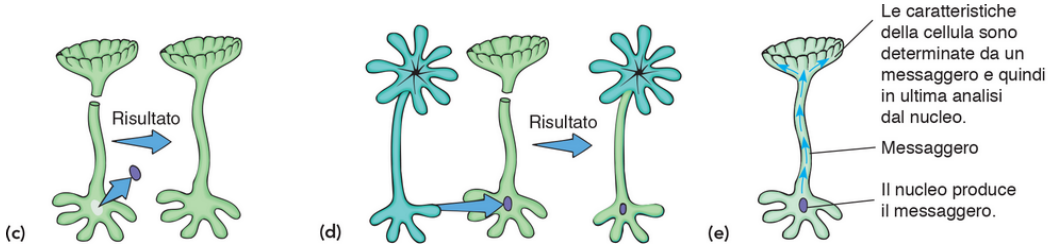
RISULTATI E CONCLUSIONI:
I risultati furono sorprendenti. I cappelli rigenerati erano caratteristici non della specie che aveva donato il piede, ma di quella che aveva donato lo stelo! Tuttavia, quando i cappelli venivano nuovamente rimossi, quelli che si rigeneravano erano caratteristici della specie che aveva donato il piede. Questo continuava a verificarsi indipendentemente dal numero di volte che i cappelli rigenerati venivano rimossi.




Da ciò Hämmerling dedusse che il controllo della cellula Acetabularia è associato al piede. Poiché passa un certo tempo prima che il piede eserciti la sua influenza, essi ipotizzarono che il piede producesse un messaggero citoplasmatico temporaneo mediante il quale il piede esercitava il suo controllo e che inizialmente gli steli innestati contenessero ancora quantità sufficienti di quel messaggero formatosi nel piede originario tanto da rigenerare un cappello della forma precedente. Tutto ciò non spiega che cosa conferisce al piede tutto questo potere, anche se il responsabile più probabile è il nucleo.

*ESPERIMENTO 3*

*INTERROGATIVO:* La forma del cappello dell'*Acetabularia* è controllata dal nucleo contenuto nel piede?
IPOTESI: Il nucleo contenuto nel piede dell'*Acetabularia* controlla la forma del cappello.




ESPERIMENTO: Hämmerling rimosse il nucleo e tagliò il cappello dell' *Acetabularia* ( FIG. c). Si rigenerò un nuovo cappello tipico della specie in esame. L' *Acetabularia* privata del nucleo, tuttavia, può solitamente rigenerare il cappello soltanto una volta. Il ricercatore inserì un nucleo di un'altra specie e tagliò di nuovo il cappello ( FIG.d).

ESPERIMENTO: Si rigenerò un nuovo cappello che presentava le caratteristiche della specie da cui proveniva il nucleo. Quando venivano inseriti due nuclei di tipo diverso, il cappello rigenerato mostrava una forma intermedia rispetto a quelli tipici delle specie donatrici dei nuclei.
In seguito a questi ed altri esperimenti, i biologi hanno iniziato ad acquisire alcuni concetti basilari. Il controllo esercitato dal piede sulla cellula è attribuibile al nucleo che è collocato proprio nel piede. Inoltre, il nucleo sembra essere la fonte del "messaggero" che può esercitare un controllo temporaneo, ma è presente in quantità limitate, e non può essere prodotto in assenza del nucleo ( FIG. e ). Tali concetti sono stati il punto di partenza per la ricerca sul ruolo degli acidi nucleici nel controllo delle cellule. In seguito, il "messaggero" è stato identificato e chiamato RNA messaggero (mRNA).

**PUNTO CHIAVE** Il nucleo contiene il DNA ed è il centro di controllo della cellula.

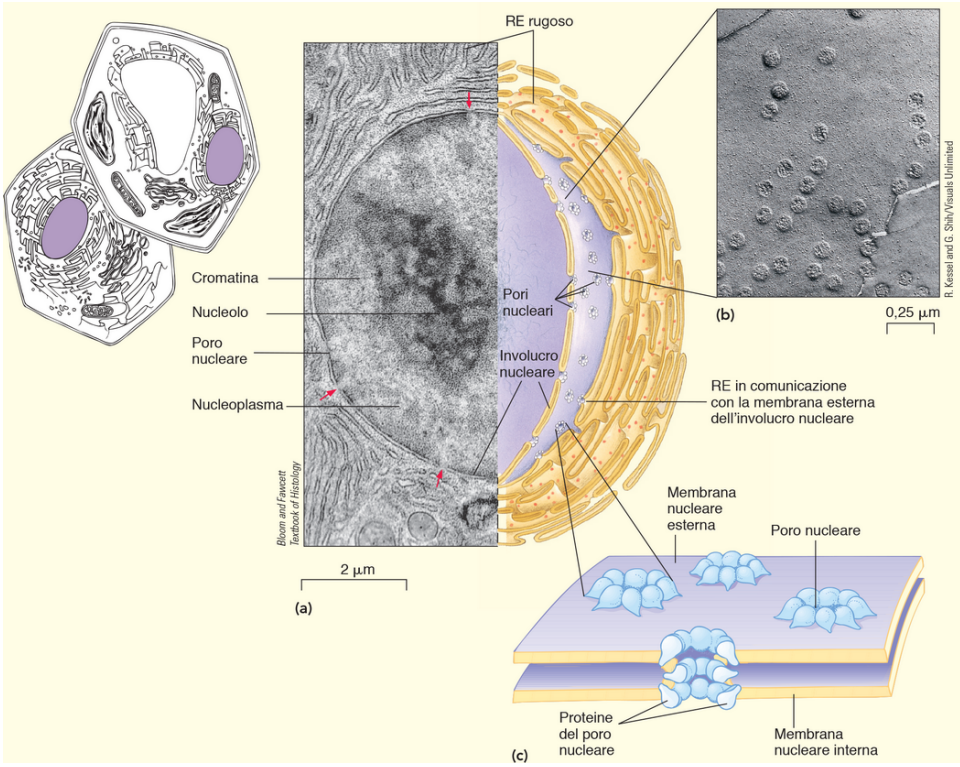



FIGURA 4-13 *Il nucleo cellulare* (a) Immagine MET e diseg no interpretativo che mostrano che l'involucro nucleare è composto di due membrane concentriche attraversate da pori nucleari (indicati dalle frecce rosse). La membrana esterna dell'involucro nucleare è in continuità con il reticolo endoplasmatico (RE). Il nucleolo non è circondato da una membrana. (b) Immagine MET dei pori nucleari. Per separare le membrane è stata utilizzata una tecnica nota come "freeze-fracture". (c) I pori nucleari, che sono costituiti da proteine, formano canali tra il nucleoplasma e il citoplasma.

Quando una cellula si divide, l'informazione contenuta nel DNA deve essere riprodotta e trasmessa integra alle due cellule figlie. Il DNA ha la peculiare capacità di produrre una copia esatta di se stesso attraverso un processo noto come replicazione . Le molecole di DNA sono costituite da sequenze di nucleotidi chiamate geni che contengono, in forma chimica, le informazioni per la produzione di tutte le proteine necessarie per la cellula. Il nucleo controlla la sintesi proteica trascrivendo l'informazione del DNA in molecole di RNA messaggero (mRNA) , che passano nel citoplasma dove sono sintetizzate le proteine.
Il DNA si associa con l'RNA ed alcune proteine per formare una struttura, chiamata cromatina . All'interno delle cellule che non si stanno dividendo, la cromatina ha l'aspetto di una rete irregolare costituita da granuli e filamenti. La cromatina non è affatto disorganizzata come appare: le molecole di DNA, infatti, essendo estremamente lunghe e sottili, devono essere impacchettate nel nucleo in maniera molto regolare in strutture dette cromosomi . Durante la divisione cellulare, i cromosomi diventano visibili sotto forma di strutture filiformi distinte. Se il DNA contenuto nei 46 cromosomi di una cellula umana potesse essere srotolato, avrebbe una lunghezza di 2 metri!
La maggior parte dei nuclei possiede una o più strutture compatte chiamate nucleoli . Il nucleolo non è circondato da membrana e generalmente si colora in maniera diversa rispetto alla cromatina che lo circonda. Ciascun nucleolo contiene un organizzatore nucleolare , costituito dalle regioni cromosomiche contenenti le istruzioni per sintetizzare i diversi tipi di RNA che costituiscono i ribosomi. Questi RNA ribosomali (rRNA) sono sintetizzati nel nucleolo. Le proteine necessarie per costruire i ribosomi sono sintetizzate nel citoplasma e importate nel nucleolo. Quindi, l'RNA ribosomale e le proteine vengono assemblati in subunità ribosomali che escono dal nucleo attraverso i pori nucleari.

**Verifica**

- In che modo il nucleo conserva l'informazione?
- Che funzione ha l'involucro nucleare?

# 4.5 GLI ORGANULI CITOPLASMATICI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Fare una distinzione tra reticolo endoplasmatico liscio e rugoso in termini sia di struttura che di funzione.
9. Tracciare il percorso delle proteine sintetizzate nel reticolo endoplasmatico rugoso man mano che vengono processate, modificate e smistate dal complesso del Golgi ed infine trasportate verso le specifiche destinazioni.
10. Descrivere le funzioni dei lisosomi, dei vacuoli e dei perossisomi.
11. Confrontare le funzioni dei mitocondri e dei cloroplasti e spiegare come viene sintetizzato ATP da ciascuno dei due organelli.

I biologi cellulari hanno identificato molti tipi di organelli nel citoplasma delle cellule eucariotiche, tra cui i ribosomi, il reticolo endoplasmatico, il complesso del Golgi, i lisosomi, i perossisomi, i vacuoli, i mitocondri e i cloroplasti. Le strutture e le funzioni delle cellule eucariotiche sono riassunte nella TABELLA 4-1 .

### I ribosomi sintetizzano le proteine

I ribosomi sono minuscole particelle che si trovano libere nel citoplasma o attaccate a certe membrane. Sono costituiti da RNA e proteine e sono sintetizzati a livello del nucleolo. I ribosomi contengono l'enzima responsabile della formazione dei legami peptidici (vedi Capitolo 3 ). Ogni ribosoma ha due componenti principali: una subunità maggiore ed una subunità minore. Quando le due subunità si uniscono, funzionano come fabbriche per l'assemblaggio dei polipeptidi. Le cellule che producono attivamente una gran quantità di proteine possono contenere milioni di ribosomi; inoltre, le cellule possono modificare il numero di ribosomi presenti a seconda delle richieste metaboliche. I ribosomi saranno descritti in maggior dettaglio nel Capitolo 13 .

### Il reticolo endoplasmatico è una rete di membrane interne

Una delle principali caratteristiche delle micrografie al microscopio elettronico nelle Figure 4-9 e 4-10 è il labirinto di membrane interne parallele che circonda il nucleo estendendosi in molte regioni del citoplasma. Tali membrane costituiscono il reticolo endoplasmatico (RE) , il quale costituisce una parte significativa del volume totale del citoplasma in molte cellule. In FIGURA 4-14 è riportata una micrografia MET ulteriormente ingrandita del reticolo endoplasmatico. È opportuno ricordare che l'immagine al microscopio elettronico rappresenta solo una sezione sottile della cellula. Si potrebbe quindi interpretare la micrografia come se vi fosse rappresentata una serie di tubi. Infatti, queste membrane sono generalmente costituite da diverse strutture a forma di sacche appiattite ed impilate in maniera compatta, le quali danno origine, all'interno del citoplasma, a compartimenti connessi tra loro.

Lo spazio interno che si viene a formare è chiamato lume e, nella maggior parte delle cellule, dà origine ad un unico compartimento interno, che è in comunicazione con lo spazio presente tra le membrane nucleari interna ed esterna ( FIG. 4-13 ). Le membrane degli altri organuli non sono invece connesse direttamente al reticolo endoplasmatico e sembrano formare compartimenti separati all'interno del citoplasma.

Le membrane del reticolo endoplasmatico e il suo lume contengono una grande varietà di enzimi che catalizzano diverse rea-zioni chimiche. In alcuni casi, le membrane servono da impalcatura per sistemi enzimatici che catalizzano reazioni biochimiche a catena. Le due superfici della membrana contengono diversi assortimenti di enzimi e rappresentano regioni della cellula con capacità sintetiche differenti, proprio come settori diversi di una fabbrica sono utilizzati per costruire parti diverse di un particolare prodotto. Ancora altri enzimi sono presenti all'interno del lume del RE.

Al microscopio elettronico è possibile distinguere due tipi di reticolo endoplasmatico (liscio e rugoso) che, pur avendo funzioni diverse, hanno membrane e spazi interni connessi tra di loro.

#### Il reticolo endoplasmatico liscio sintetizza lipidi

Il RE liscio ha un aspetto tubulare e la superficie della sua membrana esterna appare liscia. Gli enzimi presenti nelle membrane del RE liscio catalizzano la sintesi di numerosi lipidi e carboidrati. Il RE liscio rappresenta la sede primaria di sintesi dei fosfolipidi e del colesterolo richiesti per la formazione delle membrane cellulari. Il RE liscio sintetizza gli ormoni steroidei, inclusi gli ormoni riproduttivi, a partire dal colesterolo. Nelle cellule epatiche, il RE liscio svolge un ruolo importante nella degradazione enzimatica del glicogeno di riserva (il fegato contribuisce alla regolazione della concentrazione del glucosio nel sangue). Inoltre, il RE liscio immagazzina ioni calcio.

Il RE liscio può essere un componente minore in alcune cellule, mentre altre cellule ne contengono una grande quantità. Un esempio è quello costituito dalle cellule epatiche umane, le quali sintetizzano ed elaborano buona parte del colesterolo e di altri lipidi e fungono da centro di detossificazione dell'organismo. Gli enzimi del RE liscio delle cellule epatiche sono in grado di degradare sostanze chimiche tossiche, come le sostanze cancerogene (agenti che causano il cancro) e numerose droghe, tra cui l'alcol, le anfetamine e i barbiturici. Tali composti sono trasformati in composti idrosolubili che possono essere così escreti. È interessante il fatto che l'alcol e molte altre droghe stimolano le cellule epatiche a produrre maggiori quantità di RE liscio, incrementando la velocità con cui tali cellule riescono a detossificare le droghe stesse. L'abuso di alcol determina infiammazione epatica, che può portare alla cirrosi ed infine all'insufficienza epatica.

### Il reticolo endoplasmatico rugoso è importante nella sintesi proteica

Il reticolo endoplasmatico rugoso appare tale in quanto sulla sua superficie esterna si trovano i ribosomi. Nella Figura 4-14 si nota che una faccia della membrana (quella luminale) risulta nuda, mentre l'altra faccia (quella citosolica) è punteggiata di ribosomi, che appaiono come particelle scure. I ribosomi attaccati al RE rugoso sono detti ribosomi legati ; i ribosomi liberi si trovano in sospensione nel citosol.

| Struttura | Descrizione | Funzione |
|---|---|---|
| **Il nucleo cellulare** | | |
| Nucleo | Grande struttura delimitata da una doppia membrana; contiene il nucleolo e i cromosomi | Trasferimento dell'informazione da DNA a RNA; specifica le proteine cellulari |
| Nucleolo | Corpo granulare all'interno del nucleo, formato da RNA e proteine | Sede della sintesi di RNA ribosomale e dell'assemblaggio dei ribosomi |
| Cromosomi | Costituiti da un complesso di DNA e proteine (cromatina); sono condensati e ben visibili quando la cellula si sta dividendo | Contengono i geni (unità dell'informazione ereditaria) che regolano la struttura e l'attività cellulare |
| **Gli organelli citoplasmatici** | | |
| Membrana plasmatica | Membrana di rivestimento delle cellule | Racchiude il contenuto della cellula; regola il movimento del materiale fuori e dentro la cellula; aiuta a mantenere la forma delle cellule, comunica con le altre cellule (presente anche nei procarioti) |
| Ribosomi | Granuli costituiti da RNA e proteine, alcuni attaccati alle membrane del RE, altri liberi nel citoplasma | Sintesi dei polipeptidi sia nei procarioti che negli eucarioti |
| Reticolo endoplasmatico (RE) | Rete di membrane interne che si estendono nel citoplasma | Sede di sintesi dei lipidi e di modifica di molte proteine; sede in cui si formano le vescicole di trasporto contenenti le proteine |
| Liscio (REL) | Privo di ribosomi sulla faccia esterna | Sede della sintesi dei lipidi e della detossificazione dei farmaci; deposito di calcio |
| Rugoso (RER) | Presenza di ribosomi sulla faccia esterna | Sede della sintesi di proteine destinate alla secrezione o che verranno incorporate nelle membrane |
| Complesso del Golgi | Pila di vescicole membranose appiattite | Modificazione delle proteine; organizzazione delle proteine secrete; scelta di altre proteine destinate ai vacuoli o ad altri organuli |
| Lisosomi | Vescicole rivestive da membrana (presenti nelle cellule animali) | Contengono gli enzimi per digerire il materiale ingerito, secrezioni e scarti |
| Vacuoli | Vescicole rivestive da membrana (presenti in piante, funghi ed alghe) | Accumulo di materiale, sostanze di scarto ed acqua; mantengono la pressione idrostatica |
| Perossisomi | Vescicole rivestive da membrana contenenti una grande varietà di enzimi | Sedi di molte reazioni metaboliche diverse; ad es. degradazione degli acidi grassi |
| Mitocondri | Vescicole rivestive da 2 membrane; quella interna si introflette a formare delle creste e racchiude la matrice | Sedi della maggior parte delle reazioni della respirazione cellulare; trasformazione dell'energia originatasi dalla demolizione del glucosio o dei lipidi nell'energia dell'ATP |
| Plastidi (ad es. i cloroplasti) | Strutture rivestite da una doppia membrana che racchiudono i tilacoidi; nei cloroplasti i tilacoidi contengono la clorofilla | Sedi della fotosintesi. La clorofilla cattura l'energia luminosa; si formano ATP ed altri composti ricchi di energia che vengono poi usati per sintetizzare glucosio a partire da $CO_2$ |
| **Il citoscheletro** | | |
| Microtuboli | Tubi cavi costituiti da subunità di tubulina | Conferiscono un supporto strutturale; hanno un ruolo nello spostamento degli organuli e della cellula e nella divisione cellulare; componenti di ciglia, flagelli, centrioli e corpi basali |
| Microfilamenti | Strutture bastoncellari formate da actina | Conferiscono un supporto strutturale; hanno un ruolo nello spostamento degli organuli e della cellula e nella divisione cellulare |
| Filamenti intermedi | Fibre stabili e resistenti costituite da polipeptidi | Rafforzano il citoscheletro; stabilizzano la forma della cellula |
| Centrioli | Coppia di cilindri cavi localizzati in prossimità del nucleo; ciascun centriolo è formato da 9 triplette di microtubuli (struttura 9 × 3) | Formano, durante la divisione delle cellule animali, l'apparato del fuso; possono ancorare i microtubuli ed organizzarne la formazione nelle cellule animali; assenti nella maggior parte delle piante |
| Ciglia | Proiezioni relativamente corte che si estendono dalla superficie cellulare, ricoperte da membrana plasmatica; costituite da 2 microtubuli centrali e da 9 coppie periferiche (struttura 9 + 2) | Determinano il movimento di alcuni organismi unicellulari; usati per muovere il materiale sulla superficie di alcuni tessuti; importanti nella segnalazione cellulare |
| Flagelli | Lunghe proiezioni costituite da 2 microtubuli centrali e da 9 coppie periferiche (struttura 9 + 2), rivestite da membrana plasmatica | Locomozione di alcune cellule spermatiche e di alcuni organismi unicellulari |

←TABELLA 4-1 **Strutture delle cellule eucariotiche e loro funzioni**

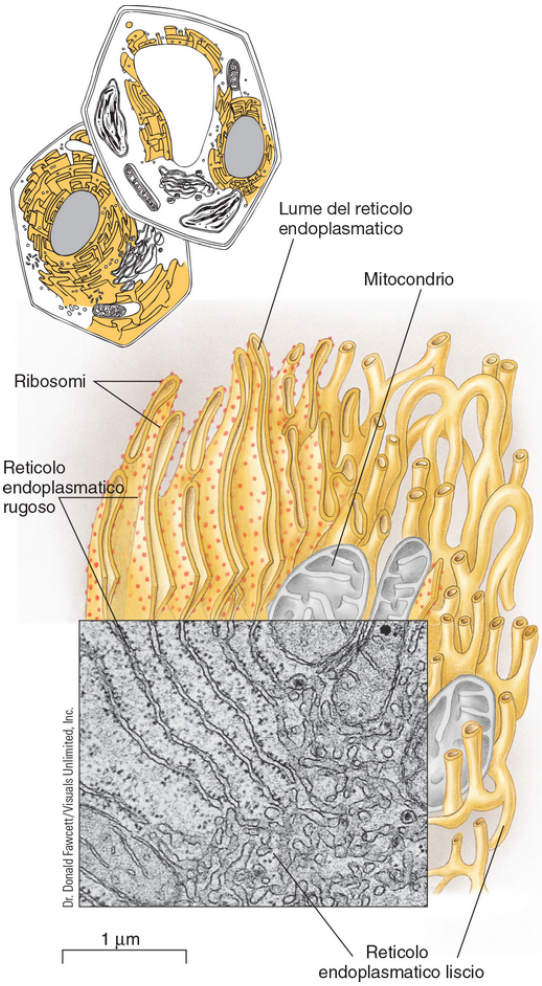
Il reticolo endoplasmatico rugoso svolge un ruolo fondamentale nella sintesi e nell'assemblaggio delle proteine. Molte delle proteine che sono esportate fuori della cellula (come gli enzimi digestivi) e quelle destinate ad altri organuli sono sintetizzate sui ribosomi attaccati alla membrana del reticolo endoplasmatico. Il ribosoma si attacca saldamente alla membrana del RE; all'interno del ribosoma si forma un tunnel che lo collega ad un poro del RE. Le proteine sono trasportate nel lume del RE attraverso questo tunnel e il poro, che attraversa la membrana del RE.

FIGURA 4-14 *Reticolo endoplasmatico (RE)*→
Immagine MET che mostra il reticolo endoplasmatico liscio e rugoso di una cellula epatica.

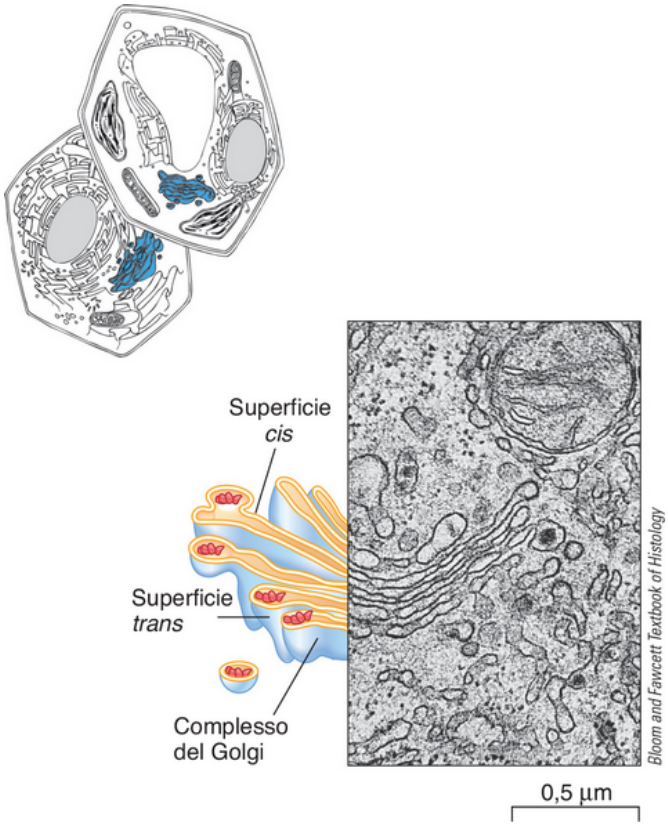
Una volta nel lume, le proteine possono essere modificate da enzimi che aggiungono lipidi o carboidrati complessi. All'interno del lume esistono anche altri enzimi, detti chaperoni molecolari , che catalizzano l'arrangiamento tridimensionale delle proteine. Le proteine che non sono state processate correttamente, ad esempio quelle mal ripiegate, sono trasportate nel citosol, dove sono degradate da complessi proteici detti proteasomi , che dirigono la distruzione delle proteine difettive. Le proteine processate correttamente sono trasferite in altri compartimenti da vescicole di trasporto che gemmano dalla membrana del RE e si fondono con la membrana dei compartimenti bersaglio.

## Il complesso del Golgi processa, smista e modifica le proteine

Il complesso del Golgi (noto anche come corpo del Golgi o apparato del Golgi) fu descritto per la prima volta nel 1898 dal microscopista italiano Camillo Golgi, che scoprì una metodica per colorare in maniera specifica questo organulo. Tuttavia, molti ricercatori pensavano che il Golgi fosse un artefatto e il suo riconoscimento come organello cellulare fu confermato solo quando si cominciò a studiare le cellule con il microscopio elettronico negli anni '50.

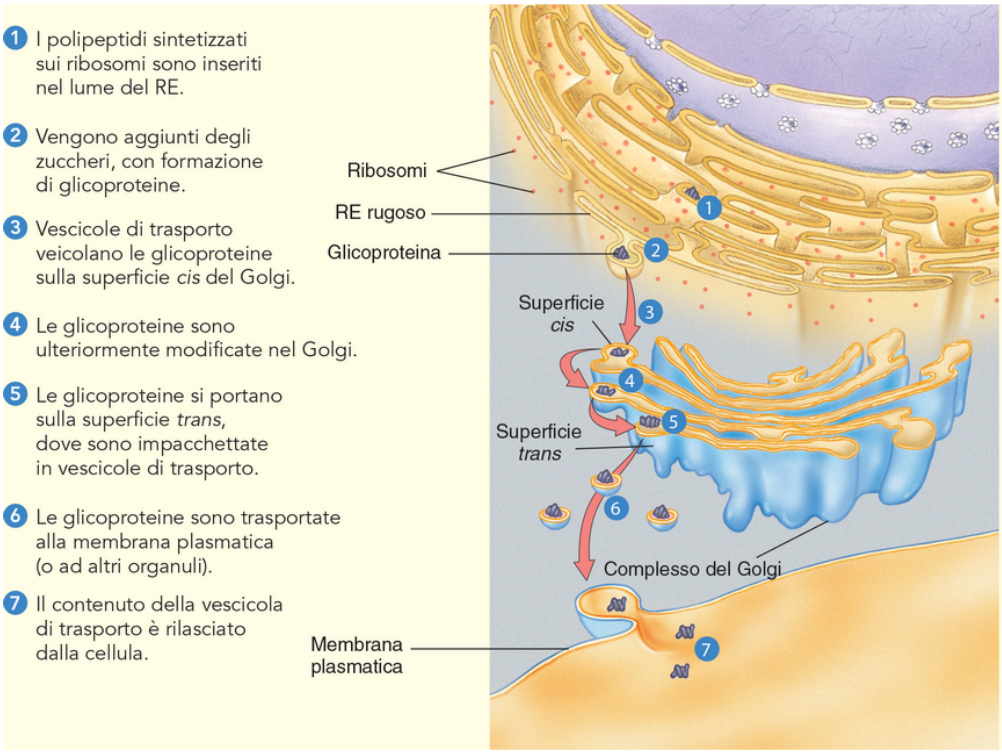



←FIGURA 4-15 *Immagine MET e disegno interpretativo del complesso del Golgi*




Nella maggior parte delle cellule, il complesso del Golgi è costituito da pile di sacche membranose appiattite chiamate cisterne. Ciascuna di queste sacche ha uno spazio interno, detto lume ( FIG. 4-15 ). In alcune regioni, le cisterne possono apparire rigonfie in quanto sono piene di prodotti cellulari. Il complesso del Golgi contiene alcuni compartimenti separati ed altri connessi tra loro.
Ciascuna pila di vescicole di Golgi possiede tre aree, denominate superficie cis, superficie trans e una regione mediale che sta in mezzo. Generalmente, la superficie cis è collocata vicino al nucleo ed ha la funzione di ricevere i materiali contenuti nelle vescicole di trasporto provenienti dal RE. La superficie trans, più vicina alla membrana plasmatica, impacchetta le molecole in vescicole che sono trasportate al di fuori del Golgi. Nell'immagine di una sezione trasversale, come quella in Figura 4-15 , si vede l'organizzazione delle membrane tipica di un complesso del Golgi ben sviluppato, dove, alle estremità dei foglietti appaiati, vi sono delle vescicole rigonfie. In alcune cellule animali, il complesso del Golgi è spesso localizzato in posizione laterale rispetto al nucleo; in altre, e in quelle vegetali, sono presenti più complessi del Golgi costituiti da pile membranose isolate e sparse all'interno della cellula.
Le cellule che secernono grandi quantità di glicoproteine hanno un gran numero di pile del Golgi. (Ricordiamo dal Capitolo 3 che una glicoproteina è una proteina a cui è legato covalentemente un carboidrato). I complessi del Golgi delle cellule vegetali producono polisaccaridi extracellulari, che sono utilizzati come componenti della parete cellulare. Nelle cellule animali, il complesso del Golgi sintetizza i lisosomi.

Il complesso del Golgi processa, smista e modifica le proteine. I ricercatori hanno studiato la funzione di RE, complesso del Golgi ed altri organuli marcando radioattivamente molecole appena sintetizzate ed osservando il loro movimento all'interno della cellula. Il percorso generale è dai ribosomi al lume del RE rugoso, da qui al complesso del Golgi e quindi alla destinazione finale ( FIG. 4-16 ).




**PUNTO CHIAVE** Dopo la sintesi, le proteine sono trasportate attraverso una serie di compartimenti dove sono successivamente modificate.

FIGURA 4-16 *Il trasporto delle proteine all'interno della cellula*
Le glicoproteine sono trasportate dai ribosomi al RE e da qui al complesso del Golgi, dove vengono modificate. Questo schema mostra il passaggio delle glicoproteine attraverso i compartimenti del sistema di endomembrane di una cellula caliciforme muco-secernente che riveste l'intestino. Il muco è una miscela complessa di proteine e carboidrati legati covalentemente.

Le proteine, che sono state assemblate correttamente, sono trasportate dal RE rugoso alla superficie cis del complesso del Golgi in vescicole di trasporto che si formano dalla membrana del RE. Le vescicole di trasporto si fondono tra loro per formare gruppi che si muovono lungo i microtubuli (componenti del citoscheletro) verso il complesso del Golgi. Cosa accade alle molecole glicoproteiche rilasciate nel complesso del Golgi? Un'ipotesi stabilisce che esse siano racchiuse in nuove vescicole che le trasportano da un compartimento ad un altro all'interno del Golgi stesso. Un'ipotesi alternativa sostiene che le stesse cisterne si possano muovere dalla posizione cis a quella trans. Entrambe le ipotesi potrebbero rivelarsi valide; le glicoproteine potrebbero essere trasportate in entrambi i modi.
In qualsiasi modo si muovano le proteine attraverso il Golgi, durante questo tragitto sono modificate in molti modi, per cui si originano molecole biologiche complesse. Per esempio, i carboidrati di una glicoproteina (aggiunti alla proteina nel RE) possono essere modificati. In alcuni casi, i carboidrati e le altre molecole aggiunte alle proteine vengono usate come "segnali di riconoscimento", un codice cellulare che marchia le proteine, instradandole verso specifici distretti cellulari.
Le glicoproteine sono quindi impacchettate in vescicole secretorie nella regione trans. Tali vescicole si staccano dalla membrana del Golgi trasportando il loro contenuto a specifiche destinazioni. Le vescicole che trasportano prodotti che devono essere esportati dalla cellula si fondono con la membrana plasmatica; la membrana delle vescicole diventa parte della membrana plasmatica e le glicoproteine sono secrete dalla cellula. Altre vescicole possono immagazzinare le glicoproteine e secernerle poi in un secondo tempo, mentre altre ancora sono convogliate verso i vari organuli del sistema di endomembrane. Riassumendo, la sequenza tipica degli eventi cui va incontro una proteina destinata ad essere secreta dalla cellula è la seguente:

Sintesi dei polipeptidi sui ribosomi ⟶ assemblaggio della proteina ed aggiunta di carboidrati nel lume del RE ⟶ movimento della glicoproteina nel Golgi (superficie *cis*) tramite vescicole di trasporto ⟶ ulteriori modifiche della glicoproteina nel Golgi ⟶ impacchettamento della glicoproteina in vescicole di trasporto (nella superficie *trans*) ⟶ trasporto delle glicoproteine alla membrana plasmatica ⟶ rilascio del

## I lisosomi sono compartimenti con funzioni digestive

I lisosomi sono piccole vescicole piene di enzimi litici disperse nel citoplasma della maggior parte delle cellule animali ( FIG. 4-17 ). All'interno dei lisosomi, i ricercatori hanno identificato più di 40 enzimi digestivi diversi.
Poiché la maggior parte degli enzimi lisosomiali è attiva in ambiente acido, i lisosomi mantengono al loro interno un valore di pH intorno a 5. I potenti enzimi e i bassi valori di pH tipici dei lisosomi costituiscono un ottimo esempio dell'importanza della separazione delle funzioni cellulari in diversi compartimenti. In condizioni normali, la membrana lisosomale confina i suoi enzimi e la loro attività. Tuttavia, alcune forme di danno tissutale sono state collegate a perdite del contenuto dai lisosomi.

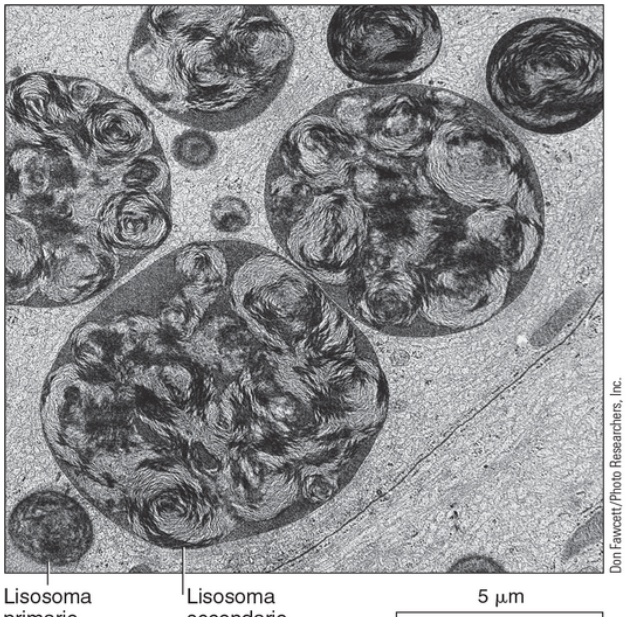
I *lisosomi primari* si formano per gemmazione dal complesso del Golgi. I loro enzimi idrolitici sono sintetizzati nel RE rugoso. Mentre questi enzimi attraversano il lume del RE, degli zuccheri si attaccano alle molecole, identificandoli come destinati ai lisosomi. Questo segnale permette al complesso del Golgi di smistare questi enzimi verso i lisosomi anziché farli uscire dalla cellula.
Quando le cellule "spazzino" ingeriscono batteri o frammenti, questi vengono racchiusi da una vescicola formata dalla membrana plasmatica. Uno o più lisosomi primari si fondono con queste vescicole contenenti il materiale estraneo, formando una vescicola più grande, detta lisosoma secondario. Infine, i potenti enzimi digestivi del lisosoma vengono a contatto con le molecole estranee, degradandole nei loro componenti base. Allo stesso modo, i lisosomi possono distruggere gli organuli e riciclare i loro componenti o utilizzarli come fonte di energia.

In alcune malattie genetiche umane, note come malattie da accumulo lisosomale, mancano alcuni enzimi idrolitici normalmente presenti. I substrati di tali enzimi si accumulano nei lisosomi, interferendo con le attività cellulari. Un esempio è la malattia di Tay-Sachs (vedi Capitolo 16 ); nelle cellule cerebrali degli individui affetti non viene degradato un normale lipide, provocando così ritardo mentale, cecità e morte prima dei 4 anni di età.

## I vacuoli sono grandi sacche piene di liquido con svariate funzioni

I lisosomi sono stati individuati nella maggior parte delle cellule animali, mentre la loro presenza nelle cellule di piante e funghi non è mai stata dimostrata. Molte delle funzioni proprie dei lisosomi nelle cellule animali vengono svolte nelle cellule vegetali da un unico grande sacco membranoso, detto vacuolo . La membrana del vacuolo, che fa parte del sistema di endomembrane, è detta tonoplasto . Il termine vacuolo, che significa "vuoto", si riferisce al fatto che questi organelli non hanno una struttura interna. Sebbene i termini vacuolo e vescicola vengano spesso usati come sinonimi, generalmente i vacuoli sono strutture di dimensioni maggiori, talvolta formatesi dalla fusione di molte vescicole.

I vacuoli svolgono un ruolo importante nella crescita e nello sviluppo delle piante. Le cellule vegetali non mature sono generalmente di piccole dimensioni e contengono molti piccoli vacuoli. Man mano che l'acqua si accumula in questi vacuoli, essi tendono a fondersi formando un unico grande vacuolo centrale. La cellula vegetale cresce di dimensioni soprattutto attraverso l'aggiunta di acqua a questo vacuolo centrale. Un vacuolo centrale può occupare fino al 90% del volume di una cellula vegetale e contenere acqua, sostanze di riserva, sali, pigmenti e rifiuti ( Figg. 4-7 e 4-9 ). Il vacuolo può anche funzionare da compartimento per l'accumulo di composti inorganici o di altre molecole, quali proteine, nei semi.



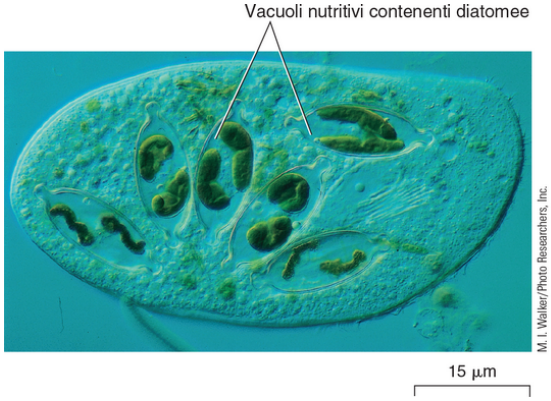

←FIGURA 4-17 *Lisosomi*
I lisosomi sono le vescicole scure visibili in questa immagine MET. Questi compartimenti separano gli enzimi digestivi dal resto della cellula. I lisosomi primari gemmano dal complesso del Golgi. Dopo che il lisosoma è venuto a contatto con il materiale da digerire, viene indicato come lisosoma secondario. Le vescicole di grandi dimensioni mostrate in questa figura sono lisosomi secondari contenenti materiali di origine diversa in fase di digestione.

Poiché il vacuolo contiene un'elevata concentrazione di soluti (materiali disciolti), accumula acqua e preme contro la parete cellulare. Questa pressione idrostatica, detta *pressione di turgore*, è responsabile di gran parte della forza meccanica delle cellule vegetali. Il vacuolo è

importante anche per il mantenimento dell'omeostasi. Ad esempio, contribuisce a mantenere valori appropriati di pH mediante l'accumulo di un eccesso di ioni idrogeno.
Le piante sono prive di strutture in grado di eliminare i prodotti metabolici di scarto, che sono tossici. I vacuoli delle cellule vegetali, sono simili ai lisosomi, in quando contengono enzimi idrolitici e degradano prodotti di scarto e organuli o altri componenti cellulari inutili. Questi prodotti possono essere riciclati nel vacuolo, oppure aggregarsi a formare piccoli cristalli all'interno del vacuolo stesso. Alcuni composti tossici per gli erbivori possono essere accumulati nei vacuoli delle cellule vegetali a scopo difensivo.
I vacuoli sono presenti anche in diverse cellule animali e nei protisti unicellulari, come i protozoi. La maggior parte dei protozoi possiede vacuoli nutritivi che si fondono con i lisosomi in modo tale che il cibo venga digerito ( FIG. 4-18 ). Alcuni protozoi hanno anche dei vacuoli contrattili che permettono alla cellula di eliminare l'acqua in eccesso (Capitolo 26).

## I perossisomi metabolizzano composti organici di piccole dimensioni

I perossisomi sono organuli rivestiti da membrana che contengono enzimi in grado di catalizzare quelle reazioni metaboliche nelle quali l'idrogeno è trasferito dai vari composti all'ossigeno ( FIG. 4-19 ). Il nome perossisomi deriva dal fatto che durante queste reazioni si forma perossido di idrogeno ($H_2O_2$), che viene utilizzato per detossificare determinati composti. Un eccesso di perossido di idrogeno è tossico per la cellula. I perossisomi contengono l'enzima catalasi, che è in grado di scindere rapidamente il perossido di idrogeno in eccesso in acqua e ossigeno, rendendolo innocuo.




←FIGURA 4-18 *Immagine al microscopio ottico di vacuoli nutritivi*
Questo protista, Chilodonella, ha ingerito diversi protisti fotosintetici di piccole dimensioni detti diatomee (aree scure), che sono stati racchiusi all'interno di vacuoli nutritivi. Dal numero di diatomee che sono state ingerite da questa cellula, si potrebbe evincere che la Chilodonella sia piuttosto vorace.

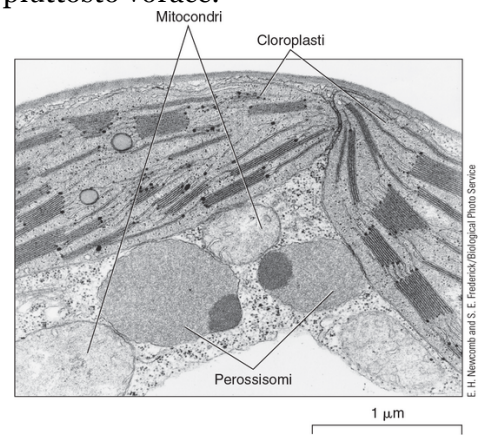



FIGURA 4-19→
*Perossisomi*
In questa immagine MET di una cellula di foglia di tabacco (Nicotiana tabacum) i perossisomi sono strettamente associati ai cloroplasti e ai mitocondri. Questi organuli possono cooperare nell'espletamento di alcuni processi metabolici.

I perossisomi si trovano in gran numero in tutte quelle cellule che sintetizzano, immagazzinano o degradano i lipidi. Una delle loro funzioni principali è la degradazione degli acidi grassi. Inoltre, essi sintetizzano alcuni fosfolipidi che compongono la guaina isolante delle cellule nervose. Infatti, alcuni disordini neurologici derivano dalla mancanza di tale funzione perossisomale. Mutazioni che causano anomalie nella sintesi dei lipidi di membrana a livello dei perossisomi sono associate ad alcune forme di ritardo mentale.
Quando le cellule di lievito vengono fatte crescere in un mezzo ricco di alcol, esse producono dei grandi perossisomi contenenti un enzima in grado di degradare l'alcol. I perossisomi delle cellule renali ed epatiche umane detossificano determinati composti tossici, incluso l'etanolo, l'alcol contenuto nelle bevande alcoliche.
Nei semi delle piante esistono dei perossisomi specializzati, i gliossisomi, che contengono enzimi in grado di trasformare i grassi immagazzinati in zuccheri. Gli zuccheri sono utilizzati dalle piante giovani come fonte di energia e come componenti per la sintesi di altri composti. Le cellule animali, non possedendo i gliossisomi, non possono trasformare gli acidi grassi in zuccheri.

## I mitocondri e i cloroplasti sono organuli in grado di trasformare l'energia

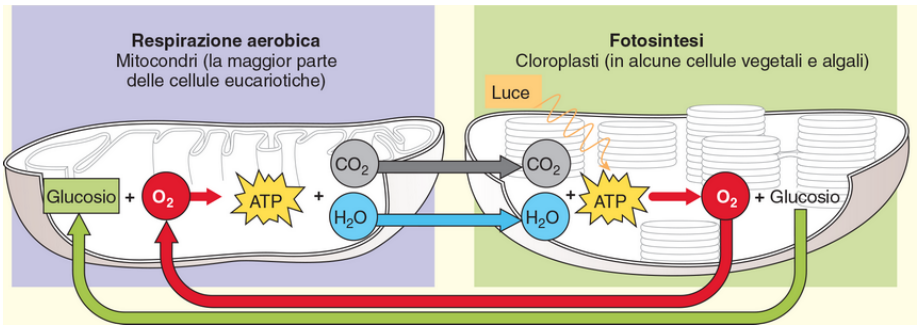
Quando una cellula assume energia dall'ambiente che la circonda, questa si trova generalmente sotto forma di energia chimica contenuta nelle molecole di cibo (come il glucosio) o sotto forma di energia luminosa. Questi tipi di energia devono essere entrambi convertiti in forme che possano essere meglio utilizzate dalle cellule. Alcuni di questi processi di conversione avvengono nel citosol, altri invece nei mitocondri e nei cloroplasti, organelli che facilitano la conversione dell'energia da una forma ad un'altra.
L'energia chimica viene comunemente conservata nella molecola di ATP. A questo proposito, è opportuno ricordare quanto detto nel Capitolo 3 , cioè che l'energia chimica dell'ATP può essere utilizzata dalla cellula per far procedere diverse reazioni chimiche. Nella FIGURA 4-20 sono riassunte le principali attività dei

mitocondri, presenti in quasi tutte le cellule eucariotiche, e dei cloroplasti, presenti solo nelle alghe e in alcune cellule vegetali.

I mitocondri e i cloroplasti si accrescono e si riproducono autonomamente. Essi contengono piccole quantità di DNA che codificano per alcune loro proteine. Tali proteine sono sintetizzate dai ribosomi dei mitocondri o dei cloroplasti. È interessante sottolineare che questi ribosomi sono simili a quelli dei procarioti. L'esistenza di un insieme separato di ribosomi e di molecole di DNA nei mitocondri e nei cloroplasti e le dimensioni simili a quelle di molti batteri sono da supporto alla teoria endosimbiontica (discussa nei Capitoli 21 e 26; vedi Figg. 21-8 e 26-2 ). Secondo tale teoria, i mitocondri e i cloroplasti si sarebbero evoluti a partire da organismi procariotici che si stabilirono all'interno di cellule eucariotiche più grandi, perdendo infine la capacità di funzionare come organismi autonomi.

## I mitocondri producono ATP attraverso la respirazione cellulare

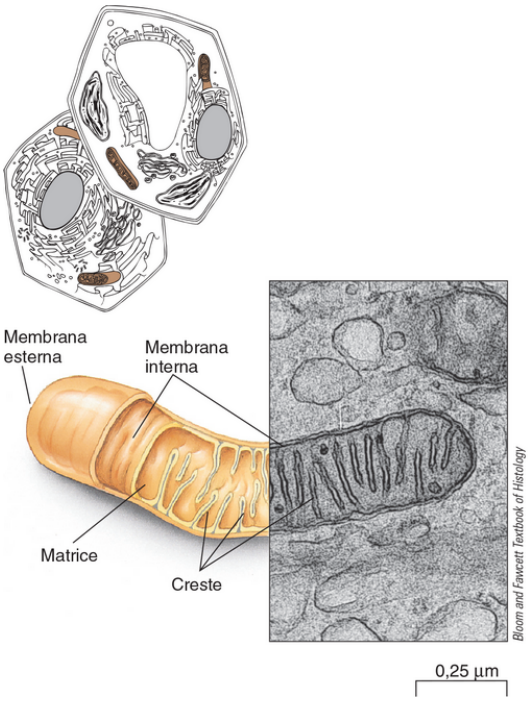
Virtualmente, tutte le cellule eucariotiche (appartenenti ad animali, piante, funghi e protisti) contengono i mitocondri . Questi organuli complessi sono la sede della respirazione aerobica , un processo che richiede ossigeno e che consiste in una serie di reazioni che trasformano l'energia chimica presente nel cibo in ATP (vedi Capitolo 8 ). Durante la respirazione aerobica, gli atomi di ossigeno e di carbonio vengono rimossi dalle molecole di cibo, come il glucosio, e convertiti in anidride carbonica ed acqua.




**PUNTO CHIAVE** I mitocondri e i cloroplasti convertono l'energia in forme utilizzabili dalle cellule.

FIGURA 4-20 Respirazione cellulare e fotosintesi
Nella respirazione cellulare, che avviene nei mitocondri di tutte le cellule eucariotiche, l'energia chimica del glucosio viene trasformata in energia chimica sotto forma di ATP. La fotosintesi, che avviene nei cloroplasti delle cellule vegetali ed algali, converte l'energia luminosa in ATP e in altre forme di energia chimica. Questa energia viene utilizzata per sintetizzare glucosio a partire da anidride carbonica e acqua.

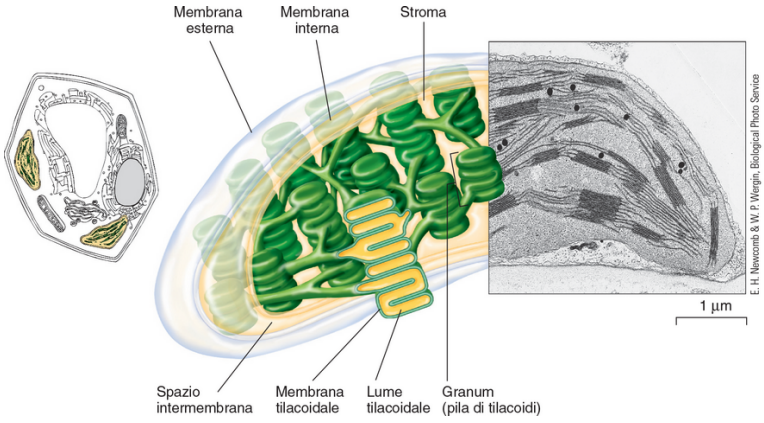
I mitocondri sono più numerosi nelle cellule molto attive, che richiedono grandi quantità di energia: una sola cellula epatica ne può contenere più di 1.000! I mitocondri hanno dimensioni variabili che vanno da 2 a 8 μ m di lunghezza, sono in grado di cambiare forma e dimensioni molto rapidamente e si replicano per divisione.
Ciascuno di essi è circondato da una doppia membrana che dà origine a due compartimenti distinti : lo spazio intermembrana , che si viene a formare tra le membrane interna ed esterna, e la matrice , che è il compartimento circondato dalla membrana interna e contiene gli enzimi che degradano le molecole alimentari e convertono la loro energia in altre forme di energia chimica ( FIG. 4-21 ; vedi Capitolo 8 per una descrizione più dettagliata della struttura mitocondriale).
La membrana mitocondriale esterna è liscia e permette il passaggio di molte molecole di piccole dimensioni. Al contrario, la membrana mitocondriale interna è selettivamente permeabile, può essere cioè attraversata solo da alcuni tipi di molecole. Tale membrana è ripiegata per formare estroflessioni, chiamate creste mitocondriali , che si estendono all'interno della matrice. Le creste aumentano enormemente la superficie della membrana mitocondriale interna, fornendo un'area in cui avvengono le reazioni che trasformano l'energia chimica delle molecole di cibo in energia dell'ATP. La membrana contiene tutti gli enzimi e altre proteine necessarie per queste reazioni.
I mitocondri giocano un ruolo molto importante nella morte cellulare programmata, o apoptosi . Al contrario della necrosi , che rappresenta la morte cellulare non controllata e che causa l'infiammazione e danneggia altre cellule, l'apoptosi è parte dello sviluppo normale e del bilanciamento del numero cellulare. Per esempio, durante la metamorfosi del girino a rana, le cellule della coda del girino devono morire. Durante lo sviluppo umano, le dita della mano sono unite da membrane finché il tessuto fra le dita non viene distrutto mediante apoptosi. L'apoptosi avviene anche nell'adulto. Per esempio, le cellule dello strato superiore della pelle e della parete intestinale sono continuamente distrutte e sostituite da nuove cellule.




←FIGURA 4-21 *Mitocondri*
La respirazione aerobica avviene all'interno del mitocondrio. Nella fotografi a al microscopio elettronico a trasmissione, così come nel disegno, sono ben evidenti le creste; il disegno evidenzia le relazioni tra le membrane mitocondriali interna ed esterna.

I mitocondri possono indurre la morte cellulare in modi diversi: possono interferire con il metabolismo energetico o attivare enzimi che mediano la distruzione cellulare. Quando un mitocondrio viene danneggiato, nella sua membrana si aprono grossi pori che causano il rilascio nel citoplasma del citocromo c, una proteina importante nella produzione di energia. Il citocromo c induce l'apoptosi attivando un gruppo di enzimi noti come caspasi , che degradano componenti vitali della cellula. Un'inappropriata inibizione dell'apoptosi può contribuire allo sviluppo di diverse patologie, tra cui il cancro. D'altro canto una eccessiva attivazione dell'apoptosi nel cervello può causare la morte di cellule nervose e la drastica riduzione del numero di cellule indispensabili, associate alla malattia di Alzheimer, al morbo di Parkinson e all'ictus. Le mutazioni che favoriscono l'apoptosi potrebbero rappresentare un meccanismo importante nell'invecchiamento dei mammiferi. Le industrie farmaceutiche stanno tentando di sviluppare farmaci in grado di bloccare l'apoptosi. Tuttavia, la dinamica cellulare è estremamente complessa e il blocco dell'apoptosi potrebbe portare ad un effetto peggiore, come la necrosi.
In una cellula di mammifero, ciascun mitocondrio contiene da 5 a 10 molecole identiche di DNA circolare che costituiscono l'1% del DNA totale della cellula. Le mutazioni nel DNA mitocondriale avvengono con una frequenza maggiore di quelle del DNA nucleare e sono state associate ad alcune malattie genetiche, che includono una forma giovanile di cecità e certi tipi di degenerazione muscolare. I mitocondri possono anche avere effetti sulla salute e sull'invecchiamento a causa della perdita di elettroni. Questi elettroni formano radicali liberi, che risultano tossici e molto reattivi in quanto contengono elettroni spaiati. Il loro legame con altri composti interferisce con le normali funzioni cellulari.

FIGURA 4-22
*Il cloroplasto, l'organulo della fotosintesi*
L'immagine MET mostra parte di un cloroplasto di una cellula di foglia di granoturco. La clorofi lla e gli altri pigmenti fotosintetici si trovano nelle membrane tilacoidali. Un granum è stato sezionato per mostrare il lume tilacoidale. La membrana interna del cloroplasto può essere o non essere collegata direttamente alla membrana tilacoidale.




## I cloroplasti trasformano l'energia luminosa in energia chimica attraverso la fotosintesi

Alcune cellule di piante ed alghe effettuano la fotosintesi , una serie complessa di reazioni in cui l'energia luminosa viene trasformata nell'energia chimica del glucosio e di altri carboidrati. I cloroplasti contengono i pigmenti verdi, le clorofille , che intrappolano l'energia luminosa necessaria per la fotosintesi. I cloroplasti contengono anche i carotenoidi , pigmenti gialli ed arancioni in grado di assorbire la luce (vedi Capitolo 3 ). Un'alga unicellulare può avere un unico grande cloroplasto, mentre la cellula di una foglia può contenerne da 20 a 100. I cloroplasti tendono ad avere dimensioni maggiori rispetto ai mitocondri, con lunghezze che vanno generalmente da circa 5 a 10 o più pm.

I cloroplasti sono strutture a forma di disco e, come i mitocondri, hanno un complesso sistema di membrane ripiegate ( FIG. 4-22 ; vedi il Capitolo 9 per una descrizione più dettagliata della struttura). Due membrane, separate da un piccolo spazio, isolano il cloroplasto dal citosol. La membrana interna racchiude uno spazio pieno di liquido detto stroma , che contiene gli enzimi necessari per la produzione di carboidrati da anidride carbonica e acqua, utilizzando l'energia solare. Un sistema di membrane, sospeso nello stroma, consiste di un gruppo di sacche appiattite a forma di disco interconnesse, dette tilacoidi . I tilacoidi sono disposti in pile dette grana (sing., granum).

Le membrane tilacoidali formano un terzo compartimento all'interno dei cloroplasti, il lume tilacoidale . Le membrane tilacoidali, nelle quali si trova la clorofilla, sono simili alle membrane interne dei mitocondri, in quanto sono anch'esse coinvolte nella produzione di ATP. L'energia solare intrappolata dalle molecole di clorofilla viene utilizzata per eccitare gli elettroni, la cui energia viene usata per sintetizzare molecole di ATP e di altri composti che trasferiscono energia chimica.

I cloroplasti rappresentano uno dei tanti tipi di plastidi , i quali producono ed immagazzinano sostanze di riserva nelle cellule vegetali ed algali. Tutti i plastidi si sviluppano a partire da proplastidi, organuli precursori che si trovano in alcune cellule vegetali non specializzate ed in particolare nei tessuti in fase di crescita. A seconda delle funzioni specifiche che queste cellule avranno in futuro, i proplastidi con la maturazione potranno trasformarsi in un gran numero di plastidi maturi specializzati. Si tratta di organuli molto versatili; infatti, in condizioni particolari, anche i plastidi maturi possono trasformarsi da una forma ad un'altra.

In seguito ad esposizione alla luce, i proplastidi sono stimolati a produrre cloroplasti. I cromoplasti contengono i pigmenti che conferiscono a frutta e fiori i loro colori caratteristici, attrattiva per gli animali impollinatori o dispersori di semi. I leucoplasti sono plastidi non pigmentati; tra questi possiamo citare gli amiloplasti (vedi FIG. 3-9 ), che immagazzinano amido nelle cellule di diversi semi, radici e tuberi (ad esempio, le patate).

**Verifica**

- In cosa differiscono la struttura e la funzione del RE rugoso e del RE liscio?
- Quali sono le funzioni del complesso del Golgi?
- A quale sequenza di eventi va incontro una proteina che deve essere sintetizzata e poi secreta dalla cellula?
- Quali sono le analogie tra mitocondri e cloroplasti? E le differenze?
- Disegnate un cloroplasto e un mitocondrio ed indicatene le varie parti.

## 4.6 IL CITOSCHELETRO

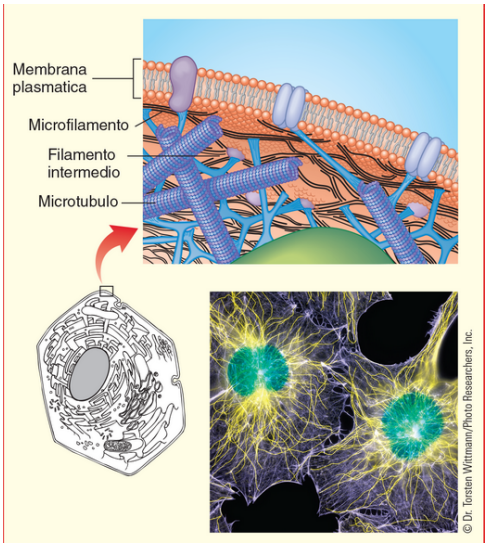
### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

12. Descrivere la struttura e le funzioni del citoscheletro.
13. Paragonare ciglia e flagelli e descriverne le funzioni.

Osservando la crescita di cellule in laboratorio, si può vedere che queste cambiano di forma e, in molti casi, si spostano. La forma delle cellule e la loro capacità di muoversi sono in gran parte determinate dal citoscheletro , che è costituito da una densa rete di fibre proteiche ( FIG. 4-23 ). Il citoscheletro, oltre a fornire supporto meccanico, serve per il trasporto di materiali all'interno della cellula e nella divisione cellulare.
Il citoscheletro è altamente dinamico e cambia continuamente. È costituito essenzialmente da tre tipi di filamenti proteici: i microtubuli, i microfilamenti e i filamenti intermedi. Sia i microfilamenti che i microtubuli sono fibre formate da subunità proteiche globulari simili a perle che possono essere rapidamente assemblate e disassemblate. I filamenti intermedi sono costituiti da subunità proteiche fibrose e sono più stabili dei microtubuli e dei microfilamenti.

### I microtubuli sono cilindri cavi

I microtubuli , i filamenti più spessi del citoscheletro, hanno un diametro di circa 25 nm e possono arrivare alla lunghezza di diversi micrometri. Oltre a svolgere un ruolo strutturale nella formazione del citoscheletro, queste strutture estremamente dinamiche sono coinvolte nel movimento dei cromosomi durante la divisione cellulare. Essi, inoltre, fungono da binari per diversi movimenti intracellulari e costituiscono i principali componenti strutturali delle ciglia e dei flagelli - strutture specializzate utilizzate per i movimenti cellulari.

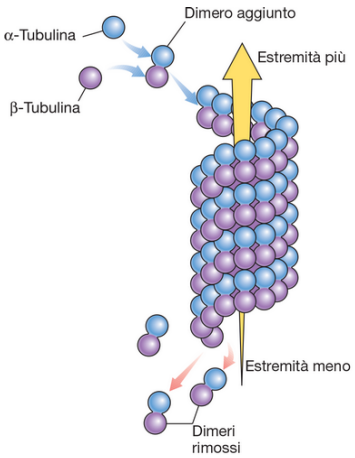



**PUNTO CHIAVE** Il citoscheletro è costituito da reti di diversi tipi di fibre che sostengono la cellula e sono *importanti nel movimento cellulare*

FIGURA 4-23 *Il citoscheletro*
Le cellule eucariotiche posseggono un citoscheletro costituito da reti di fi bre diverse, tra cui i microtubuli, i microfi lamenti e i fi lamenti intermedi. Il citoscheletro determina la forma della cellula, l'ancoraggio degli organuli e i rapidi cambiamenti che si verificano quando la cellula si muove. Nella micrografi a ottica a fluorescenza è visibile il citoscheletro di due fi broblasti (microtubuli in giallo; microfi lamenti in blu; nuclei in verde).

I microtubuli sono costituiti da due proteine molto simili tra loro: α – e β – tubulina . Queste proteine si combinano tra loro per formare un dimero (ricordate dal Capitolo 3 che un dimero si forma in seguito all'associazione di due unità semplici simili tra loro, dette monomeri). Un microtubulo si allunga per addizione di dimeri di tubulina ( FIG. 4-24 ). I microtubuli possono essere disassemblati in seguito a rimozione dei dimeri, che possono quindi essere riciclati per formare altri microtubuli in aree diverse della cellula. I microtubuli possiedono una polarità e le loro due estremità sono denominate più e meno. L'estremità più si allunga più rapidamente.

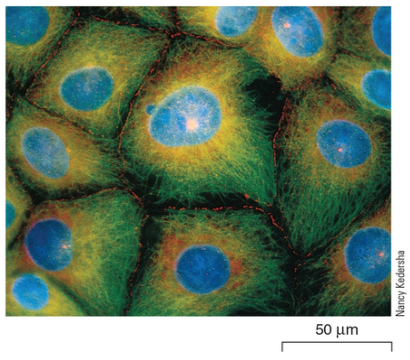
FIGURA 4-24→
*Organizzazione dei microtubuli*




**(a)** Microtubuli vengono a formarsi all'interno della cellula per aggiunta di dimeri di $\alpha$-tubulina e $\beta$-tubulina ad una estremità del cilindro cavo. È da notare che il cilindro possiede una polarità. L'estremità rappresentata nella parte alta della figura è quella a crescita rapida, o estremità più; quella opposta è l'estremità meno. Per ogni giro di spirale sono necessari tredici dimeri.

Diverse proteine associate ai microtubuli (MAP) sono state identificate e classificate in due gruppi: MAP strutturali e MAP motrici. Le MAP strutturali aiutano a regolare l'assemblaggio dei microtubuli e poi legano con legami crociati i microtubuli ad altri polimeri del citoscheletro. Le MAP motrici utilizzano l'energia contenuta nell'ATP per generare movimento.
I ricercatori stanno studiando i meccanismi mediante i quali gli organuli ed altri materiali si muovono nella cellula. Le cellule nervose hanno lunghe estensioni, chiamate assoni, che trasmettono i segnali ad altre cellule nervose, a cellule muscolari o a cellule che producono ormoni. Data la sua lunghezza e la sua accessibilità e poiché altre cellule hanno meccanismi simili, i ricercatori hanno usato l'assone come sistema modello per studiare il trasporto di organuli nella cellula. I mitocondri, le vescicole di trasporto e secretorie ed altri organuli si attaccano ai microtubuli, che fungono da binari lungo i quali questi possono spostarsi.

Una proteina motrice chiamata chinesina muove gli organuli verso l'estremità positiva dei microtubuli ( FIG. 4-25 ). La dineina , un'altra proteina motrice, trasporta gli organuli nella direzione opposta, cioè verso l'estremità meno. Questo è detto trasporto retrogrado e richiede anche un complesso proteico detto dinactina. La dinactina è una proteina adattatrice che lega la dineina al microtubulo e all'organulo. Talvolta, ad esempio durante il trasporto dei perossisomi, chinesine e dineine possono cooperare.




**(b)** Immagine al microscopio ottico a fluorescenza confocale in cui i microtubuli sono visibili in verde. Un centro di organizzazione dei microtubuli (*macchia rosa*) è visibile accanto o sopra buona parte dei nuclei cellulari (*blu*).

## Centrosomi e centrioli svolgono un ruolo nella divisione cellulare

I microtubuli, per espletare la loro funzione strutturale o partecipare al movimento delle cellule, si devono ancorare ad altre parti della cellula.
Nelle cellule che non si stanno dividendo, l'estremità meno dei microtubuli appare ancorata ad una regione detta centro di organizzazione dei microtubuli (MTOC, Micro-Tubule-Organizing-Center). Nelle cellule animali, il MTOC principale è il centrosoma , una struttura importante per la divisione cellulare.
In quasi tutte le cellule animali, il centrosoma contiene due strutture dette centrioli ( FIG. 4-26 ). Queste strutture, dette anche strutture 9 × 3, sono disposte ad angolo retto l'una rispetto all'atra e sono costituite da 9 triplette di microtubuli disposte a formare un cilindro cavo. I centrioli vengono duplicati prima della

divisione cellulare e molto probabilmente svolgono un ruolo nell'assemblaggio dei microtubuli. Molte cellule vegetali e fungine hanno un centro di organizzazione microtubulare, ma sono prive di centrioli. Ciò fa pensare che i centrioli non siano essenziali per l'assemblaggio microtubulare, oppure che siano possibili meccanismi di assemblaggio alternativi.
La capacità dei microtubuli di assemblarsi e disassemblarsi rapidamente è evidente durante la divisione cellulare, quando buona parte del citoscheletro sembra dissolversi (vedi Capitolo 10 ). Molte delle subunità di tubulina vengono riassemblate per formare il fuso mitotico, che serve da struttura portante per la distribuzione ordinata dei cromosomi durante la divisione cellulare.

## Ciglia e flagelli sono costituiti da microtubuli

Dalla superficie di molte cellule si proiettano strutture sottili e mobili importanti per il movimento cellulare. Se una cellula pos-siede solo una o poche di queste appendici, e se queste sono relativamente lunghe (circa 200 pm) rispetto alle dimensioni della cellula, si parla di flagelli . Se la cellula ha molte appendici corte (circa 2-10 μ m), queste vengono dette ciglia .
Queste strutture aiutano gli organismi unicellulari e gli organismi pluricellulari di piccole dimensioni a muoversi in ambiente acquoso. Negli animali e in alcune piante, i flagelli costituiscono la coda degli spermatozoi, mentre negli animali le ciglia sono generalmente presenti sulla superficie delle cellule che rivestono i dotti interni dell'organismo (ad esempio, le vie aeree). Le cellule utilizzano le ciglia per muovere i liquidi e le particelle sulla superficie della cellula stessa. I ricercatori hanno dimostrato che le ciglia funzionano anche come antenne della cellula e giocano un ruolo importante nella segnalazione cellulare.
Le ciglia e i flagelli degli eucarioti hanno strutture simili (ma differenti dai flagelli batterici). Sono costituiti entrambi da steli sottili e allungati di forma cilindrica coperti dalla membrana plasmatica. La parte interna dello stelo è costituita da un gruppo di nove paia di microtubuli disposti lungo la circonferenza e due microtubuli non appaiati al centro ( FIG. 4-27 ). Questa disposizione 9 + 2 è tipica di tutte le ciglia e i flagelli degli eucarioti.

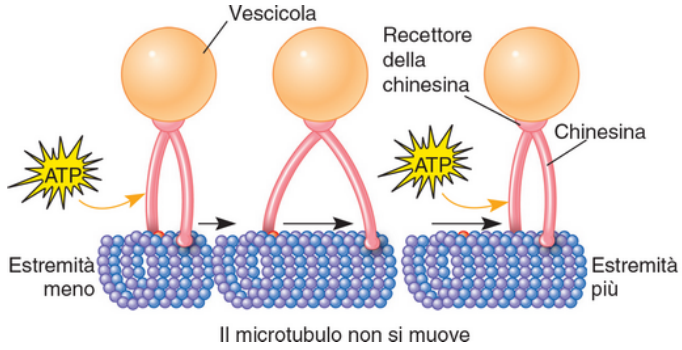


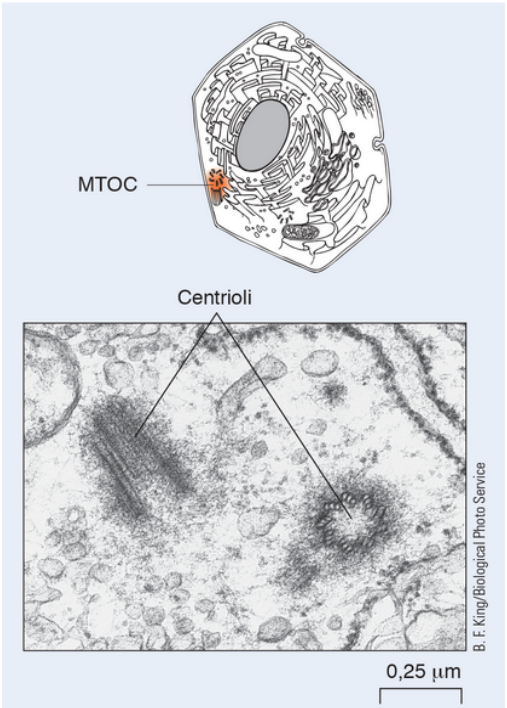

FIGURA 4-25 *Modello ipotetico di un motore di chinesina*
Una molecola di chinesina si attacca ad uno specifico recettore sulla vescicola. L'energia fornita dall'ATP permette alla molecola di chinesina di cambiare conformazione e di "camminare" lungo il microtubulo, portandosi dietro la vescicola. (Le dimensioni relative sono state rese sproporzionate per chiarezza).

I microtubuli si muovono scivolando appaiati gli uni sugli altri. La forza di scivolamento è data dalle subunità di dineina, alimentate dall'ATP. I "bracci" della dineina muovono le coppie di microtubuli, formando e rompendo dei ponti con la coppia adiacente di microtubuli. Ogni coppia di microtubuli "cammina" lungo la coppia adiacente. Proteine flessibili che collegano insieme le coppie di microtubuli impediscono loro di scivolare troppo lontano. Come risultato dell'azione motoria, i microtubuli si piegano dando origine ad un battito ( Fig. 4-27e ). Le ciglia si muovono come le braccia di un nuotatore, alternando il movimento in avanti in una direzione e quello di recupero in direzione opposta, esercitando una forza che è parallela alla superficie cellulare. In contrasto, un flagello si muove come una frusta, esercitando una forza perpendicolare alla superficie cellulare.
Ciascun ciglio o flagello è ancorato alla cellula mediante un corpo basale che ha 9 serie di 3 microtubuli disposte in una struttura a cilindro (struttura 9 × 3). Sembra che il corpo basale sia la struttura organizzatrice delle ciglia e dei flagelli quando questi iniziano a formarsi. Alcuni dati sperimentali hanno dimostrato che il processo di crescita avviene per apposizione di subunità di tubulina alla sommità dei microtubuli piuttosto che alla base.

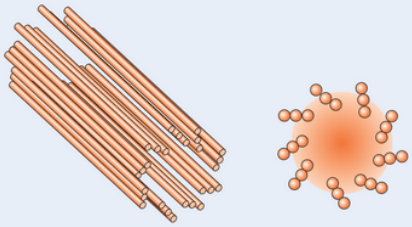
I corpi basali e i centrioli sembrano essere collegati tra loro da un punto di vista funzionale, oltre ad essere simili da un punto di vista strutturale. I centrioli si trovano infatti tipicamente nelle cellule di organismi in grado di produrre cellule flagellate o ciliate; questi comprendono gli animali, alcuni protisti e pochi funghi e piante. Sia i corpi basali che i centrioli si replicano autonomamente.
Quasi tutte le cellule dei vertebrati sono dotate di un ciglio primario , un unico ciglio posizionato sulla superficie cellulare che funziona come un'antenna. Sulla superficie del ciglio primario ci sono dei recettori che legano molecole specifiche localizzate all'esterno della cellula o sulla superficie di altre cellule. Studi recenti indicano che il ciglio primario gioca un ruolo importante in molte vie di segnalazione che regolano la

crescita e il differenziamento cellulare durante lo sviluppo embrionale. Le ciglia primarie, inoltre, contribuiscono a mantenere sani i tessuti. Il malfunzionamento delle ciglia primarie è stato associato a numerose patologie umane, tra cui anomalie dello sviluppo, degenerazione della retina e la sindrome del rene policistico.

FIGURA 4-26→
Centrioli




**(a)** Nell'immagine MET, i centrioli sono sistemati ad angolo retto vicino al nucleo di una cellula animale che non si sta dividendo.



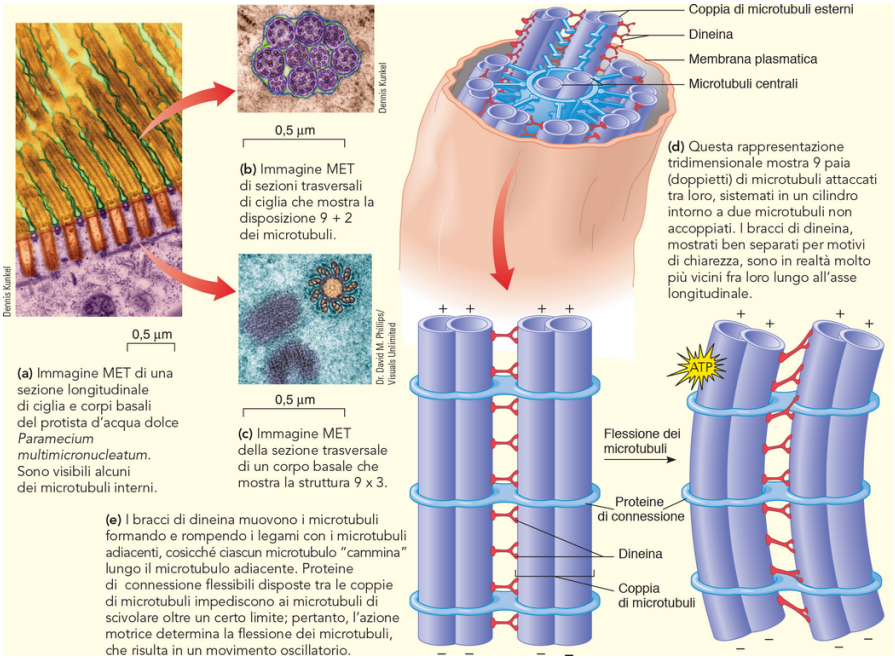
**(b)** È da notare l'arrangiamento 9 × 3 dei microtubuli. Il centriolo a destra è stato tagliato trasversalmente.

## I microfilamenti sono costituiti da catene di actina intrecciate

I microfilamenti , chiamati anche filamenti di actina , sono fibre flessibili e solide del diametro di circa 7 nm. Ciascun microfilamento è costituito da due stringhe intrecciate, costituite da molecole di actina simili a perle ( FIG. 4-28 ). I filamenti di actina si legano l'uno all'altro e ad altre proteine per formare fasci di fibre che conferiscono il supporto meccanico a diverse strutture cellulari.
In molte cellule, si può osservare una rete di microfilamenti subito sotto la membrana plasmatica, una regione definita cortex cellulare . I microfilamenti conferiscono alla cortex cellulare una consistenza gelatinosa rispetto al citosol più interno, che si trova in uno stato più fluido. I microfilamenti presenti nella cortex cellulare determinano la forma della cellula e sono importanti nel suo movimento.

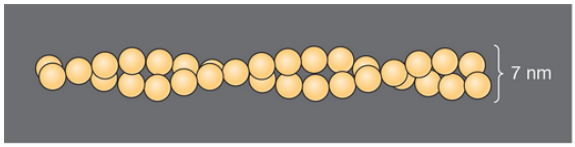
**PUNTO CHIAVE** Un ciglio è costituito da microtubuli in una disposizione 9 + 2 circondati dalla membrana plasmatica; la proteina dineina sposta i microtubuli formando e rompendo ponti trasversali su coppie adiacenti di microtubuli.

FIGURA 4-27
Struttura e movimento delle ciglia

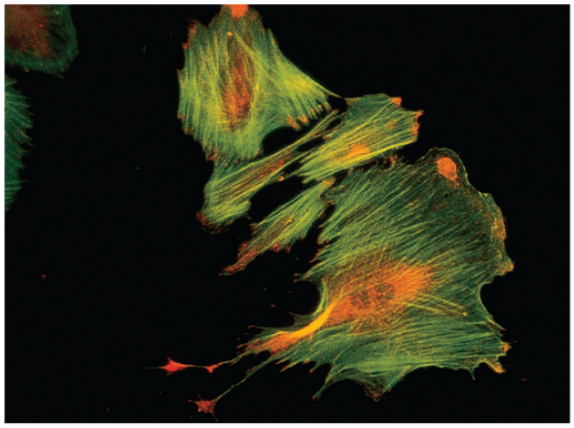



I filamenti di actina non possono contrarsi, ma possono generare movimento attraverso un rapido assemblaggio e disas-semblaggio. Le cellule muscolari hanno due tipi di filamenti specializzati, uno formato principalmente dalla proteina miosina ed un altro composto principalmente dalla proteina actina. L'ATP legato alla miosina fornisce energia per la contrazione muscolare. Quando l'ATP è idrolizzato ad ADP, la miosina si lega all'actina e determina lo scivolamento del microfilamento. Lo scivolamento simultaneo di migliaia di filamenti determina l'accorciamento della cellula muscolare. Pertanto, l'ATP, l'actina e la miosina generano la forza necessaria per la contrazione muscolare.
Nelle cellule non muscolari, l'actina può associarsi con la miosina, formando strutture contrattili che sono coinvolte in vari movimenti cellulari. I filamenti di actina associati alla miosina sono implicati in diverse funzioni, come la divisione cellulare negli animali, dove la contrazione di un anello di actina associata con miosina causa la strozzatura della cellula per dare origine a due cellule figlie (vedi Capitolo 10 ).
Alcune cellule cambiano forma rapidamente in risposta a modifiche nell'ambiente esterno. Le amebe, i globuli bianchi umani e le cellule cancerose sono tra i numerosi tipi cellulari capaci di avanzare lungo una superficie, un processo che comporta cambiamenti di forma. Tali risposte dipendono da segnali esterni che

influiscono sull'assemblaggio di microfilamenti e microtubuli. I filamenti di actina spingono la membrana plasmatica verso l'esterno, formando proiezioni piene di citoplasma dette pseudopodi ("falsi piedi"). Gli pseudopodi aderiscono alla superficie e le contrazioni dei microfilamenti al polo opposto della cellula spingono il citoplasma in avanti, nella direzione dello spostamento. Anche i microtubuli, la miosina ed altre proteine sembrano essere necessarie per l'avanzamento cellulare.
Alcuni tipi di cellule possiedono microvilli, proiezioni della membrana plasmatica che aumentano l'area della superficie della cellula per il trasporto di materiale attraverso la membrana piasmatica. I microvilli contengono fasci di microfilamenti e si estendono o ritraggono come risultato della polimerizzazione e depolimerizzazione delle fibre di actina in essi contenute.



**(a)** Ogni microfilamento è costituito da due catene di molecole di actina intrecciate tra loro.

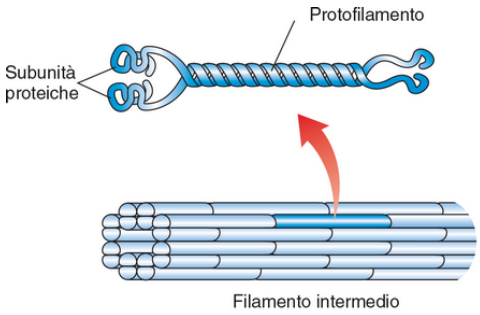



←FIGURA 4-28
*Microfilamenti*

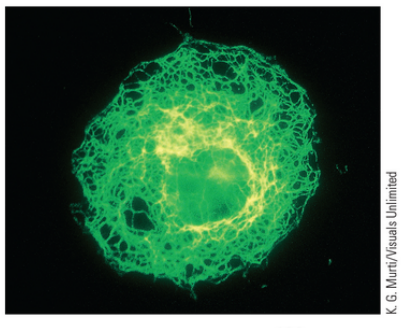
## I filamenti intermedi contribuiscono a stabilizzare la forma cellulare

I filamenti intermedi sono resistenti e flessibili ed hanno un diametro di circa 10 nm ( FIG. 4-29 ). Si pensa che queste fibre forniscano un sostegno meccanico, stabilizzando così la forma della cellula. Infatti, esse sono più numerose in quelle parti della cellula sottoposte a stress meccanico, ed evitano che la cellula si deformi eccessivamente in risposta a forze esterne. I filamenti intermedi sono connessi ad altri tipi di filamenti mediante alcune proteine che formano legami crociati e che quindi mediano l'interazione fra i diversi componenti del citoscheletro.
Tutte le cellule eucariotiche posseggono microtubuli e microfilamenti, mentre solo alcuni gruppi di animali, tra cui i vertebrati, sono forniti di filamenti intermedi; inoltre, essi variano ampiamente per composizione proteica e dimensioni nei diversi tipi cellulari e nei diversi organismi. Esempi di filamenti intermedi sono le cheratine, che si trovano nelle cellule epiteliali della pelle dei vertebrati, e i neurofilamenti delle cellule nervose dei vertebrati.
Alcune mutazioni nei geni che codificano per le proteine dei filamenti intermedi rendono la cellula più fragile e sono state associate a diverse malattie. Ad esempio, nei soggetti affetti da sclerosi amiotrofica laterale (ALS o morbo di Lou Gehrig), una malattia neurodegenerativa, sono stati identificati neurofilamenti anormali nelle cellule nervose che controllano i muscoli. Tale condizione interferisce con il normale trasporto di materiali all'interno delle cellule nervose e determina la degenerazione di tali cellule. La risultante perdita di funzionalità muscolare è normalmente fatale.

FIGURA 4-29
*Filamenti intermedi*→



**(a)** I filamenti intermedi sono bastoncini flessibili di circa 10 nm di diametro. Ogni filamento intermedio è costituito da protofilamenti, che a loro volta sono costituiti da subunità proteiche avvolte ad elica.



**(b)** In questa cellula umana isolata da una coltura tissutale, i filamenti intermedi sono colorati in verde.

## Verifica

- Quali sono le principali funzioni del citoscheletro?
- Quali sono le analogie tra microtubuli e microfilamenti? E le differenze?
- Quali sono le analogie tra ciglia e flagelli? E le differenze?

# 4.7 I RIVESTIMENTI CELLULARI

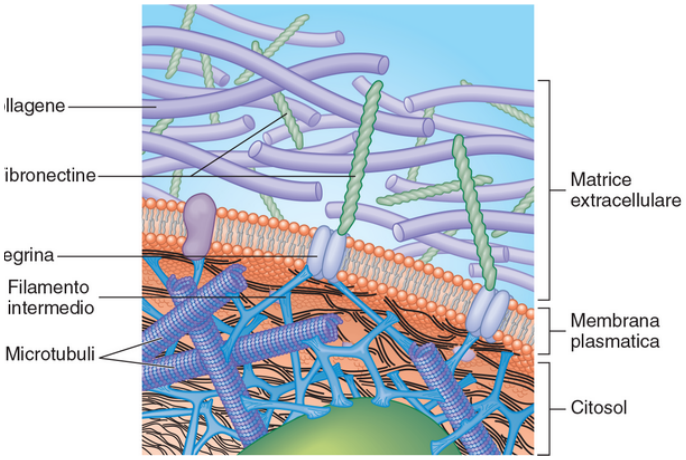
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

14. Descrivere il glicocalice, la matrice extracellulare e la parete cellulare.

Molte cellule sono circondate da un glicocalice formato dalle catene laterali polisaccaridiche delle proteine e dei lipidi che costituiscono la membrana plasmatica. Il glicocalice protegge la cellula e può contribuire a tenere ad una certa distanza le altre cellule.
Alcune molecole del glicocalice permettono alle cellule di riconoscersi tra loro, generare contatti e, in alcuni casi, dare origine ad associazioni (vedi Capitolo 5 ). Altre molecole di questo rivestimento contribuiscono alla resistenza meccanica dei tessuti multicellulari.

Molte cellule animali sono circondate anche da una matrice extracellulare (ECM) da esse secreta, costituita da un gel di carboidrati e proteine fibrose ( FIG. 4-30 ). La principale proteina strutturale della ECM è il collagene, che forma fi bre molto fitt e (vedi Figura 3-22b ). Alcune glicoproteine della ECM, dette fibronectine , contribuiscono all'organizzazione della matrice e fanno sì che la cellula si attacchi ad essa. Le fibronectine si legano a recettori proteici che si estendono dalla membrana plasmatica.
Le integrine sono recettori per la ECM localizzati sulla membrana plasmatica: essi permettono l'adesione tra la ECM e i i fi lamenti intermedi e i microfi lamenti all'interno della cellula. Queste proteine attivano molte vie di segnalazione cellulare che trasmettono informazioni provenienti dalla ECM e controllano i segnali che dall'interno della cellula regolano il differenziamento e la sopravvivenza cellulare. Quando le cellule non sono corrett amente ancorate alla ECM vanno incontro ad apoptosi. Le integrine sono inoltre importanti nell'organizzazione del citoscheletro, facendo assumere alle cellule la loro forma definitiva.
La maggior parte delle cellule batteriche, fungine e vegetali è rivestita da una parete cellulare e da proteine. Le cellule vegetali sono circondate da una spessa parete cellulare che contiene strati multipli del polisaccaride cellulosa (vedi FIG. 3-10 ). Altri polisaccaridi della parete cellulare vegetale formano legami crociati tra i fasci di fibre di cellulosa. Le pareti cellulari forniscono supporto strutturale, proteggono le cellule vegetali dagli organismi patogeni e contribuiscono a tenere l'acqua in eccesso al di fuori delle cellule in modo che queste non scoppino.

La cellula vegetale in fase di crescita secerne una parete cellulare primaria sottile e flessibile, che può stirarsi ed espandersi via via che la cellula aumenta di dimensioni ( FIG. 4-31 ). Una volta che la cellula ha cessato di crescere, viene secreto nuovo materiale di parete che ispessisce e solidifica la parete primaria, oppure si formano strati multipli di una parete cellulare secondaria con composizione chimica differente, che si dispone tra la parete primaria e la membrana plasmatica. Il legno è costituito principalmente da pareti cellulari secondarie. Tra le pareti cellulari primarie di cellule adiacenti si trova la lamella mediana , ovvero uno strato di polisaccaridi adesivi detti pectine . La lamella mediana permett e alle cellule di aderire strett amente le une alle altre. (Per maggiori informazioni sulla parete delle cellule vegetali, vedi la discussione sul sistema dei tessuti fondamentali nel Capitolo 33 ).




←FIGURA 4-30 *La matrice extracellulare* (EC
Le fibronectine, glicoproteine della ECM, si legano alle integrine e ad altri recettori presenti nella membrana plasmatica.

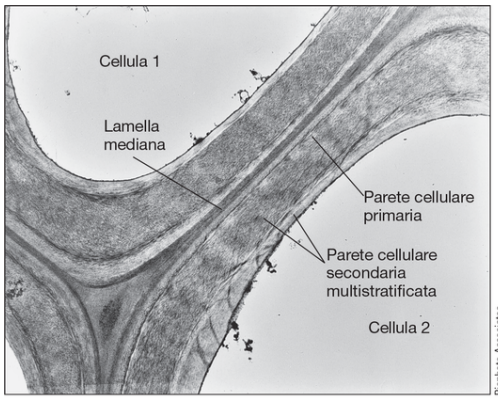
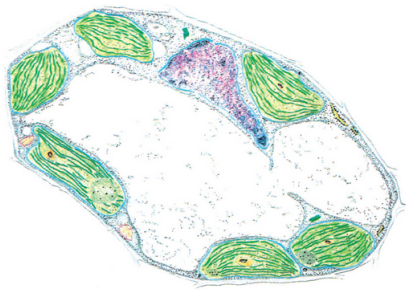



FIGURA 4-31 → *Le pareti delle cellule vegetali*
In questa fotografi a al microscopio elettronico a trasmissione sono mostrate le pareti cellulari di due cellule vegetali adiacenti. Le cellule sono cementate dalla lamella mediana, costituita da uno strato di polisaccaridi adesivi detti pectine. La cellula di una pianta in crescita secerne prima una sottile parete primaria, che è flessibile e può estendersi man mano che la cellula cresce. Una volta che la cellula ha smesso di crescere, all'interno della parete primaria vengono secreti degli strati più spessi che costituiscono la parete secondaria.

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

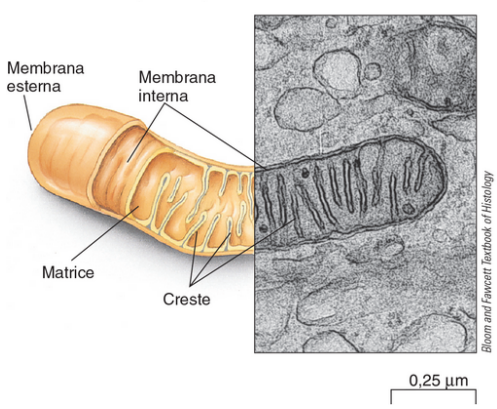
1. Illustrare la teoria cellulare e correlarla all'evoluzione della vita.
    - La teoria cellulare stabilisce che (1) le cellule sono le unità viventi di base di organizzazione e di funzione in tutti gli organismi, e (2) tutte le cellule derivano da altre cellule. Essa spiega come l'antenato di tutte le cellule esistenti oggi possa essere fatto risalire a tempi remoti. L'ipotesi che tutte le cellule viventi si siano evolute a partire da un antenato comune è supportata dalle similarità di base nella loro struttura e nella loro composizione molecolare.
2. Spiegare la relazione esistente tra l'organizzazione della cellula e l'omeostasi.
    - L'organizzazione delle cellule è importante nel mantenimento dell' omeostasi , ovvero di un ambiente interno appropriato.
    - Ogni cellula è rivestita da una membrana piasmatica che le permette di mantenere delle condizioni interne che possono essere molto diverse da quelle dell'ambiente esterno. La membrana plasmatica, inoltre, permette alla cellula di scambiare materiale con l'ambiente esterno. Le cellule hanno numerosi organuli , strutture interne che svolgono funzioni specifiche che contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi.
3. Spiegare la relazione esistente tra le dimensioni della cellula e l'omeostasi.
    - Un fattore critico nel determinare le dimensioni cellulari è il rapporto tra la membrana plasmatica (area superficiale) e il volume cellulare; la membrana plasmatica deve essere grande abbastanza da poter regolare il passaggio di materiali dentro e fuori la cellula. Per questo motivo, la maggior parte delle cellule è microscopica.
    - Le dimensioni e la forma della cellula sono correlate alla sua funzione e sono limitate dalla necessità di mantenere l'omeostasi.
4. Descrivere le metodiche utilizzate dai biologi per lo studio delle cellule, incluse la microscopia e il frazionamento cellulare.
    - I biologi hanno imparato molto sulla struttura cellulare studiando le cellule con i microscopi ottici ed elettronici e utilizzando diverse metodiche chimiche. Il microscopio elettronico ha un potere risolutivo maggiore e permette di vedere dettagli delle strutture cellulari non osservabili con i microscopi convenzionali.
    - I biologi cellulari utilizzano metodiche di frazionamento cellulare per purificare gli organuli ed ottenere informazioni sulle funzioni delle strutture cellulari.
5. Mettere a confronto le caratteristiche generali delle cellule procariotiche ed eucariotiche; confrontare cellule vegetali ed animali.
    - Le cellule procariotiche sono circondate da una membrana plasmatica, mentre hanno poca o nessuna organizzazione membranosa interna. Esse hanno un' area nucleare piuttosto che un nucleo delimitato da membrana. Normalmente, i procarioti hanno una parete cellulare e ribosomi; possono avere flagelli propulsori.
    - Le cellule eucariotiche hanno un nucleo delimitato da membrana e un citoplasma che contiene una varietà di organuli; la componente fluida del citoplasma è il citosol .
    - Le cellule vegetali differiscono da quelle animali in quanto possiedono una parete cellulare rigida, plastidi e grandi vacuoli. Le cellule della maggior parte delle piante sono prive di centrioli.
6. Descrivere tre funzioni delle membrane cellulari.
    - Le membrane dividono la cellula in compartimenti che le permettono di svolgere attività specializzate all'interno di piccole aree del citoplasma, di concentrare molecole e di organizzare reazioni metaboliche. Piccole sacche rivestite da membrana, dette vescicole , trasportano i materiali tra i vari compartimenti.
    - Le membrane sono importanti nell'immagazzinamento e nella conversione dell'energia.
    - Una rete di membrane interagenti forma il sistema di endomembrane.



7. Descrivere la struttura e le funzioni del nucleo.
    - Il nucleo , il centro di controllo della cellula, contiene l'informazione genetica codificata nel DNA. Il nucleo è circondato da un involucro nucleare , che è costituito da una doppia membrana attraversata da pori nucleari che lo mettono in comunicazione con il citoplasma.

- Il DNA all'interno del nucleo si associa a proteine per formare la cromatina , che è organizzata in cromosomi . Durante la divisione cellulare, i cromosomi si condensano diventando visibili come strutture filiformi.
- Il nucleolo è quella regione del nucleo nella quale avvengono la sintesi dell'RNA ribosomale e l'assemblaggio dei ribosomi.

8. Fare una distinzione tra reticolo endoplasmatico liscio e rugoso in termini sia di struttura che di funzione.
    - Il reticolo endoplasmatico (RE) è una rete di membrane ripiegate all'interno del citosol. Il RE liscio è la sede della sintesi dei lipidi, dell'immagazzinamento di ioni calcio e degli enzimi detossificanti.
    - Il RE rugoso ha la superficie esterna ricoperta di ribosomi che sintetizzano polipeptidi. I polipeptidi sintetizzati sul RE rugoso possono essere traslocati nel lume del RE, dove vengono assemblati in proteine e modificati tramite l'aggiunta di un carboidrato o di un lipide. Queste proteine possono poi essere trasferite ad altri compartimenti intracellulari attraverso piccole vescicole di trasporto che gemmano dalle membrane dell'ER.
9. Tracciare il percorso delle proteine sintetizzate nel reticolo endoplasmatico rugoso man mano che vengono processate, modificate e smistate dal complesso del Golgi ed infine trasportate verso le specifiche destinazioni.
    - Il complesso del Golgi è costituito da una serie di sacche membranose appiattite, dette cisterne , che hanno la funzione di processare, smistare e modificare le proteine sintetizzate dal reticolo endoplasmatico. Nel complesso del Golgi avviene anche la formazione dei lisosomi.
    - Le glicoproteine vengono trasferite dal RE alla superficie cis del complesso del Golgi da vescicole di trasporto , che si formano per gemmazione della membrana. Il Golgi modifica i carboidrati e i lipidi che sono stati aggiunti alle proteine all'interno del RE e impacchetta le proteine in vescicole.
    - Le glicoproteine escono dal Golgi attraverso la superficie trans. Il Golgi indirizza alla membrana plasmatica le proteine che devono essere esportate dalla cellula. Altre proteine vengono trasferite ai lisosomi o ad altri organuli citoplasmatici.
10. Descrivere le funzioni dei lisosomi, dei vacuoli e dei perossisomi.
    - I lisosomi contengono enzimi in grado di degradare le strutture cellulari logore, i batteri ed altre sostanze introdotte nella cellula.
    - I vacuoli immagazzinano materiali, acqua e sostanze di rifiuto. Sono responsabili del mantenimento della pressione idrostatica nelle cellule vegetali.
    - I perossisomi sono coinvolti nel metabolismo dei lipidi e nella detossificazione di composti dannosi, come l'etanolo. Essi producono perossido di idrogeno, ma contengono l'enzima catalasi che degrada questo composto tossico.
11. Confrontare le funzioni dei mitocondri e dei cloroplasti e spiegare
    - come viene sintetizzato ATP da ciascuno dei due organelli.
    - I mitocondri , sede della respirazione aerobica, sono organuli rivestiti da doppia membrana. La membrana interna si ripiega formando creste che ne aumentano la superficie.
    - Le creste e il compartimento racchiuso dalla membrana interna, la matrice , contengono enzimi necessari per le reazioni coinvolte nella respirazione aerobica. Durante la respirazione aerobica , i nutrienti vengono degradati in presenza di ossigeno e l'energia liberata viene catturata in forma di ATP, mentre si formano anidride carbonica ed acqua come prodotti secondari.
    - I plastidi sono organuli che producono ed immagazzinano nutrienti nelle cellule di piante ed alghe.
    - I cloroplasti sono plastidi che effettuano la fotosintesi .
    - La membrana interna del cloroplasto racchiude uno spazio ripieno di un fluido, lo stroma.
    - I grana , pile di sacche membranose discoidali dette tilacoidi , sono sospesi nello stroma.
    - Durante la fotosintesi, la clorofilla , il pigmento verde che si trova nelle membrane tilacoidali, intrappola l'energia luminosa. Tale energia è

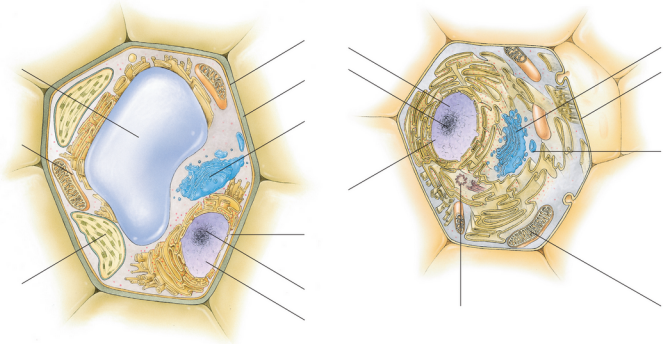


convertita in energia chimica dell'ATP ed utilizzata per sintetizzare carboidrati a partire da anidride carbonica ed acqua.

12. Descrivere la struttura e le funzioni del citoscheletro.
    - Il citoscheletro è una rete interna dinamica costituita da microtubuli, microfilamenti e filamenti intermedi. Il citoscheletro fornisce supporto strutturale ed è implicato in vari tipi di movimento cellulare, compreso il trasporto di materiale all'interno della cellula.
    - I microtubuli sono cilindri cavi assemblati a partire da subunità della proteina tubulina . Nelle cellule che non si stanno dividendo, le estremità meno dei microtubuli sembrano essere ancorate ai centri di organizzazione dei microtubuli (MTOC) . Il principale MTOC delle cellule animali è il centrosoma , che normalmente contiene due centrioli. Ciascun centriolo ha una disposizione dei microtubuli 9 × 3.
    - I microfilamenti , o filamenti di actina, formati da subunità della proteina actina , sono importanti per il movimento cellulare.
    - I filamenti intermedi rafforzano il citoscheletro e stabilizzano la forma della cellula.
13. Paragonare ciglia e flagelli e descriverne le funzioni.
    - Le ciglia e i flagelli sono strutture sottili e mobili che sporgono dalla superficie della cellula e sono implicate nel movimento. Ciascuno di essi ha una disposizione dei microtubuli 9 + 2 ed è ancorato alla cellula per mezzo di un corpo basale , che ha un'organizzazione microtubulare 9 × 3. Le ciglia sono corte, mentre i flagelli sono lunghi.
14. Descrivere il glicocalice, la matrice extracellulare e la parete cellulare.
    - La maggior parte delle cellule è circondata da un glicocalice , o rivestimento cellulare , formato da polisaccaridi che si estendono dalla membrana plasmatica.
    - Molte cellule animali sono circondate anche da una matrice extracellulare (ECM) costituita da carboidrati e proteine. Le fibronectine sono glicoproteine della ECM che si legano alle integrine , recettori proteici della membrana plasmatica.
    - La maggior parte delle cellule di batteri, archaea, funghi e piante è circondata da una parete cellulare costituita da carboidrati. Le cellule vegetali secernono cellulosa ed altri polisaccaridi che formano pareti cellulari rigide.

## AUTOVERIFICHE

1. La capacità di un microscopio di mostrare i dettagli più fini è detta: (a) ingrandimento; (b) potere risolutivo; (c) frazionamento cellulare; (d) microscopia elettronica a scansione; (e) contrasto di fase.
2. La membrana plasmatica si trova: (a) in tutte le cellule; (b) solo nelle cellule procariotiche; (c) solo nelle cellule eucariotiche; (d) solo nelle cellule animali; (e) nelle cellule eucariotiche non vegetali.
3. Informazioni dettagliate sulla forma e le caratteristiche esterne di un campione possono essere ottenute utilizzando: (a) la centrifugazione differenziale; (b) il microscopio a fluorescenza; (c) il microscopio elettronico a trasmissione; (d) il microscopio elettronico a scansione; (e) il microscopio ottico.
4. Quale delle seguenti strutture non si trova nelle cellule procariotiche? (a) La parete cellulare; (b) i ribosomi; (c) l'area nucleare; (d) il nucleo; (e) il flagello.
5. Quale delle seguenti strutture è più strettamente correlata alla sintesi proteica? (a) I ribosomi; (b) il RE liscio; (c) i mitocondri; (d) i microfilamenti; (e) i lisosomi.
6. Quale delle seguenti strutture è più strettamente correlata alla disgregazione dei materiali ingeriti? (a) I ribosomi; (b) il RE liscio;(c) i mitocondri; (d) i microfilamenti; (e) i lisosomi.
7. Quale delle seguenti strutture è più strettamente correlata alla fotosintesi? (a) I corpi basali; (b) il RE liscio; (c) le creste; (d) i tilacoidi; (e) i centri di organizzazione dei microtubuli.
8. Utilizzate i passaggi numerati per scegliere la sequenza che descrive meglio il flusso delle informazioni nelle cellule eucariotiche. (1) DNA nucleare. (2) RNA. (3) Mitocondri. (4) Sintesi proteica. (5) Ribosomi. (a) 1, 2, 5, 4; (b) 3, 2, 5, 1; (c) 5, 2, 3, 1; (d) 4, 3, 2, 1; (e) 1, 2, 3, 4.
9. Utilizzate i passaggi numerati per scegliere la sequenza che descrive meglio il processamento delle glicoproteine nelle cellule eucariotiche. (1) RE. (2) Ribosomi. (3) Superficie cis del Golgi. (4) Superficie trans del Golgi. (5) Vescicola di trasporto. (6) Grana. (a) 1, 6, 2, 3, 4; (b) 2, 1, 3, 4, 5; (c) 1, 2, 4, 3, 5; (d) 2, 1, 4, 3, 5; 2, 1, 4, 5, 1.



10. Quali dei seguenti organuli contengono piccole quantità di DNA e svolgono trasformazioni

energetiche? (a) Microfilamenti e microtubuli; (b) lisosomi e perossisomi; (c) RE e ribosomi; (d) nucleo e ribosomi; (e) mitocondri e cloroplasti.

11. Quale delle seguenti strutture è implicata nel movimento cellulare? (a) I microtubuli; (b) il nucleolo; (c) i grana; (d) il RE liscio; (e) il RE rugoso.
12. Inserite le didascalie negli schemi seguenti che raffigurano la cellula animale e quella vegetale. Com'è correlata la struttura di ciascun organulo alla sua funzione? Utilizzate le Fig. 4-9 e 4-10 per verificare le risposte.

**PENSIERO CRITICO**

1. Perché una cellula eucariotica necessita sia degli organuli membranosi che dei componenti fibrosi del citoscheletro?
2. Descrivete un esempio specifico della correlazione tra struttura cellulare e funzione. (Suggerimento: pensate alla struttura del mitocondrio).
3. Gli esperimenti condotti sull "Acetabularia descritti in questo capitolo suggeriscono che il DNA è molto più stabile rispetto all'RNA messaggero all'interno della cellula; questo è un vantaggio o uno svantaggio per la cellula? Perché? Come può l'Acetabularia vivere per alcuni giorni anche dopo che le è stato rimosso il nucleo?
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Quali sono le implicazioni della teoria cellulare per l'evoluzione degli organismi?
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA. I biologi utilizzano le similarità tra le cellule per ripercorrere la storia evolutiva di vari gruppi di organismi. Spiegate la logica alla base di tale approccio. Cosa suggeriscono tali similarità di struttura e di funzione cellulari relativamente all'origine comune degli organismi? Spiegate.

# Articolo V. Le membrane biologiche 5

L'evoluzione delle membrane biologiche è stato un passo essenziale per l'origine della vita. In seguito, le membrane hanno reso possibile l'evoluzione di cellule complesse; le estese membrane interne degli eucarioti, infatti, formano compartimenti multipli con ambienti specifici per l'espletamento di attività altamente specializzate.

Poiché le proteine di membrane sono molecole che hanno un'importanza critica nell'attività delle membrane cellulari, c'è un grande interesse nella ricerca sulle proteine che le costituiscono. Molte proteine associate alle membrane sono enzimi; altre funzionano nel trasporto dei materiali o nel trasferimento delle informazioni. Altre ancora, note come molecole di adesione cellulare, sono importanti nella connessione delle cellule nei tessuti. Le principali molecole di adesione cellulare nei vertebrati e in molti invertebrati sono le caderine. I geni che codificano le caderine sono stati trovati nei coanoflagellati, gli organismi unicellulari più simili agli animali. Queste molecole sono probabilmente importanti nell'evoluzione degli animali perché permettono alle cellule di aderire le une alle altre e di comunicare tra di loro.

Le caderine sono responsabili del meccanismo di adesione cellula-cellula che permette la formazione di strati pluricellulari. Ad esempio, le caderine formano giunzioni cellulari importanti nel mantenere la struttura dell'epitelio che costituisce la pelle umana (vedi fotografia).

Le caderine sono inoltre coinvolte nel meccanismo di segnalazione intercellulare. L'assenza di queste proteine di membrana è associata all'invasività di alcuni tumori maligni.

Nel Capitolo 4 , abbiamo descritto una varietà di organuli cellulari e come questi interagiscano per permettere l'espletamento delle differenti attività delle cellule. In questo capitolo, ci focalizzeremo sulla struttura e le funzioni della membrana plasmatica che circonda la cellula e delle membrane biologiche che circondano molti organuli. Dapprima esamineremo ciò che è noto sulla composizione e sulla struttura delle membrane biologiche. Discuteremo poi le diverse funzioni essenziali delle membrane cellulari, tra cui il trasporto di diversi materiali, dagli ioni a molecole complesse e batteri, e il trasferimento di informazioni attraverso la membrana. Infine, analizzeremo alcune strutture specializzate che permettono alle membrane di cellule diverse di interagire tra loro. Anche se la maggior parte della trattazione è incentrata sulla struttura e le funzioni delle membrane plasmatiche, molti dei concetti esposti sono applicabili anche ad altre membrane cellulari.

# 5.1 LA STRUTTURA DELLE MEMBRANE BIOLOGICHE

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

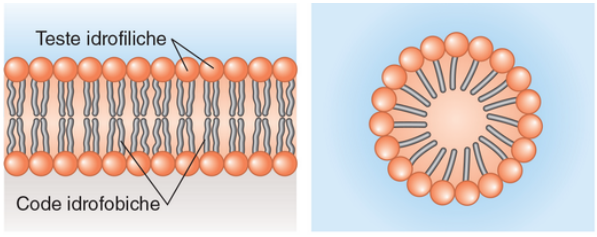
1. Valutare l'importanza delle membrane per l'omeostasi della cellula, sottolineando le loro varie funzioni.
2. Descrivere il modello a mosaico fluido della struttura della membrana cellulare.
3. Spiegare come le proprietà del doppio strato lipidico siano alla base di molte proprietà e funzioni delle membrane cellulari.
4. Spiegare come le proteine di membrana si associno con il doppio strato lipidico e descrivere le loro funzioni.

Per effettuare le numerose reazioni chimiche necessarie per la vita, la cellula deve mantenere un ambiente interno appropriato. Tutte le cellule sono circondate da una membrana plasmatica che le separa fisicamente dall'ambiente esterno e le rende entità distinte. Regolando il passaggio delle sostanze dentro e fuori la cellula, la membrana plasmatica contribuisce a mantenere un ambiente interno compatibile con la vita. Come è stato discusso nel Capitolo 4 , le cellule eucariotiche sono caratterizzate dalla presenza di numerosi organuli delimitati da membrane. Alcuni di questi organulitra cui l'involucro nucleare, il reticolo endoplasmatico, il complesso del Golgi, i lisosomi, le vescicole e i vacuoli – formano il sistema di endomembrane, che si estende in tutta la cellula.

Le membrane biologiche sono strutture complesse e dinamiche, costituite da lipidi e proteine in costante movimento. Le proprietà delle membrane permettono loro di svolgere molteplici funzioni vitali per la cellula. Esse regolano il passaggio dei materiali, suddividono la cellula in compartimenti, fungono da superfici per le reazioni chimiche, aderiscono e comunicano con altre cellule, trasmettono segnali tra l'ambiente esterno e l'interno della cellula. Inoltre, le membrane sono una parte essenziale dei sistemi di trasferimento e di immagazzinamento dell'energia. In che modo le proprietà delle membrane cellulari rendono la cellula in grado di svolgere funzioni così disparate?
Già molto tempo prima dello sviluppo del microscopio elettronico, si sapeva che le membrane erano costituite sia da lipidi che da proteine. Ricerche eseguite negli anni '20 e '30 avevano fornito prove del fatto che il core delle membrane cellulari fosse costituito da lipidi, principalmente fosfolipidi (vedi Capitolo 3 ).

### I fosfolipidi in acqua formano doppi strati

I fosfolipidi sono i principali responsabili delle proprietà fisiche delle membrane biologiche. Ciò è dovuto al fatto che alcuni fosfolipidi hanno caratteristiche uniche, come quella di formare strutture a doppio strato. Un fosfolipide contiene due catene di acidi grassi unite a due dei tre atomi di carbonio di una molecola di glicerolo (vedi Fig. 3-13 ). Le catene degli acidi grassi formano la porzione apolare e idrofobica del fosfolipide. Legato al terzo carbonio del glicerolo vi è un gruppo fosfato carico negativamente e idrofilico, il quale a sua volta è legato ad un gruppo organico polare ed idrofilico. Le molecole di questo tipo, che hanno regioni idrofobiche ed idrofiliche distinte, sono dette molecole antipatiche. Tutti i lipidi che vanno a costituire il core delle membrane biologiche hanno caratteristiche anfipatiche. Poiché una delle estremità di ciascun fosfolipide si combina liberamente con l'acqua, mentre quella opposta non lo fa, l'orientamento più favorevole assunto da queste molecole in acqua risulta essere una struttura a doppio strato ( FIG. 5-1a ). Questa disposizione permette alle teste idrofiliche dei fosfolipidi di associarsi liberamente con l'ambiente acquoso, mentre le catene idrofobiche degli acidi grassi sono relegate all'interno della struttura, lontano dalle molecole d'acqua.




**(a) Fosfolipidi in acqua.** I fosfolipidi in acqua si associano per dare un doppio strato grazie al fatto che sono molecole anfipatiche di forma pressoché cilindrica. Le catene idrofobiche di acidi grassi non sono a contatto con l'acqua, mentre lo sono le teste idrofiliche.

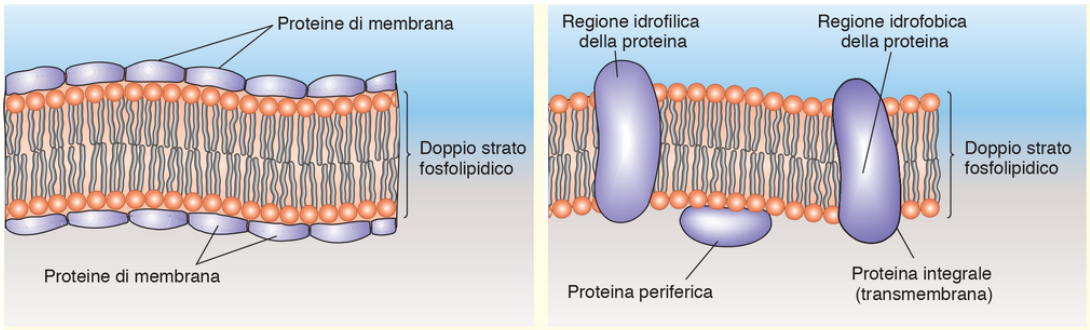
**(b) Detergente in acqua.** Le molecole di un detergente sono molecole anfipatiche di forma grosso modo conica che in acqua si associano formando strutture sferiche.

FIGURA 5-1→
Proprietà dei lipidi in acqua

Le proprietà anfipatiche da sole non bastano a spiegare la capacità dei lipidi di associarsi in un doppio strato. Anche la loro forma riveste una certa importanza. I fosfolipidi tendono ad avere uno spessore uniforme: la loro forma grosso modo cilindrica, assieme alle loro proprietà anfipatiche, è responsabile della formazione del doppio strato. Pertanto, i fosfolipidi regolarmente formano un doppio strato poiché le molecole hanno: (1) due regioni distinte, una fortemente idrofilica ed una fortemente idrofobica; (2) una forma cilindrica che permette loro di associarsi con l'acqua per formare un doppio strato.
Sapete perché i detergenti rimuovono il grasso dalle vostre mani o dai piatti sporchi? Molti detergenti comuni sono molecole anfipatiche, ciascuna contenente una singola catena idrocarburica (come un acido grasso) ad una estremità ed una regione idrofilica all'altra. Queste molecole hanno una forma

approssimativamente conica, con l'estremità idrofilica che forma l'ampia base e la coda idrocarburica rivolta verso il vertice. A causa della loro forma, queste molecole in acqua non si associano in doppi strati, ma tendono invece a formare strutture sferiche ( FIG. 5-1b ). I detergenti sono in grado di "solubilizzare" l'olio perché le molecole di olio si associano alla porzione idrofobica interna delle sfere.

**PUNTO CHIAVE** Il modello di Davson-Danielli è stato quello generalmente accettato fino al 1970, quando i progressi della biologia e della chimica hanno portato a nuove scoperte sulle membrane biologiche, incompatibili con tale modello. Il modello a mosaico fluido risulta coerente con i dati a disposizione.



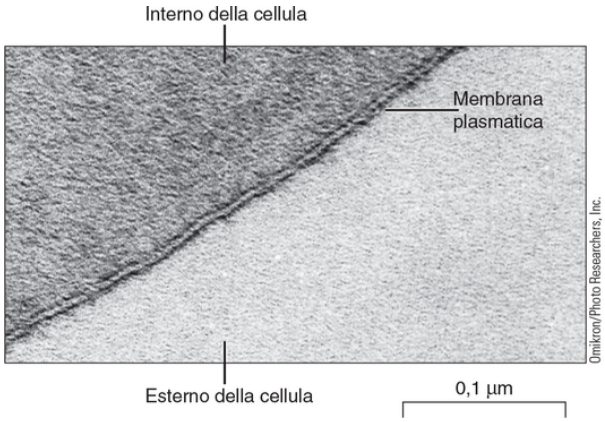

**(a) Il modello di Davson-Danielli.** Secondo questo modello, la membrana può essere assimilata ad un sandwich di fosfolipidi tra due strati proteici. Si è poi visto che questo modello, accettato per molti anni, non era corretto.

**(b) Il modello a mosaico fluido.** Secondo questo modello, la membrana è costituita da un doppio strato lipidico fluido e da un mosaico di proteine associate, in continuo cambiamento.

FIGURA 5-2 Due modelli della struttura della membrana

## Il modello a mosaico fluido spiega la struttura della membrana

Studiando le membrane dei globuli rossi di mammifero e confrontando l'area superficiale della membrana con il numero totale di molecole lipidiche per cellula, i primi ricercatori furono in grado di calcolare che i fosfolipidi dovevano essere sistemati in maniera tale da costituire una membrana non più spessa di due molecole fosfolipidiche. Nel 1935 queste ricerche, insieme ad altre informazioni, permisero a H. Davson e a J.F. Danielli, che lavoravano all'Università di Londra, di proporre un modello nel quale essi ipotizzarono che la membrana potesse essere assimilata ad una sorta di "sandwich" costituito da un *doppio strato lipidico* compreso tra due strati proteici ( FIG. 5-2a ). Questo modello influenzò per oltre 20 anni le successive ricerche sulla membrana. I modelli sono molto importanti nella ricerca biologica; un buon modello non solo spiega i dati disponibili, ma è anche verificabile. Ciò significa che gli scienziati possono utilizzare il modello per elaborare ipotesi che possono essere poi confermate sperimentalmente (vedi Capitolo 1 ).




←FIGURA 5-3 *Fotografi a al microscopio elettronico a trasmissione della membrana plasmatica di un eritrocita di mammifero*
La membrana plasmatica separa il citosol ( regione più scura ) dall'ambiente esterno ( regione più chiara ). Le due linee scure parallele rappresentano le teste idrofi liche dei fosfolipidi, mentre la zona chiara tra esse compresa è costituita dalle code idrofobiche.

Negli anni '50, con lo sviluppo della microscopia elettronica, i biologi cellulari furono in grado di osservare per la prima volta la membrana plasmatica. Una delle osservazioni più interessanti fu che le membrane erano uniformi e sottili. Infatti, la membrana plasmatica ha uno spessore che non supera i 10 nanometri. Il microscopio elettronico rivelò una struttura a tre strati, con due strati scuri separati da uno più chiaro ( FIG. 5-3 ). Questa scoperta sembrava avvalorare il modello a sandwich proteine-lipidi-proteine.

Durante gli anni '60, emerse un paradosso riguardante la disposizione delle proteine. Era universalmente accettato che le proteine di membrana fossero uniformi ed avessero una forma tale che permettesse loro di formare una sorta di involucro sulla superficie cellulare. Purificando le proteine di membrana mediante frazionamento cellulare, si vide che esse erano tutt'altro che uniformi; al contrario, erano di composizione e dimensioni molto variabili. Alcune proteine erano molto più grandi di quanto non si fosse mai pensato. Come potevano queste proteine costituire uno strato superficiale di spessore inferiore a 10 nanometri? In un primo momento, si cercò di modificare il modello ipotizzando che le proteine fossero piatte e di forma estesa, come in una struttura a foglietto β -ripiegato (vedi Fig. 3-20b ).
Fu poi dimostrato che, invece di una struttura a pieghe, molte proteine di membrana avevano una struttura globulare. Studi effettuati su molte proteine di membrana mostrarono che una regione (o dominio) di una

proteina poteva trovarsi su un lato del doppio strato, mentre un'altra regione poteva essere localizzata sul lato opposto. Apparve quindi evidente che, invece di formare uno strato sottile, molte delle proteine di membrana si estendevano attraverso il doppio strato fosfolipidico. Fu quindi dimostrato che le membrane contengono diversi tipi di proteine, di forma e dimensione diverse, che sono associate al doppio strato per formare una struttura a mosaico.

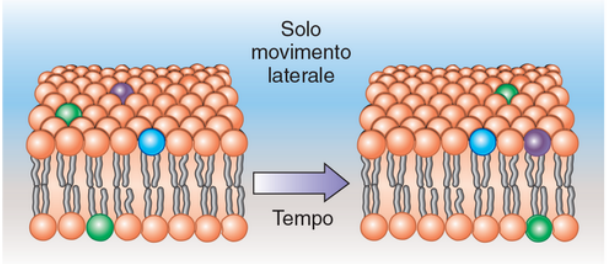



FIGURA 5-4 Fluidità della membrana→
La disposizione ordinata delle molecole di fosfolipidi rende la membrana cellulare un cristallo liquido. Le catene idrocarburiche sono in costante movimento, permettendo così a ciascuna molecola di muoversi lateralmente sulla stessa faccia del doppio strato.

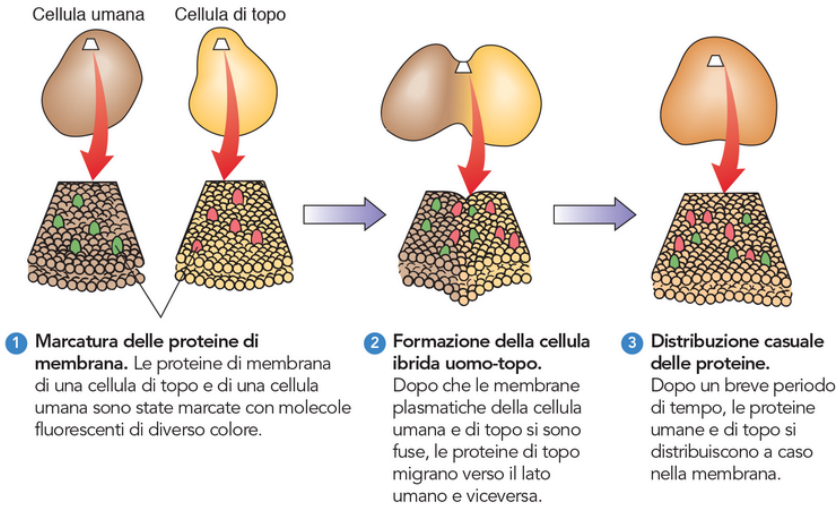
Nel 1972, S. Jonathan Singer e Garth Nicolson, dell'Università della California a San Diego, proposero un modello di struttura della membrana che costituisce la sintesi di tutte le proprietà conosciute delle membrane biologiche. Secondo questo modello a mosaico fluido, le membrane sono costituite da un doppio strato fluido di molecole fosfolipidiche nel quale le proteine sono immerse, o comunque associate, come le tessere di un mosaico. Questo modello a mosaico non è statico, poiché le proteine cambiano continuamente posizione e si muovono come degli iceberg che galleggiano in un mare fluido costituito da fosfolipidi. Tale modello ha dato un grosso impulso alle ricerche in questo campo ed è stato ripetutamente verificato, dimostrandosi in grado di predire con accuratezza le proprietà di molte membrane cellulari. In FIGURA 5-2b è rappresentata la membrana plasmatica di una cellula eucariotica secondo il modello a mosaico fluido; le membrane procariotiche verranno descritte nel Capitolo dedicato.

## Le membrane biologiche sono fluidi bidimensionali

Un'importante proprietà fisica dei doppi strati fosfolipidici è che si comportano come cristalli liquidi. I doppi strati sono simili a cristalli in quanto le molecole lipidiche si organizzano ordinatamente, con le teste rivolte verso l'esterno e le catene di acidi grassi rivolte verso l'interno; inoltre, sono simili ai liquidi in quanto, pur essendo ordinatamente disposte, le loro catene idrocarburiche sono in continuo movimento. Le molecole sono quindi libere di Ruotare e di muoversi lateralmente all'interno di un singolo strato ( FIG. 5-4 ) e tale movimento conferisce al doppio strato le proprietà di un fluido bidimensionale . In condizioni normali, una molecola fosfolipidica può muoversi lungo la superficie di una cellula eucariotica in pochi secondi.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE*: Le molecole immerse in una membrana biologica possono muoversi?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: Le proteine sono in grado di spostarsi lateralmente nella membrana plasmatica.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Larry Frye e Michael Edidin marcarono le proteine di membrana di cellule umane e murine utilizzando molecole fluorescenti di diverso colore per poterle distinguere. Quindi, fusero le cellule umane e quelle di topo per produrre cellule ibride.




←FIGURA 5-5
*Esperimento di Frye ed Edidin*
Fonte: Frye, L. D. e M. Edidin. "La mescolanza rapida di antigeni di superficie cellulare dopo la formazione del topo e di umani eterocarionti." Journal of Cell Science, vol. 7, 319-335, 1970.

RISULTATI E CONCLUSIONI: Dopo un breve periodo di incubazione, le proteine della cellula umana e di quella di topo si erano miscelate sulla superficie della cellula ibrida. Dopo circa 40 minuti, le proteine di ciascuna specie si erano distribuite a caso in tutta la membrana plasmatica dell'ibrido. Questo esperimento dimostrò che le proteine si muovono all'interno della membrana plasmatica.

Le qualità fluido-simili del doppio strato lipidico permettono alle molecole in esso immerse di muoversi lungo il piano della membrana. Ciò fu elegantemente dimostrato da David Frye e da Michael Edidin nel

1970 con esperimenti nei quali essi seguirono il movimento delle proteine di membrana sulla superficie di due cellule fuse tra loro ( FIG. 5-5 ). Quando le membrane plasmatiche di una cellula di topo e di una cellula umana venivano fuse, in pochi minuti le proteine di membrana di ciascuna cellula iniziavano a migrare e ad assumere una distribuzione casuale all'interno della membrana plasmatica che rivestiva le due cellule fuse. Gli esperimenti di Frye e Edidin dimostrarono che la fluidità dei lipidi di membrana permette a molte proteine di muoversi, dando luogo ad una conformazione molto mutevole. Occasionalmente, con l'aiuto di enzimi presenti nella membrana cellulare, le molecole fosfolipidiche si spostano da uno strato all'altro (movimento a flip-flop).
Affinché una membrana possa funzionare adeguatamente, è necessario che i suoi lipidi siano in uno stato di fluidità ottimale. Infatti, se i lipidi sono troppo fluidi, la struttura della membrana ne risulta indebolita. D'altra parte, se il doppio strato lipidico è troppo rigido, risultano inibite diverse funzioni di membrana, come ad esempio il trasporto di alcune sostanze. A temperature normali le membrane cellulari sono fluide, mentre a basse temperature i movimenti delle catene di acidi grassi sono rallentati. Se la temperatura scende ad un punto critico, la membrana è convertita in uno stato di gel più solido.
Alcune proprietà dei lipidi di membrana influenzano la fluidità del doppio strato. Si ricordi dal Capitolo 3 che le molecole sono libere di ruotare intorno ai legami covalenti singoli carbonio-carbonio e, dal momento che nelle catene idrocarburiche la maggior parte dei legami è rappresentata da legami singoli, le catene possono ruotare molto rapidamente e tale movimento aumenta con il crescere della temperatura.
Lo stato fluido della membrana dipende dalla sua componente lipidica. Ognuno di voi avrà sicuramente notato che lasciando il burro fuso a temperatura ambiente, esso solidifica. Gli olii vegetali, invece, a temperatura ambiente rimangono liquidi. Infatti, il burro, come già detto nel Capitolo 3, è un grasso saturo che non ha doppi legami a livello degli acidi grassi che lo compongono. Al contrario, un olio vegetale è polinsaturo ed ha due o più doppi legami nelle sue catene di acidi grassi. I doppi legami fanno sì che nelle molecole si vengano a formare ripiegamenti che impediscono alle catene idrocarburiche di avvicinarsi tra loro ed interagire mediante le forze di van der Waals. In questo modo, i grassi insaturi abbassano la temperatura alla quale solidificano sia l'olio sia i lipidi di membrana.

**PUNTO CHIAVE** Secondo il modello a mosaico fluido, la membrana cellulare è costituito da un doppio strato di fosfolipidi fluido in cui le proteine si muovono come degli iceberg nel mare. Secondo il modello a mosaico fluido, la membrana cellulare è costituito da un doppio strato di fosfolipidi fluido in cui le proteine si muovono come degli iceberg nel mare.

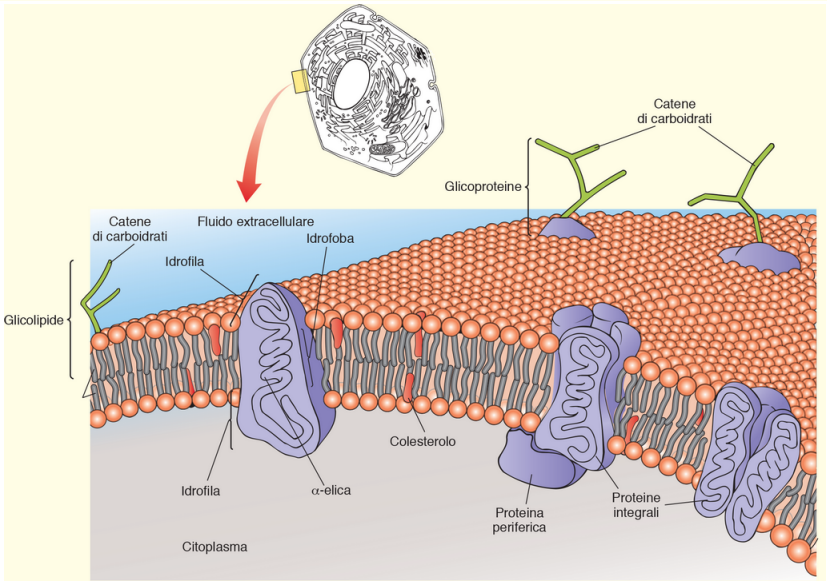



FIGURA 5-6→
*Struttura dettagliata della membrana plasmatica*
Anche se il doppio strato lipidico è costituito principalmente da fosfolipidi, vi si trovano altri lipidi, come il colesterolo e i glicolipidi. Le proteine periferiche sono debolmente associate al doppio strato, mentre le proteine integrali sono strettamente legate ad esso. Le proteine integrali qui illustrate sono del tipo transmembrana e si estendono attraverso il doppio strato. Esse sono caratterizzate da regioni idrofili che su entrambe le facce del doppio strato connesse da un' α -elica che attraversa la membrana. I glicolipidi (carboidrati attaccati ai lipidi) e le glicoproteine (carboidrati attaccati alle proteine) sono esposti sulla superficie extracellulare; entrambi hanno un ruolo importante nel riconoscimento e nell'adesione cellulare.

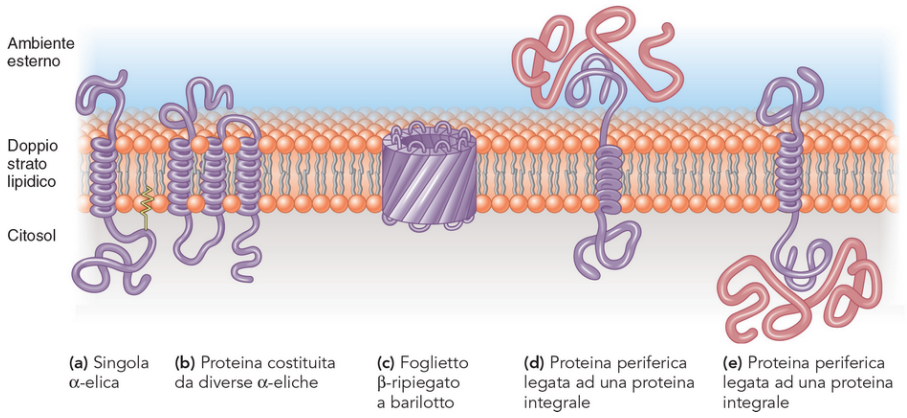
Molti organismi hanno dei meccanismi di regolazione che permettono di mantenere la loro membrana in uno stato fluido ottimale. Ad esempio, alcuni organismi possono compensare i cambiamenti di temperatura variando il contenuto in acidi grassi dei loro lipidi di membrana. Tali organismi, se crescono a temperature più fredde, hanno una percentuale relativamente più alta di acidi grassi insaturi nei loro lipidi di membrana.
Alcuni lipidi di membrana hanno la capacità, entro certi limiti, di stabilizzare la fluidità della membrana stessa. Il colesterolo, steroide presente nelle membrane cellulari animali, è uno di questi "tamponi di fluidità". La molecola di colesterolo è infatti idrofobica ma, grazie alla presenza di un unico gruppo ossidrilico (vedi Fig. 3-15a ), è leggermente anfipatica. Il gruppo ossidrilico si associa con le teste idrofiliche dei fosfolipidi; la rimanente parte della molecola di colesterolo, idrofobica, si incastra tra le catene

idrocarburiche degli acidi grassi ( FIG. 5-6 ).
A basse temperature, le molecole di colesterolo fungono da “spaziatori” tra le catene idrocarburiche, diminuendo così le interazioni di van der Waals che favorirebbero la solidificazione. Il colesterolo, inoltre, fa sì che la membrana non si indebolisca o si destabilizzi ad alte temperature; infatti, le molecole di colesterolo interagiscono fortemente con quelle porzioni delle catene idrocarburiche più vicine alle teste fosfolipidiche, riducendo così il loro movimento. Nelle cellule vegetali, tali funzioni vengono svolte da steroidi diversi dal colesterolo.

## Le membrane biologiche hanno la tendenza a fondersi per formare vescicole chiuse

I doppi strati lipidi ci, soprattutto quelli allo stato di cristallo liquido, hanno anche altre proprietà fisiche. I doppi strati di per sé hanno difficoltà ad avere estremità libere, di conseguenza tendono a saldarsi tra loro formando vescicole chiuse. I doppi strati lipidici sono anche flessibili e ciò permette alle membrane cellulari di cambiare forma senza rompersi. Infine, in condizioni opportune, i doppi strati lipidici possono fondersi tra loro.
La fusione delle membrane è un importante fenomeno cellulare. Quando una vescicola si fonde con un’altra membrana, sia i doppi strati delle membrane che i compartimenti da essi racchiusi diventano continui, formando un’unica ininterrotta struttura. Dalle membrane del reticolo endoplasmatico si formano diverse vescicole di trasporto che si fondono poi con le membrane del complesso del Golgi, permettendo così il trasferimento di materiale da un compartimento all’altro. Ogni volta che una sostanza viene secreta dalla cellula, la vescicola secretoria si fonde con la membrana plasmatica.

## Le proteine di membrana possono essere integrali o periferiche




← FIGURA 5-7 *Proteine di membrana*
In ( a ), ( b ) e ( c ) sono mostrate tre proteine di membrana. Il foglietto β -ripiegato a barilotto mostrato in ( c ) forma un poro che attraversa la membrana. Le molecole d’acqua e gli ioni passano attraverso tipi specifici di pori ( d, e ). Le proteine periferiche sono associate alle proteine integrali mediante interazioni non covalenti.

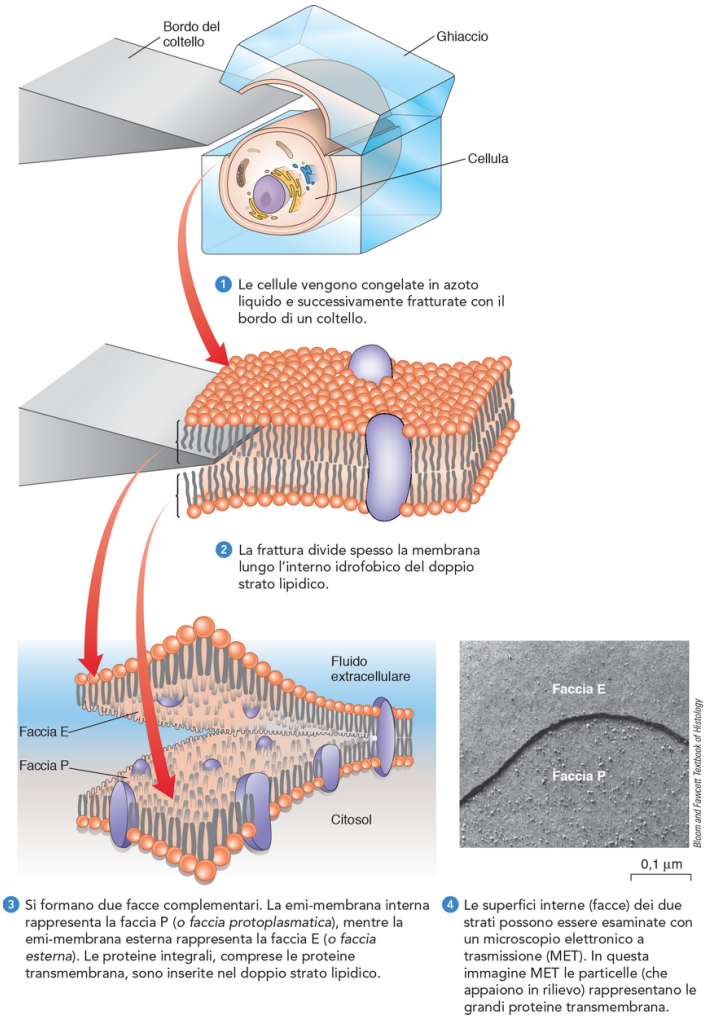
Le due principali classi di proteine di membrana, quelle integrali e quelle periferiche, si distinguono in base al modo in cui sono associate al doppio strato lipidico ( FIG. 5-7 ). Le proteine di membrana integrali sono strettamente legate alla membrana e possono essere rilasciate solo in seguito a distruzione del doppio strato ad opera di detergenti. Queste proteine sono anfipatiche: le loro regioni idrofiliche si estendono fuori dalla cellula o nel citoplasma, mentre le regioni idrofobiche interagiscono con le code dei fosfolipidi di membrana.
Alcune proteine integrali non si estendono completamente attraverso la membrana. Molte altre, dette proteine transmembrana, si estendono completamente attraverso la membrana. Alcune di queste proteine transmembrana attraversano la membrana solo una volta, altre invece la attraversano più volte (fino a 24). Il tipo più comune di proteina transmembrana è un’ α -elica (vedi Capitolo 3 ) con le catene laterali degli aminoacidi idrofobici che fuoriescono dall’elica nella regione idrofobica del doppio strato lipidico. Alcune proteine attraversano la membrana sotto forma di foglietti β -ripiegati. Tali formazioni proteiche a forma di barilotto formano pori attraverso i quali possono passare acqua ed altre sostanze.

Le proteine di membrana periferiche non sono inserite nel doppio strato lipidico, ma sono localizzate sulle superfici interna o esterna della membrana plasmatica, generalmente legate alle regioni esposte delle proteine integrali attraverso interazioni non covalenti. Le proteine periferiche possono essere facilmente rimosse dalla membrana senza che la struttura del doppio strato venga distrutta.

## METODO DI RICERCA

*Perché si usa?* La tecnica "freeze-fracture si usa per separare le due facce del doppio strato lipidico, in modo che i suoi componenti possano essere analizzati. *Come funziona?*

*FIGURA 5-8→*
*La tecnica "freeze-fracture"*




### Le proteine sono orientate nel doppio strato in maniera asimmetrica

Per mezzo della microscopia elettronica dopo "freeze-fracture", una tecnica che separa le membrane in due metà, si è potuto dimostrare che le proteine sono veramente incastrate nel doppio strato lipidico. Osservando le membrane cellulari con questa tecnica, si notano numerose particelle presenti sulle superfici di taglio ( FIG. 5-8 ). Queste particelle sono chiaramente proteine di membrana integrali, in quanto non sono mai visibili in doppi strati lipidici artificiali sottoposti a "freeze-fracture". Queste scoperte hanno influenzato Singer e Nicolson nell'elaborazione del modello a mosaico fluido.
Le molecole proteiche che costituiscono le membrane biologiche sono orientate asimmetricamente. L'asimmetria è dovuta al modo altamente specifico con il quale ciascuna proteina si inserisce nel doppio strato. Le proteine di membrana che andranno a formare la superficie interna della membrana plasmatica sono prodotte dai ribosomi liberi e si muovono verso la membrana attraverso il citoplasma.
Le proteine di membrana associate alla superficie esterna della cellula vengono prodotte come proteine destinate ad essere esportate dalla cellula.
Come già detto nel Capitolo 4 , queste proteine vengono inizialmente formate dai ribosomi associati al reticolo endoplasmatico rugoso (RER) e poi passano attraverso la membrana del RER nel lume dove, in seguito all'aggiunta di zuccheri, diventano glicoproteine. Soltanto una porzione di queste proteine passa attraverso la membrana del RER, per cui ciascuna proteina ha alcune parti localizzate nel lume del reticolo endoplasmatico, mentre altre rimangono nel citosol. Gli enzimi che permettono il legame tra gli zuccheri ed alcuni aminoacidi delle proteine sono localizzati solamente nel lume del RER. In questo modo, i carboidrati possono essere aggiunti solo a quelle porzioni proteiche che si trovano nel lume.
Se si segue la migrazione delle vescicole e la loro fusione con le membrane ( FIG. 5-9 ), si può vedere che la porzione di proteina che sporge all'interno del lume del RER è la stessa che viene poi trasferita all'interno del lume del complesso del Golgi, dove altri enzimi modificano ulteriormente le catene di carboidrati. Nel complesso del Golgi, la glicoproteina è selezionata ed indirizzata verso la membrana plasmatica. La porzione modificata della proteina rimane all'interno del compartimento membranoso di una vescicola secretoria, quando questa gemma dal complesso del Golgi. Quando la vescicola secretoria si fonde con la membrana plasmatica, la catena di carboidrati diventa la parte della proteina di membrana che si estende all'esterno della superficie cellulare. In sintesi, la sequenza è:

Aggiunta dello zucchero alla proteina nel lume del RER ⟶ trasporto della glicoproteina al complesso del Golgi, dove viene ulteriormente modificata ⟶ trasporto della glicoproteina alla membrana plasmatica ⟶ fusione della vescicola di trasporto con la membrana plasmatica (il lato interno della vescicola di trasporto diventa il lato esterno della membrana plasmatica)

**PUNTOCHIAVE**

L'orientamento di una proteina nella membrana plasmatica è una conseguenza della modalità di sintesi e di trasporto.

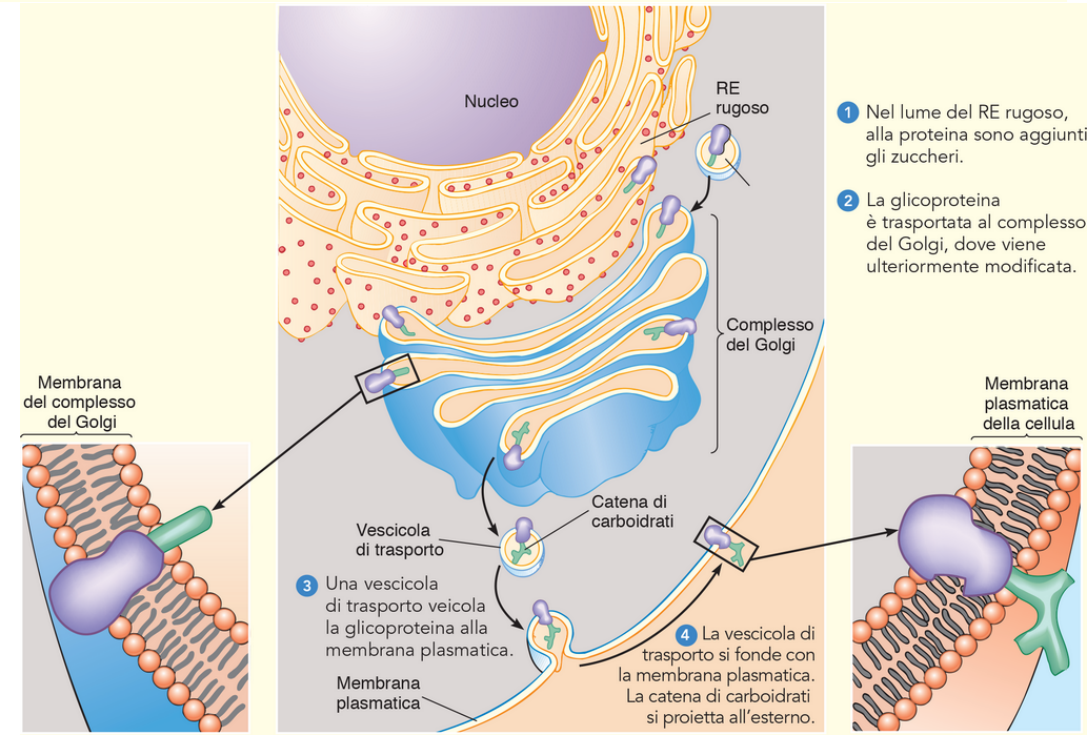



FIGURA 5-9
*Sintesi ed orientamento di una proteina di membrana*
La superficie della membrana del RER che guarda il lume, guarda anche il lume del complesso del Golgi e delle vescicole. Tuttavia, quando una vescicola si fonde con la membrana plasmatica, la sua superficie interna diventa la superficie extracellulare della membrana plasmatica.

## Verifica

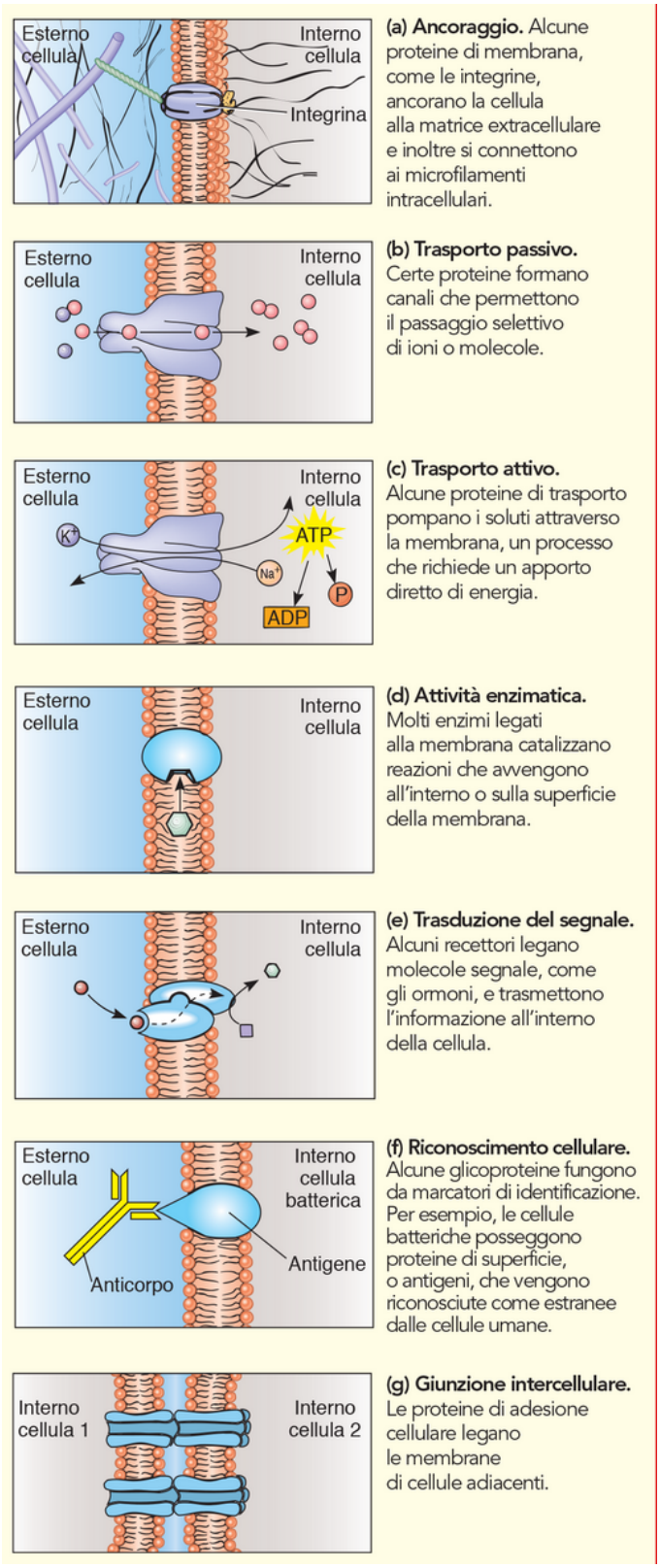
- Quali molecole sono responsabili delle proprietà fisiche di una membrana cellulare?
- Come potrebbe essere posizionata una proteina transmembranain un doppio strato lipidico? In che modo le regioni idrofobiche edidrofiliche della proteina influenzano il suo orientamento?
- Qual è la via mediante la quale la cellula aggiunge carboidrati alle proteine di membrana?

# 5.2 LE FUNZIONI DELLE PROTEINE DI MEMBRANA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Riassumere le funzioni delle proteine di membrana.

Perché la membrana plasmatica necessita di così tante proteine diverse? Questa diversità riflette il numero di attività che hanno luogo nella o sulla membrana cellulare. Le proteine associate alla membrana sono essenziali per molte di queste attività. In genere, le proteine di membrana sono suddivise in ampi gruppi in base alle funzioni svolte ( FIG. 5-10 ). Alcune proteine di membrana hanno la funzione di ancorare le cellule al substrato. Ad esempio, le integrine, proteine che si legano ai microfilamenti presenti all'interno della cellula, mediano l'adesione della cellula alla matrice extracellulare ( Fig. 5-10 a). Esse fungono anche da recettori, o siti di ancoraggio, per le proteine della matrice extracellulare (vedi Fig. 4-30 ).




**(a) Ancoraggio.** Alcune proteine di membrana, come le integrine, ancorano la cellula alla matrice extracellulare e inoltre si connettono ai microfilamenti intracellulari.

**(b) Trasporto passivo.** Certe proteine formano canali che permettono il passaggio selettivo di ioni o molecole.

**(c) Trasporto attivo.** Alcune proteine di trasporto pompano i soluti attraverso la membrana, un processo che richiede un apporto diretto di energia.

**(d) Attività enzimatica.** Molti enzimi legati alla membrana catalizzano reazioni che avvengono all'interno o sulla superficie della membrana.

**(e) Trasduzione del segnale.** Alcuni recettori legano molecole segnale, come gli ormoni, e trasmettono l'informazione all'interno della cellula.

**(f) Riconoscimento cellulare.** Alcune glicoproteine fungono da marcatori di identificazione. Per esempio, le cellule batteriche posseggono proteine di superficie, o antigeni, che vengono riconosciute come estranee dalle cellule umane.

**(g) Giunzione intercellulare.** Le proteine di adesione cellulare legano le membrane di cellule adiacenti.

**PUNTO CHIAVE** Le proteine cellulari svolgono numerose funzioni: trasportano materiali, fungono da enzimi nelle reazioni chimiche, trasmettono segnali cellulari.
FIGURA 5-10 Alcune funzioni delle proteine di membrana

Numerose proteine di membrana sono coinvolte nel trasporto di molecole attraverso la membrana. Alcune formano canali che permettono il passaggio selettivo di determinati ioni o molecole ( Fig. 5-10b ). Altre proteine formano pompe che utilizzano l'ATP per trasportare attivamente i soluti attraverso la membrana ( Fig. 5-10c ). Alcune proteine di membrana sono enzimi in grado di catalizzare reazioni che avvengono in prossimità della superficie cellulare ( Fig. 5-10d ). Le membrane dei mitocondri o dei cloroplasti contengono sequenze di enzimi organizzati per regolare una serie di reazioni, come ad esempio la respirazione cellulare o la fotosintesi.
Alcune proteine di membrana sono recettori che ricevono informazioni da altre cellule sotto forma di segnali chimici o elettrici. Molte cellule dei vertebrati posseggono dei recettori per ormoni rilasciati dalle cellule endocrine. Queste informazioni possono essere trasmesse dalle proteine di membrana all'interno della cellula mediante la *trasduzione del segnale*, che sarà discussa nel Capitolo 6 ( Fig. 5-10e ).
Alcune proteine di membrana possono funzionare come sistema di identificazione che viene riconosciuto da altre cellule. Ad esempio, certe cellule riconoscono come estranee le proteine di superficie, o antigeni, delle cellule batteriche. Gli antigeni stimolano la difesa immunitaria che distrugge i batteri ( Fig. 5-10f ).
Cellule che si riconoscono a vicenda possono interagire per formare un tessuto. Alcune proteine di membrana formano giunzioni fra cellule adiacenti ( Fig. 5-10g ). Queste proteine possono anche funzionare come punti di ancoraggio per la rete degli elementi del citoscheletro. Nei prossimi paragrafi di questo capitolo, discuteremo la funzione delle proteine di membrana nel trasporto di materiali all'interno e all'esterno della cellula ed infine le giunzioni cellulari.

**Verifica**

- Qual è la funzione delle proteine di membrana nel trasporto di materiali all'interno della cellula?
- Qual è il ruolo delle proteine di membrana nel riconoscimento cellulare?

# 5.3 LA STRUTTURA DELLA MEBRANA CELLULARE NE INFLUENZA LA PERMEABILITÀ

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Descrivere l'importanza delle membrane selettivamente permeabili e confrontare le funzioni delle proteine carrier e delle proteine canale.

Una membrana viene detta permeabile ad una data sostanza se le permette di attraversarla ed impermeabile nel caso contrario. La struttura a mosaico fluido delle membrane biologiche permette loro di funzionare come membrane selettivamente permeabili, ovvero permettono il passaggio di alcune sostanze, ma non di tutte. In risposta a variazioni delle condizioni ambientali o a necessità cellulari, la membrana plasmatica può in alcuni momenti fare da barriera ad alcune sostanze, mentre in altri ne può promuovere attivamente il passaggio. Regolando il traffico chimico attraverso la membrana plasmatica, una cellula può controllare sia il suo volume che la sua componente ionica e molecolare interna. Tale regolazione permette alle cellule di avere una composizione interna alquanto diversa da quella dell'ambiente esterno.

### Le membrane biologiche rappresentano una barriera per le molecole polari

In generale, le membrane biologiche sono massimamente permeabili alle piccole molecole apolari (idrofobiche). Tali molecole sono in grado di attraversare il doppio strato lipidico, che è idrofobico. I gas come l'ossigeno e l'anidride carbonica sono piccole molecole apolari che attraversano rapidamente il doppio strato lipidico. Sebbene siano polari, le molecole di acqua attraversano, anche se lentamente, il doppio strato lipidico, essendo sufficientemente piccole da poter passare attraverso interruzioni che si vengono a formare temporaneamente tra le catene degli acidi grassi.

Il doppio strato lipidico della membrana plasmatica è relativamente impermeabile agli ioni di qualunque dimensione ed alla maggior parte delle grandi molecole polari, che diffondono soltanto molto lentamente attraverso il doppio strato. Gli ioni sono importanti nella segnalazione cellulare e in molti altri processi fisiologici. Ad esempio, molti processi cellulari, come la contrazione muscolare, dipendono dai rapidi cambiamenti nella concentrazione citoplasmatica degli ioni calcio. Anche il glucosio, gli aminoacidi e la maggior parte degli altri composti necessari per le attività metaboliche sono molecole polari che attraversano lentamente il doppio strato lipidico. Questo rappresenta un vantaggio per le cellule, in quanto l'impermeabilità della membrana plasmatica impedisce la diffusione di queste molecole all'esterno. Come fanno quindi le cellule a far entrare gli ioni e le molecole polari di cui necessitano?

### Le proteine di trasporto trasferiscono molecole attraverso le membrane

I sistemi di proteine di trasporto che trasferiscono ioni, aminoacidi, zuccheri ed altre molecole polari necessarie attraverso le membrane sembrano essersi evoluti molto precocemente nel corso dell'evoluzione delle cellule. Tali proteine transmembrana sono state trovate in tutte le membrane biologiche. I due tipi principali di proteine di trasporto di membrana sono le proteine carrier e le proteine canale. Ogni tipo di proteina di trasporto è specifico per un tipo di ione, molecola o gruppo di sostanze correlate.

Le proteine carrier, dette anche trasportatori, legano lo ione o la molecola e subiscono cambiamenti conformazionali che hanno come risultato il trasferimento della molecola attraverso la membrana. Il trasferimento di soluti ad opera delle proteine carrier localizzate all'interno della membrana è definito trasporto mediato da carrier. Come sarà discusso più avanti, le due forme di trasporto mediato da carrier – la diffusione facilitata e il trasporto attivo mediato da carrier – differiscono per capacità e fonti energetiche. I trasportatori ABC costituiscono un ampio ed importante gruppo di proteine carrier. L'acronimo ABC sta per *ATP-binding cassette* (cassetta che lega l'ATP). I trasportatori ABC, che sono presenti nelle membrane cellulari di tutte le specie, utilizzano l'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP per trasportare alcuni ioni, zuccheri e polipeptidi attraverso le membrane cellulari. Gli scienziati hanno identificato circa 48 trasportatori ABC nelle cellule umane. Mutazioni nei geni che codificano per tali proteine causano o contribuiscono all'insorgenza di numerose patologie umane, tra cui la fibrosi cistica ed alcuni disordini neurologici. I trasportatori ABC espellono i farmaci idrofobici dalla cellula. Dal punto di vista clinico, questa risposta può rappresentare un problema, in quanto alcuni trasportatori rimuovono antibiotici, farmaci antifungini e farmaci antitumorali.

Le proteine canale formano dei tunnel, detti pori, attraverso la membrana. Molti di questi canali sono controllati, il che significa che possono essere aperti e chiusi. Le cellule regolano il passaggio dei materiali attraverso i canali aprendoli e chiudendoli in risposta a variazioni elettriche, stimoli chimici o sollecitazioni

meccaniche. L'acqua e determinati tipi di ioni sono trasportati attraverso canali. In tutte le membrane della totalità delle cellule è presente un gran numero di canali ionici.

Le porine sono proteine canale transmembrana che consentono il passaggio di acqua o di vari soluti attraverso le membrane. Queste proteine sono costituite da foglietti β -ripiegati, arrotolati a barilotto che formano dei pori. Nel 2003, i ricercatori Peter Agre della Johns Hopkins School of Medicine di Baltimora, nel Maryland, e Roderick MacKinnon dell'Howard Hughes Medical Institute della Rockefeller University di New York sono stati insigniti del Premio Nobel per la Chimica per il loro lavoro sulle proteine di trasporto. Agre ha identificato proteine transmembrana, dette acquaporine, che fungono da canali controllati per l'acqua.

Le acquaporine facilitano il trasporto rapido dell'acqua attraverso la membrana plasmatica. Attraverso ogni singola acquaporina possono passare un miliardo di molecole d'acqua al secondo ! Questi canali sono molto selettivi e non permettono il passaggio di ioni ed altre piccole molecole. Le acquaporine sono state identificate in tutte le cellule studiate – da quelle batteriche a quelle umane. In alcune cellule, come quelle che rivestono i tubuli renali dei mammiferi, le acquaporine rispondono a specifici segnali ormonali. In questo modo, prevengono la disidratazione riportando l'acqua dai tubuli renali al circolo sanguigno.

**Verifica**

7. Quali tipi di molecole attraversano facilmente la membrana plasmatica?
8. Quali sono i due tipi principali di proteine di trasporto? Quali sono leloro funzioni?
9. Cosa sono le acquaporine? Qual è la loro funzione?

## 5.4 TRASPORTO PASSIVO

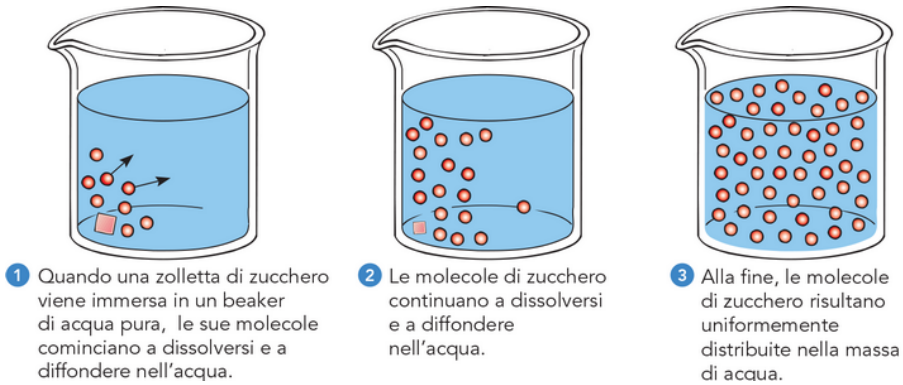
### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Confrontare la diffusione semplice e la diffusione facilitata.
8. Dare una definizione di osmosi e risolvere alcuni semplici problemi che riguardano l'osmosi; ad esempio, prevedere se una cellula si gonfierà o si raggrinzirà a seconda delle diverse condizioni osmotiche.

Il trasporto passivo non richiede un dispendio di energia metabolica da parte della cellula. Molti ioni e molecole di piccole dimensioni attraversano le membrane per diffusione.
Esistono due tipi di *diffusione*: la diffusione semplice e la diffusione facilitata.

**La diffusione avviene secondo un gradiente di concentrazione**

Alcune sostanze entrano ed escono dalla cellula per diffusione, un processo fisico basato su movimenti casuali. Tutti gli atomi e le molecole, a temperature più alte dello zero assoluto (0 Kelvin, -273° Celsius, o -459,4°F), possiedono energia cinetica, o energia di movimento. I tre stati della materia, solido, liquido e gas, differiscono tra loro per la libertà di movimento delle molecole costituenti (atomi, ioni o molecole). Le molecole di un solido sono molto vicine tra loro e le forze di attrazione esistenti permettono loro solamente di oscillare, ma non di spostarsi. In un liquido, le molecole sono più distanti e le attrazioni sono più deboli, cosicché le molecole si muovono con una certa libertà. In un gas, le molecole sono così distanti tra loro che le forze intermolecolari diventano trascurabili; il movimento molecolare è limitato solo dalle pareti del contenitore in cui si trova il gas. Ciò significa che gli atomi e le molecole di un liquido o di un gas possono "muoversi a caso", cambiando direzione ad ogni collisione.




←FIGURA 5-11
*Diffusione*

Sebbene il movimento di ogni singola particella non abbia una direzione precisa e sia imprevedibile, si può tuttavia prevedere quello che sarà il comportamento di gruppi di particelle. Se le particelle non sono distribuite equamente, si avranno almeno due regioni: una a maggiore

concentrazione e l'altra a minore concentrazione. Tale differenza di concentrazione di una sostanza da una zona all'altra è detta gradiente di concentrazione.

Nella diffusione, i movimenti casuali delle particelle determinano il loro movimento netto secondo il gradiente di concentrazione (dalla regione a concentrazione più alta verso quella a concentrazione più bassa). Ciò non significa che le particelle non si possano muovere in direzione opposta (("contro gradiente"). Tuttavia, a causa della presenza di un maggior numero di particelle nella regione a concentrazione più alta, è logico che siano più numerose le particelle che si muovono casualmente da questa regione verso la regione a più bassa concentrazione piuttosto che in direzione contraria ( FIG. 5-11 ). Pertanto, se una membrana è permeabile ad una sostanza, si stabilisce un movimento netto dal lato della membrana in cui la sostanza è più concentrata verso il lato in cui è meno concentrata. Un simile gradiente a cavallo di una membrana rappresenta una forma di immagazzinamento di energia. L'energia è immagazzinata sotto forma di *energia potenziale*, che è la capacità di compiere lavoro dovuta ad una posizione o ad uno stato. L'energia immagazzinata nel gradiente di concentrazione viene rilasciata quando gli ioni o le molecole si spostano da una regione ad alta concentrazione verso una regione a bassa concentrazione. È questo il motivo per cui il movimento secondo un gradiente di concentrazione è un processo spontaneo. (Le diverse forme di energia e i processi spontanei sono discussi in maggior dettaglio nel Capitolo 7 ).
Sulle distanze brevi, la diffusione avviene rapidamente. La velocità di diffusione dipende dal movimento delle molecole, che dipende a sua volta dalla loro dimensione, forma, carica elettrica e temperatura. Se la temperatura aumenta, le molecole si muovono più velocemente e la velocità di diffusione aumenta.

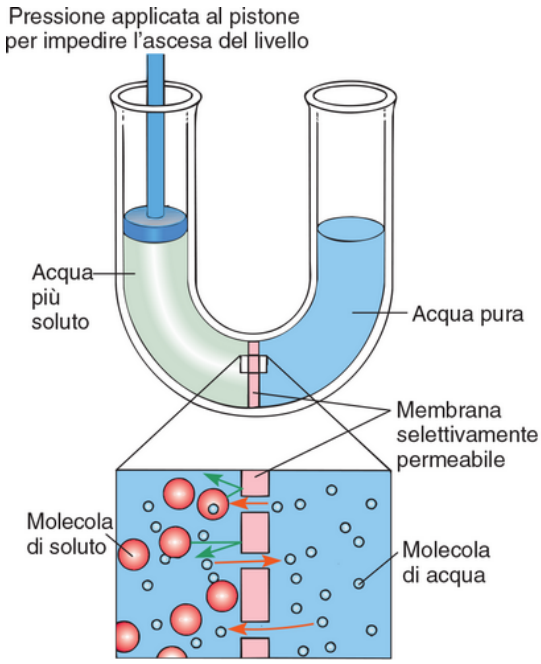



FIGURA 5-12 Osmosi
Un tubo ad U contiene acqua pura nel braccio destro e acqua più soluto nel sinistro. Le due soluzioni sono separate da una membrana selettivamente permeabile che permette il passaggio delle molecole di acqua in entrambe le direzioni ( frecce blu ), ma non delle molecole di soluto ( frecce rosse ). Il livello del fluido aumenta a sinistra e cala a destra perché esiste un movimento netto di acqua verso sinistra. La forza che deve essere applicata al pistone per impedire l'ascesa del livello del fluido è uguale alla pressione osmotica della soluzione.

Le molecole di ciascun componente di una miscela diffondono indipendentemente le une dalle altre. Se non vengono aggiunte né rimosse particelle nel sistema, si raggiunge uno stato di equilibrio dinamico, ovvero una condizione in cui il sistema non cambia più. All'equilibrio, le particelle sono distribuite uniformemente. Le particelle continuano a muoversi in entrambi i sensi attraverso la membrana, ma il passaggio nelle due direzioni avviene alla stessa velocità. Generalmente, nei sistemi biologici tale equilibrio non viene mai raggiunto. L'anidride carbonica, che viene continuamente prodotta all'interno delle cellule dell'organismo in seguito alla demolizione del glucosio e di altre molecole durante la respirazione, diffonde rapidamente attraverso la membrana plasmatica per essere poi rapidamente rimossa dal flusso sanguigno. Ciò limita il reingresso dell'anidride carbonica nelle cellule e comporta il verificarsi di un gradiente netto di concentrazione.
Nella diffusione semplice attraverso una membrana biologica, le molecole di soluto apolari di piccole dimensioni si muovono direttamente attraverso la membrana secondo il loro gradiente di concentrazione. Ad esempio, l'ossigeno e l'anidride carbonica possono diffondere rapidamente attraverso la membrana. La velocità della diffusione semplice è direttamente correlata alla concentrazione del soluto; più concentrato è il soluto, più rapida è la sua diffusione.

## L'osmosi è la diffusione di acqua attraverso una membrana selettivamente permeabile

L' osmosi è un tipo particolare di diffusione che comporta il movimento netto di acqua (il principale *solvente* nei sistemi biologici) attraverso una membrana selettivamente permeabile, da una regione a concentrazione maggiore ad una regione a concentrazione minore. Le molecole di acqua passano liberamente in entrambe le direzioni ma, come in tutti i tipi di diffusione, il movimento netto avviene dalla regione in cui le molecole di acqua sono più concentrate verso la regione dove lo sono meno. La maggior parte delle molecole di soluto (ad esempio, zucchero e sale) non può diffondere liberamente attraverso le membrane cellulari selettivamente permeabili.
Il principio su cui si basa l'osmosi può essere dimostrato per mezzo di un tubo ad U ( FIG. 5-12 ). Il tubo ad U è diviso in due parti da una membrana selettivamente permeabile attraverso la quale possono passare le molecole di solvente, ma non quelle di soluto. Da un lato viene posta una soluzione acqua/soluto, mentre dall'altro lato viene messa acqua distillata. Nella parte che contiene il soluto disciolto in acqua si ha una

concentrazione effettiva di acqua più bassa rispetto al lato che contiene l'acqua distillata. Ciò accade perché le particelle di soluto, che sono cariche (ioniche) o polari, interagiscono con le cariche elettriche parziali della molecola polare dell'acqua. Molte delle molecole di acqua si legano al soluto e pertanto non sono più libere di diffondere attraverso la membrana.

A causa della differenza reale di concentrazione dell'acqua, si verifica un movimento netto di molecole di acqua dalla parte contenente acqua pura verso quella contenente acqua/soluto. Ne risulta che il livello del fluido cala dalla parte dell'acqua pura e aumenta dalla parte dell'acqua/soluto. Dal momento che le molecole di soluto non si possono muovere attraverso la membrana, l'equilibrio non è raggiungibile. Il movimento netto dell'acqua procede e il livello di fluido continua ad aumentare dal lato contenente il soluto. Il peso della colonna di fluido che cresce esercita una pressione sufficiente ad impedire ulteriori cambiamenti di livello del fluido, anche se le molecole di acqua continuano a passare attraverso la membrana selettivamente permeabile in entrambe le direzioni.
Si definisce pressione osmotica di una soluzione la pressione che deve essere esercitata sul lato di una membrana selettivamente permeabile contenente la concentrazione maggiore di soluto per impedire la diffusione dell'acqua (per osmosi) dal lato contenente la concentrazione minore di soluto. Ad esempio, in un tubo ad U è possibile misurare la pressione osmotica inserendo un pistone nel lato contenente acqua/soluto e misurando quale pressione si deve applicare, mediante il pistone, per impedire la risalita del fluido. Una soluzione con un'alta concentrazione di soluto ha una bassa concentrazione di acqua ed un'alta pressione osmotica; al contrario, una soluzione con un basso quantitativo di soluto ha un'alta concentrazione di acqua ed una pressione osmotica bassa.

### Due soluzioni possono essere isotoniche

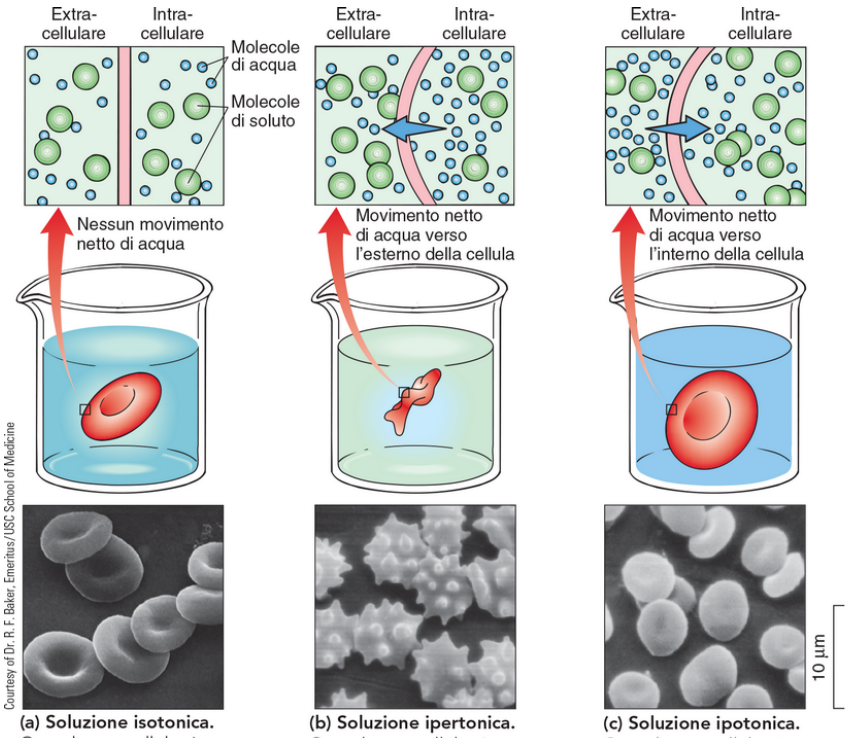
Nel compartimento fluido di tutte le cellule viventi si trovano sali, zuccheri e altre sostanze che conferiscono al citosol una certa pressione osmotica. La TABELLA 5-1 riassume il movimento di acqua verso l'interno o l'esterno di una soluzione (o di una cellula) in dipendenza delle concentrazioni relative di soluto. Se una cellula viene immersa in un fluido avente la stessa pressione osmotica, non vi è alcun movimento netto di molecole di acqua in nessuna delle due direzioni: la cellula non si raggrinzisce né si gonfia. Si dice che il fluido esterno è isotonico (cioè ha la stessa concentrazione di soluti) rispetto al fluido cellulare.
Generalmente, il plasma umano (il fluido che costituisce il sangue) e tutti i nostri fluidi corporei sono isotonici rispetto alle cellule che compongono il corpo; essi contengono cioè la stessa concentrazione di acqua delle cellule. Una soluzione di cloruro di sodio allo 0,9% ( *soluzione salina fisiologica* ) è isotonica rispetto alle cellule umane e di altri mammiferi. I globuli rossi umani posti in questa soluzione non si raggrinziscono né si gonfiano ( FIG. 5-13a ).

TABELLA 5-1
Terminologia osmotica

| Concentrazione del soluto nella soluzione A | Concentrazione del soluto nella soluzione B | Tonicità | Direzione del movimento netto di acqua |
|---|---|---|---|
| Maggiore | Minore | A ipertonica rispetto a B; B ipotonica rispetto ad A | Da B verso A |
| Minore | Maggiore | B ipertonica rispetto ad A; A ipotonica rispetto a B | Da A verso B |
| Uguale | Uguale | A e B sono isotoniche | Nessun movimento netto |

### Una soluzione può essere ipertonica e l'altra ipotonica

Se i fluidi circostanti hanno una concentrazione di sostanze disciolte maggiore rispetto alla concentrazione cellulare, si dice che hanno pressione osmotica più alta rispetto alle cellule e sono quindi ipertonici. Poiché la soluzione ipertonica ha una concentrazione effettiva di acqua minore, una cellula posta in tale soluzione si raggrinzisce, in quanto perde acqua per osmosi. I globuli rossi umani, messi in una soluzione di cloruro di sodio all'1,3%, si raggrinziscono e muoiono ( FIG. 5-13b ).
Se i fluidi circostanti contengono una concentrazione più bassa di materiali disciolti rispetto alla cellula, questi hanno pressione osmotica più bassa e sono detti ipotonici rispetto alla cellula; in questo caso, l'acqua entra nella cellula e la fa rigonfiare. Se i globuli rossi vengono messi in una soluzione di cloruro di sodio allo 0,6%, assorbono acqua, si rigonfiano e scoppiano ( FIG. 5-13c ). Molte cellule che vivono normalmente in ambiente ipotonico hanno sviluppato meccanismi di adattamento che permettono loro di prevenire un




**(a) Soluzione isotonica.** Quando una cellula viene posta in una soluzione isotonica, le molecole d'acqua passano dentro e fuori dalla cellula, ma con un movimento netto pari a zero.

**(b) Soluzione ipertonica.** Quando una cellula viene posta in una soluzione ipertonica, si ha un movimento netto di acqua verso l'esterno della cellula (*freccia blu*) e la cellula si disidrata e si raggrinzisce.

**(c) Soluzione ipotonica.** Quando una cellula viene posta in una soluzione ipotonica, si ha un movimento netto di acqua verso l'interno della cellula (*freccia blu*) che ne causa il rigonfiamento. La cellula potrebbe anche scoppiare.

accumulo di acqua. Per esempio, il Paramecium, e alcuni altri ciliati (membri del supergruppo dei Chromoalveolata) hanno un vacuolo contrattile che viene utilizzato per espellere l'acqua in eccesso (vedi Fig. 26-8 ).

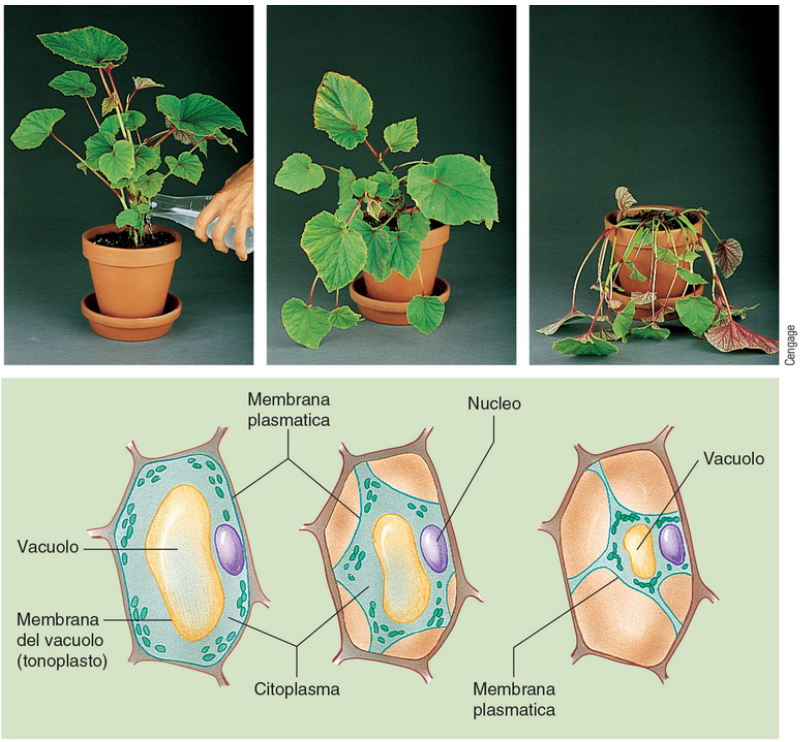
←FIGURA 5-13 *Le risposte delle cellule animali alle differenze di pressione osmotica*

### La pressione di turgore è la pressione idrostatica interna presente nelle cellule dotate di parete cellulare

Le cellule di molti procarioti, alghe, piante e funghi hanno pareti cellulari relativamente rigide. Queste cellule possano stare in un mezzo esterno molto diluito senza lisarsi. A causa delle sostanze sciolte nel loro citoplasma, le cellule sono ipertoniche rispetto al mezzo esterno.

L'acqua entra nelle cellule per osmosi, riempiendo i loro vacuoli centrali e facendo distendere le cellule. Le cellule si gonfiano e si crea una pressione, chiamata pressione di turgore, contro le pareti cellulari rigide ( FIG. 5-14a ). Le pareti cellulari si possono tendere fino a un certo punto: si raggiunge lo stato stazionario solo quando la resistenza alla distensione delle pareti cellulari impedisce ogni ulteriore aumento di dimensioni cellulari e non si ha più alcun movimento netto di molecole di acqua all'interno della cellula (naturalmente, però, le molecole continuano a muoversi avanti e indietro attraverso la membrana plasmatica). La pressione di turgore è molto importante in quanto fornisce sostegno alle piante non legnose.

Se una cellula dotata di parete cellulare viene posta in un mezzo ipertonico, si ha fuoriuscita di acqua. Il suo contenuto si raggrinzisce e la membrana plasmatica si separa dalla parete cellulare, un processo noto come plasmolisi ( FIG. 5-14b e 14c ). La plasmolisi si verifica nelle piante quando il terreno o l'acqua che le circondano contengono elevate concentrazioni di sali o fertilizzanti. È per questo motivo che l'insalata si affloscia se si usa un condimento salato e un fiore appassisce in mancanza di acqua.




**(a)** In un ambiente ipotonico, il vacuolo di una cellula vegetale si riempie di acqua, ma la rigida parete cellulare impedisce alla cellula di espandersi. Le cellule di questa pianta di begonia sono turgide.

**(b)** Quando la pianta è esposta ad una soluzione ipertonica, le sue cellule vanno incontro a plasmolisi in seguito alla perdita di acqua.

**(c)** La pianta appassisce e muore.

←FIGURA 5-14
*Pressione di turgore e plasmolisi*

## La diffusione facilitata avviene secondo un gradiente di concentrazione

In tutti i processi in cui le sostanze attraversano le membrane per diffusione passiva, il trasferimento netto di queste molecole da un lato all'altro è dovuto all'esistenza di un gradiente di concentrazione. Abbiamo visto come le molecole di soluto non cariche (apolari) di piccole dimensioni, come l'ossigeno e l'anidride carbonica, si muovano direttamente attraverso la membrana secondo il loro gradiente di concentrazione per diffusione semplice. Nella diffusione facilitata, una specifica proteina di trasporto rende la membrana permeabile ad un determinato soluto, come uno ione o una molecola polare. Uno specifico soluto può essere trasportato dall'interno all'esterno della cellula o dall'esterno all'interno, ma il movimento netto avviene sempre da una regione a concentrazione maggiore verso una regione a concentrazione minore. Le proteine canale e le proteine carrier facilitano la diffusione con meccanismi diversi.

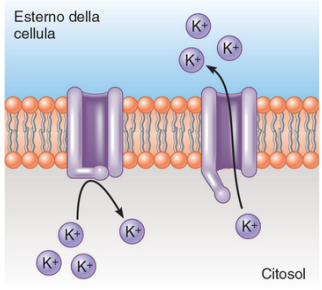



FIGURA 5-15 *Diffusione facilitata degli ioni potassio*
In risposta ad uno stimolo elettrico, il canale del potassio si apre, permettendo la diffusione del potassio fuori dalla cellula.

### Le proteine canale formano canali idrofilici attraverso le membrane

Alcune proteine canale sono porine che formano tunnel piuttosto ampi attraverso i quali passano acqua e determinati soluti. Tuttavia, la maggior parte delle proteine canale forma stretti canali che trasportano specifici ioni secondo i loro gradienti (FIG. 5-15 ). (Come sarà discusso in seguito, poiché gli ioni sono particelle cariche, tali gradienti sono gradienti elettrochimici). Questi canali ionici sono definiti canali controllati, in quanto possono essere aperti e chiusi. Attraverso un singolo canale ionico aperto, possono passare anche 100 milioni di ioni al secondo! I canali possono facilitare soltanto il trasporto secondo un gradiente di concentrazione; non possono trasportare attivamente gli ioni da una regione a concentrazione minore ad una regione a concentrazione maggiore.

### Le proteine carrier subiscono cambiamenti conformazionali

Il trasporto dei soluti attraverso le proteine carrier è più lento di quello che avviene attraverso le proteine canale. La proteina carrier lega una o più molecole di soluto su un lato della membrana, dopodiché subisce un cambiamento conformazionale (cambiamento di forma) che determina lo spostamento del soluto sull'altro lato della membrana.

Un esempio di diffusione facilitata mediata da una proteina carrier è il trasporto del glucosio. Una proteina carrier nota come *trasportatore del glucosio 1*, o *GLUT1*, trasporta il glucosio all'interno dei globuli rossi ( FIG. 5-16 ). La concentrazione del glucosio è più alta nel plasma sanguigno che nei globuli rossi, per cui il glucosio diffonde secondo il suo gradiente di concentrazione all'interno degli eritrociti. Il trasportatore GLUT 1 facilita la diffusione del glucosio, permettendogli di entrare nelle cellule circa 50.000 volte più rapidamente di quanto farebbe per diffusione semplice.

I globuli rossi riescono a mantenere bassa la concentrazione interna di glucosio fosforilandolo (per aggiunta di un gruppo fosfato) e trasformandolo così in glucosio fosfato dotato di carica elettrica e quindi incapace di riattraversare la membrana. Poiché il glucosio fosfato è una molecola differente, non contribuisce al gradiente di concentrazione del glucosio. Viene così mantenuto un gradiente di concentrazione del glucosio che, in questo modo, entra rapidamente nella cellula, dove viene immediatamente convertito nella sua forma fosforilata. Pertanto, la diffusione facilitata è potenziata dal gradiente di concentrazione.

**PUNTO CHIAVE** La diffusione facilitata necessita dell'energia potenziale di un gradiente di concentrazione.

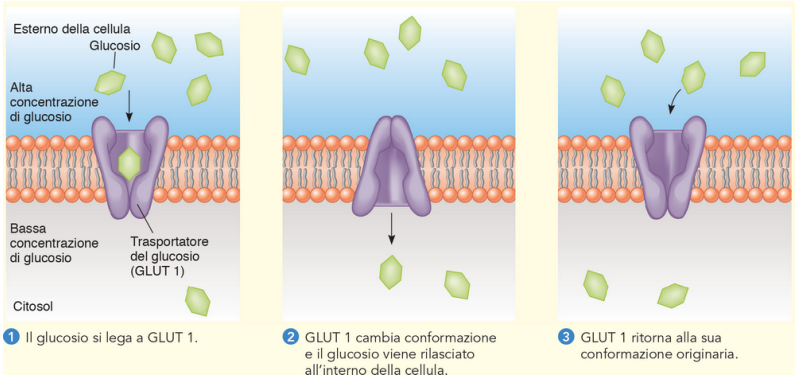



FIGURA 5-16 *Diffusione facilitata delle molecole di glucosio*

Il meccanismo della diffusione facilitata del glucosio è stato studiato utilizzando i liposomi, vescicole artificiali circondate da un doppio strato lipidico. La membrana fosfolipidica di un liposoma non permette il passaggio del glucosio fino a che non si introduce artificialmente nella membrana un trasportatore del glucosio. Quest'ultimo, ed altre proteine di trasporto simili, si legano temporaneamente alle molecole che trasportano. Questo meccanismo sembra simile al modo in cui l'enzima si lega al substrato (vedi Capitolo 7 ). Come nel meccanismo enzimatico, il legame sembra modificare la forma del carrier. Tale modifica permette il rilascio della molecola di glucosio all'interno della cellula. In accordo con questo modello, quando il glucosio viene

rilasciato nel citoplasma, la proteina torna alla sua struttura originaria ed è disponibile per legare un'altra molecola di glucosio sulla superficie esterna della cellula.
Un'altra somiglianza con il meccanismo enzimatico sta nel fatto che la proteina di trasporto giunge alla saturazione quando la molecola trasportata si trova ad alte concentrazioni. Questo probabilmente avviene perché c'è un numero finito di molecole carrier disponibili che operano ad una velocità massima definita; quando le concentrazioni delle molecole di soluto che devono essere trasportate raggiungono un determinato livello, tutte le proteine carrier funzionano alla massima velocità.

È un errore comune pensare che la diffusione, sia semplice che facilitata, sia in qualche modo "gratuita" e che solo il trasporto attivo richieda energia. Poiché la diffusione comporta sempre il movimento netto di una sostanza secondo il suo gradiente di concentrazione, possiamo dire che quest'ultimo "alimenta" il processo. Tuttavia, anche per stabilizzare e mantenere il gradiente è necessaria energia. Nel nostro esempio della diffusione facilitata del glucosio, la cellula mantiene un elevato gradiente (alto fuori e basso dentro) fosforilando le molecole di glucosio una volta che queste sono entrate nella cellula. Per ogni molecola di glucosio che viene fosforilata, si consuma una molecola di ATP (per non parlare di altri costi aggiuntivi, come l'energia necessaria per produrre gli enzimi coinvolti in tale processo).

**Verifica**

12. Cosa succederebbe se una cellula vegetale fosse posta in una soluzione isotonica? In una ipertonica? In una ipotonica? In che modo modifichereste le vostre previsioni nel caso si trattasse di una cellula animale?
13. Qual è la fonte immediata di energia per la diffusione semplice? E perla diffusione facilitata?
14. In quale direzione si muovono le particelle lungo il proprio gradiente di concentrazione? Le vostre risposte sarebbero diverse per la diffusione facilitata e per la diffusione semplice?

## 5.5 TRASPORTO ATTIVO

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

9. Descrivere il trasporto attivo, compreso il cotrasporto.

Sebbene alcune sostanze possano essere trasportate attraverso la membrana cellulare per diffusione, una cellula spesso ha bisogno di trasportare i soluti anche contro gradiente di concentrazione.

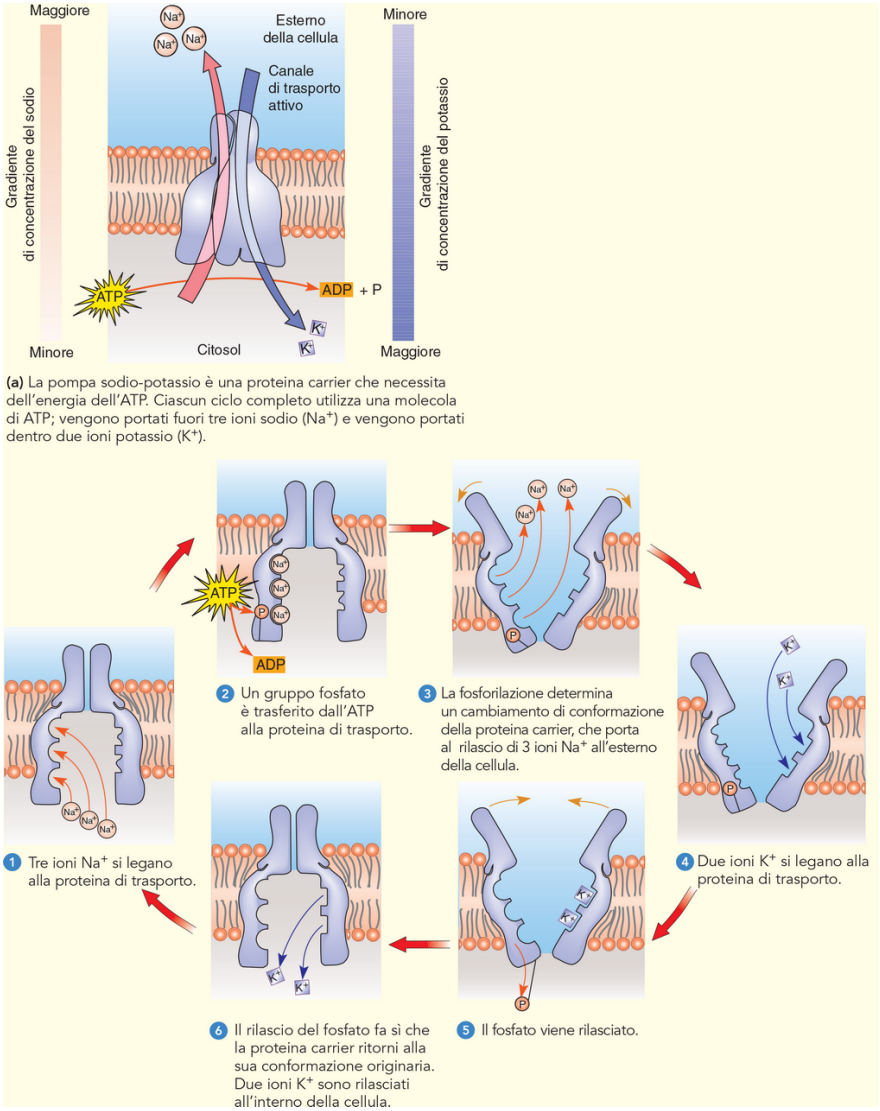
La ragione è che molte sostanze sono richieste dalla cellula a concentrazioni più alte rispetto a quelle esterne.

Sia la diffusione che il trasporto attivo necessitano di energia. L'energia per la diffusione è fornita dal gradiente di concentrazione della sostanza che deve essere trasportata. Il trasporto attivo richiede un dispendio di energia metabolica che alimenti direttamente il processo.

Un sistema di trasporto attivo pompa materiali da una zona a bassa concentrazione ad un'altra ad alta concentrazione. L'energia immagazzinata nel gradiente di concentrazione non solo non è disponibile per il sistema, ma anzi lavora contro di esso. Per questo motivo sono necessarie altre fonti energetiche. In molti casi, viene usata direttamente l'energia dell'ATP. Tuttavia, il trasporto attivo può essere accoppiato all'ATP in modo indiretto. Nel trasporto attivo indiretto, un gradiente di concentrazione fornisce l'energia per il cotrasporto di un'altra sostanza, come uno ione.

### I sistemi di trasporto attivo "pompano" le sostanze contro i loro gradienti di concentrazione

Uno degli esempi più calzanti del meccanismo di trasporto attivo è la pompa sodio-potassio, presente in tutte le cellule animali ( FIG. 5-17 ). La pompa è un trasportatore ABC, una proteina carrier specifica presente nella membrana plasmatica. Questo trasportatore utilizza l'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP per pompare ioni sodio fuori dalla cellula e ioni potassio dentro la cellula. Lo scambio è sbilanciato, perché per due ioni potassio che entrano, ne escono tre di sodio. Poiché questo gradiente di concentrazione è costituito da ioni, si viene a stabilire attraverso la membrana un potenziale elettrico (separazione di cariche elettriche); pertanto, si dice che la membrana è polarizzata.




**PUNTO CHIAVE** La pompa sodio-potassio è una proteina carrier che mantiene un gradiente elettrochimico attraverso la membrana plasmatica.

FIGURA 5-17
*Un modello del ciclo di azione della pompa sodio-potassio*

Sia gli ioni sodio che potassio hanno carica positiva, ma essendoci meno ioni potassio all'interno della cellula rispetto agli ioni sodio esterni, l'interno della cellula è carico negativamente rispetto all'esterno. La distribuzione ineguale di ioni stabilisce un gradiente elettrico che guida gli ioni attraverso la membrana plasmatica. L'attività della pompa sodio-potassio aiuta a mantenere una separazione di cariche attraverso la membrana, che viene definita potenziale di membrana. Poiché ai due lati della membrana c'è una differenza sia di concentrazione sia di carica elettrica, il gradiente viene definito gradiente elettrochimico. Questi gradienti costituiscono anche una forma di immagazzinamento di energia, che può essere utilizzata per altri sistemi di trasporto. Il gradiente elettrochimico prodotto da queste pompe è così importante che alcune cellule, ad esempio quelle nervose, spendono il 25% della loro energia metabolica per azionare questo sistema di trasporto.

Le pompe sodio-potassio (così come altre pompe ATP-dipendenti) sono proteine transmembrana che attraversano tutta la membrana. Subendo cambiamenti di conformazione, le pompe possono scambiare il sodio con il potassio attraverso la membrana plasmatica. A differenza della diffusione facilitata, almeno uno dei cambiamenti di conformazione nel ciclo della pompa richiede energia, che viene donata dall'ATP. La forma delle proteine cambia quando un primo gruppo fosfato (proveniente dall'ATP) si lega ad esse per essere poi rimosso durante il ciclo della pompa.

L'uso del potenziale elettrochimico per accumulare energia non è esclusivo della membrana plasmatica delle cellule animali; le cellule di batteri, funghi e piante utilizzano pompe di membrana ATP-dipendenti, note come pompe protoniche, per trasportare attivamente ioni idrogeno (protoni) dal citoplasma verso l'esterno della cellula ( FIG. 5-18 ). La rimozione di protoni carichi positivamente dal citoplasma di queste cellule ne determina una grande differenza di concentrazione, cosicché l'esterno delle cellule si carica positivamente e l'interno negativamente. L'energia accumulata in questo gradiente elettrochimico può essere resa disponibile per molti tipi di lavoro cellulare.

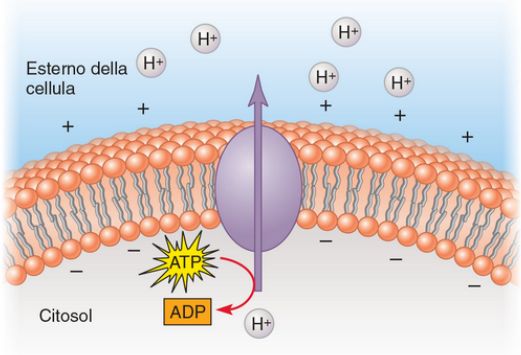



FIGURA 5-18 *Un modello di pompa protonica*
Le pompe protoniche utilizzano l'energia dell'ATP per trasportare protoni (ioni idrogeno) attraverso le membrane. L'energia del gradiente elettrochimico che si viene a stabilire può essere poi usata per altri processi.

Altre pompe protoniche possono essere utilizzate per sintetizzare ATP. I batteri, i mitocondri e i cloroplasti utilizzano l'energia del cibo o quella luminosa per stabilire un gradiente di concentrazione protonico (vedi Capitoli 8 e 9 ). Quando i protoni si muovono per mezzo dei loro carrier da una regione ad alta concentrazione verso una a concentrazione più bassa, si ha la sintesi dell'ATP. Questi gradienti elettrochimici costituiscono la base dei principali sistemi di

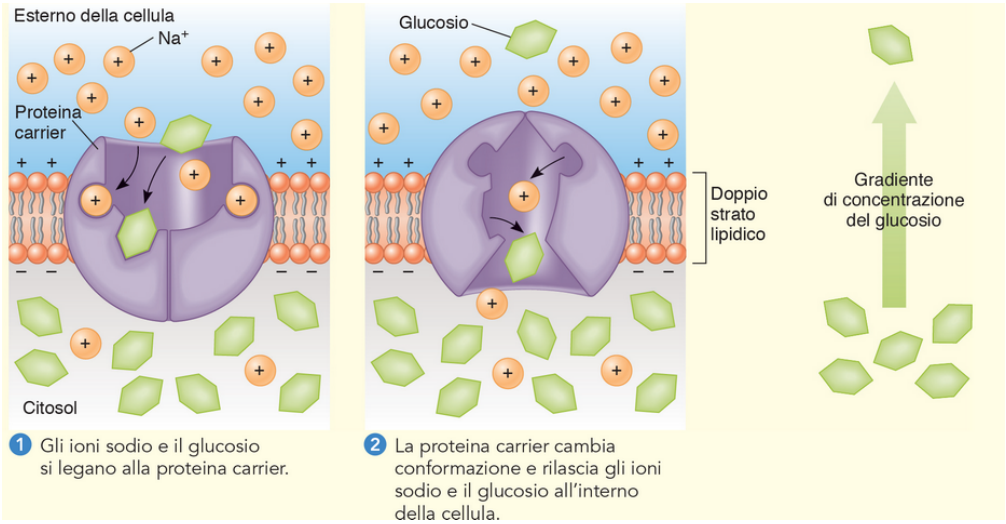
conversione energetica delle cellule.
Le pompe ioniche svolgono anche altre funzioni importanti, ad esempio nella capacità delle cellule animali di equilibrare la pressione osmotica del loro citoplasma a seconda dell'ambiente esterno. Se una cellula animale non è in grado di controllare la propria pressione osmotica, il suo contenuto diventerà ipertonico rispetto all'esterno, entrerà acqua per osmosi, causandone il rigonfiamento ed una possibile lisi (vedi Fig. 5-13 c). Controllando la distribuzione ionica attraverso la membrana, la cellula può controllare indirettamente il movimento di acqua, perché quando gli ioni vengono pompati fuori dalla cellula, si perde acqua per osmosi.

## Le proteine carrier possono trasportare uno o due soluti

Alcune proteine carrier, come le pompe protoniche, trasportano un solo tipo di sostanza in una sola direzione. Questo processo è definito uniporto. Altre proteine carrier effettuano un simporto, ovvero il trasporto di due tipi di sostanze nella stessa direzione. Ad esempio, una specifica proteina carrier trasporta sia sodio che glucosio all'interno della cellula. Altre proteine carrier effettuano un antiporto, ovvero il trasporto di due sostanze in direzioni opposte. Le pompe sodio-potassio, ad esempio, trasportano ioni sodio fuori dalla cellula e ioni potassio dentro la cellula. Sia il simporto che l'antiporto sono sistemi di cotrasporto dei soluti.

## I sistemi di cotrasporto forniscono indirettamente l'energia necessaria per il trasporto attivo

Un sistema di cotrasporto muove i soluti attraverso una membrana mediante un trasporto attivo indiretto. Due soluti sono trasportati contemporaneamente; il movimento di un soluto secondo il suo gradiente di concentrazione fornisce l'energia per il trasporto di un altro soluto contro il suo gradiente di concentrazione. Comunque, è necessaria una fonte di energia, come l'ATP, che alimenti la pompa che genera il gradiente di concentrazione.
Le pompe sodio-potassio (ed altre pompe) generano gradienti di concentrazione elettrochimici. Il sodio è pompato fuori dalla cellula e quindi diffonde nella direzione opposta secondo il suo gradiente di concentrazione. Tale processo genera energia sufficiente per attivare il trasporto attivo di altre sostanze essenziali. In questi sistemi, una proteina di trasporto cotrasporta un soluto contro il suo gradiente di concentrazione, mentre trasporta ioni sodio, potassio o idrogeno secondo gradiente. L'energia dell'ATP produce il gradiente ionico, la cui energia viene poi usata per permettere il trasporto attivo di una data sostanza contro gradiente.
Abbiamo visto come il glucosio possa essere trasportato nella cellula per diffusione facilitata. In realtà, può essere anche cotrasportato nella cellula. La concentrazione del sodio all'interno della cellula è mantenuta bassa dalle pompe sodiopotassio ATP-dipendenti che trasportano attivamente ioni sodio all'esterno della cellula. Nel cotrasporto del glucosio, una proteina carrier trasporta sia sodio che glucosio ( FIG. 5-19 ). Mentre il sodio entra nella cellula seguendo il suo gradiente di concentrazione, la proteina carrier cattura l'energia rilasciata da questo processo e la utilizza per trasportare il glucosio all'interno della cellula. Quindi, tale sistema di trasporto attivo indiretto del glucosio è "guidato" dal cotrasporto del sodio.




**PUNTO CHIAVE** Una proteina carrier trasporta ioni sodio secondo il loro gradiente di concentrazione ed utilizza l'energia rilasciata dal processo per cotrasportare molecole di glucosio contro il loro gradiente di concentrazione.

FIGURA 5-19
*Notare che questa proteina carrier effettua un simporto.*

Verifica

- Qual è la fonte di energia per il trasporto attivo?
- Qual è la fonte di energia per il cotrasporto?

# 5.6 ESOCITOSI ED ENDOCITOSI

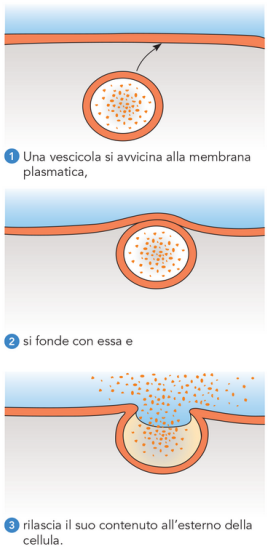
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

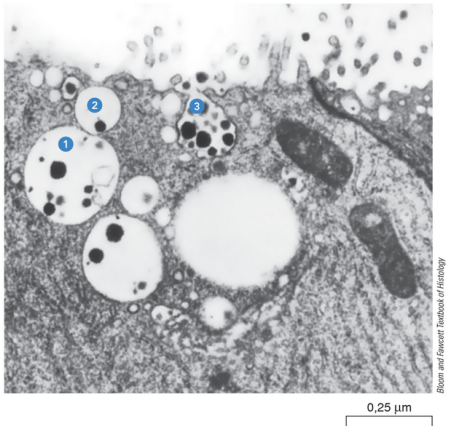
10. Paragonare le funzioni e la composizione chimica dei principali gruppi di composti organici: carboidrati, lipidi, proteine ed acidi nucleici.

Le molecole e gli ioni attraversano la membrana plasmatica per diffusione, sia semplice che facilitata, e mediante il trasporto attivo mediato da carrier. Materiali di maggiori dimensioni, come particelle di cibo o anche cellule intere, devono però anch'essi poter entrare ed uscire dalle cellule. Questo avviene con i processi di esocitosi ed endocitosi, meccanismi di trasporto attivo che richiedono un dispendio energetico diretto da parte della cellula.

### Nell'esocitosi le vescicole esportano grosse molecole

Nell' esocitosi, le cellule espellono prodotti di scarto o particolari prodotti di secrezione, come gli ormoni, mediante la fusione di vescicole con la membrana plasmatica ( FIG. 5-20 ). Mentre il contenuto della vescicola viene rilasciato dalla cellula, la membrana della vescicola secretoria viene incorporata nella membrana plasmatica. Questo costituisce anche il meccanismo primario di accrescimento della membrana plasmatica.



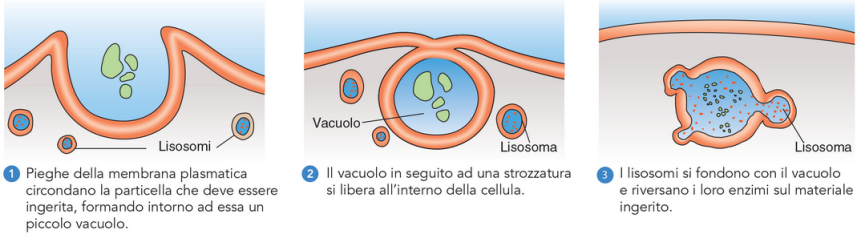




←FIGURA 5-20 *Esocitosi*
Fotografi a al microscopio elettronico a trasmissione che mostra l'esocitosi della componente proteica del latte da parte di una cellula della ghiandola mammaria.

### Nell'endocitosi, la cellula importa materiali

Nell' endocitosi, il materiale viene introdotto nella cellula; nei sistemi biologici agiscono diversi tipi di endocitosi, tra i quali la fagocitosi, la pinocitosi e l'endocitosi mediata da recettori.

Nella fagocitosi (letteralmente, "cellula che mangia"), le cellule ingeriscono grandi particelle solide, come cibo o batteri ( FIG. 5-21 ). Alcuni protisti ingeriscono il cibo mediante fagocitosi; alcune cellule dei vertebrati, tra cui i globuli bianchi del sangue, ingeriscono batteri e altre particelle mediante fagocitosi. Durante l'ingestione, si forma un ripiegamento della membrana plasmatica per includere la particella o la cellula che devono essere fagocitate. Quando la membrana ha circondato completamente la particella si fonde nel punto di contatto formando un vacuolo. Questo si fonde quindi con i lisosomi e il materiale ingerito viene così degradato.



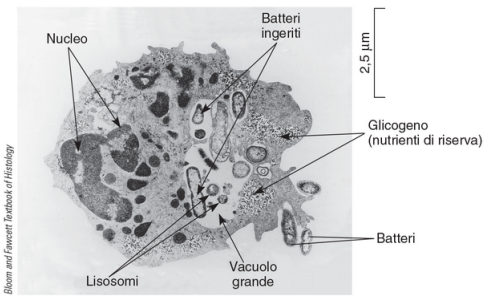
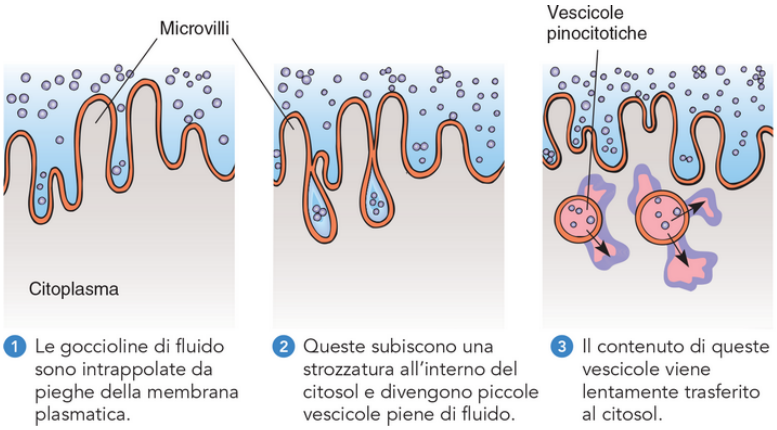




FIGURA 5-21 *Fagocitosi*→
In questo tipo di endocitosi, una cellula ingerisce particelle solide relativamente grandi. Il globulo bianco (un neutrofilo) mostrato nella MET sta fagocitando batteri. I vacuoli contengono batteri che sono già stati ingeriti. I lisosomi contengono enzimi digestivi che scompongono il materiale ingerito. Altri batteri sono visibili all'esterno della cellula.

Per mezzo della pinocitosi ("cellulache beve"), la cellula introduce materiale liquido ( FIG. 5-22 ); minuscole gocce di liquido vengono prima intrappolate e poi circondate dalla membrana plasmatica, che si stacca nel citoplasma sotto forma di minuscole vescicole. I liquidi contenuti in queste vescicole vengono poi trasferiti lentamente nel citosol. Le vescicole diventano sempre più piccole.

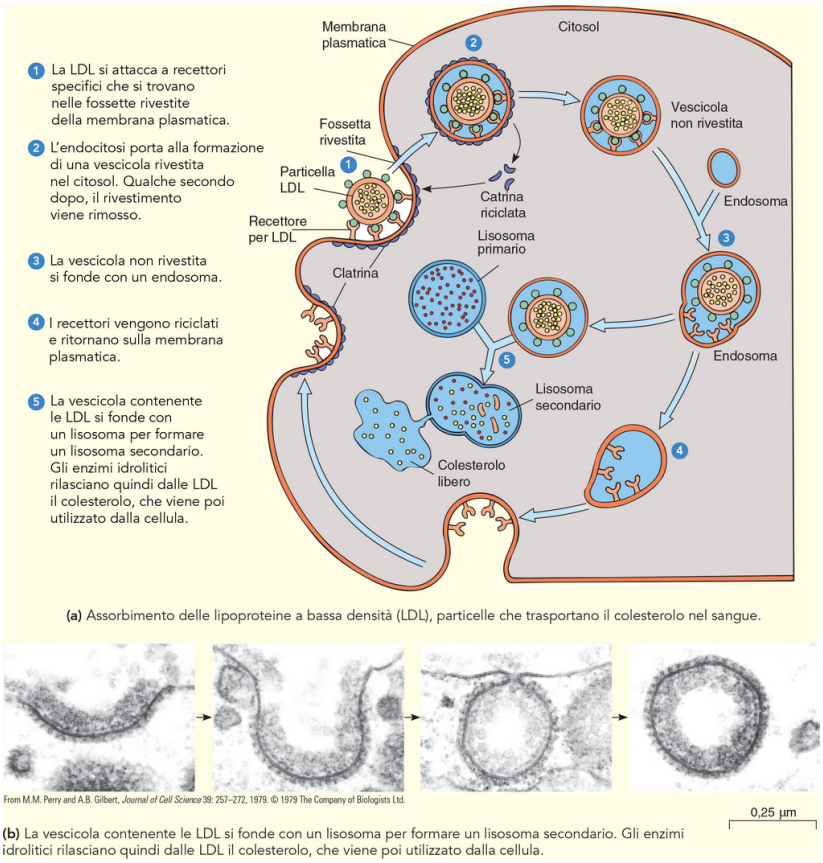



←FIGURA 5-22
*Pinocitosi*

Nel terzo tipo di endocitosi, l 'endocitosi mediata da recettori, molecole specifiche si combinano con le proteine recettoriali della membrana plasmatica della cellula. Il colesterolo ematico viene assorbito dalle cellule mediante questo processo. Le cellule utilizzano il colesterolo come componente delle membrane cellulari e come precursore degli ormoni steroidei. Il colesterolo è trasportato nel sangue come componente di particelle chiamate *lipoproteine a bassa densità* ( *LDL*; comunemente note come "colesterolocattivo"). Molti dettagli riguardanti questo tipo di endocitosi sono stati scoperti grazie agli studi di Michael Brown e Joseph Goldstein, entrambi dell'Health Science Center dell'Università del Texas, sul recettore delle LDL. I due ricercatori furono insigniti del premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina nel 1985, per il loro lavoro pionieristico. Le loro scoperte hanno avuto importanti implicazioni in campo medico, perché il colesterolo che rimane nel sangue, anziché entrare nelle cellule, può depositarsi sulle pareti delle arterie, aumentando il rischio di malattie cardiovascolari.
Quando una cellula ha bisogno di colesterolo, produce recettori per le LDL. I recettori sono concentrati in fossette rivestite, depressioni della superficie citoplasmatica della membrana plasmatica. Ciascuna fossetta è rivestita da uno strato di una proteina, la clatrina, che si trova appena sotto la membrana plasmatica. Una molecola che si lega in modo specifico ad un recettore è detta ligando. In questo caso, il ligando è la LDL. Dopo che la LDL si è legata al recettore, la fossetta rivestita dà origine per endocitosi ad una vescicola rivestita.

**PUNTO CHIAVE** Nell'endocitosi mediata da recettore, specifiche macromolecole si legano a proteine recettoriali, si accumulano nelle fossette rivestite e penetrano nella cellula all'interno di vescicole rivestite da clatrina.

FIGURA 5-23 *Endocitosi mediata da recettore*




Nella FIGURA 5-23 è illustrato l'assorbimento delle particelle LDL. Pochi secondi dopo l'ingresso delle vescicole nel citoplasma, il rivestimento si stacca, lasciando una vescicola non rivestita. La vescicola riversa il suo contenuto in compartimenti detti endosomi. La LDL si separa dal suo recettore e viene trasferita ad un lisosoma. Qui, la LDL viene degradata e il colesterolo è rilasciato nel citoplasma per essere utilizzato dalla cellula. I recettori delle LDL sono riportati sulla membrana plasmatica, dove vengono riciclati. Qui di seguito è schematizzata una sintesi semplificata dell'endocitosi mediata da recettori:

Il ligando si lega ai recettori presenti nelle fossette rivestite della membrana plasmatica ⟶ si forma una vescicola rivestita per endocitosi ⟶ il rivestimento si stacca dalla vescicola ⟶ la vescicola priva di rivestimento si fonde con un endosoma ⟶ i ligandi si separano dai recettori, che vengono riciclati; l'endosoma si fonde con un lisosoma primario formando un lisosoma secondario ⟶ il contenuto del lisosoma secondario viene degradato e rilasciato nel citosol.

Il riciclaggio dei recettori per le LDL sulla membrana plasmatica mediante vescicole esemplifica un problema comune a tutte le cellule che utilizzano meccanismi di endocitosi ed esocitosi. Un tipo di cellula fagocitica conosciuta come macrofago, ad esempio, è in grado di ingerire l'equivalente di tutta la sua

superficie di membrana in 30 minuti, pertanto è necessario sintetizzare un quantitativo equivalente di membrana nuova o riciclata allo scopo di mantenere l'area superficiale costante. Nelle cellule che sono sempre impegnate nella secrezione, per ciascuna vescicola che si fonde con la membrana plasmatica, un quantitativo equivalente di membrana deve ritornare verso l'interno della cellula; se ciò non avvenisse, la superficie cellulare continuerebbe ad espandersi, anche se la crescita della cellula stessa è arrestata.

**Verifica**

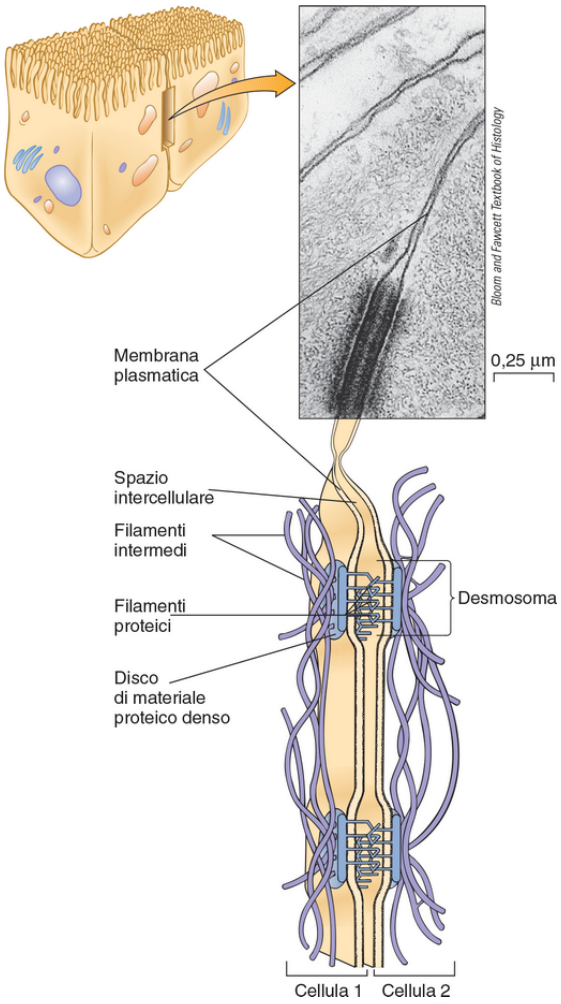
- Quali sono le similitudini tra l'esocitosi e l'endocitosi?
- Quali sono le differenze tra i processi di fagocitosi e pinocitosi?
- Qual è la sequenza di eventi nell'endocitosi mediata da recettori?

# 5.7 LE GIUNZIONI CELLULARI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

11. Paragonare Paragonare le strutture e le funzioni di giunzioni ancoranti, giunzioni serrate, giunzioni comunicanti e plasmodesmi.

Le cellule che si trovano in stretto contatto tra loro normalmente sviluppano giunzioni intercellulari specializzate. Tali strutture possono permettere di formare connessioni molto forti, impedire il passaggio di materiali o stabilire una rapida comunicazione tra cellule adiacenti. Le cellule animali sono connesse da diversi tipi di giunzioni, che includono le giunzioni ancoranti, le giunzioni serrate e le giunzioni comunicanti. Le cellule vegetali sono connesse tra loro da plasmodesmi.




←FIGURA 5-24 *Desmosomi*
In questa fotografi a al microscopio elettronico a trasmissione è rappresentata la struttura densa che costituisce il desmosoma. Ciascun desmosoma è costituito da un paio di dischi a forma di bottone associati con le membrane plasmatiche di cellule adiacenti e da filamenti proteici intercellulari che connettono queste cellule. I filamenti intermedi attaccati a questi dischi sono connessi con altri desmosomi.

### Le giunzioni di ancoraggio connettono le cellule di uno strato epiteliale

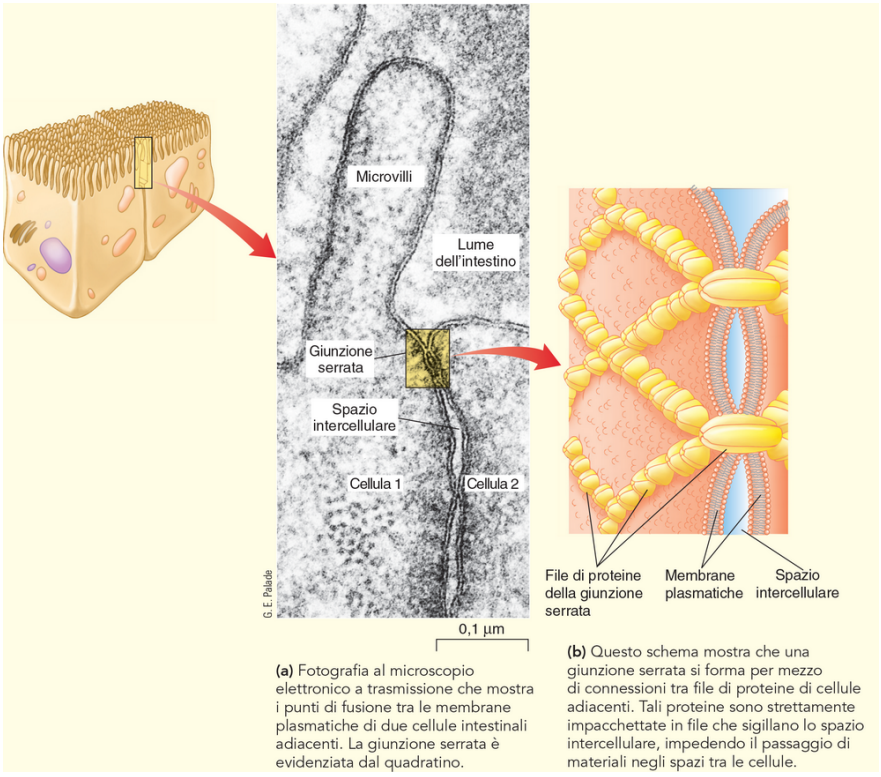
Le cellule epiteliali adiacenti, come quelle dello strato superficiale della pelle, sono legate tra loro così fortemente mediante giunzioni ancoranti che per separarle sono necessarie forze meccaniche molto forti. Le caderine, le proteine transmembrana mostrate nella figura di apertura del capitolo, sono componenti importanti di queste giunzioni. Le giunzioni ancoranti, non influenzano il passaggio di materiali tra cellule adiacenti, e sono di due tipi: desmosomi e giunzioni aderenti.
I desmosomi sono punti di attacco tra le cellule ( FIG. 5-24 ) che mantengono le cellule unite a guisa di ribattino. I desmosomi permettono alle cellule di formare uno strato resistente, che però lascia spazi tra le membrane attraverso i quali possono ancora passare delle sostanze. Ogni desmosoma è costituito da regioni di materiale denso associate con il lato citosolico delle due membrane, oltre ai filamenti proteici che attraversano lo stretto spazio intercellulare; inoltre, i desmosomi sono ancorati al sistema intracellulare dei filamenti intermedi. In questo modo, la rete dei filamenti intermedi di cellule adiacenti è in connessione, permettendo di distribuire su tutto il tessuto gli stress meccanici.

Le giunzioni aderenti cementano le cellule tra loro. Le caderine formano una cintura di adesione continua attorno a ciascuna cellula, legandola alle cellule vicine. Queste giunzioni si connettono con i microfilamenti del citoscheletro. Le caderine delle giunzioni aderenti rappresentano un sistema potenziale per la trasmissione dei segnali dall'ambiente esterno al citoplasma.

### Le giunzioni serrate sigillano gli spazi intercellulari tra alcune cellule animali

Le giunzioni serrate (strette) sono aree di connessione tra le membrane di cellule adiacenti. Tali

connessioni sono così strette che gli spazi intorno alla cellula scompaiono completamente; in questo modo, può essere impedito il passaggio di alcune sostanze attraverso lo strato cellulare. Le fotografie al microscopio elettronico a trasmissione delle giunzioni strette mostrano che nella zona della giunzione le membrane di due cellule sono tenute insieme da connessioni proteiche e sono effettivamente a contatto l'una con l'altra. Tuttavia, come è mostrato in FIGURA 5-25, le giunzioni serrate sono distribuite in maniera discontinua, cosicché le membrane plasmatiche delle due cellule non sono fuse lungo l'intera superficie.




**(a)** Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione che mostra i punti di fusione tra le membrane plasmatiche di due cellule intestinali adiacenti. La giunzione serrata è evidenziata dal quadratino.

**(b)** Questo schema mostra che una giunzione serrata si forma per mezzo di connessioni tra file di proteine di cellule adiacenti. Tali proteine sono strettamente impacchettate in file che sigillano lo spazio intercellulare, impedendo il passaggio di materiali negli spazi tra le cellule.

**PUNTO CHIAVE** Le giunzioni serrate impediscono il passaggio di materiali attraverso gli spazi intercellulari.

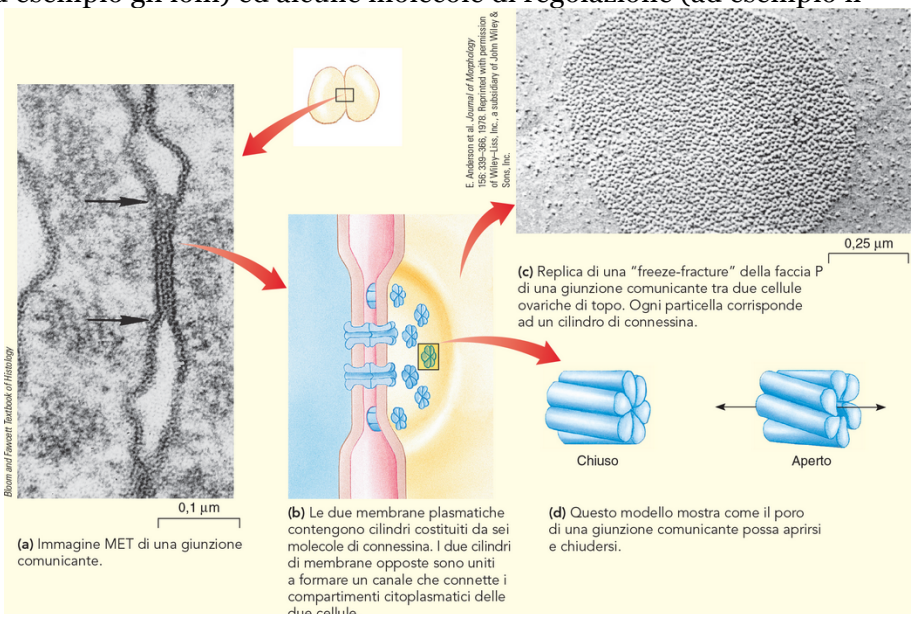
FIGURA 5-25
*Giunzioni serrate*

Le cellule connesse da giunzioni serrate sigillano cavità corporee. Ad esempio, le giunzioni strette esistenti tra le cellule che rivestono la parete intestinale impediscono alle sostanze che si trovano nell'intestino di entrare nel circolo sanguigno passando intorno alle cellule. Lo strato cellulare funziona così da barriera selettiva: le sostanze nutritive devono essere trasportate attraverso le membrane plasmatiche ed *attraversare* l'interno delle cellule intestinali per raggiungere il circolo sanguigno. Questa organizzazione contribuisce ad impedire che le tossine ed altre sostanze indesiderate entrino nel circolo sanguigno e che le sostanze nutritive fuoriescano dall'intestino. Giunzioni serrate sono presenti anche tra le cellule che rivestono i capillari nel cervello; esse contribuiscono alla formazione della *barriera emato-encefalica*, che impedisce a diverse sostanze di passare dal sangue al cervello.

## Le giunzioni comunicanti permettono il trasferimento di piccole molecole e ioni

Una giunzione comunicante (gap) assomiglia ad un desmosoma in quanto non è continua, anche se è più stretta rispetto ad esso ( FIG. 5-26 ). Le giunzioni comunicanti si differenziano anche per il fatto che esse non solo uniscono le membrane, ma contengono anche canali che mettono in comunicazione il citoplasma di cellule adiacenti.

Le giunzioni comunicanti sono composte da *connessina*, una proteina integrale di membrana. Gruppi di sei molecole di connessina formano un cilindro che attraversa la membrana plasmatica, e i cilindri di connessina di cellule adiacenti sono saldamente uniti tra loro a formare un canale del diametro di circa 1,5 nm. Le piccole molecole inorganiche (ad esempio gli ioni) ed alcune molecole di regolazione (ad esempio il cAMP, vedi Figura 3-25 ) possono passare attraverso questi canali; le molecole di dimensioni più grandi, invece, vengono escluse. Se si iniettano dei marcatori appropriati in una delle cellule connesse da questo tipo di giunzioni, essi passano rapidamente nelle cellule adiacenti ma non entrano nello spazio tra le cellule.




**(a)** Immagine MET di una giunzione comunicante.

**(b)** Le due membrane plasmatiche contengono cilindri costituiti da sei molecole di connessina. I due cilindri di membrane opposte sono uniti a formare un canale che connette i compartimenti citoplasmatici delle due cellule.

**(c)** Replica di una "freeze-fracture" della faccia P di una giunzione comunicante tra due cellule ovariche di topo. Ogni particella corrisponde ad un cilindro di connessina.

**(d)** Questo modello mostra come il poro di una giunzione comunicante possa aprirsi e chiudersi.

**PUNTO CHIAVE** Le giunzioni comunicanti permettono il trasferimento di piccole molecole e ioni tra cellule adiacenti.

FIGURA 5-26
*Giunzioni comunicanti*

Il modello di una giunzione comunicante mostrato in (b) è basato su dati di microscopia elettronica e diffrazione ai raggi X.

Le giunzioni comunicanti garantiscono comunicazioni chimiche ed elettriche molto rapide tra le cellule. Le cellule possono controllare il passaggio di materiale attraverso le giunzioni comunicanti mediante apertura e chiusura dei canali ( Fig. 5-26d ). Le cellule del pancreas, ad esempio, sono tenute insieme da giunzioni comunicanti, in modo tale che se un gruppo di cellule viene stimolato a secernere l'insulina, il segnale passa attraverso le giunzioni. Questo meccanismo assicura una risposta coordinata al segnale iniziale. Le giunzioni comunicanti permettono l'accoppiamento elettrico di alcune cellule nervose. Le cellule muscolari cardiache sono anch'esse connesse da giunzioni comunicanti, in modo da garantire il flusso di ioni necessario per la contrazione sincronizzata delle cellule.

## I plasmodesmi permettono il movimento di alcune molecole e di alcuni ioni fra cellule vegetali

Le cellule vegetali non hanno bisogno di desmosomi per irrobustirsi, perché sono fornite di parete cellulare. Le cellule vegetali necessitano di connessioni funzionalmente equivalenti alle giunzioni comunicanti delle cellule animali. I plasmodesmi sono canali larghi da 20 a 40 nanometri che attraversano le pareti di cellule vegetali adiacenti, mettendo in connessione il loro citoplasma ( FIG. 5-27 ). Le membrane plasmatiche di cellule adiacenti sono quindi continue le une con le altre grazie ai plasmodesmi. Molti di essi contengono una struttura membranosa cilindrica, il desmotubulo, il quale passa attraverso l'apertura e connette il reticolo endoplasmatico di due cellule adiacenti.

**PUNTO CHIAVE** La maggior parte delle cellule delle piante superiori è connessa da plasmodesmi che mettono in comunicazione il citoplasma di cellule adiacenti.

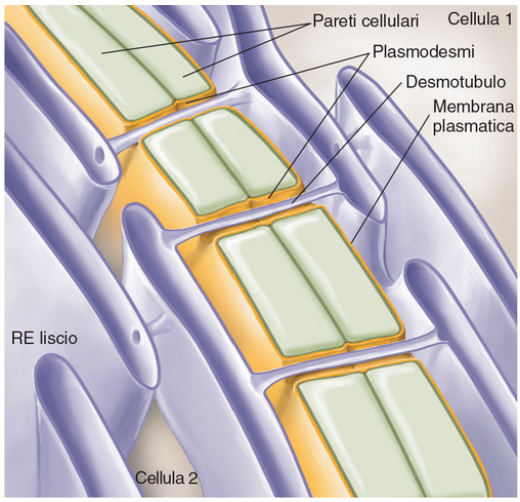



FIGURA 5-27
*Plasmodesmi*
I canali citoplasmatici che attraversano le pareti cellulari di cellule vegetali adiacenti permettono il passaggio di acqua, ioni e piccole molecole. I canali sono rivestiti internamente dalle membrane plasmatiche fuse delle due cellule adiacenti.

I plasmodesmi generalmente permettono alle molecole e agli ioni, ma non agli organuli, di passare da una cellula all'altra attraverso le aperture. Il movimento di ioni attraverso i plasmodesmi fa sì che nei vegetali si abbiano deboli segnali elettrici. Mentre i canali delle giunzioni comunicanti hanno un diametro fisso, le cellule vegetali sono in grado di dilatare i canali dei plasmodesmi. Alcune proteine e gli RNA possono passare attraverso i plasmodesmi. Alcuni virus delle piante diffondono l'infezione passando attraverso questo tipo di giunzioni.

## Verifica

- Quali analogie funzionali esistono tra desmosomi e giunzioni serrate? E quali differenze?
- Per quale motivo le giunzioni comunicanti ed i plasmodesmi sono considerati funzionalmente analoghi? Quali sono le loro differenze strutturali?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

5.1

1. Valutare l'importanza delle membrane per l'omeostasi della cellula, sottolineando le loro varie funzioni.
   - La membrana plasmatica separa fisicamente l'interno della cellula dall'ambiente extracellulare, riceve informazioni sui cambiamenti nell'ambiente esterno, regola il passaggio di materiali dentro e fuori la cellula e comunica con altre cellule.
   - Le membrane biologiche formano compartimenti all'interno delle cellule eucariotiche, permettendo lo svolgimento di una varietà di funzioni diverse. Le membrane fungono da superfici per le reazioni biochimiche.
2. Descrivere il modello a mosaico fluido della struttura della membrana cellulare.
   - Secondo il modello a mosaico fluido, le membrane sono costituite da un doppio strato fosfolipidico nel quale sono incastrate varie proteine.

- Le molecole fosfolipidiche sono antipatiche: esse hanno regioni idrofobiche ed idrofiliche. Le teste idrofiliche dei fosfolipidi sono sulle due superfici esterne del doppio strato, mentre le catene di acidi grassi idrofobiche si trovano nella parte interna.

3. Spiegare come le proprietà del doppio strato lipidico siano alla base di molte proprietà e funzioni delle membrane cellulari.
   - In quasi tutte le membrane biologiche, i lipidi del doppio strato sono in uno stato fluido o di cristallo liquido; ciò fa sì che le molecole possano muoversi rapidamente nel piano della membrana. Anche le proteine si muovono all'interno della membrana.
   - I doppi strati lipidici sono flessibili ed autosigillati e possono fondersi con altre membrane. Queste proprietà sono alla base del trasporto di materiali da una parte all'altra della cellula all'interno di vescicole che gemmano da varie membrane cellulari e si fondono poi con altre membrane.
4. Spiegare come le proteine di membrana si associano con il doppio strato lipidico
   - Le proteine di membrana integrali sono incastrate nel doppio strato in modo tale che le loro superfici idrofiliche siano a contatto con l'ambiente acquoso e le loro superfici idrofobiche siano a contatto con la parte interna idrofobica del doppio strato. Le proteine transmembrana sono proteine integrali che attraversano completamente la membrana.
   - Le proteine di membrana periferiche sono associate alla superficie del doppio strato, di solito legate alle porzioni esposte di proteine integrali, e possono essere facilmente rimosse senza alterare la struttura della membrana.

5.2

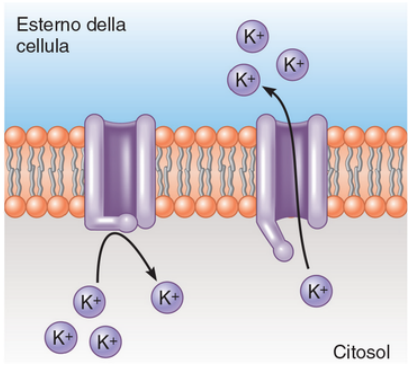
5. Riassumere le funzioni delle proteine di membrana.
   - Le proteine di membrana ancorano le cellule tra di loro, trasportano sostanze, agiscono da enzimi o recettori, partecipano al riconoscimento e alla comunicazione tra cellule e collegano strutturalmente le cellule tra loro.

5.3

6. Descrivere l'importanza delle membrane selettivamente permeabili e confrontare le funzioni delle proteine carrier e delle proteine canale.
   - Le membrane biologiche sono selettivamente permeabili, permettono cioè il passaggio di alcune sostanze e non di altre. Regolando il passaggio delle molecole che entrano ed escono dalla cellula e dai suoi compartimenti, la cellula controlla il proprio volume e la propria composizione interna di ioni e molecole.
   - Le proteine di trasporto della membrana facilitano il passaggio di determinati ioni e molecole attraverso le membrane biologiche. Le proteine carrier sono proteine di trasporto che vanno incontro ad una serie di variazioni conformazionali nel momento in cui legano e trasportano uno specifico soluto. I trasportatori ABC sono proteine carrier che utilizzano l'energia derivante dall'ATP per trasportare soluti.
   - Le proteine canale sono proteine di trasporto che formano delle vie di transito attraverso le quali l'acqua ed alcuni ioni passano da una parte all'altra della membrana. Le porine sono proteine canale che formano pori relativamente ampi attraverso la membrana per il passaggio di acqua e certi soluti.

5.4

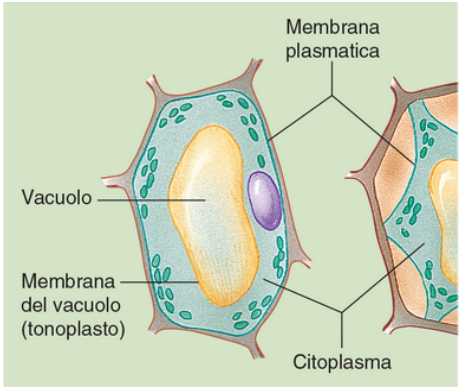
7. Confrontare la diffusione semplice e la diffusione facilitata
   - La diffusione è il movimento netto di una sostanza secondo il suo gradiente di concentrazione, ovvero da una zona a concentrazione maggiore ad una a concentrazione minore. La diffusione e l'osmosi sono processi fisici che non richiedono un dispendio diretto di energia metabolica da parte della cellula.
   - Nella diffusione semplice attraverso una membrana biologica, le molecole di soluto o gli ioni si muovono direttamente attraverso la membrana, secondo il loro gradiente di concentrazione. La diffusione facilitata si avvale di specifiche proteine di trasporto per muovere i soluti attraverso una membrana. Come nel caso della diffusione semplice, il movimento netto avviene sempre da una regione a concentrazione maggiore verso una regione a concentrazione minore. La diffusione facilitata non può avvenire contro gradiente.




8. Dare una definizione di osmosi e risolvere alcuni semplici problemi che riguardano l'osmosi; ad esempio, prevedere se una cellula si gonfierà o si raggrinzirà a seconda delle diverse condizioni

osmotiche.

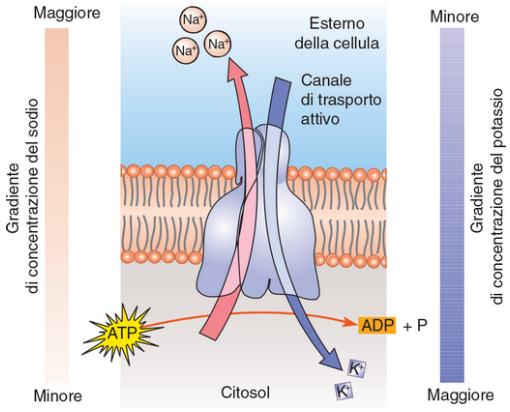
- L' osmosi è un tipo di diffusione in cui le molecole di acqua attraversano una membrana selettivamente permeabile passando da una regione in cui la concentrazione effettiva dell'acqua è maggiore ad una in cui essa è minore.
- La concentrazione delle sostanze disciolte (soluti) in una soluzione determina la pressione osmotica della soluzione. Le cellule regolano la loro pressione osmotica interna per evitare di raggrinzirsi o di scoppiare.
- Una soluzione isotonica ha una concentrazione di soluti uguale a quella di un altro fluido, come ad esempio il fluido intracellulare.
- Quando una cellula viene posta in una soluzione ipertonica, cioè con una concentrazione di soluti più elevata rispetto a quella della cellula stessa, essa cede acqua all'ambiente; le cellule vegetali vanno incontro alla plasmolisi, processo nel quale la membrana plasmatica si separa dalla parete cellulare.
- Quando una cellula viene posta in una soluzione ipotonica, cioè con una concentrazione di soluti più bassa rispetto alla cellula, l'acqua entra nella cellula causandone il rigonfiamento.
- Le cellule vegetali possono sopportare un'elevata pressione idrostatica interna, in quanto le pareti cellulari impediscono loro di rigonfiarsi e scoppiare. Quando l'acqua entra nelle cellule per osmosi, riempie i vacuoli centrali. Le cellule si rigonfiano, esercitando una pressione di turgore contro le pareti cellulari rigide.




5.5

9. Descrivere il trasporto attivo, compreso il cotrasporto.

- Nel trasporto attivo, la cellula utilizza energia metabolica per spostare ioni o molecole attraverso la membrana contro un gradiente di concentrazione. Ad esempio, la pompa sodio-potassio utilizza l'ATP per pompare gli ioni sodio fuori dalla cellula e gli ioni potassio dentro la cellula.
- Nel cotrasporto, detto anche trasporto attivo indiretto, due soluti sono trasportati contemporaneamente. Una pompa ATP-dipendente mantiene un gradiente di concentrazione. Quindi, una proteina carrier cotrasporta due soluti. Essa trasporta uno dei soluti secondo il suo gradiente di concentrazione ed utilizza l'energia rilasciata da questo processo per trasportare un altro soluto contro il suo gradiente di concentrazione.




5.6

10. Paragonare i meccanismi di trasporto per esocitosi e per endocitosi.

- La cellula spende energia metabolica per portare avanti l'esocitosi e l'endocitosi.
- Nell 'esocitosi, la cellula espelle i prodotti di scarto o secerne sostanze, come ormoni o muco, mediante la fusione di vescicole con la membrana plasmatica. Questo processo provoca un incremento dell'area di superficie della membrana plasmatica.
- Nell 'endocitosi, materiali come particelle di cibo possono essere portati all'interno della cellula; una porzione della membrana plasmatica avvolge il materiale, lo racchiude in una vescicola (o vacuolo), che poi viene rilasciata all'interno della cellula. In questo processo, c'è una riduzione dell'area di superficie della membrana plasmatica.
- I tre tipi di endocitosi sono la fagocitosi, la pinocitosi e l'endocitosi mediata da recettori.
- Nella fagocitosi, la membrana plasmatica racchiude una grossa particella, ad esempio un batterio, formando attorno ad essa un vacuolo che la trasporta dentro la cellula. Nella pinocitosi, le cellule assumono materiali disciolti formando piccole vescicole attorno alle goccioline di fluido intrappolate in pieghe della membrana plasmatica.
- Nell 'endocitosi mediata da recettori, i ligandi si legano a recettori specifici in fossette rivestite della membrana plasmatica. Queste fossette, rivestite dalla proteina clatrina, formano vescicole rivestite per endocitosi. Le vescicole si fondono con dei lisosomi e il loro contenuto viene degradato e rilasciato nel citosol.

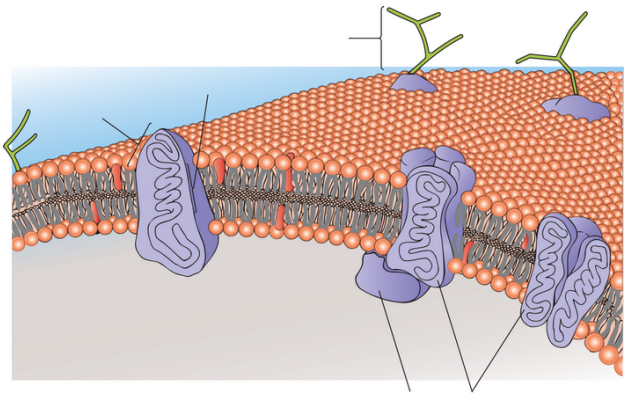
5.7

11. Paragonare le strutture e le funzioni di giunzioni ancoranti, giunzioni serrate, giunzioni comunicanti e plasmodesmi.
    - Le cellule a stretto contatto possono sviluppare giunzioni intercellulari. Le giunzioni ancoranti includono i desmosomi e le giunzioni aderenti e si ritrovano tra cellule che formano uno strato di tessuto. I desmosomi costituiscono dei punti di saldatura tra cellule animali adiacenti. Le giunzioni aderenti sono formate dalle caderine, proteine transmembrana che cementano le cellule tra loro.
    - Le giunzioni serrate sigillano le membrane di cellule animali adiacenti, evitando che le sostanze possano passare attraverso gli spazi intercellulari.
    - Le giunzioni comunicanti, costituite dalla proteina connessina, formano canali che permettono la comunicazione tra i citoplasmi di cellule animali adiacenti.
    - I plasmodesmi sono canali che connettono cellule vegetali adiacenti. Aprendosi nella parete cellulare, permettono alle membrane plasmatiche e al citoplasma di non avere soluzione di continuità; ciò permette ad alcuni ioni e molecole di passare da una cellula all'altra.

## AUTOVERIFICHE

1. Secondo il modello a mosaico fluido, le membrane sono costituite da: (a) un sandwich di lipidi-proteine; (b) soprattutto fosfolipidi con acidi nucleici sparsi; (c) un doppio strato fosfolipidico fluido nel quale sono incastrate le proteine; (d) un doppio strato fosfolipidico fluido nel quale sono incastrati i carboidrati; (e) un doppio strato proteico che si comporta come un cristallo liquido.
2. Le proteine transmembrana: (a) sono proteine periferiche; (b) sono proteine recettoriali; (c) attraversano completamente la membrana; (d) si estendono lungo la superficie della membrana; (e) sono secrete dalle cellule.
3. Quali delle seguenti funzioni non è tipica della membrana plasmatica? (a) Trasportare materiali; (b) legare le cellule tra loro da un punto di vista strutturale; (c) possedere recettori che rilasciano segnali; (d) ancorare la cellula alla matrice extracellulare; (e) sintetizzare le proteine.
4. I trasportatori ABC: (a) utilizzano l'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP per trasportare determinati ioni e zuccheri; (b) sono importanti nella diffusione facilitata di alcuni ioni; (c) costituiscono un piccolo gruppo di proteine canale; (d) si trovano principalmente nelle membrane delle cellule vegetali; (e) permettono la diffusione passiva attraverso i loro canali.
5. Quando le cellule vegetali si trovano in un mezzo ipotonico: (a) subiscono plasmolisi; (b) generano la pressione di turgore; (c) avvizziscono; (d) riducono la pinocitosi; (e) perdono acqua.
6. Un tecnico di laboratorio pone accidentalmente dei globuli rossi in una soluzione ipertonica. Che cosa succede? (a) Vanno incontro a plasmolisi; (b) generano una pressione di turgore; (c) si rigonfiano; (d) pompano soluti all'esterno; (e) si disidratano e si raggrinziscono.
7. Quali dei seguenti processi richiede un dispendio diretto di energia metabolica (ad esempio, sotto forma di ATP)? (a) L'osmosi; (b) la diffusione facilitata; (c) tutte le forme di trasporto mediato da carrier; (d) il trasporto attivo; (e) la diffusione semplice.
8. I gradienti elettrochimici: (a) alimentano la diffusione semplice; (b) sono generati per pinocitosi; (c) sono necessari per il trasporto attraverso le acquaporine; (d) sono generati da gradienti di concentrazione; (e) sono il risultato sia di una differenza di carica elettrica che di una differenza di concentrazione tra i due lati della membrana.
9. Nel cotrasporto (trasporto attivo indiretto): (a) un trasportatore ad uniporto trasporta un soluto attraverso una membrana contro il suo gradiente di concentrazione; (b) il trasporto di un soluto secondo il suo gradiente di concentrazione fornisce l'energia necessaria per il trasporto di un altro soluto contro il suo gradiente di concentrazione; (c) una proteina canale trasporta gli ioni per diffusione facilitata; (d) l'osmosi alimenta il trasporto di ioni contro il loro gradiente di concentrazione; (e) il sodio è trasportato direttamente in una direzione e il potassio è trasportato indirettamente nella stessa direzione.
10. La cellula assume materiali disciolti per formazione di piccole vescicole attorno a goccioline di fluido formatesi in seguito ad invaginazioni della membrana plasmatica. Questo processo è: (a) il trasporto attivo; (b) la pinocitosi; (c) l'endocitosi mediata da recettore; (d) l'esocitosi; (e) la diffusione facilitata.

11. Le giunzioni ancoranti che tengono insieme le cellule in un punto in modo simile ad una saldatura per punti sono: (a) giunzioni serrate; (b) giunzioni aderenti; (c) desmosomi; (d) giunzioni comunicanti; (e) plasmodesmi.
12. Le giunzioni che permettono il trasferimento di acqua, ioni e molecole tra cellule vegetali adiacenti sono: (a) giunzioni serrate; (b) giunzioni aderenti; (c) desmosomi; (d) giunzioni comunicanti; (e) plasmodesmi.
13. Mettete le etichette ai componenti della membrana plasmatica. Consultate la Figura 5-6 per verificare le vostre risposte.



**PENSIERO CRITICO**

1. Perché le molecole polari di grandi dimensioni e gli ioni non possono diffondere attraverso il doppio strato lipidico? Se potessero, per la cellula sarebbe vantaggioso? Spiegate.
2. Descrivete un modo in cui si può generare e mantenere un gradiente ionico.
3. Molte cellule vegetali adiacenti sono connesse dai plasmodesmi. Invece, solo alcune cellule animali adiacenti sono connesse per mezzo di giunzioni comunicanti. Perché?
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Ipotesi: l'evoluzione delle membrane biologiche è stato un passaggio fondamentale nell'origine della vita. Fornite argomentazioni a supporto (o a discredito) di questa ipotesi.
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Le proteine di trasporto sono state trovate in tutte le membrane biologiche. Quale ipotesi potreste avanzare sulla possibilità che tali molecole si siano evolute precocemente o tardivamente nella storia delle cellule? Fornite argomentazioni a supporto della vostra ipotesi.
6. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. I biologi hanno alcune informazioni riguardo ai componenti che costituiscono le pareti delle cellule vegetali, ma non hanno abbastanza dati per creare un modello della parete cellulare che funzioni come un sistema. Siete favorevoli all'investimento di fondi governativi nella ricerca di tecniche che possano permettere di creare un tale modello? Perché o perché no? Sarebbe differente la vostra risposta considerando che una migliore conoscenza della parete cellulare permetterebbe ai biologi di manipolare la crescita delle piante, la maturazione della frutta e la consistenza di alcuni cibi?

# Articolo VI. La comunicazione cellulare 6

Per mantenere l'omeostasi, le cellule di un organismo pluricellulare devono comunicare continuamente tra di loro. Si sono sviluppati molti meccanismi diversi per trasmettere le informazioni tra cellule, tessuti ed organi, compresi segnali elettrici e differenti tipi di segnali chimici.

Gli organismi comunicano con altri membri della loro specie mediante la secrezione di segnali chimici. Ad esempio, i batteri rilasciano segnali chimici che si diffondono tra i batteri vicini. All'aumentare delle dimensioni della popolazione batterica, aumenta la concentrazione del segnale chimico. Attraverso un processo noto come *percezione del quorum*, i batteri percepiscono quando una molecola segnale raggiunge una certa concentrazione critica. I batteri quindi rispondono attivando uno specifico processo biochimico. Ad esempio, possono formare un biofilm , ovvero una comunità di microrganismi attaccata ad una superficie solida. La formazione di un biofilm richiede l'attività coordinata di numerosi batteri.

Nell'arco di miliardi di anni, si sono evoluti sistemi di segnalazione cellulare elaborati. Anche organismi appartenenti a specie diverse, e addirittura a regni e domini diversi, comunicano tra loro. Ad esempio, i segnali chimici rilasciati dai batteri possono essere intercettati da altri organismi. Durante il suo ciclo vitale, l'alga verde *Enteromorpha* produce spore che si spostano e si attaccano temporaneamente ad una superficie. Le spore percepiscono un segnale chimico rilasciato dai batteri che formano biofilm. In seguito al segnale chimico, le spore si muovono verso il biofilm e si attaccano ai singoli batteri che fanno parte della superficie del biofilm (vedi l'immagine all'inizio del capitolo).

Migliaia di reazioni chimiche sono coinvolte nella risposta a molecole segnale e nella regolazione delle comunicazioni molecolari necessarie al mantenimento dell'omeostasi. Molti ricercatori stanno indagando a

livello molecolare per capire come le proteine ricevono messaggi e trasmettono il segnale. Essi cercano di capire come le proteine agiscano da interruttori molecolari, attivando e disattivando molecole in complesse vie di segnalazione.

I biologi cellulari stanno utilizzando dei sistemi per capire le complesse interazioni dinamiche coinvolte nella comunicazione cellulare. Biologi, biochimici, fisici e ricercatori di molte altre discipline stanno collaborando per capire come elaborati sistemi di segnalazione interagiscano all'interno delle cellule per mantenere l'omeostasi. Insieme, questi scienziati stanno studiando come le informazioni sono trasferite tra le cellule e successivamente a livello di tessuti e organi e in tutto l'organismo. Una segnalazione difettosa all'interno di una cellula, o tra le cellule, può causare una varietà di malattie, tra cui il cancro e il diabete.

Nel Capitolo 1 , abbiamo introdotto i tre temi fondamentali della biologia. Uno di essi, la trasmissione dell'informazione, sarà l'argomento principale di questo capitolo. In questo capitolo, vedremo come le cellule inviano e ricevono segnali. Considereremo come le informazioni attraversino la membrana plasmatica e siano trasmesse attraverso un sistema di segnalazione. Descriveremo alcune delle risposte cellulari. Infine, descriveremo come si è evoluta la comunicazione cellulare. La migliore comprensione dei meccanismi di comunicazione cellulare suggerisce nuove strategie per la prevenzione o il trattamento delle malattie.

## 6.1 COMUNICAZIONE CELLULARE: una visione d'insieme

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Descrivere la sequenza degli eventi che si verificano nella segnalazione cellulare.

Quando il nutrimento scarseggia, la muffa ameboide *Dictyostelium* secerne adenosina monofosfato ciclico ( cAMP ). Questo composto chimico diffonde nell'ambiente e si lega a *recettori* presenti sulla superficie delle cellule vicine. I recettori attivati inviano all'interno delle cellule dei segnali che le inducono a muoversi verso il cAMP. Centinaia di muffe si uniscono a formare una colonia multicellulare a forma di lumaca ( FIG. 6-1 , vedi anche Fig. 26-20 ). (Quando le condizioni sono favorevoli le cellule della colonia formano un corpo fruttifero a forma di gambo con in cima delle spore; quando le spore vengono rilasciate, ciascuna dà origine ad una cellula ameboide).

Anche se non si muovono da un posto all'altro, le piante comunicano tra loro. Ad esempio, gli alberi di acero malati inviano segnali chimici volatili che vengono captati dagli alberi vicini non infetti. Le cellule degli alberi non infetti potenziano le loro difese chimiche in modo da diventare più resistenti all'organismo patogeno. Le piante inviano segnali anche agli insetti. Quando le piante di tabacco sono attaccate da insetti erbivori, rilasciano sostanze chimiche volatili. In risposta a questi segnali, gli insetti depongono un numero minore di uova, riducendo in tal modo il numero di insetti che si nutrono della pianta. Gli insetti predatori che si cibano delle uova degli insetti erbivori rispondono ai segnali della pianta mangiando un numero maggiore di uova. Pertanto, la selezione naturale ha portato allo sviluppo di segnali vegetali che allontanano gli insetti erbivori ed attirano gli insetti carnivori. Questo sistema di trasmissione dell'informazione aiuta le piante a proteggersi dagli insetti erbivori.

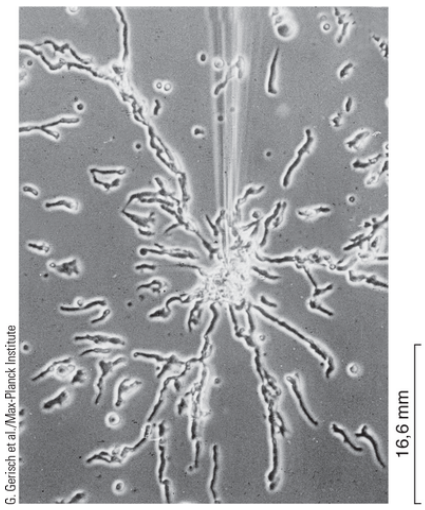
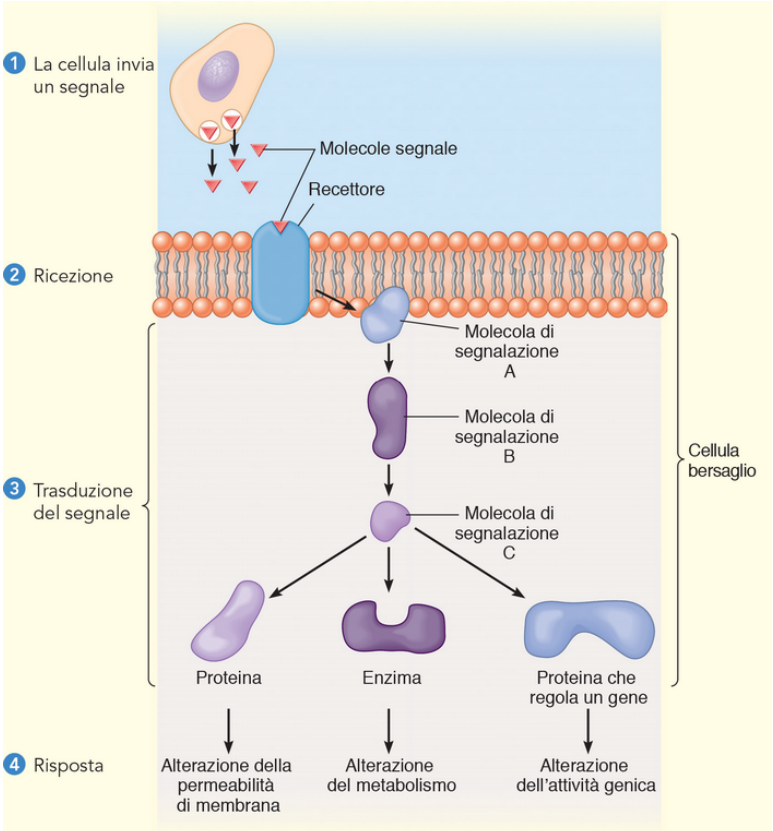



FIGURA 6-1 →
*Segnalazione cellulare nelle muffe mucillaginose cellulari*
Quando il nutrimento scarseggia, la muffa mucillaginosa cellulare ameboide Dictyostelium secerne il composto chimico AMP ciclico (cAMP). Le muffe mucillaginose rispondono a questo segnale chimico aggregandosi. File di centinaia di individui convergono e si uniscono a formare una colonia multicellulare.

Per sopravvivere, gli organismi devono ricevere segnali dall'ambiente esterno ed essere in grado di rispondere ad essi. Per crescere, svilupparsi ed esplicare le proprie funzioni, le cellule di un organismo pluricellulare devono anche comunicare tra di loro. Nelle piante e negli animali, gli ormoni funzionano da importanti segnali chimici tra varie cellule ed organi. Nella maggior parte degli animali, i neuroni (cellule nervose) trasmettono le informazioni per via elettrica e chimica.
Il termine segnalazione cellulare si riferisce ai meccanismi con cui le cellule comunicano tra loro. Se le cellule sono fisicamente vicine, una molecola segnale di una cellula può combinarsi con un recettore (una

macromolecola che si lega ad una molecola segnale) presente su un'altra cellula. Nella maggior parte dei casi, le cellule comunicano inviando segnali chimici a distanza. Come sarà discusso in seguito, la segnalazione cellulare deve essere regolata in modo preciso. La segnalazione cellulare richiedeuna sequenza di quattro processi principali ( FIG. 6-2 ). Riassumeremo qui questi concetti e li discutermo nei dettagli nei paragrafi successivi.

1. **Una cellula deve inviare un segnale.** Nella segnalazione chimica, una cellula deve sintetizzare e rilasciare molecole segnale. Ad esempio, cellule specializzate nel pancreas dei vertebrati secernono un ormone, l'insulina. Se le cellule bersaglio ,ovvere cellule capaci di rispondere al segnale, non si trovano nelle immediate vicinanze, il segnale deve essere trasportato fino ad esse. L'insulina viene trasportata alle cellule bersaglio attraverso il circolo sanguigno. Successivamente,le cellule bersaglio devono ricevere l'informazione e rispondere ad esso in modo adeguato.
2. **Ricezione.** La ricezione è il processo attraverso cui un segnale in arrivo viene ricevuto dalla cellule bersaglio. I recettori sono grosse proteine o glicoproteine che legano delle molecole segnale. Molti segnali in realtà non entrano nella cellula bersaglio. Essi si legano ad un recettore specifico presente sulla superficie della cellula bersaglio. L'insulina, ad esempio, si lega ai recettori insulinici, che sono recettori transmembrana.
3. **La trasduzione del** segnale è il processo con cui una cellula converte un segnale extracellulare in un segnale intracellulare e lo trasmette, causando qualche risposta da parte della cellula. La trasduzione del segnale, tipicamente, coinvolge una catene di molecole che trasmettono l'informazione. Quando l'insulina si lega al suo recettore, il segnale viene trasmesso attraverso diverse vie di segnalazione.
4. **La risposta.** L'ultima molecola della via di segnalazione converte il segnale in una risposta che modifica qualche processo cellulare. Per esempio, (come sarà discusso nel Capitolo 49 ) l'insulina stimola l'assunzione di glucosio ematico da parte della cellula. Questa risposta abbassa la concentrazione di glucosio nel sangue. L'insulina, inoltre, è coinvolta nella regolazione del metabolismo di grassi e proteine. Altre molecole segnale possono indurre l'apertura o la chiusura di canali ionici presenti nella membrana plasmatica. Alcune molecole segnale attivano o inibiscono specifici geni all'interno del nucleo. Queste risposte possono avere effetto sulla divisione cellulare e su altri aspetti dello sviluppo cellulare, quali accrescimento e differenziamento (specializzazione) della cellula. Dopo che un segnale ha svolto il suo compito, la sua azione deve essere interrotta; pertanto, nel processo di segnalazione agiscono anche dei meccanismi di terminazione del segnale.




**PUNTO CHIAVE** Quando una molecola segnale si lega ad una molecola recettoriale su una cellula bersaglio, si verifica la trasduzione del segnale, che porta ad una risposta cellulare.

FIGURA 6-2
*Una visione d'insieme della segnalazione cellulare*

**Verifica**

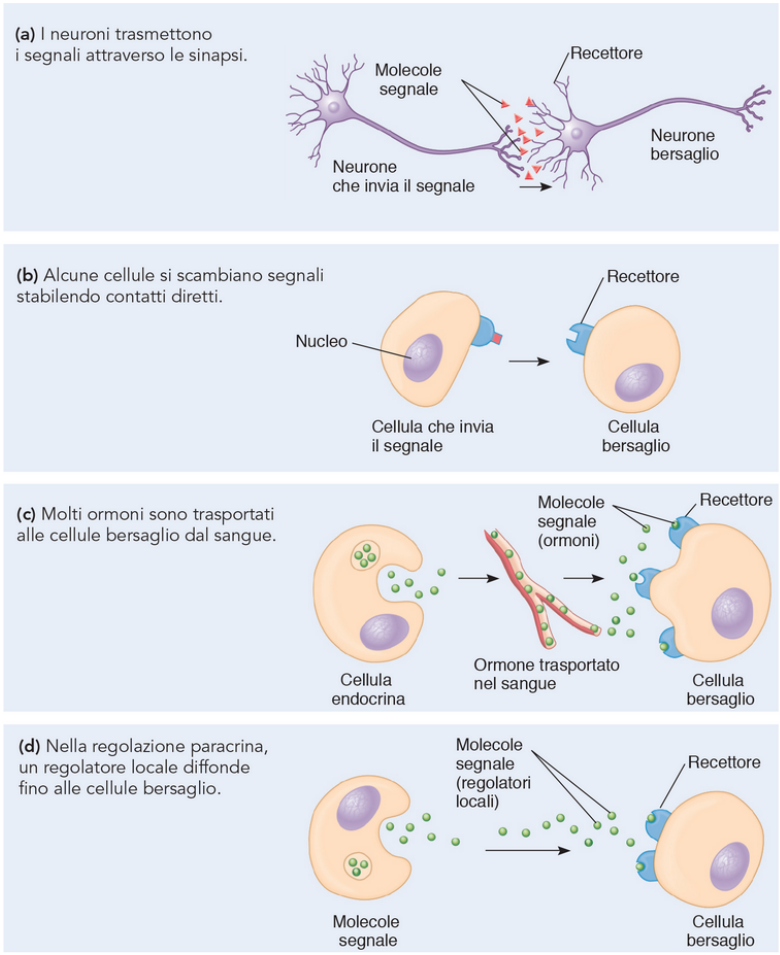
- Qual è la sequenza degli eventi che si verificano nella segnalazione cellulare?
- Descrivete i vari processi.

# 6.2 L'INVIO DI SEGNALI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Paragonare i tre tipi di molecole segnale: neurotrasmettitori, ormoni e regolatori locali.

Le cellule comunicano in molti modi, tra cui il contatto diretto attraverso le giunzioni cellulari, oppure mediante segnali elettrici, contatti temporanei tra cellule e segnali chimici. Come è stato discusso nel Capitolo 5, le giunzioni comunicanti tra le cellule animali permettono la rapida comunicazione chimica ed elettrica tra cellule adiacenti. Per esempio, le giunzioni comunicanti tra le cellule del muscolo cardiaco permettono il rapido flusso di ioni necessario alla contrazione sincronizzata del cuore. I plasmodesmi tra le cellule vegetali adiacenti permettono alle molecole segnale di passare velocemente da una cellula all'altra.




←FIGURA 6-3
*Alcuni tipi di segnalazione cellulare*
Cellule diverse comunicano in modi diversi.

Anche le cellule che non sono in diretto contatto possono comunicare tra di loro. Negli animali alcuni neuroni comunicano mediante segnali elettrici. Tuttavia, la maggior parte dei neuroni si scambia segnali rilasciando composti chimici detti neurotrasmettitori ( FIG. 6-3a ). Le molecole di neurotrasmettitore diffondono attraverso le *sinapsi*, gli stretti spazi tra i neuroni. Sono stati identificati oltre 60 neurotrasmettitori diversi, tra cui l'acetilcolina, la noradrenalina, la dopamina, la serotonina e vari aminoacidi e peptidi.

Le cellule sintetizzano molti tipi diversi di molecole segnale, che vengono veicolate in vari modi. Negli animali, molte cellule del sistema immunitario producono specifici composti chimici che vengono esposti sulla superficie cellulare. Queste cellule riconoscono i segnali chimici e comunicano tra di loro, stabilendo contatti diretti ( FIG. 6-3b ).

Cellule specializzate di piante ed animali producono molecole segnale detti ormoni . Gli ormoni possono essere sintetizzati da cellule vicine o da organi specializzati distanti dalle cellule bersaglio. Negli animali, molti ormoni sono prodotti dalle ghiandole endocrine . Queste ghiandole sono prive di dotti, per cui devono secernere i loro ormoni nel fluido interstiziale circostante. Tipicamente, gli ormoni diffondono nei capillari e sono trasportati alle cellule bersaglio attraverso il circolo sanguigno ( FIG. 6-3c ).

Alcuni tipi di cellule producono regolatori locali che agiscono solo sulle cellule situate nelle immediate vicinanze della cellula che li produce. Un regolatore locale è una molecola segnale che diffonde attraverso il fluido interstiziale , il fluido che circonda le cellule, ed agisce sulle cellule vicine. Tale processo si definisce regolazione paracrina ( FIG. 6-3d ). Alcuni regolatori locali possono essere considerati degli ormoni. I regolatori locali includono i mediatori chimici locali, come i fattori di crescita, l'istamina, l'ossido nitrico e le prostaglandine. Più di 50 fattori di crescita , tipicamente peptidi, stimolano la divisione e il normale sviluppo di specifici tipi cellulari.

L' istamina è un regolatore locale che è immagazzinato in alcune cellule del sistema immunitario e viene rilasciato in risposta a reazioni allergiche, lesioni o infezioni. L'istamina determina la dilatazione dei vasi sanguigni e l'aumento della permeabilità dei capillari. L' ossido nitrico ( NO ), un altro regolatore locale, è un gas prodotto da molti tipi cellulari di piante ed animali. L'ossido nitrico rilasciato dalle cellule che formano il rivestimento interno dei vasi sanguigni induce il rilasciamento della muscolatura liscia della parete dei vasi. Di conseguenza, i vasi sanguigni si dilatano e la pressione sanguigna si riduce.
Le prostaglandine sono ormoni locali che sono regolatori paracrini. Le prostaglandine modificano i livelli di

cAMP ed interagiscono con altre molecole segnale per regolare le attività metaboliche. Per esempio alcune prostaglandine stimolano la contrazione della muscolatura liscia.

**Verifica**

- Cosa sono i neurotrasmettitori?
- In che modo gli ormoni sono normalmente trasportati fino alle cellule bersaglio?
- Che cos'è la regolazione paracrina?

## 6.3 LA RICEZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Identificare i meccanismi che fanno della ricezione un processo altamente specifico.
4. Confrontare recettori accoppiati a canali ionici, recettori accoppiati a proteine G, recettori accoppiati ad enzimi e recettori intracellulari.

Centinaia di tipi diversi di molecole segnale sono presenti nel fluido interstiziale, il mezzo fluido che circonda le cellule di un organismo pluricellulare. Come fanno le cellule a sapere quali messaggi sono diretti a loro? La risposta è che ogni tipo cellulare è geneticamente programmato per ricevere e rispondere a specifici tipi di segnali. A quali segnali una cellula risponda dipende dagli specifici recettori che sintetizza.

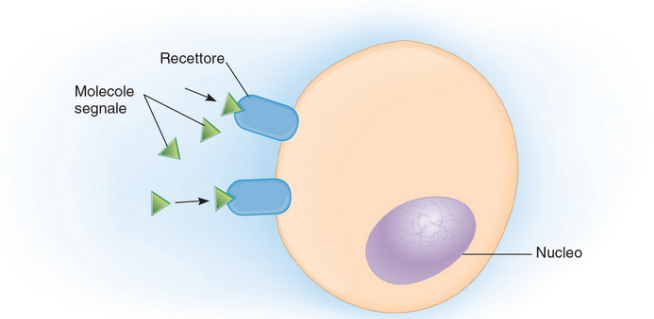
Una molecola segnale, come l'insulina, che si lega a recettori specifici, agisce come un ligando. Un ligando è una molecola, diversa da un enzima, che si lega specificamente ad una macromolecola (di solito una proteina), formando un complesso macromolecola-ligando. La maggior parte dei ligandi è rappre-sentata da molecole idrofiliche che si legano a recettori proteici presenti sulla superficie delle cellule bersaglio (FIG. 6-4a ). Alcune molecole segnale sono abbastanza piccole o sufficientemente idrofobiche da poter attraversare la membrana piasmatica ed entrare nella cellula ( FIG. 6-4b ), dove si legano a recettori intracellulari. Queste molecole segnale si legano a recettori intracellulari. La ricezione si verifica nel momento in cui un ligando si lega ad una specifica proteina recettoriale presente sulla superficie o all'interno di una cellula bersaglio; tale legame risulta nell'attivazione del recettore.

Un recettore localizzato sulla superficie cellulare possiede generalmente almeno tre domini. Ricordate dal Capitolo 3 che in biochimica, il termine dominio si riferisce ad una regione strutturale e funzionale di una proteina. Il dominio esterno di un recettore rappresenta un sito di ancoraggio per una molecola segnale. Un secondo dominio si estende attraverso la membrana plasmatica, mentre un terzo dominio è una "coda" che si proietta nel citoplasma. La coda è la porzione che trasmette il segnale all'interno della cellula.

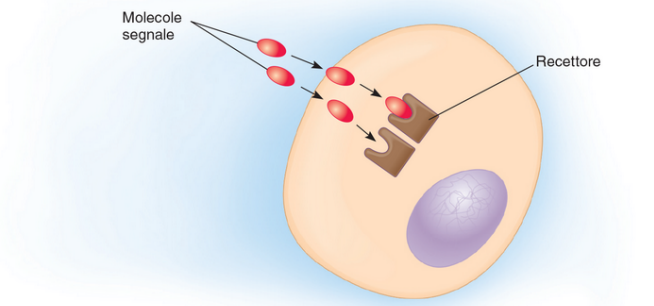
La ricezione è un processo altamente selettivo. Ogni tipo di recettore ha una forma specifica. Il sito di legame del recettore è paragonabile ad una serratura, le molecole segnale sono paragonabili a chiavi diverse. Solo la molecola segnale che si adatta perfettamente allo specifico recettore può avere effetti sul macchinario metabolico della cellula. I recettori sono importanti nel determinare la specificità della comunicazione cellulare.

Tipi cellulari diversi possono avere tipi di recettori diversi. Ciascuna cellule produce tipi differenti di recettori. Inoltre, la stessa cellula può sintetizzare recettori diversi nelle diverse fasi del suo ciclo vitale o in risposta a condizioni differenti. Un'altra considerazione importante è che lo stesso segnale può avere significati diversi per le varie cellule bersaglio.

Alcuni recettori sono specializzati a rispondere a segnali diversi da quelli chimici. Nell'occhio dei vertebrati, ad esempio, un recettore, detto rodopsina , viene attivato dalla luce. La rodopsina fa parte di una via di trasduzione del segnale che produce la visione in penombra. Le piante ed alcune alghe posseggono i fitocromi, una famiglia di pigmenti proteici blu-verdi che sono attivatidalla luce rossa. Le piante, alcune alghe ed alcuni animali posseggono i criptocromi , pigmenti che assorbono la luce blue rivestono un ruolo importante nella regolazione dei ritmi biologici.




(a) Alcune molecole segnale si legano a recettori presenti nella membrana plasmatica.




(b) Alcune molecole segnale si legano a recettori presenti all'interno della cellula.

FIGURA 6-4
*Recettori di superficie ed intracellulari*
Le molecole segnale idrofiliche (solubili in acqua) non possono attraversare la membrana plasmatica. Esse si legano a recettori localizzati sulla superficie cellulare. Le molecole segnale idrofobiche (solubili nei lipidi) attraversano la membrana plasmatica e si legano a recettori localizzati nel citosol o nel nucleo

## Le cellule regolano la ricezione

Un importante meccanismo utilizzato dalle cellule per regolare la ricezione consiste nell'incrementare o diminuire il numero di ciascun tipo di recettore. A seconda delle esigenze della cellula, i recettori vengono sintetizzati o degradati. Ad esempio, quando la concentrazione dell'ormone insulina resta troppo elevata per un lungo periodo, le cellule riducono il numero dei loro recettori per l'insulina. Questo processo viene definito down-regolazione dei recettori. Nel caso dell'insulina, la down-regolazione dei recettori sopprime la sensibilità delle cellule bersaglio all'ormone. L'insulina stimola le cellule ad assumere glucosio per diffusione facilitata, per cui la down-regolazione dei recettori riduce la capacità delle cellule di assumere il glucosio. Spesso, la down-regolazione dei recettori comporta il trasporto dei recettori ai lisosomi per la distruzione.

L' up-regolazione dei recettori si verifica in risposta a basse concentrazioni di ormone. Viene sintetizzato un maggior numero di recettori e la presenza di più recettori sulla membrana plasmatica aumenta la probabilità che il segnale sia ricevuto da uno di essi. Pertanto, l'up-regolazione dei recettori amplifica l'effetto della molecola segnale sulla cellula. L'up-regolazione e la down-regolazione dei recettori sono controllate in parte da segnali diretti ai geni che codificano i recettori.

## Sulla superficie cellulare si trovano tre tipi di recettori

I tre tipi principali di recettori presenti sulla superficie cellulare sono: i recettori accoppiati a canali ionici, i recettori accoppiati a proteine G e i recettori accoppiati ad enzimi.

### I recettori accoppiati a canali ionici convertono i segnali chimici in segnali elettrici

I recettori accoppiati a canali ionici si trovano nella membrana plasmatica. Tali recettori, che sono stati studiati in dettaglio nei neuroni e nelle cellule muscolari, convertono segnali chimici in segnali elettrici ( FIG. 6-5a ). In molti casi, il recettore stesso funge da canale.
I recettori accoppiati a canali ionici sono anche detti canali a controllo di ligando ; ciò significa che il canale ionico si apre o si chiude in risposta al legame della molecola segnale (ligando). Parte del recettore (proteina) che costituisce il canale forma la "porta" che apre e chiude il canale. Il recettore risponde a determinati segnali con un cambiamento di conformazione, in modo da aprire o chiudere la "porta" del canale. Tipicamente, la "porta" di un canale ionico resta chiusa fino al momento in cui un ligando si lega al recettore.
I neurotrasmettitori rilasciati dai neuroni nel sistema nervoso sono molecole segnale. Ad esempio, l' acetilcolina è un neurotrasmettitore che si lega al suo specifico recettore colinergico. Tale recettore è un canale ionico per il sodio a controllo di ligando, molto importante nella contrazione muscolare. Quando l' acetilcolina si lega al recettore, il canale si apre, permettendo agli ioni sodio di entrare nella cellula. L'afflusso di ioni sodio riduce la differenza di carica elettrica a cavallo della membrana (depolarizzazione) e questo può portare alla contrazione del muscolo. Dopo un breve periodo, il ligando si dissocia dal recettore e il canale si chiude. Come sarà discusso nel Capitolo 41 , alcuni canali ionici, chiamati canali attivati dal voltaggio, sono attivati da segnali elettrici.

### I recettori accoppiati a proteine G collegano le molecole segnale alle vie di trasduzione del segnale

I recettori accoppiati a proteine G sono una grande famiglia di proteine transmembrana che attraversano, avanti e indietro, la membrana plasmatica per sette volte ( FIG. 6-5b ). Il recettore è costituito da sette alfa eliche transmembrana connesse da anse che si estendono nel citosol o all'esterno della cellula. I recettori accoppiati a proteine G collegano determinate molecole segnale a diverse vie di trasduzione del segnale all'interno della cellula. La parte esterna del recettore presenta un sito di legame per una molecola segnale.

mentre la porzione del recettore che si estende nel citosol possiede un sito di legame per una specifica proteina G .
Le proteine G legano i *nucleotidi guanosinici*. Quando un ligando si lega ad un recettore accoppiato ad una proteina G, il recettore va incontro ad un cambiamento di conformazione che gli permette di associarsi alla proteina G.
I recettori accoppiati a proteine G sono presenti in tutte le cellule eucariotiche. Questi recettori si legano a centinaia di molecole segnale differenti. Alcuni dei meccanismi di segnalazione legati alle proteine G sono la visione, l'olfatto, la regolazione dell'umore e del comportamento e la regolazione del sistema immunitario. Come si può immaginare, la conoscenza dei meccanismi di azione dei recettori legati alle proteine G è di grande rilevanza medica. Circa il 60% dei farmaci attualmente in uso agisce a livello di questi recettori. Più di 900 recettori accoppiati a proteine G sono stati identificati nei mammiferi, ed oltre 400 di questi recettori sono potenziali bersagli di trattamenti farmaceutici.

### I recettori accoppiati ad enzimi sono essi stessi degli enzimi o sono legati ad enzimi

I recettori accoppiati ad enzimi sono proteine transmembrana con un sito di legame per una molecola segnale all'esterno della cellula ed una componente enzimatica all'interno della cellula. Come ricorderete dal Capitolo 3, questi enzimi catalizzano specifiche reazioni chimiche; la maggior parte degli enzimi sono proteine. Alcuni recettori accoppiati ad enzimi non posseggono una componente enzimatica, ma presentano un sito di legame per un enzima. Sono stati identificati diversi gruppi di recettori accoppiati ad enzimi.

Le proteine chiamate *tirosina chinasi* costituiscono la maggior parte dei recettori accoppiati ad enzimi. La chinasi è un enzima che trasferisce un gruppo fosfato terminale dall'ATP ad un *substrato* (la sostanza specifica su cui agisce un enzima). Questo processo è detto fosforilazione. Una tirosina chinasi è un enzima che catalizza il trasferimento di un gruppo fosfato dall'ATP ad uno specifico residuo di *tirosina*, che è parte di una proteina. (Si ricordi che la tirosina è un aminoacido). L'enzima tirosina chinasi costituisce il dominio del recettore che si estende nel citosol. I recettori a tirosina chinasi legano certi ormoni, tra cui l'insulina ed i *fattori di crescita*, come il fattore di crescita nervoso. Questi recettori regolano molti processi cellulari e sono importanti nello sviluppo.
La tirosina chinasi deve essere attivata per poter fosforilare una proteina di segnalazione all'interno della cellula. Quando le molecole segnale (i ligandi) si legano a due recettori a tirosina chinasi, i recettori si avvicinano all'interno della membrana plasmatica e formano un *dimero*. Come conseguenza, i recettori subiscono un cambiamento conformazionale (un cambiamento di forma), che permette alla porzione di tirosina chinasi di ciascun recettore di aggiungere un gruppo fosfato dell'ATP ad alcuni radicali di tirosina presenti sull'altro membro del dimero (il recettore adiacente) ( FIG. 6-5c ). Una volta attivate, le tirosina chinasi fosforilano specifici residui di tirosina in determinate proteine di segnalazione presenti all'interno della cellula (discusse nel prossimo paragrafo).
Molti recettori presenti sulla superficie delle cellule vegetali sono recettori accoppiati ad enzimi. Un esempio è costituito dai brassinosteroidi ( BR ), un gruppo di ormoni steroidei delle piante che regolano numerosi processi nelle piante, tra cui la divisione cellulare, l'allungamento cellulare e lo sviluppo del fiore (vedi Capitolo 38 ). Diversamente dagli ormoni steroidei degli animali, che solitamente si legano ad un recettore intracellulare, i BR si legano ad un recettore a tirosina chinasi localizzato sulla membrana plasmatica. Nei recettori a proteina chinasi delle piante, gli aminoacidi che vengono fosforilati sono serina e treonina, anziché la tirosina.

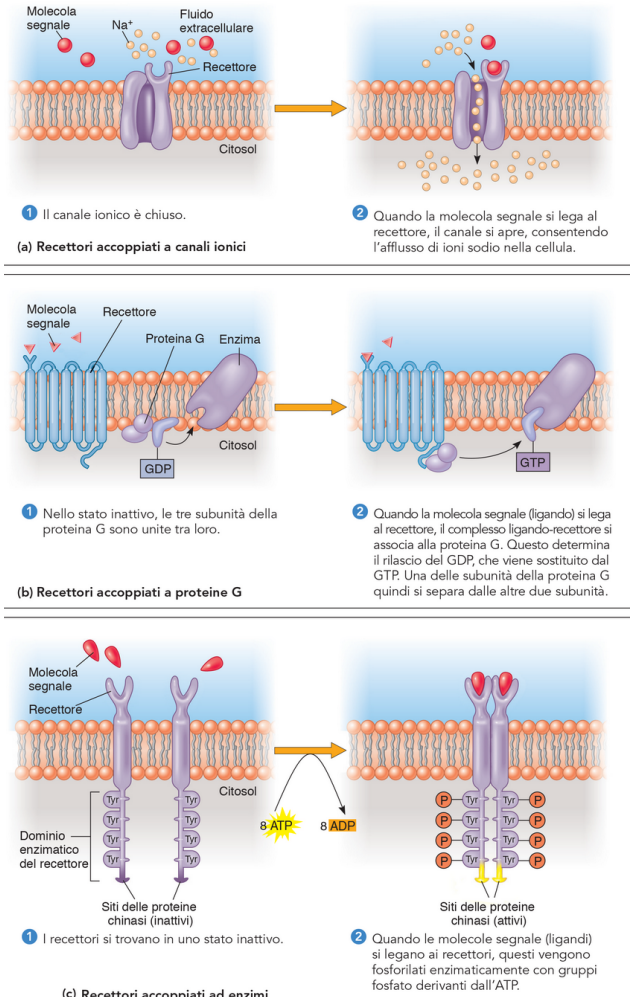



FIGURA 6-5→
*I tre tipi di recettori della superficie cellulare*

Il gas etilene è un ormone vegetale che regola una varietà di processi, tra cui la germinazione dei semi e la maturazione dei frutti; esso è importante anche nella risposta delle piante agli agenti stressanti. Il recettore

dell'etilene presenta due componenti. Ciascun componente possiede un dominio enzimatico, un'istidina chinasi, che si estende all'interno della cellula. Recettori con domini di istidina chinasi sono presenti anche nelle cellule batteriche e di lievito.
Alcuni recettori sono intracellulari

Alcuni recettori sono localizzati nel citosol o nel nucleo. La maggior parte di tali recettori intracellulari è costituita da fattori di trascrizione , proteine che regolano l'espressione di specifici geni. Le molecole segnale che si legano ai recettori intracellulari sono piccole molecole idrofobiche che possono diffondere attraverso le membrane delle cellule bersaglio (vedi Fig. 6-4b ).
Nelle cellule animali, gli ormoni steroidei, come l'ormone della muta ecdisone degli insetti, e il cortisolo e gli ormoni sessuali dei vertebrati, entrano nelle cellule bersaglio e si combinano con le molecole recettoriali presenti nel citosol. Anche le vitamine A e D e l'ossido nitrico si legano a recettori intracellulari. Dopo il legame, il complesso ligando-recettore si sposta nel nucleo. Gli ormoni tiroidei si legano a recettori già associati al DNA all'interno del nucleo.

**Verifica**

- Come fa un recettore a "sapere" quali molecole segnale deve legare?
- In quali condizioni si potrebbe verificare l'up-regolazione dei recettori? E la down-regolazione dei recettori?
- Quali sono i tre tipi principali di recettori della superficie cellulare? (Descriveteli brevemente).

## 6.4 TRASDUZIONE DEL SEGNALE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Confrontare i meccanismi di azione dei diversi tipi di recettori nella trasduzione del segnale.
6. Descrivere la sequenza di eventi nella trasduzione del segnale per ciascuno dei seguenti secondi messaggeri: AMP ciclico, inositolo trisfosfato, diacilglicerolo e ioni calcio.

Come è stato già discusso, molte molecole di regolazione trasmettono le informazioni all'interno delle cellule senza attraversare fisicamente la membrana plasmatica. Esse sono in grado di attivare proteine di membrana, che in seguito *trasducono* il segnale.

Il primo componente di un sistema di trasduzione del segnale è tipicamente il recettore, che può essere una proteina transmembrana con un dominio esposto sulla superficie extracellulare. Ciascun tipo di recettore attiva una diversa via di trasduzione del segnale.
In una tipica via di segnalazione, il ligando si lega ad un recettore della superficie cellulare e lo attiva grazie ad un cambiamento conformazionale della coda del recettore che si estende nel citoplasma. Il segnale può quindi essere trasmesso da una sequenza di proteine, che sono molecole di segnalazione intracellulare. Di solito, le proteine coinvolte in queste reazioni a catena sono proteina chinasi. La catena di molecole di segnalazione intracellulari che trasmettono un segnale viene chiamata via di segnalazione oppure cascata di segnalazione . Durante la trasduzione, il segnale originale viene amplificato.

In una sola cellula di mammifero, sono state identificate più di 3000 proteine di segnalazione. Alterazioni nelle vie di trasduzione del segnale sono state messe in relazione con gravi patologie, come il cancro, le malattie cardiache, il diabete e le malattie autoimmuni.

### Le molecole segnale possono agire come interruttori molecolari

Ciascun componente di un sistema di trasduzione del segnale agisce come un interruttore molecolare, che può essere in uno stato attivo ("on", acceso) o in uno stato inattivo ("off", spento). Quando una molecola di segnalazione intracellulare riceve un segnale, viene attivata (accesa). In seguito avviene un altro processo che inattiva (spegne) la molecola segnale. In una via di segnalazione, ogni molecola attivata deve essere poi disattivata per essere in grado di trasmettere un nuovo segnale. Gli interruttori molecolari sono di solito regolati dall'aggiunta o dalla rimozione di gruppi fosfato.

Ogni volta che una molecola segnale si lega ad un recettore, si accende una via di segnalazione. Quando il segnale viene trasmesso ad una proteina di segnalazione, questa viene fosforilata. Nel processo di fosforilazione, un enzima trasferisce un gruppo fosfato da una molecola all'altra. Mentre il fosfato viene trasferito, il segnale passa dalla proteina chinasi 1 alla proteina chinasi 2 e poi alla proteina chinasi 3 e così via lungo la catena ( FIG. 6.6 ) Di solito la fosforilazione attiva una proteina chinasi, sebbene in qualche caso la fosforilazione inibisca l'attività della proteina chinasi. Una via di segnalazione in cui una serie di

proteine chinasi vengono fosforilate viene indicata come una cascata di proteine chinasi . L'ultima proteina chinasi della catena attiva la proteina bersaglio, fosforilandola. Successivamente la proteina bersaglio attivata è in grado di alterare qualche processo nella cellula.

Dopo che il segnale è passato dalla proteina chinasi 1 alla proteina chinasi 2, la proteina chinasi 1 deve essere inattivata. Ciascuna molecola deve essere disponibile a trasmettere un nuovo segnale. Una fosfatasi è un enzima che catalizza la rimozione di un gruppo fosfato mediante idrolisi, in un processo chiamato *defosforilazione*. Le proteina fosfatasi contribuiscono a regolare le cascate di proteine chinasi. Così come una cellula contiene centinaia di proteine chinasi, contiene anche molti tipi di proteine fosfatasi. La rimozione rapida di gruppi fosfato da parte delle fosfatasi costituisce un importante meccanismo di regolazione per le cascate di proteine chinasi. Una tale regolazione assicura che queste vie si attivino soltanto in risposta al legame di una molecola segnale al proprio recettore.

## I recettori accoppiati a canali ionici determinano l'apertura o la chiusura di canali

Le "porte" di molti canali ionici restano chiuse fino a quando un ligando si lega al recettore. Ad esempio, quando il neurotrasmettitore acetilcolina si lega ad un recettore colinergico (che è un recettore accoppiato ad un canale ionico), il canale si apre, permettendo agli ioni sodio di entrare nella cellula (vedi Fig. 6-5a ). A seconda del tipo di cellula, l'afflusso di ioni sodio può determinare la trasmissione di un impulso nervoso o la contrazione muscolare.

**PUNTO CHIAVE** Molte vie di segnalazione sono cascate di proteine chinasi in cui ciascuna chinasi è attivata dall'aggiunta di un gruppo-fosfato.

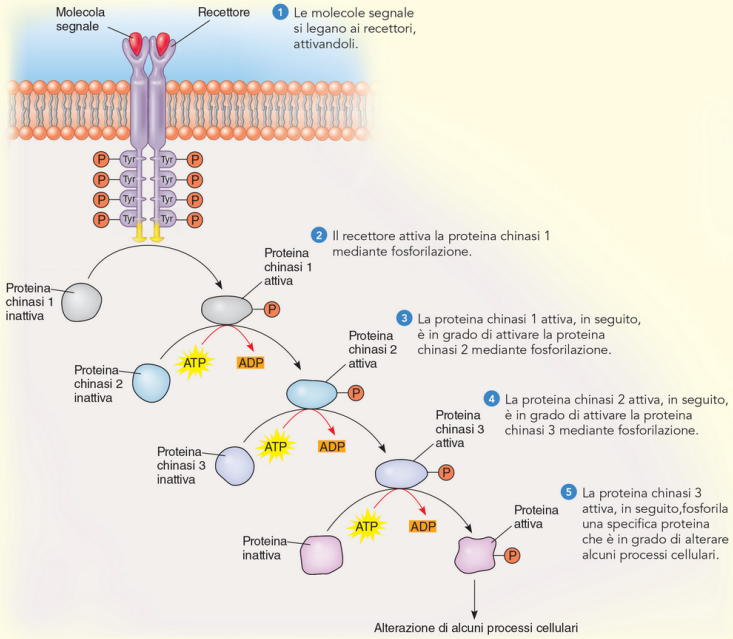



FIGURA 6-6 *Una cascata di fosforilazione* Quando il recettore è attivato, ciascuna proteina chinasi della via di segnalazione attiva la proteina chinasi successiva mediante fosforilazione. Il donatore del gruppo fosfato è l'ATP. L'addizione di un gruppo fosfato, in genere, induce un cambiamento di conformazione della molecola. L'attivazione dell'ultima proteina della catena induce cambiamenti a livello di qualche processo molecolare oppure accende (o spegne) geni specifici. (P rappresenta il gruppo fosfato.) Notare che il numero di protein chinasi varia a seconda della via di segnalazione.

L' acido gamma-amminobutirrico ( GABA ) è un neurotrasmettitore che si lega ai recettori GABA. Una classe di recettori GABA è costituita da canali ionici del cloruro a controllo di ligando. Il legame del GABA al recettore provoca l'apertura del canale. Gli ioni cloruro, dotati di carica negativa, escono o entrano rapidamente nel neurone, a seconda del gradiente elettrochimico presente nella cellula. Normalmente gli ioni cloruro fuoriescono dalla cellula; questo inibisce la trasmissione degli impulsi nervosi. Pertanto, il GABA inibisce la segnalazione neurale. I barbiturici e le benzodiazepine, come il Valium, si legano ai recettori del GABA, riducendo la quantità di GABA necessaria per l'apertura dei canali del cloruro e la conseguente inibizione degli impulsi nervosi. Questa azione ha come risultato un effetto tranquillante. (Non tutti i recettori del GABA sono essi stessi canali ionici; alcuni sono recettori legati a proteine G o recettori legati ad enzimi che innescano una serie di reazioni, il cui risultato è l'attivazione di altre proteine che fungono da canali ionici).

## I recettori accoppiati a proteine G danno inizio alla trasduzione del segnale

Come è stato discusso in precedenza, i recettori accoppiati a proteine G attivano le proteine G, un gruppo di proteine di regolazione importanti in molte vie di trasduzione del segnale. Queste proteine, presenti in lieviti, protisti, piante ed animali, sono coinvolte nel meccanismo di azione di alcuni ormoni vegetali e di molti ormoni animali. Alcune proteine G regolano canali presenti nella membrana plasmatica, consentendo agli ioni di entrare nella cellula. Altre proteine G sono coinvolte nella percezione visiva ed olfattiva. Nel 1994, Alfred G. Gilman, dell'Università del Texas, e Martin Rodbell, del National Institute of Environmental Health Sciences, sono stati insigniti del premio Nobel per la Medicina per le loro ricerche sulle proteine G.

Nel suo stato inattivo, la proteina G consiste di tre subunità unite tra loro (vedi Fig. 6-5b ). Una delle subunità è associata ad una molecola di guanosina difosfato ( GDP ), una molecola simile all'ADP, ma contenente la base guanina al posto dell'adenina. Quando una molecola segnale si lega al recettore, il GDP viene rilasciato e sostituito da guanosina trifosfato ( GTP ), un nucleotide che, come l'ATP, è coinvolto nel trasferimento di energia.

La subunità della proteina G associata al GTP si separa dalle altre due subunità; tale subunità è una GTPasi, un enzima che catalizza l'idrolisi del GTP a GDP. Questo processo, che rilascia energia, disattiva la proteina G. A questo punto, nel suo stato inattivo, la subunità GTPasica della proteina G si riassocia con le altre due subunità.

Una volta attivata, la proteina G dà inizio alla trasduzione del segnale legandosi ad una specifica proteina presente nella cellula. In alcuni casi, le proteine G attivano direttamente enzimi che catalizzano modificazioni a carico di determinate proteine. Tali modifiche producono alterazioni nelle funzioni cellulari. Più comunemente, la molecola segnale funge da primo messaggero e l'informazione viene trasmessa attraverso la proteina G ad un secondo messaggero.

## I secondi messaggeri sono agenti di segnalazione intracellulari

I secondi messaggeri sono ioni o piccole molecole che veicolano segnali all'interno della cellula. Sono stati identificati più di 15 secondi messaggeri nei mammiferi. Quando i recettori vengono attivati, possono essere prodotte grandi quantità di secondi messaggeri. I secondi messaggeri diffondono rapidamente attraverso la cellula (o la membrana), ritrasmettendo il segnale. Così, i secondi messaggeri amplificano il segnale.

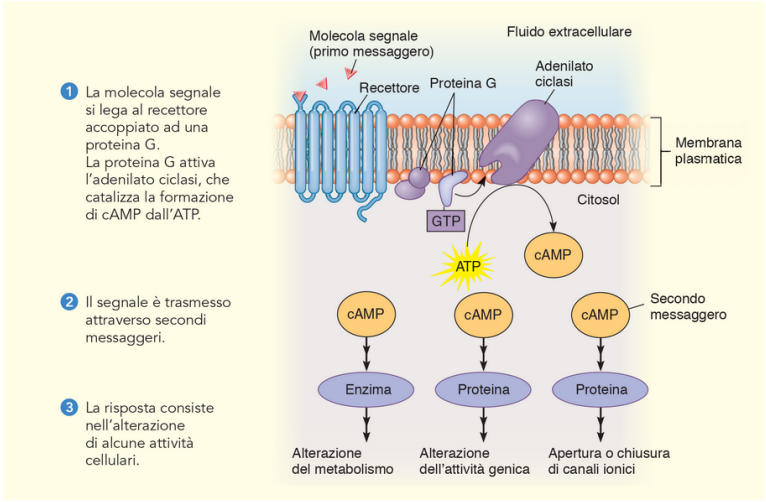
I secondi messaggeri trasmettono il segnale ad altre proteine di segnalazione o a proteine bersaglio. Il segnale viene tipicamente trasmesso attraverso una serie di proteine ed altre molecole. L'ultima molecola della sequenza stimola la risposta finale.

I secondi messaggeri non sono enzimi, ma alcuni di essi regolano specifici enzimi, come le proteina chinasi. Altri si legano a canali ionici, determinandone l'apertura o la chiusura.

## L'AMP ciclico è un secondo messaggero

La maggior parte delle proteine G trasmette un segnale da un recettore ad un secondo messaggero. In molte cascate di segnalazione nelle cellule procariotiche ed animali, il secondo messaggero è rappresentato dall'AMP ciclico (cAMP) ( FIG. 6-7 ). Il ricercatore Earl Sutherland ha identificato il cAMP come secondo messaggero negli anni '60 e nel 1971 è stato insignito del premio Nobel per la Medicina grazie al suo lavoro pionieristico.

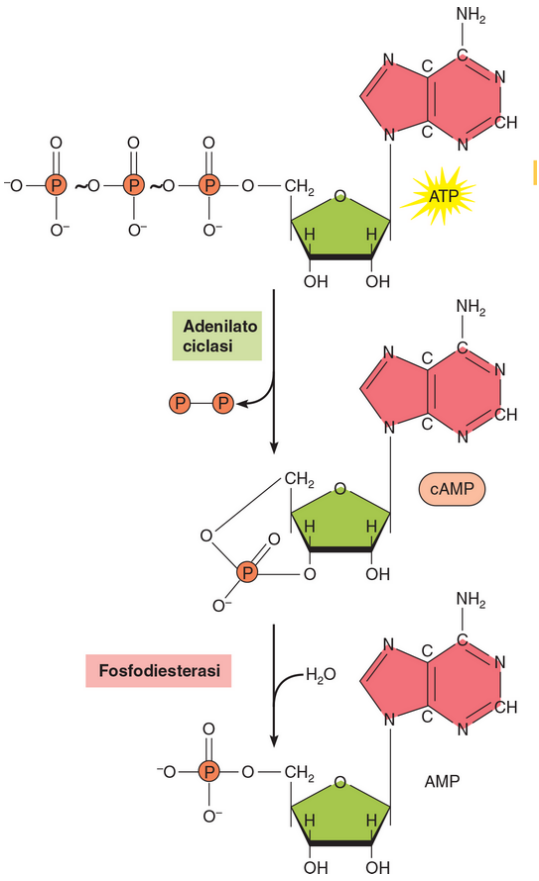
Quando la proteina G subisce un cambiamento conformazionale (cambiamento di forma), lega ed attiva l' adenilato ciclasi , un enzima localizzato sul lato citoplasmatico della membrana plasmatica. Una proteina G che attiva l'adenilato ciclasi è detta proteina G stimolatrice, o G s . (Alcune proteine G, dette G i , inibiscono gli enzimi). Si noti che la proteina G accoppia il complesso ligando-recettore all'azione dell'adenilato ciclasi ( Fig. 6-7 ).




**PUNTO CHIAVE** L'AMP ciclico (cAMP), un secondo messaggero, trasmette un segnale dalla membrana plasmatica a proteine presenti nel citosol.

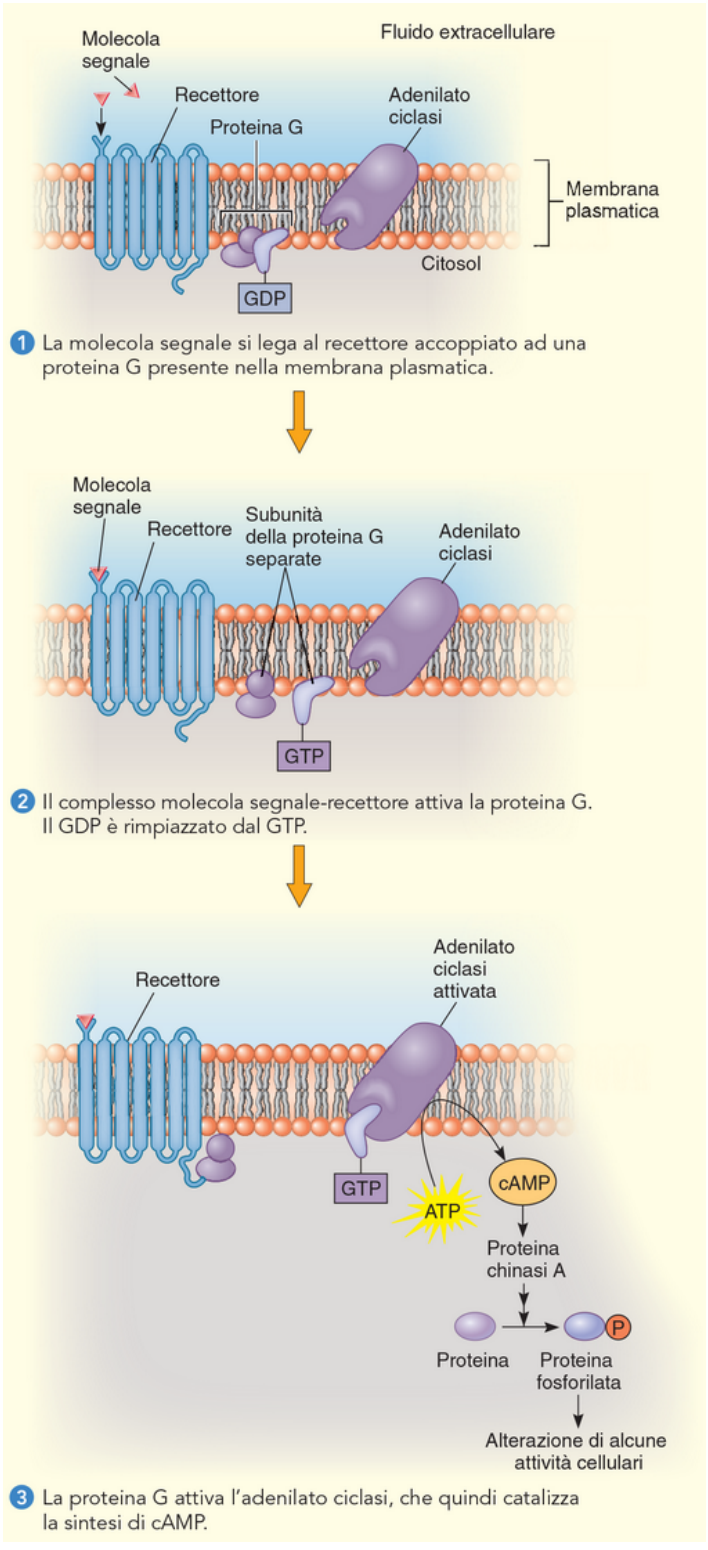
FIGURA 6-7 *Trasmissione del segnale attraverso un secondo messaggero*

Una volta attivata, l'adenilato ciclasi catalizza la formazione di cAMP dall'ATP ( FIG. 6-8 ). Accoppiando il complesso molecola segnale-recettore ad un enzima che genera un segnale, la proteina G amplifica gli effetti delle molecole segnale, con una rapida produzione di numerose molecole di secondo messaggero. La via di segnalazione è regolata, in parte, dalla fosfodiesterasi , un enzima che converte il cAMP in adenosina monofosfato (AMP). Questa azione inattiva rapidamente il cAMP, nel momento in cui il recettore diventa inattivo.




←FIGURA 6-8 *Sintesi ed inattivazione dell'AMP ciclico*
L'AMP ciclico (cAMP) è un secondo messaggero che viene prodotto a partire dall'ATP in una reazione catalizzata dall'enzima adenilato ciclasi. L'AMP ciclico è inattivato dall'enzima fosfodiesterasi, che lo converte in adenosina monofosfato (AMP).

La FIGURA 6.9 illustra nei dettagli la sequenza di eventi di una via di segnalazione che coinvolge le proteine G e il cAMP. L'AMP ciclico attiva determinati enzimi ad attività proteina chinasica, in particolare un gruppo chimato proteina chinasi A . Una proteina chinasi aggiunge un gruppo fosfato ad una proteina bersaglio. Quando una proteina viene fosforilata, la sua funzione viene al terata e questo innesca una catena di reazioni che portano ad una risposta cellulare, come ad esempio un cambiamento metabolico. I substrati (le sostanze su cui un enzima agisce) della proteina chinasi A differiscono in tipi cellulari diversi. Di conseguenza, l'effetto dell'enzima varia in dipendenza del substrato. Ad esempio, nelle cellule del muscolo scheletrico, la proteina chinasi A attiva enzimi che demoliscono il glicogeno con produzione di glucosio, fornendo energia alle cellule muscolari. In certi neuroni del cervello, lo stesso enzima attiva il sistema di gratificazione regolando l'azione del neurotrasmettitore dopamina.




**PUNTO CHIAVE** Il legame di una molecola segnale ad un recettore accoppiato ad una proteina G attiva una via di trasduzione del segnale in cui il segnale è trasmesso attraverso una cascata di molecole, provocando una risposta.

FIGURA 6-9 *Trasduzione del segnale che coinvolge una proteina G e l'AMP ciclico*

La sequenza di eventi che parte dal legame della molecola segnale al recettore e porta ad un cambiamento in una funzione cellulare può essere riassunta come segue:

Legame della molecola segnale al recettore accoppiato ad una proteina G ⟶ attivazione della proteina G ⟶ attivazione della fosfolipasi ⟶ scissione del $PIP_2$ ⟶ inositolo trisfosfato ($IP_3$) + diacilglicerolo (DAG).

DAG ⟶ attivazione degli enzimi protein chinasi ⟶ fosforilazione di proteine ⟶ risposta cellulare.

$IP_3$ ⟶ legame ai canali del calcio presenti nel RE ⟶ rilascio di ioni calcio nel citosol ⟶ risposta cellulare.

**PUNTO CHIAVE** Quando attivata da una proteina G, la fosfolipasi scinde il fosfolipide PIP 2 , con produzione dei secondi messaggeri DAG ed IP 3 .

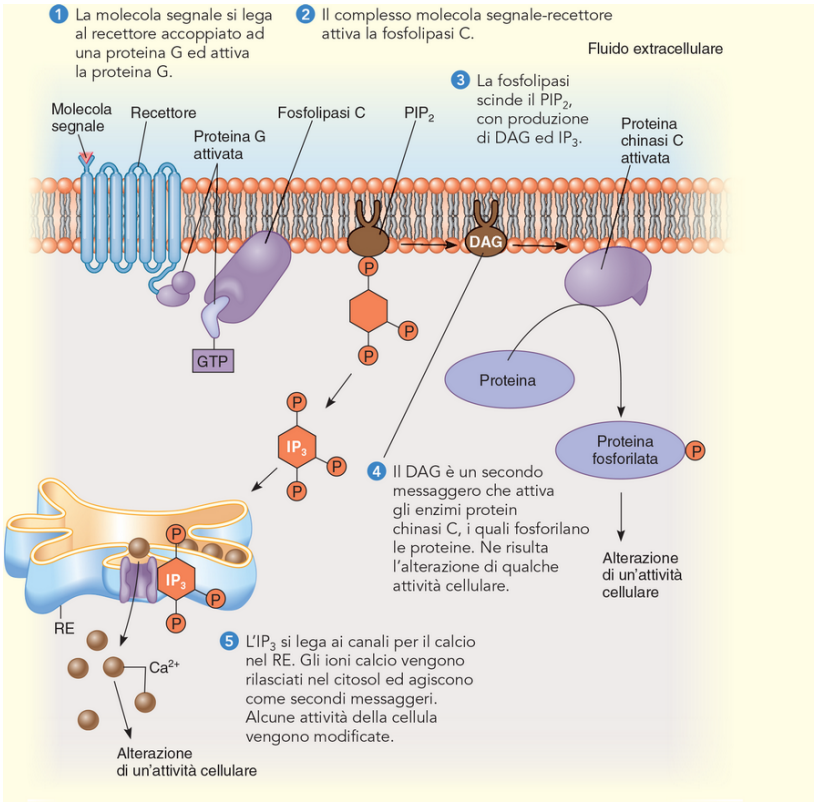



FIGURA 6-10 *Prodotti fosfolipidici come secondi messaggeri*
Una proteina G attivata attiva la fosfolipasi C. Questo enzima scinde il PIP 2 producendo due secondi messaggeri, IP 3 e DAG. L'IP 3 si lega ai canali del calcio nel reticolo endoplasmatico (RE); gli ioni calcio vengono rilasciati nel citosol ed agiscono come un secondo messaggero. Il DAG attiva la proteina chinasi C, una famiglia di enzimi che attiva delle vie di segnalazione attraverso la fosforilazione di proteine; gli ioni calcio sono necessari per l'attivazione della proteina chinasi C.

## Alcune proteine G utilizzano i fosfolipidi come secondi messaggeri

Alcuni complessi molecola segnale-recettore attivano una proteina G che a sua volta attiva la fosfolipasi C , un enzima legato alla membrana ( FIG. 6-10 ). Questo enzima scinde un fosfolipide di membrana, il PIP 2 (fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato), in due prodotti fosfolipidici, l' inositolo trisfosfato ( IP 3 ) ed il diacilglicerolo ( DAG ), che fungono entrambi da secondi messaggeri.

Il DAG resta nella membrana plasmatica dove, combinandosi con gli ioni calcio, attiva gli enzimi protein chinasi C. In dipendenza del tipo di cellula e della specifica protein chinasi C , la risposta cellulare può essere l'accrescimento, una variazione del pH cellulare o la regolazione di determinati canali ionici. La proteina chinasi C stimola la contrazione del muscolo liscio nel sistema digerente ed in altri organi.

L'IP 3 è un membro della famiglia di messaggeri dell'inositolo fosfato, alcuni dei quali possono donare gruppi fosfato alle proteine. L'IP 3 si lega ai canali del calcio presenti nel reticolo endoplasmatico, determinando la loro apertura e il rilascio di ioni calcio nel citosol. Possiamo riassumere tale sequenza di eventi come segue:

Legame della molecola segnale al recettore accoppiato ad una proteina G ⟶ attivazione della proteina G ⟶ attivazione della fosfolipasi ⟶ scissione del $PIP_2$ ⟶ inositolo trisfosfato ($IP_3$) + diacilglicerolo (DAG).

DAG ⟶ attivazione degli enzimi protein chinasi ⟶ fosforilazione di proteine ⟶ risposta cellulare.

$IP_3$ ⟶ legame ai canali del calcio presenti nel RE ⟶ rilascio di ioni calcio nel citosol ⟶ risposta cellulare.

## Gli ioni calcio sono importanti messaggeri

Gli ioni calcio (Ca 2+ ) svolgono importanti funzioni in numerosi processi cellulari, tra cui il disassemblaggio dei microtubuli, la contrazione muscolare, la coagulazione del sangue e l'attivazione di alcune cellule del sistema immunitario. Gli ioni calcio sono di importanza cruciale nella segnalazione neurale, coinvolta ad esempio nel processo di apprendimento. Inoltre, questi ioni sono essenziali nella fecondazione della cellula uovo e nell'inizio dello sviluppo.

Pompe ioniche presenti nella membrana plasmatica normalmente mantengono bassa la concentrazione di ioni calcio nel citosol rispetto al fluido extracellulare. Gli ioni calcio sono immagazzinati anche nel reticolo endoplasmatico. Quando i canali del calcio presenti nella membrana plasmatica o nel reticolo endoplasmatico si aprono, la concentrazione citosolica di ioni calcio aumenta.

Gli ioni calcio possono agire da soli, ma tipicamente esercitano i loro effetti legandosi a certe proteine. La calmodulina è una importante proteina che lega il calcio presente in tutte le cellule eucariotiche. Quando quattro ioni calcio si legano ad una molecola di calmodulina, questa va incontro ad un cambiamento di conformazione che le permette di attivare alcuni enzimi. La calmodulina, infatti, si combina con un certo numero di enzimi, tra cui protein chinasi e protein fosfatasi, alterandone l'attività. I diversi tipi cellulari posseggono differenti proteine che legano la calmodulina. La risposta di una determinata cellula bersaglio, quindi, dipende da quali di queste proteine sono presenti. La calmodulina è importante nella regolazione di molti processi essenziali, tra cui il metabolismo, la contrazione muscolare, la memoria, l'infiammazione e l'apoptosi.

## Molti recettori accoppiati ad enzimi attivano le vie di segnalazione composte da proteine chinasi

Si ricordi che la maggior parte dei recettori accoppiati ad enzimi è rappresentata da tirosina chinasi, enzimi che fosforilano l'aminoacido tirosina nelle proteine (vedi Fig. 6-6 ). Quando una molecola segnale, come un fattore di crescita, si lega ad un recettore accoppiato ad un enzima, alcuni siti del recettore vengono fosforilati. L'addizione di gruppi fosfato attiva la componente enzimatica del recettore. Quando attivato, l'enzima tirosina chinasi è in grado di fosforilare determinate proteine nella cellula. Proteine bersaglio specifiche riconoscono le tirosine fosforilate sui recettori a tirosina chinasi. Queste proteine bersaglio si legano ai siti fosforilati sulla molecola del recettore e vengono a loro volta fosforilate, attivando poi specifiche vie di segnalazione.

Rammentate che in molte vie di trasduzione del segnale, le proteine chinasi danno origine a cascate in cui le proteine chinasi sono fosforilate una dopo l'altra (vedi Fig. 6.6 ). Anche se il sito aminoacidico del recettore che viene fosforilato è una tirosina, gli aminoacidi fosforilati nelle proteine chinasi delle vie di segnalazione possono essere la serina o la treonina, piuttosto che la tirosina. Ogni reazione della catena di segnalazione dipende dalla reazione precedente. L'attivazione dell'ultima proteina della catena induce una specifica risposta cellulare. Come conseguenza, alcuni processi nella cellula sono modificati.

**PUNTO CHIAVE** Molti recettori intracellulari sono fattori di trascrizione. Una volta attivati, essi attivano o reprimono specifici geni.

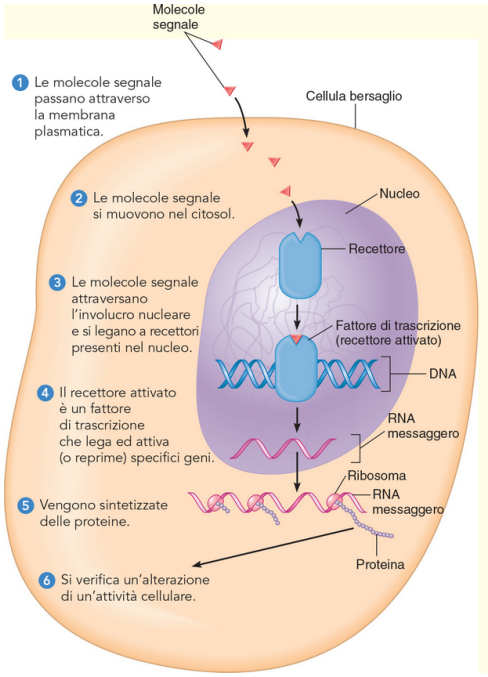


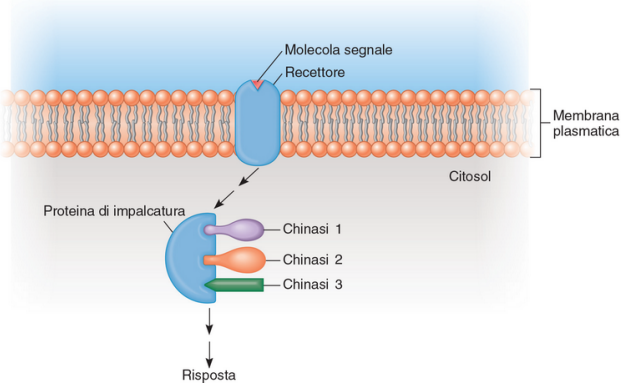

FIGURA 6-11 Recettori intracellulari

Alcune molecole segnale idrofobiche diffondono attraverso le membrane delle cellule bersaglio e si legano a recettori intracellulari presenti nel citosol o nel nucleo. Per esempio, i recettori del cortisolo sono localizzati nel citoplasma. (Il cortisolo è un ormone steroideo prodotto dalle ghiandole surrenali; la sua struttura è mostrata nella Figura 3-15b .). Gli ormoni tiroidei entrano nel nucleo e si legano a recettori specifici, legati al DNA. Molti recettori intracellulari sono fattori di trascrizione che regolano l'espressione di specifici geni. Il legame di una molecola segnale al suo recettore determina l'attivazione di quest'ultimo. Il complesso ligando-recettore quindi si lega ad una determinata regione del DNA ed attiva o reprime l'espressione di specifici geni ( FIG. 6-11 ).

L'attivazione genica può avvenire molto rapidamente, entro 30 minuti circa. Viene così prodotto un RNA messaggero che porta nel citoplasma l'informazione per la sintesi di una determinata proteina. Combinandosi con i ribosomi, l'RNA messaggero sintetizza una specifica proteina che può alterare un'attività cellulare.

## Le proteine di impalcatura (scaffold) aumentano l'efficienza

La trasduzione del segnale è un processo rapido e preciso. Gli enzimi devono essere organizzati in modo da essere disponibili in maniera ottimale per le vie di segnalazione. Le proteine di impalcatura organizzano gruppi di molecole segnale intracellulari in complessi di segnalazione ( FIG. 6-12 ). Tali proteine posizionano gli enzimi in prossimità delle proteine che regolano, aumentando la probabilità che esse interagiscano tra loro. Allo stesso tempo, le proteine di impalcatura riducono la possibilità che gli enzimi vengano reclutati in altre vie. Queste proteine organizzano e guidano le interazioni tra le molecole, riducendo l'interferenza tra vie di segnalazione differenti. Pertanto, le proteine di impalcatura assicurano che i segnali siano trasmessi accuratamente, rapidamente e più efficacemente. Le proteine di impalcatura sono state identificate in numerose vie e proteine di impalcatura simili sono state ritrovate in organismi diversi. Sia i lieviti che i mammiferi posseggono proteine di impalcatura che legano le chinasi nelle vie delle MAP chinasi (trattate nel prossimo paragrafo).




←FIGURA 6-12 *Proteina di impalcatura*
Le proteine di impalcatura organizzano gruppi di molecole segnale in un complesso di segnalazione, aumentando la velocità, la precisione e l'efficienza della trasduzione del segnale.

### Molti recettori intracellulari attivati sono fattori di trascrizione

### I segnali possono essere trasmessi in più di una direzione

Le integrine , proteine transmembrana che connettono la cellula alla matrice extracellulare, trasducono i segnali in due direzioni. Esse trasmettono i segnali dall'esterno all'interno della cellula ed inoltre trasmettono informazioni dall'interno della cellula alla matrice extracellulare

I biologi cellulari hanno dimostrato che, quando certi ligandi si legano alle integrine presenti nella membrana plasmatica, si attivano specifiche vie di trasduzione del segnale. È interessante notare che i fattori di crescita e certe molecole della matrice extracellulare possono modulare reciprocamente i loro messaggi. Le integrine rispondono anche ad informazioni provenienti dall'interno della cellula. Tale segnalazione inversa influisce sulla selettività delle integrine nei confronti delle molecole a cui si legano e sulla forza di tale legame.

### Verifica

- In che modo un segnale extracellulare è convertito in un segnale intracellulare nella trasduzione del segnale? Fornite un esempio specifico.
- Qual è il meccanismo di azione dell'AMP ciclico? E quello del DAG?
- Quali sono le funzioni delle proteine di impalcatura?

## 6.5 LE RISPOSTE AI SEGNALI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Descrivere i tre tipi di risposte cellulari ai segnali.
8. Confrontare l'amplificazione del segnale e la terminazione del segnale.

Come abbiamo imparato, le molecole segnale attivano vie di trasduzione del segnale che inducono specifiche risposte cellulari. La maggior parte di queste risposte ricade in tre categorie: l'apertura o la chiusura di canali ionici; l'alterazione di un'attività enzimatica che determina cambiamenti metabolici ed altri effetti; l'accensione o lo spegnimento dell'attività di specifici geni. Vari meccanismi e vie di segnalazione interagiscono per produrre azioni specifiche, responsabili della struttura e della funzione cellulare.

Negli animali, i neuroni rilasciano neurotrasmettitori che eccitano o inibiscono altri neuroni o cellule muscolari agendo su canali ionici. Ad esempio, quando l'acetilcolina si lega ad un recettore presente su un neurone bersaglio, si verifica l'apertura di un canale ionico che permette il passaggio di ioni sodio e potassio. La variazione di permeabilità agli ioni che ne deriva può attivare il neurone, che può così trasmettere un impulso nervoso. La serotonina ed alcuni altri neurotrasmettitori agiscono indirettamente attraverso le proteine G e l'AMP ciclico. In tale catena di eventi, il cAMP attiva una chinasi che fosforila una proteina, che a sua volta determina la chiusura dei canali ionici del potassio. Questa azione risulta nella trasmissione di un impulso nervoso. Alcune proteine G aprono o chiudono direttamente i canali ionici.

Alcuni recettori influenzano l'attività enzimatica in maniera diretta, mentre altri innescano vie di trasduzione del segnale in cui gli enzimi sono alterati da altri componenti della via. Quando i batteri infettano un organismo, rilasciano dei peptidi che sono riconosciuti da recettori presenti sulla superficie dei neutrofili, un tipo di globuli bianchi. Quando i peptidi batterici si legano ai recettori sui neutro fili, vengono attivati degli enzimi che portano all'assemblaggio di microfilamenti (filamenti di actina) e microtubuli. Le contrazioni dei microfilamenti ad un polo della cellula spingono il citoplasma del polo opposto in avanti; questa azione permette ai neutrofili di muoversi in direzione dei batteri invasori e di distruggerli. Anche i microtubuli ed una varietà di proteine, tra cui la proteina contrattile miosina, sembrano essere necessari per questo tipo di movimento.

Alcune molecole segnale hanno effetti sull'attività genica. Ad esempio, alcune molecole segnale attivano geni che portano alla sintesi di proteine necessarie per la crescita e la divisione della cellula. Sia nelle piante che negli animali, gli ormoni steroidei regolano lo sviluppo causando cambiamenti nell'espressione di specifici geni. Nelle cellule animali, gli ormoni steroidei si legano a recettori nucleari e regolano in modo diretto l'espressione di specifici geni bersaglio. Nelle cellule vegetali, gli ormoni steroidei si legano invece a recettori presenti sulla superficie cellulare. Il segnale è quindi trasmesso attraverso una catena di eventi che infine porta a cambiamenti nell'espressione genica. Gli ormoni vegetali saranno discussi in maggior dettaglio nel Capitolo 38 , mentre gli ormoni animali saranno l'argomento del Capitolo 49 .

## La via di segnalazione di Ras coinvolge recettori a tirosina chinasi e proteine G

Alcuni recettori tirosina chinasici attivano delle proteine G. Ad esempio, quando i fattori di crescita si legano ai recettori a tirosina chinasi, le proteine Ras vengono attivate. Le proteine Ras sono un gruppo di piccole proteine G che, come le altre proteine G, si trovano in uno stato attivo quando legano il GTP. Le proteine Ras sono interruttori molecolari che regolano reti di segnali all'interno della cellula. Una volta attivata, Ras innesca una cascata di reazioni nota come via di Ras. In questa via, si ha la fosforilazione dell'aminoacido tirosina in specifiche proteine cellulari, che porta a risposte cellulari critiche.

Le vie di segnalazione Ras sono importanti per l'espressione genica, per la divisione, il movimento, il differenziamento e l'adesione delle cellule, per lo sviluppo embrionale e l'apoptosi. Ad esempio, per dare inizio alla sintesi del DNA, i fibroblasti (cellule del tessuto connettivo) necessitano della presenza di due fattori di crescita, il fattore di crescita epidermico e il fattore di crescita di derivazione piastrinica. In uno studio, i ricercatori hanno iniettato nei fibroblasti anticorpi che si legano alle proteine Ras e le inattivano. fibroblasti non riuscivano più a sintetizzare il DNA in risposta ai fattori di crescita. I dati risultanti da questo e da altri esperimenti analoghi hanno portato alla conclusione che le proteine Ras sono importanti nella trasduzione del segnale che coinvolge i fattori di crescita.

Le proteine Ras sono codificate dai geni Ras . Alcune mutazioni a carico dei geni Ras hanno come risultato proteine Ras mutanti che legano il GTP, ma non riescono ad idrolizzarlo. Queste proteine mutanti di Ras sono bloccate nello stato "on", sempre attive, causando la mancata regolazione della divisione cellulare. Questa situazione è associata con diversi tipi di cancro. Infatti, mutazioni nei geni Ras sono state identificate in circa un terzo di tutti i carcinomi umani. Lo sviluppo di farmaci antitumorali che inibiscono specifici recettori a tirosina è in fase di sviluppo.

Una via di Ras che è stata estesamente studiata è la via delle MAP chinasi , nota anche come la via delle ERK . MAP è un acronimo per "mitogen-activated protein", ovvero "proteina attivata da un mitogeno" (i mitogeni inducono la mitosi, la divisione nucleare associata alla divisione della cellula eucariotica). ERK è un acronimo per "extracellular signal-regulated kinases", ovvero "chinasi regolate da segnali extracellulari". Sono state descritti gruppi distinti di MAP chinasi. La via illustrata in FIGURA 6-13 mostra tre principali MAP chinasi: Raf, Mek ed ERK.

Le proteine della via di MAP fosforilano una proteina nucleare che si combina con altre proteine per formare un fattore di trascrizione. Quando si verifica l'attivazione di determinati geni, vengono sintetizzate proteine necessarie per i processi di accrescimento, divisione e differenziamento (specializzazione) della cellula. La cascata delle MAP chinasi rappresenta la principale cascata di segnalazione per la divisione e il differenziamento cellulare. Come illustrato in FIGURA 6-14 , le proteine di segnalazione ERK 1 ed ERK 2 sono importanti nella regolazione della fertilità nei mammiferi.

## La risposta ad un segnale è amplificata

Normalmente, le molecole segnale sono presenti a concentrazioni molto basse; tuttavia, i loro effetti sulla cellula sono spesso profondi. Questo è possibile perché il segnale viene *amplificato* mentre viene trasmesso attraverso la via di segnalazione. Ad esempio, consideriamo in che modo l'azione di una molecola segnale come l'ormone adrenalina sia amplificata via via che il segnale passa attraverso una serie di proteine all'interno della cellula. L'adrenalina è rilasciata dalle ghiandole surrenali in risposta al pericolo o ad altri stress. Tra le sue numerose azioni, l'adrenalina determina un aumento della frequenza cardiaca, dell'afflusso di sangue ai muscoli scheletrici e della concentrazione ematica del glucosio.

L'adrenalina si lega ad un recettore accoppiato ad una proteina G, determinando un cambiamento conformazionale nel recettore e l'attivazione della proteina G. Una singola molecola di ormone può attivare molte proteine G. Ogni proteina G attiva una molecola di adenilato ciclasi e poi ritorna nel suo stato inattivo. Ogni molecola di adenilato ciclasi, prima di diventare inattiva, può catalizzare la produzione di numerose molecole di cAMP ( FIG. 6-15 ). A sua volta, ogni molecola di cAMP può attivare molte molecole di una determinata proteina chinasi, che a sua volta può fosforilare molte molecole della chinasi successiva e così via lungo la cascata della via di segnalazione. Come risultato dell' amplificazione del segnale , una singola molecola segnale può portare a cambiamenti in milioni di molecole a valle di una cascata di segnalazione. La risposta è molto più grande di quella che sarebbe possibile se ogni molecola segnale agisse da sola. Tale processo di intensificazione degli effetti di una molecola segnale spiega come poche molecole segnale possano produrre risposte massicce nella cellula.

**PUNTO CHIAVE** Quando i fattori di trascrizione legano i loro recettori, attivano Ras, una proteina G; questa a sua volta attiva la via di segnalazione delle MAP-chinasi, portando all'attivazione o repressione di geni specifici, e modificando l'attività di proteine che influiscono su alcuni processi cellulari.

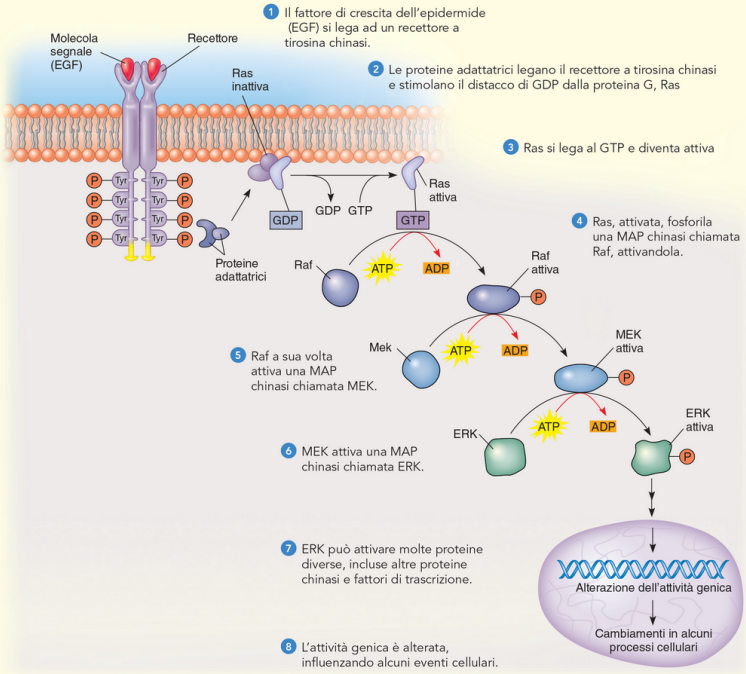
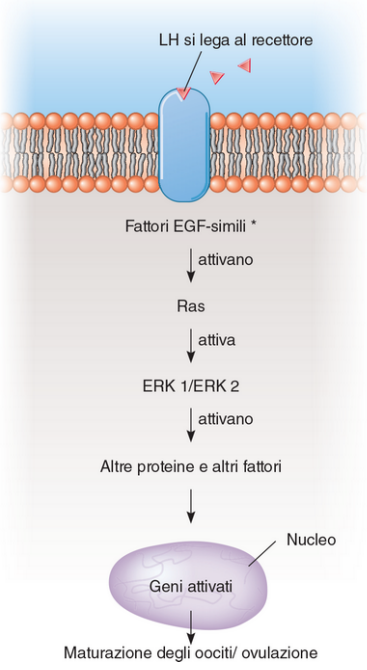



FIGURA 6-13 *Un esempio altamente semplificato di una via di segnalazione Ras/MAP chinasi*
Nella via qui illustrata, il fattore di crescita dell'epidermide (EGF) si lega ad un recettore a tirosina chinasi, inducendo l'attivazione di Ras, una piccola proteina G. In seguito, Ras attiva la via di segnalazione delle MAP-chinasi. Una serie di MAP chinasi nella via vengono attivate mediante fosforilazione. L'ultima MAP chinasi è in grado di regolare molti fattori di trascrizione causando cambiamenti nell'espressione genica, in grado di influenzare eventi cellulari.

## I segnali devono essere terminati

Una volta che un segnale ha svolto il suo compito, deve essere terminato. La terminazione del segnale riporta il recettore e tutti i componenti della via di trasduzione del segnale nel loro stato inattivo. Questo assicura che l'intensità della risposta rifletta la forza del segnale. Le molecole che fanno parte del sistema devono anche essere pronte a rispondere a nuovi segnali. Abbiamo visto che, quando si ha l'attivazione di una proteina G, una sua subunità con attività GTPasica catalizza l'idrolisi del GTP a GDP; questa azione inattiva la proteina G.




**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE:* Le molecole segnale ERK1 e ERK2 svolgono una funzione cruciale nelle vie di segnalazione che conducono alla maturazione degli oociti (uova) e all'ovulazione (rilascio dell'uovo maturo dalle ovaie) nei mammiferi?
SVILUPPARE UN'IPOTESI : Le molecole segnale ERK1 ed ERK2 sono dei bersagli cruciali del segnale inviato dall'ormone riproduttivo, l'ormone luteizzante (LH), e quindi sono importanti nella maturazione degli oociti e nell'ovulazione dei mammiferi.
EFFETTUARE ESPERIMENTI : I ricercatori hanno generato una linea di topi priva sia di ERK1 che di ERK2, e ne hanno analizzato biochimicamente la via di segnalazione attivata da LH. Inoltre, hanno esaminato le ovaie dei topi.

←FIGURA 6-14
*Identificazione di molecole chiave nella via di segnalazione che regola la riproduzione nei mammiferi*

RISULTATI E CONCLUSIONI : Nei topi che mancano sia di ERK1 che di ERK2 la via di segnalazione dell'ormone luteizzante, LH, non funziona. Come conseguenza, i geni che regolano la maturazione degli oociti e l'ovulazione non sono attivati. Gli oociti non maturano, non si verifica ovulazione, e i topi presentano anche diverse alterazioni riproduttive associate alla variazione dei livelli degli ormoni riproduttivi.
Dunque, ERK1 ed ERK2 sono molecole cruciali nella via di segnalazione che regola la riproduzione nel topo. Questi risultati potrebbero condurre ad una migliore comprensione di diverse malattie delle ovaie che determinano infertilità nell'uomo.
* EGF = fattore di crescita dell'epidermide
Fonte: Fan H. -Y. et al, Science, Vol. 324, 938-941, 2009.

Nella via dell'AMP ciclico, ogni aumento della concentrazione del cAMP è temporaneo. L'AMP ciclico, infatti, è rapidamente inattivato da una fosfodiesterasi che lo converte in adenosina monofosfato (AMP).

Pertanto, la concentrazione di cAMP dipende sia dall'attività dell'adenilato ciclasi che lo produce, sia da quella della fosfodiesterasi che lo degrada (vedi Fig. 6-8 ). Ricordiamo inoltre che in molte vie di segnalazione, ogni proteina chinasi attiva la proteina chinasi successiva della catena, fosforilandola; una fosfatasi, poi la inattiva rimuovendo il gruppo fosfato.

Un difetto nella terminazione dei segnali può avere conseguenze drammatiche. Ad esempio, il batterio che causa il colera viene ingerito bevendo acqua contaminata; infatti, il colera affligge principalmente le aree in cui le acque sono contaminate dalle feci umane. Il batterio del colera rilascia una tossina che attiva delle proteine G nelle cellule epiteliali che formano il rivestimento interno dell'intestino. La tossina modifica chimicamente la proteina G in modo che questa non possa più tornare nello stato inattivo. Di conseguenza, la proteina G continua a stimolare l'adenilato ciclasi a produrre cAMP. Le cellule del rivestimento interno dell'intestino non funzionano più correttamente e consentono un flusso massiccio di ioni cloruro nell'intestino. Gli ioni cloruro sono seguiti dall'acqua e da altri ioni, e questo genera la grave diarrea caratteristica del colera. Il trattamento di questa malattia consiste nella reintegrazione dei liquidi persi. Se non trattato, il malfunzionamento di questa proteina G può portare alla morte.

**Verifica**

- Quali sono alcune delle risposte cellulari ai segnali?
- Come fanno le cellule ad amplificare i segnali?
- Che cos'è la terminazione del segnale?

## 6.6 L'EVOLUZIONE DELLA COMUNICAZIONE CELLULARE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

9. Citare le prove a supporto di una lunga storia evolutiva per le molecole di segnalazione cellulare.

In questo capitolo abbiamo esaminato il modo in cui le cellule di un organismo pluricellulare si inviano segnali ed abbiamo descritto alcune delle vie di trasduzione del segnale. Abbiamo descritto la percezione del quorum ed altri esempi di comunicazione tra i membri di una specie. Abbiamo anche discusso la comunicazione tra membri di specie diverse, come la segnalazione tra piante ed insetti. Nella nostra discussione, abbiamo notato numerose similarità nei tipi di segnali utilizzati e nelle molecole che le cellule usano per trasmettere tali segnali dalla superficie alle molecole che mettono in atto una specifica risposta. Alcune vie di trasduzione del segnale sono alquanto simili in organismi molto diversi, quali lieviti ed animali.
Proteine G, proteine chinasi e fosfatasi sono altamente conservate e fanno parte delle vie di segnalazione in molti organismi. Alcuni batteri patogeni posseggono vie di trasduzione del segnale simili a quelle degli eucarioti. I batteri possano utilizzare alcuni di questi meccanismi di segnalazione per interferire con le normali funzioni delle cellule che infettano. Tali similarità suggeriscono l'esistenza di correlazioni evolutive.

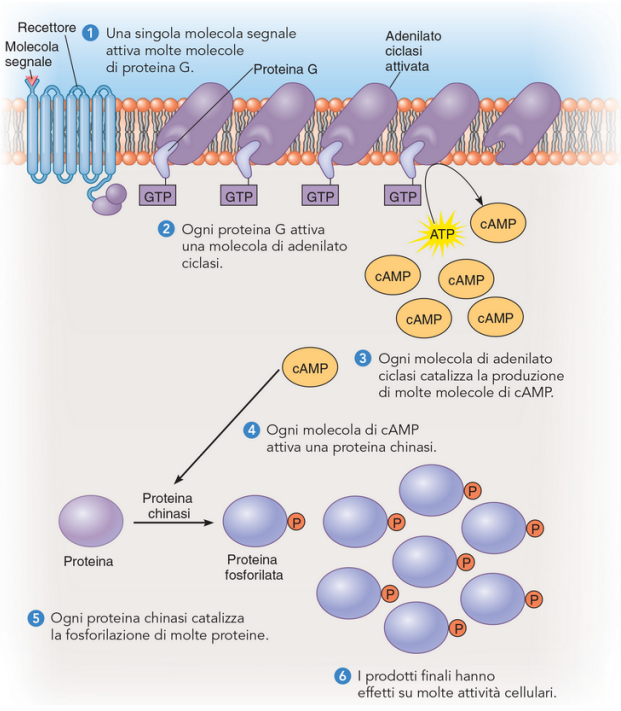



FIGURA 6-15 *Amplificazione del segnale*
Il segnale originario viene amplificato ad ogni passo della via di segnalazione, così che un recettore attivato può generare, come prodotti finali, migliaia di proteine. In questo modo la risposta è molto più intensa rispetto a quella che ci si potrebbe aspettare da un singolo recettore.

Le similarità nella segnalazione cellulare suggeriscono che le molecole e i meccanismi utilizzati nella comunicazione cellulare siano molto antichi. Le osservazioni indicano che la comunicazione cellulare si è evoluta dapprima nei procarioti ed ha continuato a modificarsi nel tempo, via via che si evolvevano nuovi tipi di organismi. Tuttavia, il fatto che alcune molecole segnale non siano cambiate molto nel tempo suggerisce che l'importanza di queste vie per la sopravvivenza delle cellule abbia limitato gli eventuali cambiamenti evolutivi che le avrebbero rese meno efficienti. Pertanto, queste vie hanno soddisfatto le esigenze della selezione naturale nel corso di milioni di anni di evoluzione.

I coanoflagellati, protisti unicellulari che si pensa siano gli antenati più recenti degli animali, sono utilizzati come modelli per lo studio delle fasi iniziali dell'evoluzione degli animali. I coanoflagellati posseggono molte delle proteine presenti negli animali. Questi minuscoli organismi hanno proteine chinasi simili a quelle degli animali ed in essi è stato identificato un recettore accoppiato ad una proteina G. Questi risultati indicano che le proteine necessarie per la comunicazione cellulare negli animali si sono evolute molto prima dell'evoluzione degli animali stessi. Come sarà discusso in capitoli successivi, le similarità e le differenze in molecole fondamentali, come le proteine G, possono essere utilizzate per tracciare i cammini evolutivi.

**Verifica**

- I coanoflagellati e gli animali posseggono proteine chinasi simili. Cosa suggerisce questo sui loro meccanismi di segnalazione cellulare?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

6.1

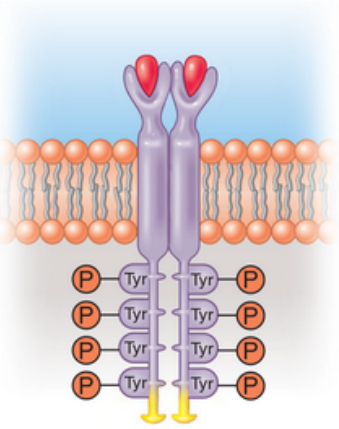
1. Descrivere i quattro processi, che sono essenziali per la comunicazione cellulare.
   - Le cellule comunicano attraverso la segnalazione cellulare , che consiste di quattro processi principali: (1) la sintesi, il rilascio e il trasporto delle molecole segnale; (2) la ricezione dell'informazione da parte delle cellule bersaglio ; (3) la trasduzione del segnale , il processo con cui un recettore converte un segnale extracellulare in un segnale intracellulare e lo inoltra, determinando una risposta cellulare; (4) la risposta da parte della cellula, per esempio, l'alterazione di qualche processo metabolico.

6.2

2. Paragonare tre tipi di molecole segnale: neurotrasmettitori, ormoni e regolatori locali.
   - La maggior parte dei neuroni (cellule nervose) scambia segnali mediante il rilascio di composti chimici detti neurotrasmettitori .
   - Gli ormoni sono messaggeri chimici presenti in piante ed animali. Negli animali, sono secreti dalle ghiandole endocrine , che sono prive di dotti. La maggior parte degli ormoni diffonde nei capillari ed è trasportata alle cellule bersaglio dal sangue.
   - I regolatori locali diffondono attraverso il fluido interstiziale ed agiscono sulle cellule vicine ( regolazione paracrina ). L'istamina, i fattori di crescita, le prostaglandine (un ormone locale) e l' ossido nitrico (una molecola segnale gassosa che diffonde all'interno delle cellule bersaglio) sono alcuni esempi di regolatori locali.

6.3

3. Identificare i meccanismi che fanno della ricezione un processo altamente specifico.
   - Ciascun tipo di recettore ha una forma specifica: solo la molecola segnale che si adatta perfettamente allo specifico recettore può avere effetti sulla cellula. Una cellula può avere tipi differenti di recettori e può sintetizzare recettori diversi nei diversi stadi delsuo ciclo vitale o in risposta alle diverse condizioni. Tipi diversi di cellule possono avere tipi di recettori differenti.
4. Confrontare recettori accoppiati a canali ionici , recettori accoppiati a proteine G, recettori accoppiati ad enzimi e recettori intracellulari.
   - Quando una molecola segnale si lega ad un recettore accoppiato ad un canale ionico, il canale ionico si apre o, in alcuni casi, si chiude.
   - I recettori accoppiati a proteine G sono proteine transmembrana che si estendono nel citosol o all'esterno della cellula. Tali recettori accoppiano certe molecole segnale a vie di trasduzione del segnale all'interno della cellula. La coda del recettore che si estende nel citosol possiede un sito di legame per una specifica proteina G , una proteina di regolazione che lega il GTP.
   - I recettori accoppiati ad enzimi sono proteine transmembrana con un sito di legame per una molecola segnale all'esterno della cellula ed un sito di legame per un enzima all'interno della cellula. Alcuni di questi recettori funzionano direttamente come enzimi. Molti recettori accoppiati ad enzimi sono tirosina chinasi , in cui l'enzima fa parte del recettore stesso.
   - I recettori intracellulari sono localizzati nel citosol o nel nucleo. I loro ligandi sono piccole molecole idrofobiche che diffondono attraverso la membrana plasmatica.




6.4

5. Confrontare i meccanismi di azione dei principali tipi di recettori

nella trasduzione del segnale.

- I recettori accoppiati a canali ionici convertono segnali chimici in segnali elettrici. Le "porte" di molti canali ionici restano chiuse fin quando un ligando si lega ad essi.
- La maggior parte dei recettori accoppiati ad enzimi è rappresentata da tirosina chinasi, enzimi che fosforilano le proteine. I recettori a tirosina chinasi attivano diverse vie di trasduzione del segnale. In una cascata di proteine chinasi , ogni molecola della via di segnalazione viene fosforilata dalla proteina chinasi che la precede nella catena. L'ultima proteina chinasi della catena attiva la proteina bersaglio, fosforilandola. La proteina bersaglio, infine, induce un cambiamento a livello di qualche processo cellulare.
- I recettori accoppiati a proteine G attivano le proteine G. Una proteina G è costituita da tre subunità . Essa è legata ad una molecola di guanosina difosfato ( GDP ), una molecola simile all'ADP, ma contenente la base guanina al posto dell'adenina. Quando un ligando si lega al recettore, il GDP è rilasciato e sostituito da guanosina trifosfato ( GTP ). A questo punto, una delle subunità della proteina G si separa dalle altre due subunità. Una volta attivata, la proteina G dà inizio alla trasduzione del segnale legandosi ad una specifica proteina all'interno della cellula. Alcune proteine G attivano direttamente enzimi che catalizzano modifiche a carico di determinate proteine, con conseguenti cambiamenti in qualche funzione cellulare.
- I recettori intracellulari sono localizzati nel citosol o nel nucleo. Tali recettori sono fattori di trascrizione che attivano o reprimono l'espressione di specifici geni.

6. Descrivere la sequenza di eventi nella trasduzione del segnale per ciascuno dei seguenti secondi messaggeri: AMP ciclico, inositolo trisfosfato, diacilglicerolo e ioni calcio.
   - In molti casi, la molecola segnale funge da primo messaggero . L'informazione è quindi trasmessa dalla proteina G ad un secondo messaggero , un agente di segnalazione intracellulare.
   - Quando determinate proteine G vanno incontro ad un cambiamento di conformazione, legano ed attivano l' adenilato ciclasi , un enzima presente sul lato citoplasmatico della membrana plasmatica. L'adenilato ciclasi catalizza la formazione di AMP ciclico ( cAMP ) dall'ATP. L'AMP ciclico è un secondo messaggero che attiva alcuni enzimi proteina chinasi , che fosforilano certe proteine. La proteina fosforilata innesca una catena di reazioni che porta ad una risposta cellulare.
   - Certe proteine G attivano l'enzima fosfolipasi C legato alla membrana. Questo enzima scinde un fosfolipide, il PIP 2 (fosfotidilinositolo-4,5-bisfosfato), in due prodotti, l' inositolo trisfosfato ( IP 3 ) ed il diacilglicerolo ( DAG ). L'IP 3 è un secondo messaggero capace di donare gruppi fosfato alle proteine. L'IP 3 si lega ai canali del calcio presenti nel reticolo endoplasmatico, determinando l'apertura dei canali e il rilascio di ioni calcio nel citosol. Il DAG è un secondo messaggero che attiva certi enzimi proteina chinasi, che fosforilano una varietà di proteine bersaglio.
   - Anche gli ioni calcio agiscono da secondi messaggeri. Normalmente, si combinano con la proteina calmodulina , che quindi influisce sull'attività di proteine chinasi e proteine fosfatasi.

6.5

7. Descrivere i tre tipi di risposte cellulari alle molecole segnale.
   - In risposta alle molecole segnale si può verificare: l'apertura o la chiusura di canali ionici; il cambiamento di attività enzimatiche con conseguenti cambiamenti metabolici ed altri effetti; l'attivazione o la repressione di specifici geni. Tali risposte possono influire su molti aspetti dello sviluppo e delle attività cellulari, tra cui la forma, la crescita, la divisione, il differenziamento e il metabolismo della cellula.
8. Confrontare l'amplificazione del segnale e la terminazione del segnale.
   - L' amplificazione del segnale è il processo di intensificazione della risposta cellulare al segnale via via che esso viene trasmesso attraverso una via di trasduzione del segnale. Prima di diventare inattivo, ogni enzima è in grado di catalizzare la sintesi di numerose molecole del prodotto
   - La terminazione del segnale è il processo di inattivazione del recettore e di ciascun componente della via di trasduzione del segnale una volta che essi hanno svolto la loro funzione. La terminazione del segnale permette alle molecole del sistema di rispondere a nuovi segnali.

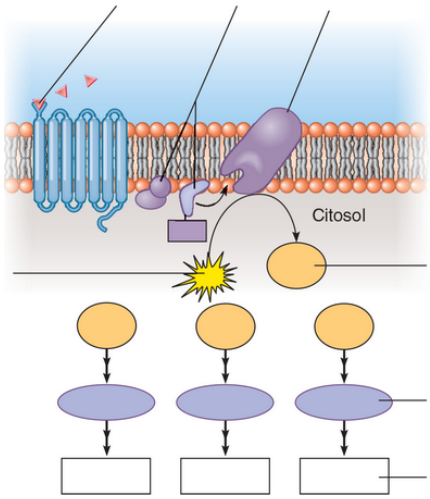
6.6

9. Citare le prove a supporto di una lunga storia evolutiva per le molecole di segnalazione cellulare.
   - Le molecole importanti nella segnalazione cellulare si sono evolute dapprima nei procarioti. Proteine G, proteine chinasi e fosfatasi sono altamente conservate e fanno

parte della maggior parte delle vie di segnalazione.

## AUTOVERIFICHE

1. Durante la trasduzione del segnale: (a) la cellula converte un segnale extracellulare in un segnale intracellulare che porta ad un cambiamento in qualche processo cellulare; (b) una molecola di segnalazione attiva o reprime molti geni; (c) ogni enzima catalizza la produzione di una molecola di prodotto; (d) la trasmissione del segnale è regolata attraverso la regolazione paracrina; (e) il segnale viene terminato dalle prostaglandine.
2. Nella regolazione paracrina (a) le ghiandole endocrine rilasciano ormoni che vengono trasportati nel sangue; (b) vengono trasmessi segnali elettrici; (c) i neurotrsmettitori mandano un segnale ai fattori di crescita; (d) le prostaglandine pongono termine al segnale durante la trasduzione del segnale; (e un regolatore locale manda un segnale alle cellule vicine
3. Quando una molecola segnale si lega ad un recettore: (a) le proteine G vengono inattivate; (b) viene attivato un terzo messaggero; (c) la segnalazione cellulare viene terminata; (d) la cellula che invia il segnale viene attivata; (e) il recettore viene attivato.
4. I recettore accoppiati a proteine G: (a) inattivano le proteine G; (b) attivano primi messaggeri; (c) sono costituiti da 18 alfa-eliche transmembrana; (d) hanno una coda che si estende nel citosol ed un sito di legame per una proteina G; (e) sono localizzati nel citoplasma o nel nucleo.
5. Un recettore accoppiato ad un enzima: (a) è una proteina integrale di membrana; (b) non è presente sulla superficie delle cellule vegetali; (c) forma un dimero con un altro recettore accoppiato ad un enzima quando ad esso si lega un ligando; (d) è normalmente una molecola di adenilato ciclasi; (e) normalmente attiva canali ionici.
6. Le proteine G: (a) trasmettono un messaggio da un recettore attivato ad un enzima che attiva un secondo messaggero; (b) sono molecole di GTP; (c) terminano la segnalazione cellulare; (d) attivano direttamente le protein chinasi; (e) fungono da primi messaggeri.
7. Qual è la sequenza corretta? 1. Attivazione della proteina chinasi; 2. Attivazione dell'adenilato ciclasi; 3. Produzione di cAMP; 4. Fosforilazione di proteine; 5. Attivazione della proteina G. (a) 1, 2, 3, 5,4; (b) 5, 3, 2, 1, 4; (c) 5, 2, 3, 4, 1; (d) 5, 2, 3, 1, 4; (e) 2, 3, 1, 4, 5.
8. Qual è la sequenza corretta? 1. Attivazione della fosfolipasi; 2. Attivazione della proteina G; 3. Scissione del PIP 2 ; 4. Fosforilazione di proteine; 5. Produzione di DAG. (a) 1, 2, 5, 3, 4; (b) 2, 1, 3, 5, 4; (c) 4, 2, 3, 1, 5; (d) 5, 2, 3, 1, 4; (e) 2, 3, 5, 4, 1.
9. Gli ioni calcio: (a) possono agire da secondi messaggeri; (b) scindono la calmodulina; (c) sono mantenuti a concentrazioni più elevate nel citosol che nel fluido extracellulare; (d) sono prodotti nel RE da proteine chinasi e proteine fosfatasi; (e) normalmente terminano le cascate di segnalazione.
10. Quando l'ormone della crescita si lega ad un recettore accoppiato ad un enzima (a) le proteine G formano una cascata di molecole e vengono fosforilate; (b) la porzione enzimatica del recettore viene defosforilata; c) il recettore viene attivato e fosforila delle proteine segnale nella cellula; (d) viene aperto un canale ionico; (e) un segnale immediato viene inviato nel nucleo e specifici geni vengono attivati o inibiti
11. Le proteine di impalcatura: (a) rilasciano chinasi e fosfatasi nel fluido extracellulare; (b) aumentano la probabilità che un enzima possa essere utilizzato in diverse vie; (c) aumentano la precisione delle cascate di segnalazione, ma le rallentano; (d) organizzano gruppi di molecole segnale intracellulari in complessi di segnalazione; (e) sono presenti principalmente nelle cellule vegetali.
12. Ogni molecola di adenilato ciclasi produce numerose molecole di cAMP. Questo è un esempio di: (a) up-regolazione dei recettori; (b) down-regolazione dei recettori; (c) amplificazione del segnale; (d) impalcatura; (e) somiglianze prodotte dall'evoluzione.
13. Etichettate le seguenti strutture nel diagramma: primo messaggero, proteina G, ATP, cAMP (secondo messaggero), proteina, risposta cellulare. (Consultate la Fig. 6-7 per controllare le vostre risposte)




## PENSIERO CRITICO

1. In molti casi, la via che porta dalla molecola segnale alla risposta cellulare finale coinvolge complesse cascate di segnalazione. For-nite un esempio di sistema di segnalazione complesso e spiegate perché tale complessità potrebbe essere vantaggiosa.

2. Nel genoma umano, sono stati identificati oltre 500 geni che codificano protein chinasi. Cosa suggerisce questo relativamente alle protein chinasi? Spiegate la vostra risposta.
3. CONNESSIONE EVOLUTIVA. La segnalazione cellulare nelle piante e negli animali è simile per certi aspetti e differente per altri. Avanzate un'ipotesi per spiegare tali similarità e differenze e fornite degli esempi specifici.
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Alcuni dei recettori accoppiati a proteine G e delle vie di trasduzione del segnale presenti in piante ed animali sono stati identificati anche in funghi e protisti. Cosa suggerisce questo sull'evoluzione di queste molecole? E cosa suggerisce su queste molecole e vie di segnalazione?
5. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Le proteine mutanti di Ras sono state associate con molti tipi di tumori umani. Centinaia di milioni di euro sono necessari per la ricerca di base e per lo sviluppo di ogni nuovo farmaco. Sei d'accordo, come cittadino, a contribuire a finanziare lo sviluppo di nuovi farmaci per il trattamento dei tumori attraverso la ricerca sponsorizzata dal governo? Perche si o perché no? Se la risposta è no, quali alternative proponi?

# Articolo VII. Energia e metabolismo 7

Tutti gli esseri viventi hanno bisogno di energia per compiere i processi vitali. Può sembrare ovvio che le cellule abbiano bisogno di energia per crescere e riprodursi, ma anche le cellule che non crescono necessitano di energia, semplicemente per mantenersi in vita. Le cellule acquistano energia in molte forme, ma raramente tale energia può essere utilizzata direttamente per attivare i processi cellulari. Per questo motivo, le cellule possiedono meccanismi metabolici che convertono l'energia da una forma ad un'altra. I sistemi ordinati della cellula forniscono le informazioni che rendono possibili queste trasformazioni energetiche. Poiché gran parte dei componenti di questisistemi di conversione energetica si è evoluta molto precocemente nella storia della vita, gli aspetti fondamentali del metabolismo energetico tendono ad essere molto simili in un gran numero di organismi.
Il sole è la sorgente fondamentale di quasi tutta l'energia che rende possibile la vita; questa energia radiante fluisce dal sole in forma di onde elettromagnetiche. Le piante e gli altri organismi fotosintetici catturano circa lo 0,02% dell'energia solare che raggiunge la Terra. Come sarà discusso nel Capitolo 9 , gli organismi fotosintetici convertono l'energia radiante in energia chimica di legame nelle molecole organiche. Questa energia chimica diventa disponibile per le piante, gli animali, come il panda gigante mostrato nella fotografia, e gli altri organismi attraverso il processo di respirazione cellulare. Nella respirazione cellulare, discussa nel Capitolo 8 , le molecole organiche vengono degradate e la loro energia è convertita in forme più prontamente utilizzabili.
Questo capitolo mette a fuoco alcuni dei principi base che regolano il modo in cui le cellule catturano, trasferiscono, immagazzinano, ed utilizzano l'energia. Saranno discusse le funzioni dell' adenosina trifosfato (ATP) e delle altre molecole usate nelle conversioni energetiche, comprese quelle che trasferiscono elettroni nelle reazioni di ossido-riduzione (redox). Particolare attenzione sarà rivolta al ruolo essenziale svolto dagli enzimi nelle dinamiche energetiche della cellula. Il flusso di energia negli ecosistemi è discusso nel Capitolo 55 .

## 7.1 LAVORO BIOLOGICO

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

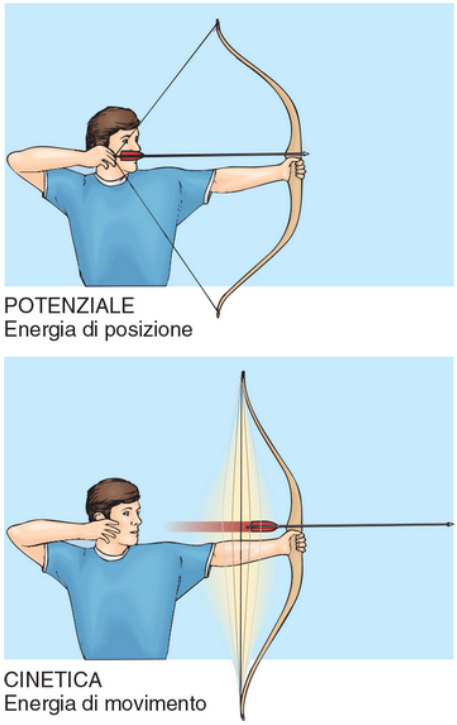
1. Definire il concetto di energia, spiegando come lo si può associare ai concetti di lavoro e di calore.
2. Fare degli esempi per differenziare l'energia potenziale e l'energia cinetica.

L'energia, uno dei concetti più importanti della biologia, può essere compresa nel contesto della materia , che è tutto ciò che ha una massa ed occupa uno spazio. L' energia è definita come la capacità di compiere lavoro, che è qualsiasi variazione dello stato o movimento della materia. Tecnicamente, la massa è una forma di energia, che è alla base dell'energia generata dal sole e dalle altre stelle. Nel sole, ogni secondo sono convertiti in energia più di 4 miliardi di tonnellate di materia.
I biologi generalmente esprimono l'energia in unità di lavoro – kilojoule ( kj ). Può essere anche espressa in unità di energia termica – kilocalorie ( kcal ) energia che fluisce da un corpo a temperatura più alta ad un

corpo a temperatura più bassa. Una kilocaloria è uguale a 4,184 kJ. L'energia termica non può compiere alcun lavoro cellulare poiché una cellula è troppo piccola per presentare regioni che differiscono per temperatura. Per questo motivo, la maggior parte dei biologi preferisce utilizzare come unità di misura il kilojoule. Tuttavia, noi useremo ambedue le unità, in quanto nella letteratura scientifica i riferimenti alle kilocalorie sono molto comuni.

### Gli organismi effettuano la conversione tra energia potenziale ed energia cinetica

Quando un arciere tende un arco, energia cinetica , l'energia di movimento, è utilizzata per compiere lavoro ( FIG. 7-1 ). La tensione risultante sia nell'arco che nella corda rappresenta l'energia immagazzinata, o energia potenziale. L' energia potenziale è la capacità di compiere lavoro in base alla posizione o allo stato di un corpo. Quando la corda viene rilasciata, questa energia potenziale viene convertita in energia cinetica nel movimento dell'arco, che spinge la freccia.




La maggior parte delle azioni di un organismo comporta una serie di trasformazioni energetiche che avvengono quando l'energia cinetica viene convertita in energia potenziale o l'energia potenziale viene convertita in energia cinetica. L' energia chimica , energia potenziale immagazzinata nei legami chimici, è di particolare importanza per gli organismi. Nel nostro esempio, l'energia chimica delle molecole nutritive è convertita in energia cinetica nelle cellule muscolari dell'arciere. La contrazione dei muscoli dell'arciere, similmente a molte delle attività svolte da un organismo, è un esempio di *energia meccanica*, che consente di compiere lavoro mediante movimento della materia.

←FIGURA 7-1
*Energia potenziale ed energia cinetica*
L'energia chimica potenziale liberata dalla respirazione cellulare è convertita in energia cinetica nei muscoli che compiono il lavoro di tendere l'arco. L'energia potenziale accumulata nell'arco teso è trasformata in energia cinetica non appena la corda spinge la freccia verso il bersaglio.

### Verifica

- Esercitate una tensione su una molla e poi rilasciatela. Come correli queste azioni al lavoro, all'energia potenziale e all'energia cinetica?

## 7.2 LE LEGGI DELLA TERMODINAMICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

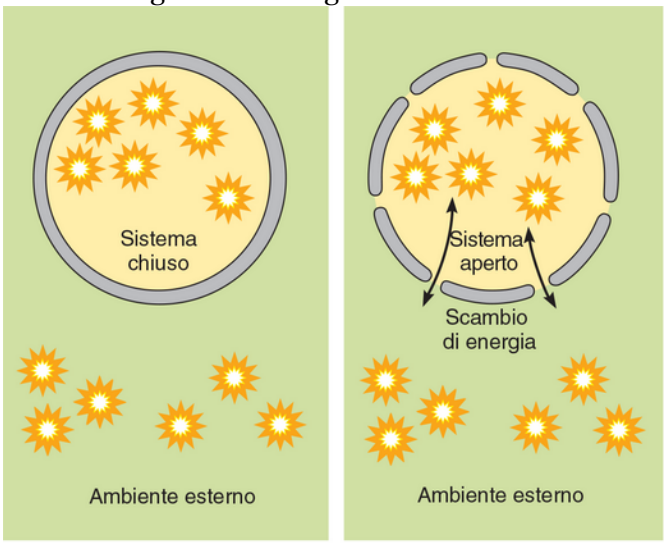
3. Enunciare la prima e la seconda legge della termodinamica e discuterne le implicazioni relative agli organismi viventi.

La termodinamica , lo studio dell'energia e delle sue trasformazioni, governa tutte le attività dell'universo, dalla vita alla morte delle cellule e dalla vita alla morte delle stelle. Quando si considera la termodinamica, gli scienziati utilizzano il termine *sistema* per far riferimento all'oggetto studiato, sia esso una cellula, un organismo o il pianeta Terra. Il resto dell'universo, al di fuori del sistema, è chiamato *ambiente esterno*. Un sistema chiuso non scambia energia con l'esterno, mentre un sistema aperto può scambiare energia con l'esterno ( FIG. 7-2 ). I sistemi biologici sono sistemi aperti. Esistono due leggi dell'energia che si applicano a tutte le cose dell'universo: la prima e la seconda legge della termodinamica.

### L'energia totale dell'universo non cambia

Secondo la prima legge della termodinamica , l'energia non può essere né creata né distrutta, ma può essere trasferita o trasformata da una forma ad un'altra, includendo anche le trasformazioni tra materia ed energia. Per quanto ne sappiamo, l'energia-massa totale contenuta nell'universo al momento della sua formazione, quasi 14 miliardi di anni fa, è uguale alla quantità di energia presente in esso oggi. Questa è anche tutta l'energia che potrà mai essere presente nell'universo. Similmente, l'energia di ogni sistema e del suo ambiente esterno è costante. Un sistema può assorbire energia dall'esterno o cedere energia all'esterno,

ma l'energia totale di ogni sistema e del suo ambiente circostante rimane costante.




(a) **Un sistema chiuso** non scambia energia con l'ambiente esterno.

(b) **Un sistema aperto** scambia energia con l'ambiente esterno.

←FIGURA 7-2
*Sistemi chiusi e aperti*

Come enunciato dalla prima legge della termodinamica, gli organismi non possono creare l'energia necessaria alla loro vita. Invece, devono catturare energia dall'ambiente e trasformarla in una forma utilizzabile per compiere lavoro biologico.

## L'entropia dell'universo è in aumento

La seconda legge della termodinamica afferma che quando l'energia è convertita da una forma ad un'altra, una parte di energia utilizzabile – che è energia disponibile per compiere lavoro – è convertita in calore che si disperde nell'ambiente (vedi Fig. 55-1 che illustra il flusso di energia attraverso un ecosistema). Come avete appreso nel Capitolo 2 , il calore è l'energia cinetica posseduta dalle particelle che si muovono in maniera casuale. Diversamente *dall'energia termica*, che fluisce da un oggetto a temperatura più alta ad uno a temperatura più bassa, questo moto casuale non è in grado di compiere lavoro. L'effetto è, che la quantità di energia disponibile per compiere lavoro nell'universo diminuisce nel tempo.

È importante capire che la seconda legge della termodinamica è in accordo con la prima legge; ovvero, la quantità totale di energia dell'universo *non* diminuisce nel tempo. Tuttavia, la quantità totale di energia dell'universo che è disponibile a compiere lavoro diminuisce nel tempo.
Una forma di energia meno utilizzabile o disorganizzata è maggiormente diffusa. L' entropia ( S ) è una misura di questo disordine o casualità; l'energia utilizzabile, organizzata, ha una bassa entropia, mentre l'energia disorganizzata, come il calore, ha un'alta entropia.
L'entropia dell'universo è in continuo aumento in tutti i processi naturali. Forse tra qualche tempo, miliardi di anni da ora, tutta l'energia sotto forma di calore sarà uniformemente distribuita in tutto l'universo. Se ciò accade, l'universo cesserà di funzionare, poiché nessun lavoro potrà essere compiuto. Ogni cosa sarà alla stessa temperatura, quindi sarà impossibile convertire l'energia termica dell'universo in energia meccanica utilizzabile.
Come conseguenza della seconda legge della termodinamica, nessun processo che richiede conversione di energia è efficiente al 100%, perché gran parte dell' energia è dispersa come calore, incrementando l'entropia. Per esempio, il motore di un'automobile, che converte l'energia chimica del carburante in energia meccanica, è efficiente per il 20-30%. Così, soltanto il 20-30% dell'energia originaria immagazzinata nei legami chimici delle molecole di carburante è effettivamente trasformato in energia meccanica; il restante 70-80% è dissipato come calore di scarto. Le nostre cellule utilizzano energia in maniera efficiente per circa il 40%; la rimanente energia è ceduta all'ambiente sotto forma di calore.
Gli organismi hanno un alto grado di organizzazione e, a prima vista, sembrano non rispettare la seconda legge della termodinamica. Quando gli organismi crescono e si sviluppano, essi mantengono un alto livello di ordine e non sembrano divenire più disorganizzati. Tuttavia, gli organismi sono sistemi aperti; essi mantengono nel tempo il loro grado di ordine con il costante apporto di energia dal loro ambiente. È questo il motivo per il quale le piante devono effettuare la fotosintesi e gli animali devono nutrirsi. Anche se l'ordine all'interno degli organismi tende ad aumentare temporaneamente, l'entropia totale dell'universo (organismi e ambiente che li circonda) aumenta progressivamente nel tempo.

## Verifica

- Cosa stabilisce la prima legge della termodinamica? E la seconda?
- La vita è talvolta descritta come una costante lotta contro la seconda legge della termodinamica. In che modo gli organismi vincono questa lotta senza violare la seconda legge?

# 7.3 ENERGIA E METABOLISMO

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Discutere come i cambiamenti di energia libera in una reazione siano correlati con i cambiamenti di entropia ed entalpia.
5. Distinguere tra reazioni esoergoniche ed endoergoniche, e portare degli esempi su come queste possano essere accoppiate.
6. Confrontare le dinamiche energetiche di una reazione all'equilibrio e di una non all'equilibrio.

Le reazioni chimiche che permettono ad un organismo di svolgere le sue attività – crescere, muoversi, mantenere funzionali i tessuti e ripararli, riprodursi e rispondere agli stimoli - costituiscono nell'insieme il suo metabolismo. Ricordiamo dal Capitolo 1 che il metabolismo è il complesso di tutte le attività chimiche che avvengono in un organismo vivente. Il metabolismo di un organismo consiste di numerose serie di reazioni chimiche, o vie metaboliche, che si intersecano. I due principali tipi di metabolismo sono l'anabolismo e il catabolismo. L' anabolismo comprende le varie vie in cui molecole complesse vengono sintetizzate a partire da molecole più semplici, come il legame tra gli aminoacidi che porta alla sintesi delle proteine. Il catabolismo comprende quelle vie in cui molecole più grandi vengono scisse per dare molecole più piccole, come nella degradazione dell'amido per formare monosaccaridi.
Come vedremo, tali cambiamenti non implicano solo alterazioni nella disposizione degli atomi, ma anche trasformazioni energetiche. Il catabolismo e l'anabolismo sono processi complementari; le vie cataboliche comportano un totale rilascio di energia, parte della quale è utilizzata per innescare vie anaboliche, che necessitano di energia. Nei paragrafi seguenti, discuteremo come è possibile prevedere se una certa reazione chimica richiede energia oppure la rilascia.

### L'entalpia è il contenuto totale di energia potenziale di un sistema

Nel corso di qualsiasi reazione chimica, comprese le reazioni metaboliche cellulari, alcuni legami chimici delle molecole che reagiscono si rompono e se ne formano di nuovi. Ciascun tipo specifico di legame chimico ha una certa quantità di energia di legame, definita come l'energia necessaria per rompere quel legame. L'energia totale di legame è essenzialmente equivalente all'energia potenziale totale del sistema, una quantità nota come entalpia ( H ).

### L'energia libera è disponibile a compiere lavoro cellulare

Entropia ed entalpia sono collegate da una terza forma di energia, definita energia libera ( G ), che è la quantità di energia disponibile a compiere lavoro nelle condizioni tipiche di una reazione biochimica. (G, nota anche come "energia libera di Gibbs", è così denominata da J. W. Gibbs, un professore di Yale che è stato uno dei fondatori della scienza della termodinamica). L'energia libera, l'unico tipo di energia che può svolgere lavoro cellulare, è l'aspetto della termodinamica di maggior interesse per i biologi. L'entalpia, l'energia libera e l'entropia sono correlate dalla seguente equazione:

$$H = G + TS$$

in cui H è l'entalpia; G è l'energia libera; T è la temperatura assoluta del sistema, espressa in unità kelvin; ed S è l'entropia. Non considerando per il momento la temperatura, l'entalpia (l'energia totale del sistema) è uguale all'energia libera (l'energia utilizzabile) più l'entropia (l'energia non utilizzabile).
Una riarrangiamento dell'equazione mostra che all'aumentare dell'entropia vi è una diminuzione dell'energia libera:

$$G = H - TS$$

Se si assume che l'entropia sia zero, l'energia libera risulta essere uguale all'energia potenziale totale (entalpia); un aumento dell'entropia riduce la quantità di energia libera.
Qual è il significato della temperatura ( T )? Bisogna ricordare che, se la temperatura aumenta, si ha un aumento del movimento casuale delle molecole che contribuisce al disordine e moltiplica l'effetto dell'entropia.

### Le reazioni chimiche comportano variazioni dell'energia libera

I biologi analizzano il ruolo dell'energia in numerose reazioni biochimiche del metabolismo. Anche se l'energia libera totale di un sistema ( G ) non può essere effett ivamente misurata, l'equazione G = H – TS può essere utilizzata per prevedere se una specifica reazione chimica rilascerà energia oppure richiederà somministrazione di energia. La ragione è che le variazioni di energia libera possono essere misurate. Gli

scienziati utilizzano la lettera greca delta (Δ) per indicare qualsiasi variazione che avviene nel sistema tra il suo stato iniziale, prima della reazione, ed il suo stato finale, dopo la reazione. Per indicare che cosa avviene rispetto all'energia in una reazione chimica, l'equazione diventa:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

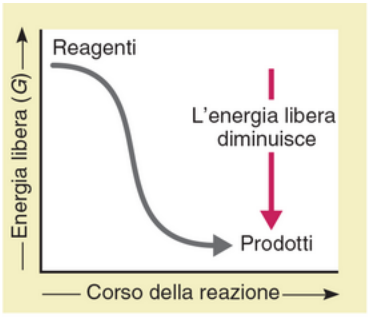
È da notare che la temperatura non cambia; essa è mantenuta costante durante la reazione. Perciò, la variazione di energia libera (Δ G ) durante la reazione è uguale alla variazione di entalpia (Δ H ) meno il prodotto della temperatura assoluta ( T ) in unità Kelvin per la variazione di entropia (Δ S ). Δ G e Δ H sono espresse in kilojoules o kilocalorie per mole; Δ S è espresso in kilojoules o kilocalorie per unità Kelvin.

## L'energia libera diminuisce durante una reazione esoergonica

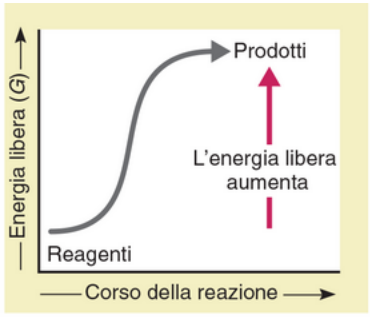
Una reazione esoergonica rilascia energia ed è definita spontanea o "in discesa", da più alti a più bassi valori di energia libera ( FIG. 7-3a ). Poiché nel suo stato finale la quantità totale di energia libera è inferiore rispetto al valore del suo stato iniziale, Δ G è un numero negativo nelle reazioni esoergoniche.
Il termine *spontaneo* può forse dare la falsa impressione che tali reazioni siano sempre istantanee. In realtà, le reazioni spontanee non avvengono necessariamente senza difficoltà; alcune sono estremamente lente. Ciò è dovuto al fatto che per innescare ogni reazione, anche se spontanea, è richiesta una certa *energia di attivazione*. L'energia di attivazione sarà discussa più avanti in questo capitolo.

## L'energia libera aumenta durante una reazione endoergonica

Una reazione endoergonica è una reazione in cui c'è aumento di energia libera ( FIG. 7-3b ). Poiché l'energia libera dei prodotti è maggiore di quella dei reagenti, Δ *G* ha valore positivo. Questo tipo di reazione non può avvenire in isolamento. Invece, deve avvenire in un modo tale che l'energia possa essere fornita dall'ambiente. Naturalmente, nelle cellule avvengono molte reazioni che richiedono un apporto di energia e, come vedremo, si sono sviluppati meccanismi metabolici che forniscono l'energia necessaria per "spingerere" queste reazioni cellulari non spontanee in una specifica direzione.

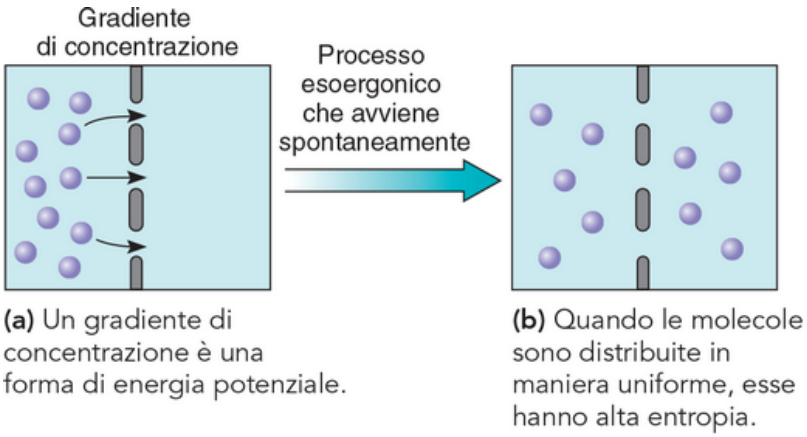



**(a)** In una reazione esoergonica, vi è una perdita netta di energia libera. I prodotti hanno minore energia libera rispetto ai reagenti, e la reazione procede spontaneamente.




**(b)** In una reazione endoergonica, vi è un guadagno netto di energia libera. I prodotti hanno più energia libera rispetto ai reagenti.

←FIGURA 7-3 *Reazioni esoergoniche ed endoergoniche*




**(a)** Un gradiente di concentrazione è una forma di energia potenziale.

**(b)** Quando le molecole sono distribuite in maniera uniforme, esse hanno alta entropia.

FIGURA 7-4 *Entropia e diffusione*
La tendenza dell'entropia ad aumentare può essere usata per produrre lavoro, in questo caso, la diffusione.

## La diffusione è un processo esoergonico

Nel Capitolo 5 , abbiamo visto che le particelle che si muovono in modo casuale diffondono secondo il loro gradiente di concentrazione ( FIG. 7-4 ). Sebbene il movimento delle singole particelle sia casuale, il movimento netto di un gruppo di particelle sembra essere direzionale. Che cosa fornisce l'energia per questo processo che appare direzionale? Un gradiente di concentrazione, con una regione a più alta concentrazione e un'altra regione a più bassa concentrazione, è uno stato ordinato.
Una cellula deve spendere energia per produrre un gradiente di concentrazione. Poiché si compie lavoro per generare quest'ordine, un gradiente di concentrazione è una forma di energia potenziale. Quando le particelle si muovono casualmente, il gradiente si dissipa. Perciò, l'energia libera diminuisce mentre l'entropia aumenta.
Nella respirazione cellulare e nella fotosintesi, l'energia potenziale accumulata in un gradiente di concentrazione di ioni idrogeno (H + ) è trasformata in energia chimica nell'adenosina trifosfato (ATP)

mediante il passaggio degli ioni H + attraverso una membrana secondo il loro gradiente di concentrazione. Questo importante concetto, noto come *chemiosmosi*, sarà discusso in dettaglio nei Capitoli 8 e 9.

## Le variazioni di energia libera dipendono dalle concentrazioni dei reagenti e dei prodotti

In accordo con la seconda legge della termodinamica, qualsiasi processo che determini un aumento di entropia può compiere lavoro. Come abbiamo già discusso, una differenza di concentrazione di una sostanza, come ad esempio tra due parti diverse di una cellula, rappresenta uno stato più ordinato rispetto ad una distribuzione omogenea della stessa sostanza in tutta la cellula. Variazioni di energia libera in qualsiasi reazione chimica dipendono essenzialmente dalla differenza delle energie di legame (entalpia, *H*) tra reagenti e prodotti. L'energia libera dipende anche dalle *concentrazioni* sia dei reagenti che dei prodotti. Nella maggior parte delle reazioni biochimiche, c'è una piccola differenza intrinseca fra l'energia libera dei reagenti e quella dei prodotti. Queste reazioni sono reversibili e, sono indicate dalla doppia freccia tra reagenti e prodotti:

$$A \rightleftharpoons B$$

All'inizio della reazione, sono presenti solo le molecole di reagente (A). Quando la reazione procede, la concentrazione di reagente diminuisce e aumenta la concentrazione del prodotto (B). All'aumentare della concentrazione del prodotto, alcune molecole di prodotto acquistano energia libera sufficiente per iniziare la reazione opposta. La reazione procede quindi simultaneamente in entrambe le direzioni; se non perturbata, può raggiungere uno stato di equilibrio dinamico , in cui la velocità di reazione nei due versi è uguale. All'equilibrio, non si ha alcuna variazione netta del sistema, in quanto ogni reazione "in avanti" è bilanciata da una reazione inversa.
A determinati valori di temperatura e pressione, ogni reazione ha il suo caratteristico equilibrio. Per ogni data reazione, i chimici possono effettuare esperimenti e calcoli per determinare le relative concentrazioni dei reagenti e dei prodotti presenti all'equilibrio. Se i reagenti hanno energia libera intrinseca maggiore dei prodotti, la reazione procede fino al quasi completamento, cioè raggiunge l'equilibrio quando la maggior parte dei reagenti è stata convertita in prodotti. Le reazioni in cui i reagenti hanno energia libera intrinseca minore dei prodotti raggiungono invece l'equilibrio quando solo poche molecole di reagenti sono state trasformate in prodotti.
Se aumentiamo la concentrazione di A, allora la reazione si "sposterà verso destra" ed una maggiore quantità di A verrà trasformata in B. Si potrà ottenere un effetto simile rimuovendo B dalla miscela di reazione. La reazione si sposta sempre nella direzione che ristabilisce l'equilibrio affinché le proporzioni di reagenti e prodotti caratteristiche di quella reazione all'equilibrio, siano ripristinate. L'effetto opposto si verifica se si aumenta la concentrazione di B oppure se si rimuove A; in questo caso il sistema "si sposta verso sinistra". La variazione reale di energia libera di una reazione è definita matematicamente allo scopo di comprendere questi effetti, che dipendono dalle relative concentrazioni iniziali dei reagenti e dei prodotti. Le cellule impiegano energia per influenzare le concentrazioni relative di reagenti e prodotti di quasi tutte le reazioni. Le reazioni cellulari non sono mai virtualmente all'equilibrio. Mantenendo le loro reazioni lontane dall'equilibrio, le cellule sono in grado di fornire energia alle reazioni endoergoniche e di indirizzare il loro metabolismo in base alle loro necessità.

## Le cellule compiono le reazioni endoergoniche accoppiandole a reazioni esoergoniche

Molte reazioni metaboliche della cellula, come ad esempio la sintesi proteica, sono anaboliche ed endoergoniche. Poiché una reazione endoergonica non può avvenire senza un apporto di energia, le reazioni endoergoniche sono accoppiate a reazioni esoergoniche. Nelle reazioni accoppiate , la reazione esoergonica, vantaggiosa termodinamicamente, fornisce l'energia necessaria per far avvenire la reazione endoergonica, termodinamicamente sfavorita. La reazione endoergonica può procedere solo se assorbe l'energia libera rilasciata dalla reazione esoergonica con la quale essa è accoppiata.
Consideriamo la variazione di energia libera, ΔG, nella reazione seguente:

$$(1)\ A \longrightarrow B \qquad \Delta G = +20{,}9\ \text{kJ/mol}\ (+5\ \text{kcal/mol})$$

Poiché il valore di ΔG è positivo, sappiamo che il prodotto di questa reazione ha energia libera maggiore di quella del reagente. Questa è una reazione endoergonica. Essa non avviene spontaneamente e senza un apporto energetico.
Per contrasto, consideriamo ora la seguente reazione:

$$(2)\ C \longrightarrow D \qquad \Delta G = -33.5\ \text{kJ/mol}\ (-8\ \text{kcal/mol})$$

Il valore negativo di ΔG ci dice che l'energia libera del reagente è maggiore dell'energia libera del prodotto. Questa reazione esoergonica avvine spontaneamente.

Possiamo sommare le reazioni 1 e 2 come segue:

| | | |
|---|---|---|
| (1) | $A \longrightarrow B$ | $\Delta G = +20{,}9$ kJ/mol ($+5$ kcal/mol) |
| (2) | $C \longrightarrow D$ | $\Delta G = -33{,}5$ kJ/mol ($-8$ kcal/mol) |
| | Totale | $\Delta G = -12{,}6$ kJ/mol ($-3$ kcal/mol) |

Poiché la termodinamica considera la variazione complessiva delle due reazioni, che mostra un valore negativo di ΔG, le due reazioni prese insieme sono esoergoniche.
Il fatto di poter scrivere le reazioni in questo modo è un utile espediente dal punto di vista della contabilità, ma non spiega come una reazione esoergonica possa misteriosamente trasferire energia ad una reazione endoergonica "in attesa". Tuttavia, queste reazioni possono essere accoppiate tra loro se le loro vie sono modificate in modo tale che un intermedio comune le colleghi. Le reazioni 1 e 2 potrebbero essere accoppiate attraverso un intermedio (I) nel modo seguente:

| | | |
|---|---|---|
| (3) | $A + C \longrightarrow I$ | $\Delta G = -8{,}4$ kJ/mol ($-2$ kcal/mol) |
| (4) | $I \longrightarrow B + D$ | $\Delta G = -4{,}2$ kJ/mol ($-1$ kcal/mol) |
| | Totale | $\Delta G = -12{,}6$ kJ/mol ($-3$ kcal/mol) |

È da notare che le reazioni 3 e 4 sono sequenziali. In tal modo, il meccanismo di reazione è cambiato, ma tutti i reagenti (A e C) ed i prodotti (B e D) sono gli stessi, e la variazione di energia libera è la stessa.
Generalmente, per ciascuna reazione endoergonica che avviene in una cellula vivente, esiste una reazione esoergonica accoppiata che la innesca. Spesso, una reazione chimica esoergonica comporta l'idrolisi di ATP. Nei paragrafi seguenti, esamineremo esempi specifici che riguardano il ruolo dell'ATP nell'accoppiamento energetico.

**Verifica**

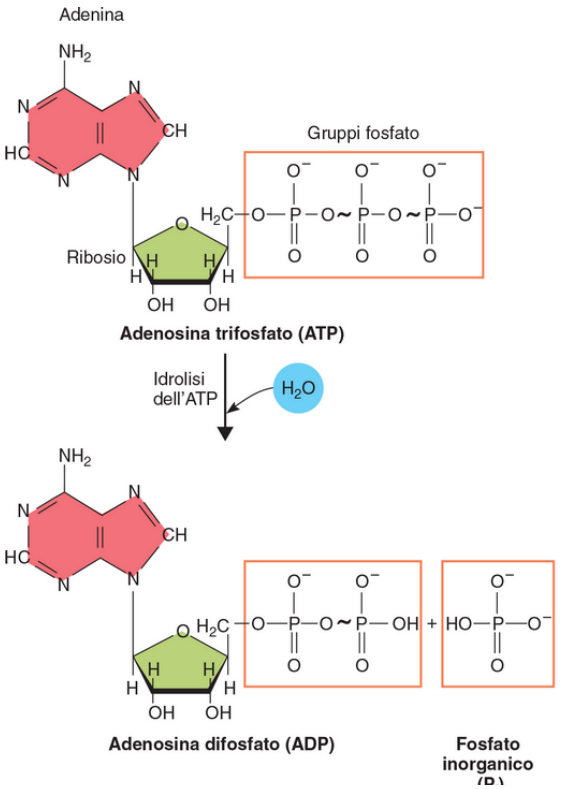
- Considerate la variazione di energia libera in una reazione in cui l'entalpia diminuisce e l'entropia aumenta. Il valore di ΔG è zero, positivo o negativo? La reazione è endoergonica o esoergonica?
- Perché una reazione all'equilibrio non può compiere lavoro?

## 7.4 ATP, LA MONETA ENERGETICA DELLA CELLULA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Spiegare come la struttura chimica dell'ATP permetta il trasferimento di un gruppo fosfato e discutere il ruolo centrale dell'ATP nel metabolismo energetico globale della cellula.

In tutte le cellule viventi, l'energia viene temporaneamente immagazzinata all'interno di uno straordinario composto chimico denominato adenosina trifosfato (ATP) , che trasporta energia immediatamente disponibile per periodi molto brevi. Possiamo considerare l'ATP come la moneta energetica della cellula.




← FIGURA 7-5 *ATP e ADP*
L'ATP, la "valuta" energetica di tutti gli organismi viventi, è composto di adenina, ribosio e tre gruppi fosfato. L'idrolisi dell'ATP, una reazione esoergonica, produce ADP e fosfato inorganico. (Le linee nere ondulate indicano legami instabili. Questi legami permettono di trasferire i gruppi fosfato ad altre molecole, rendendole più reattive).

Quando lavoriamo per guadagnare, si potrebbe dire che la nostra energia è simbolicamente depositata nel danaro che riceviamo. L'energia che la cellula richiede per un uso immediato è temporaneamente immagazzinata nell'ATP, che è simile a denaro contante. Quando guadagnamo denaro extra, possiamo depositarne un po' in banca; allo stesso modo, una cellula può immagazzinare energia di deposito nei legami chimici dei lipidi, dell'amido o del glicogeno. Inoltre, così come noi cerchiamo di non guadagnare meno di quanto spendiamo, anche la cellula deve evitare una bancarotta energetica, che significherebbe la sua morte. Infine, proprio come noi non conserviamo molto a lungo il denaro

guadagnato, allo stesso modo la cellula spende continuamente il suo ATP, che deve essere rimpiazzato immediatamente.

L'ATP è un nucleotide formato da tre parti: l'adenina, una base organica azotata; il ribosio, uno zucchero a cinque atomi di carbonio; e tre gruppi fosfato, costituiti da atomi di fosforo che legano atomi di ossigeno ( FIG. 7-5 ). Osserviamo che i gruppi fosfato sono legati all'estremità della molecola uno dietro l'altro, abbastanza simili a tre vagoni dietro una locomotiva, e, come i vagoni di un treno, possono essere attaccati e staccati.

## L'ATP cede energia attraverso il trasferimento di un gruppo fosfato

Quando il gruppo fosfato terminale viene rimosso dall'ATP, si ha la formazione di adenosina difosfato (ADP) (vedi Fig. 7-5 ). Se il gruppo fosfato non è trasferito ad un'altra molecola, viene liberato come fosfato inorganico (P i ). Questa è una reazione esoergonica con un valore negativo di Δ G relativamente grande. L'ATP è talvolta detto "composto altamente energetico", in quanto la reazione di idrolisi durante la quale si ha il rilascio di un gruppo fosfato ha un valore di Δ G negativo e relativamente alto. (Il calcolo dell'energia libera dell'idrolisi dell'ATP varia alquanto, ma l'intervallo oscilla tra circa -28 e -37 kJ/mol, o da -6,8 a -8,7 kcal/mol).

$$(5)\ ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i$$
$$\Delta G = -32\ kJ/mol\ (o\ -7{,}6\ kcal/mol)$$

Nelle cellule, la reazione 5 può essere accoppiata a reazioni endoergoniche. Consideriamo la seguente reazione endoergonica, nella quale si forma il disaccaride saccarosio a partire da due monosaccaridi, glucosio e fruttosio.

$$(6)\ Glucosio + Fruttosio \longrightarrow Saccarosio + H_2O$$
$$\Delta G = +27\ kJ/mol\ (o\ +6{,}5\ kcal/mol)$$

Con una variazione di energia libera di -32 kJ/mol (-7,6 kcal/ mol), l'idrolisi dell'ATP della reazione 5 può innescare la reazione 6, ma solo se le due reazioni sono accoppiate attraverso un intermedio comune.
La seguente serie di reazioni è una versione semplificata di una via alternativa che alcuni batteri utilizzano:

$$(7)\ Glucosio + ATP \longrightarrow Glucosio\text{-}P + ADP$$
$$(8)\ Glucosio\text{-}P + Fruttosio \longrightarrow Saccarosio + P_i$$

Ricordiamo dal Capitolo 6 che un reazione di fosforilazione è un reazione in cui un gruppo fosfato è trasferito da un composto all'altro. Nella reazione 7 il glucosio è fosforilato per formare glucosio fosfato (glucosio-P), l'intermedio che lega le due reazioni. Il glucosio-P, che corrisponde all'intermedio "I" nelle reazioni 3 e 4, reagisce esoergonicamente con il fruttosio per formare saccarosio. Perché l'accoppiamento energetico possa funzionare in questo modo, le reazioni 7 e 8 devono avvenire in sequenza. È utile riassumere le reazioni nel modo seguente:

$$(9)\ Glucosio + Fruttosio + ATP \longrightarrow Saccarosio + ADP + P_i$$
$$\Delta G = -5\ kJ/mol\ (-1{,}2\ kcal/mol)$$

Quando si incontra una reazione scritta in questo modo, si deve tenere presente che in realtà si tratta della sintesi di una serie di reazioni e che i prodotti intermedi transitori (in questo caso, il glucosio-P) talvolta non sono mostrati.

## L'ATP accoppia reazioni esoergoniche a reazioni endoergoniche

Abbiamo appena discusso di come nella cellula il trasferimento di un gruppo fosfato dall'ATP ad un altro composto sia accoppiato a reazioni endoergoniche. Al contrario, l'aggiunta di un gruppo fosfato all'adenosina monofosfato, o AMP (per formare ADP), o all'ADP (per formare ATP) richiede l'accoppiamento a reazioni esoergoniche.

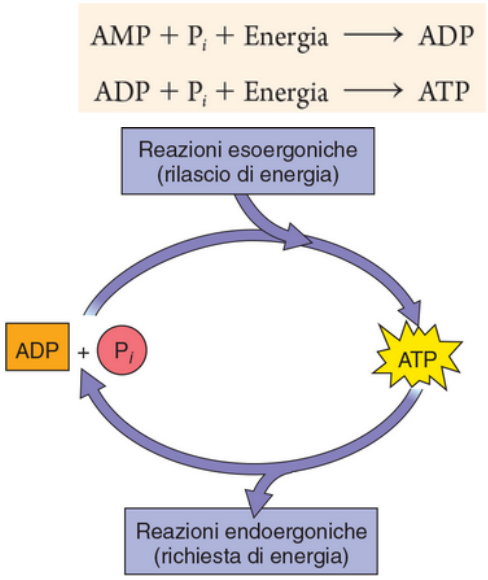



FIGURA 7-6 *L'ATP accoppia reazioni esoergoniche e reazioni endoergoniche*
Le reazioni esoergoniche delle vie cataboliche ( in alto ) forniscono l'energia per la formazione endoergonica di ATP dall'ADP. Viceversa, l'idrolisi esoergonica dell'ATP fornisce l'energia per le reazioni endoergoniche delle vie anaboliche ( in basso ).

Pertanto, l'ATP occupa una posizione intermedia nel metabolismo energetico della cellula ed è un importante tramite tra le reazioni esoergoniche, che sono generalmente componenti delle *vie cataboliche*, e le reazioni endoergoniche, che fanno generalmente parte delle *vie anaboliche* ( FIG. 7-6 ).

### Le cellule mantengono un rapporto molto alto tra ATP e ADP

La cellula mantiene il rapporto tra ATP e ADP lontano dal punto di equilibrio. L'ATP è costantemente formato a partire da ADP e fosfato inorganico quando le molecole nutritive sono degradate nella respirazione cellulare o quando la fotosintesi intrappola l'energia radiante della luce del sole. In qualsiasi momento, una tipica cellula contiene più di 10 molecole di ATP per ogni molecola di ADP. Il fatto che la cellula mantenga la concentrazione di ATP a livelli così alti (in rapporto alla concentrazione di ADP) rende la sua idrolisi ancora più esoergonica e maggiormente in grado di far avvenire le reazioni endoergoniche ad essa accoppiate.
Malgrado la cellula mantenga un elevato rapporto tra ATP e ADP, essa non può accumulare grandi quantità di ATP. La concentrazione di ATP è sempre molto bassa, meno di 1 millimole/ litro. Infatti, studi suggeriscono che in una cellula batterica la riserva di ATP non sia sufficiente per più di un secondo. Perciò, le molecole di ATP vengono usate quasi alla stessa velocità con la quale sono prodotte. Un uomo adulto, sano, a riposo utilizza circa 45 kg di ATP al giorno, ma la quantità presente nel corpo in un qualsiasi momento è inferiore ad un grammo. Ogni cellula produce 10 milioni di molecole di ATP al secondo a partire da ADP e fosfato, ed idrolizza un uguale numero di molecole di ATP ovunque i processi vitali richiedano trasferimenti di gruppi fosfato e della loro energia.

### Verifica

- Perché normalmente le reazioni accoppiate hanno degli intermedi comuni?
- Fate un esempio generale di una reazione accoppiata che coinvolga l'ATP, facendo una distinzione tra reazioni esoergoniche ed endoergoniche.
- Perché in una cellula la concentrazione di ATP è circa 10 volte maggiore della concentrazione di ADP?

## 7.5 IL TRASFERIMENTO DI ENERGIA NELLE REAZIONI REDOX

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Correlare il trasferimento di elettroni (o di atomi di idrogeno) con il trasferimento di energia.

Abbiamo visto che le cellule trasferiscono energia attraverso il trasferimento di un gruppo fosfato dallATP. L'energia è trasferita anche mediante il trasferimento di elettroni. Come discusso nel Capitolo 2 , l'ossidazione è il processo chimico durante il quale una sostanza perde elettroni, mentre la riduzione è il processo complementare durante il quale una sostanza acquista elettroni. Dal momento che gli elettroni rilasciati durante una reazione di ossida-zione non possono trovarsi nello stato libero nelle cellule viventi, ogni reazione di ossidazione deve essere accompagnata da una reazione di riduzione durante la quale gli elettroni vengono accettati da un altro atomo, ione, o molecola. Le reazioni di ossidazione e di riduzione sono spesso denominate reazioni redox poiché avvengono simultaneamente. La sostanza che si ossida rilascia energia insieme agli elettroni, e la sostanza che si riduce riceve energia acquistando elettroni.

Le reazioni redox spesso avvengono in serie, poiché gli elettroni sono trasferiti da una molecola ad un'altra. Questi trasferimenti di elettroni, che sono equivalenti al trasferimento di energia, sono una parte essenziale della respirazione cellulare, della fotosintesi, e di molti altri processi chimici. Reazioni redox, per esempio,

liberano l'energia immagazzinata nelle molecole nutritive affinchè possa essere sintetizzato ATP.

## La maggior parte dei trasportatori di elettroni trasferisce atomi di idrogeno

Generalmente, non è facile rimuovere uno o più elettroni da un composto covalente; è molto più facile rimuovere un atomo intero. Per questa ragione, di solito, le reazioni redox nelle cellule utilizzano il trasferimento di un atomo di idrogeno piuttosto che di un elettrone solo. Un atomo di idrogeno è costituito da un elettrone, più un protone che non partecipa alla reazione di ossido-riduzione.

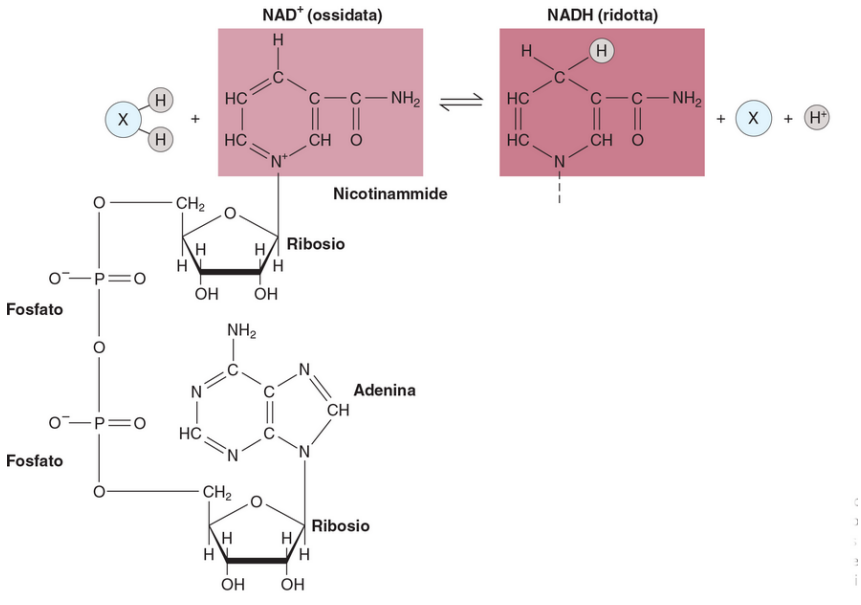
Quando un elettrone, isolato o come parte di un atomo di idrogeno, viene rimosso da un composto organico, porta con sé una frazione dell'energia del legame chimico nel quale era coinvolto. Questo elettrone, insieme alla sua energia, è trasferito a una molecola accettrice. Un elettrone progressivamente perde energia libera mentre è trasferito da un accettore ad un altro.

Una delle più comuni molecole accettrici nei processi cellulari è la nicotinammide adenina dinucleotide ( NAD + ). Quando il NAD + è ridotto, accumula temporaneamente delle grosse quantità di energia libera. Qui di seguito è rappresentata un'equazione generale che mostra il trasferimento di idrogeno da un composto X al NAD + :

$$XH_2 + NAD^+ \longrightarrow X + NADH + H^+$$

Ossidato — Ridotto

Si noti che il NAD + si riduce quando si combina con l'idrogeno. Il NAD + è uno ione con una carica netta + 1. Quando vengono aggiunti un protone e due elettroni, la carica positiva del NAD + è neutralizzata e si genera la forma ridotta del composto, il NADH ( FIG. 7-7 ). (Sebbene il modo corretto di scrivere la forma ridotta del NAD + sia NADH + H + , per semplicità scriveremo tale forma come NADH). Parte dell'energia accumulata nei legami che tengono gli atomi di idrogeno ancorati alla molecola X è trasferita mediante questa reazione redox al NADH ed è trattenuta temporaneamente in questa molecola. Quando il NADH trasferisce gli elettroni a qualche altra molecola, cede anche parte della loro energia. L'energia trasportata dal NADH è allora di solito trasferita attraverso una serie di reazioni che alla fine portano alla formazione di ATP (vedi Capitolo 8 ).




←FIGURA 7-7 *NAD + e NADH*
Il NAD + è costituito da due nucleotidi, uno con l'adenina e l'altro con la nicotinammide, legati tramite i loro gruppi fosfato. La forma ossidata dell'anello nicotinammidico nel NAD + ( a sinistra ) si converte nella forma ridotta nel NADH ( a destra ) mediante il trasferimento di due elettroni ed un protone da un altro composto organico (XH 2 ), il quale si ossida (X).

La nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADP + ) è un accettore di idrogeno chimicamente simile al NAD + , ma contenente un gruppo fosfato in più. A differenza del NADH, la forma ridotta del NADP + , abbreviata NADPH , non è coinvolta nella sintesi di ATP. Invece, gli elettroni del NADPH sono utilizzati più direttamente per fornire energia a determinate reazioni, comprese alcune reazioni essenziali della fotosintesi (vedi Capitolo 9 ).
Altri importanti accettori di atomi di idrogeno o di elettroni sono il FAD e i citocromi. Flavina adenina dinucleotide (FAD) è un nucleotide che accetta atomi di idrogeno con i loro elettroni; la sua forma ridotta è il FADH 2 . I citocromi sono proteine che contengono ferro; il ferro accetta elettroni dall'idrogeno e li trasferisce ad altri composti. Come il NAD + e il NADP + , il FAD e i citocromi sono agenti in grado di trasferire elettroni. Ciascuna di queste molecole esiste in uno *stato ridotto*, con un contenuto elevato di energia libera, o in uno *stato ossidato* con un basso contenuto di energia libera. Ciascuna è un componente essenziale di molte sequenze di reazioni redox nelle cellule.

## Verifica

- Chi ha il maggior contenuto di energia, la forma ossidata di una sostanza o la sua forma ridotta? Perché?

# 7.6 GLI ENZIMI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

9. Spiegare come un enzima sia in grado di abbassare l'energia di attivazione di una reazione.
10. Descrivere specifiche modalità di regolazione degli enzimi.

I principi della termodinamica ci consentono di capire se una reazione può avvenire oppure no, ma non ci dicono nulla sulla velocità con cui tale reazione avviene. La decomposizione del glucosio, ad esempio, è una reazione esoergonica, e tuttavia una soluzione di glucosio si può conservare per un tempo indefinito se è mantenuta libera da batteri e muffe, se non è riscaldata ad alte temperature e non è messa a contatto con acidi o basi forti. Le cellule, però, non possono aspettare per secoli che il glucosio si decomponga spontaneamente né possono utilizzare condizioni estreme per scindere le molecole di glucosio. Esse, invece, regolano la velocità delle reazioni chimiche per mezzo di enzimi , cioè catalizzatori biologici che influenzano la velocità di una reazione chimica senza essere consumati dalla reazione stessa. Sebbene quasi tutti gli enzimi siano proteine, i ricercatori hanno appreso che anche alcuni tipi di molecole di RNA hanno attività catalitica (l'RNA ad attività catalitica è trattato nel Capitolo 13 ).

Le cellule devono fare in modo che l'energia sia rilasciata in maniera costante e devono anche essere in grado di regolare tale rilascio per far fronte alle necessità energetiche del metabolismo. I processi metabolici cellulari procedono generalmente attraverso una serie di piccoli passaggi, per cui una molecola può subire 20 o 30 trasformazioni chimiche prima di raggiungere la sua forma finale. Inoltre, una molecola che apparentemente ha esaurito il suo compito può entrare di nuovo in un'altra via metabolica ed essere completamente trasformata o consumata per produrre energia. Le necessità della cellula possono cambiare da un momento all'altro, richiedendo un controllo metabolico flessibile; le molecole chiave nella direzione di questo controllo sono proprio gli enzimi.

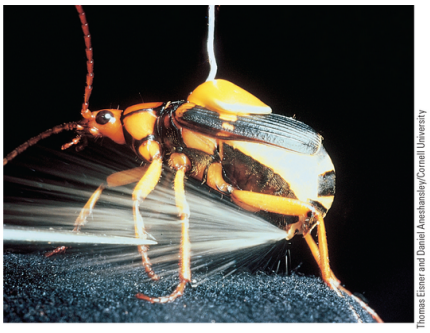
La capacità catalitica di alcuni enzimi è veramente straordinaria. Ad esempio, il perossido d'idrogeno (H 2 O 2 ) si decompone in maniera estremamente lenta se la reazione non è catalizzata, ma una singola molecola dell'enzima catalasi determina la decomposizione di 40 milioni di molecole di perossido d'idrogeno al secondo! La catalasi è l'enzima con la più elevata velocità catalitica conosciuta. La catalasi protegge le cellule, perché il perossido d'idrogeno è una sostanza velenosa prodotta come scarto di alcune reazioni cellulari. Il carabide bombardiere utilizza l'enzima catalasi come meccanismo di difesa ( FIG. 7-8 ).

### Tutte le reazioni necessitano di energia di attivazione

Caratteristica di qualsiasi reazione, sia essa esoergonica o endoergonica, è l'esistenza di una barriera energetica, conosciuta come energia di attivazione ( E A ). Questa energia è la quantità di energia necessaria per rompere i legami chimici esistenti e dare il via alla reazione stessa. In una popolazione di molecole di qualsiasi tipo, alcune hanno un contenuto relativamente alto di energia cinetica, mentre altre hanno un contenuto energetico più basso. Solo le molecole con energia relativamente alta hanno la possibilità di reagire per formare le molecole di prodotto.

Perfino lo svolgimento di una reazione fortemente esoergonica, che rilascia cioè una cospicua quantità di energia nel suo corso, può essere impedito dall'esistenza della barriera costituita dall'energia di attivazione richiesta per iniziare la reazione. Ad esempio, l'idrogeno e l'ossigeno molecolari possono reagire in maniera esplosiva per formare acqua:

$$2\,H_2 + O_2 \longrightarrow 2\,H_2O$$



Thomas Eisner and Daniel Aneshansley/Cornell University

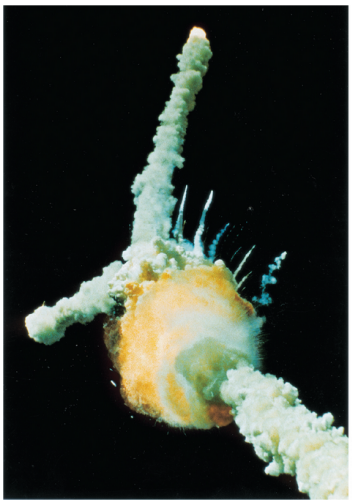
←FIGURA 7-8 *La catalasi come meccanismo di difesa*
Quando è minacciato, il coleottero carabide bombardiere ( Stenaptinus insignis ) utilizza l'enzima catalasi per decomporre il perossido d'idrogeno. L'ossigeno gassoso formato da questa decomposizione espelle acqua ed altre sostanze con forza esplosiva. Poiché la reazione rilascia una grossa quantità di calore, l'acqua è espulsa in forma di vapore. (Il carabide è stato immobilizzato con un filo attaccato sul suo dorso con una goccia di adesivo. La sua zampa è stata scostata con l'ago da dissezione sulla sinistra per provocare l'eiezione).

Questa reazione è spontanea, ma l'idrogeno e l'ossigeno possono essere mischiati senza alcun pericolo fintanto che si evita di produrre scintille. Tutto ciò perché l'energia di attivazione necessaria per questa reazione è relativamente alta. Una piccola scintilla può però fornire l'energia di attivazione che permette ad alcune molecole di reagire. Le reazioni attivate liberano così tanto calore che il resto delle molecole reagisce

violentemente, con una vera e propria esplosione. Una simile esplosione è avvenuta sulla navetta spaziale Challenger il 28 gennaio 1986 ( FIG. 7-9 ). Il danneggiamento di una guarnizione ha causato la fuoriuscita dal serbatoio dell'idrogeno liquido e la sua combustione. Quando, dopo pochi secondi, il serbatoio dell'idrogeno si è rotto, la forza risultante ha provocato anche la rottura dell'adiacente serbatoio di ossigeno, miscelando idrogeno e ossigeno e innescando una fortissima esplosione.

## Un enzima abbassa l'energia di attivazione di una reazione

Come ogni catalizzatore, un enzima influenza la velocità di una reazione abbassando notevolmente l'energia di attivazione ( $E_A$ ) necessaria per avviare tale reazione ( FIG. 7-10 ). Se le molecole richiedono meno energia per reagire perché l'energia di attivazione viene abbassata, un numero maggiore di molecole reagirà nell'unità di tempo e la reazione procederà più velocemente.
Anche se un enzima abbassa l'energia di attivazione di una reazione, esso non ha alcun effetto sulla variazione complessiva di energia libera della reazione stessa. In altre parole, un enzima può solo favorire quelle reazioni che possono avvenire anche senza di esso. Nessun catalizzatore è in grado di far procedere una reazione in una direzione termodinamicamente sfavorevole o può influenzare le concentrazioni finali dei reagenti e dei prodotti, quando la reazione si porta all'equilibrio. Un enzima accelera semplicemente la reazione.




←FIGURA 7-9 *L'esplosione della navetta spaziale Challenger*
Questo disastro è stato causato da una reazione esplosiva esoergonica tra ossigeno e idrogeno. Tutti i sette membri dell'equipaggio sono morti in questo incidente verificatosi il 28 gennaio 1986.

**PUNTO CHIAVE** Un enzima abbassa l'energia di attivazione di una reazione senza alterare la variazione di energia libera.

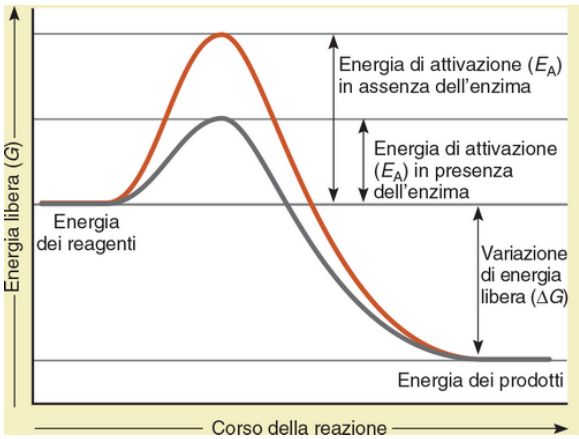


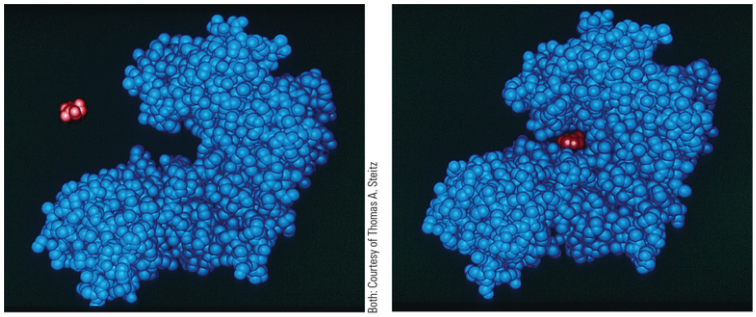

FIGURA 7-10→
*Energia di attivazione ed enzimi*
Un enzima aumenta la velocità di una reazione abbassandone l'energia di attivazione ( E A ). In presenza dell'enzima, le molecole di rea-gente richiedono meno energia cinetica per completare una reazione.

## Un enzima agisce formando un complesso enzima-substrato

Una reazione non catalizzata dipende esclusivamente dalle collisioni casuali tra i reagenti. A causa della sua struttura ordinata, un enzima è in grado di ridurre la dipendenza della reazione da questi eventi occasionali e in tal modo di controllare la reazione. Si pensa che un enzima funzioni formando un complesso intermedio instabile con il substrato , cioè la sostanza sulla quale agisce. Quando il complesso enzima-substrato ( complesso ES ) si rompe, il prodotto viene rilasciato; la molecola enzimatica originaria è libera di formare un nuovo complesso ES:

$$\text{Enzima} + \text{Substrato(i)} \longrightarrow \text{Complesso ES}$$
$$\text{Complesso ES} \longrightarrow \text{Enzima} + \text{Prodotto(i)}$$

L'enzima di per sé non viene alterato permanentemente né consumato dalla reazione e può essere riutilizzato.
Come mostrato in FIGURA 7-11a , ogni enzima contiene uno o più siti attivi , porzioni della molecola che possono interagire con i substrati per formare i complessi ES. Il sito attivo di molti enzimi è un'invaginazione o una cavità localizzata generalmente sulla superficie della molecola enzimatica, nella quale si affacciano le catene laterali di alcuni dei residui aminoacidici che formano l'enzima. Durante lo svolgimento della reazione, le molecole del substrato che occupano questi siti sono accostate tra loro e possono in tal modo reagire più facilmente le une con le altre.




**(a)** Prima della formazione del complesso enzima-substrato (ES), il sito attivo dell'enzima corrisponde al solco dove il substrato andrà a legarsi.

**(b)** Il legame del substrato al sito attivo induce una variazione nella conformazione del sito attivo.

←FIGURA 7-11
*Un complesso enzima-substrato*
Questo modello grafico computerizzato mostra l'enzima esochinasi ( blu ) e il suo substrato, il glucosio ( rosso ).

La forma dell'enzima non sembra essere esattamente complementare a quella del substrato. Quando il substrato si lega all'enzima, determina infatti una modificazione, nota come adattamento indotto , nella forma della molecola enzimatica ( FIG. 7-11b ). Di solito, anche la forma del substrato cambia leggermente, in modo da distorcere i suoi legami chimici. La vicinanza e l'orientamento dei reagenti, insieme con lo stiramento dei loro legami chimici, facilitano in tali molecole la rottura dei legami preesistenti e la formazione dei nuovi legami. In questo modo, il substrato si trasforma nel prodotto, che si allontana dall'enzima. Quest'ultimo è a sua volta di nuovo libero di catalizzare la reazione di nuove molecole di substrato per formare nuove molecole di prodotto.

## Gli enzimi sono specifici

Ogni reazione chimica che ha luogo in un organismo è di fatto catalizzata da enzimi. A causa della stretta correlazione esistente tra la forma del sito attivo e la forma del substrato, la maggior parte degli enzimi è altamente specifica. Quasi tutti gli enzimi, infatti, sono in grado di catalizzare una sola reazione oppure un numero ristretto di reazioni chimiche simili tra loro. Ad esempio, l'enzima ureasi, che scinde l'urea in ammoniaca ed anidride carbonica, non attacca nessun altro substrato. L'enzima saccarasi scinde solo il saccarosio e non ha alcun effetto su altri disaccaridi, come il maltosio o il lattosio. Alcuni enzimi sono specifici solo nel senso che agiscono su una famiglia di molecole di substrato, tutte caratterizzate dalla presenza di un determinato tipo di legame chimico. La lipasi secreta dal pancreas, ad esempio, idrolizza i legami esterei che legano gli acidi grassi al glicerolo in un gran numero di lipidi diversi.

Il nome degli enzimi si ottiene generalmente aggiungendo il suffisso -asi alla radice del nome del substrato. Il saccarosio, ad esempio, viene scisso in glucosio e fruttosio dall'enzima saccarasi. Un esiguo numero di enzimi ha invece denominazioni originali che non terminano in - asi . Alcuni di questi possiedono il suffisso - zima , come ad esempio il lisozima (dal greco lysis, "scioglimento") che si trova nelle lacrime e nella saliva e distrugge le pareti cellulari batteriche. Altri esempi di enzimi con denominazioni tradizionali sono la pepsina e la tripsina, che rompono i legami peptidici delle proteine.
Gli enzimi che catalizzano reazioni simili tra loro vengono classificati in gruppi, anche se ciascun enzima di un gruppo può catalizzare solo una particolare reazione. Le sei più importanti classi di enzimi e le loro funzioni sono elencate nella TABELLA 7-1 . Ciascuna classe è suddivisa in sottoclassi. La già citata saccarasi è, ad esempio, considerata una glicosidasi, in quanto spezza un legame glicosidico. Le glicosidasi sono una sottoclasse delle idrolasi (vedi Fig. 3-8b per l'idrolisi del saccarosio). Le fosfatasi, enzimi che rimuovono gruppi fosfato per idrolisi, sono anch'esse idrolasi. Le chinasi, enzimi che trasferiscono gruppi fosfato ai substrati, sono transferasi.

## Molti enzimi necessitano di cofattori

Alcuni enzimi sono costituiti semplicemente da una proteina. Ad esempio, l'enzima pepsina, che è secreto dallo stomaco degli animali e digerisce le proteine della dieta rompendo alcuni legami peptidici, è esclusivamente una molecola proteica. Altri enzimi sono invece costituiti da due parti distinte: una proteina, detta apoenzima, ed una componente chimica aggiuntiva, detta cofattore . Né l'apoenzima né il cofattore, presi da soli, hanno attività catalitica; solo quando si combinano tra loro si ottiene la funzione enzimatica. Un cofattore può essere una molecola inorganica od organica.
In alcuni enzimi, il cofattore è costituito da uno ione metallico. Due cofattori inorganici molto comuni sono gli ioni calcio e gli ioni magnesio. La maggior parte dei microelementi, come il ferro, il rame, lo zinco e il manganese, che sono necessari alle nostre cellule solo in tracce, cioè in piccolissima quantità, funzionano da cofattori.

Un composto organico non proteico che si lega ad un apoenzima e funge da cofattore è detto coenzima. La maggioranza dei coenzimi sono molecole trasportatrici che trasferiscono elettroni o gruppi atomici da una molecola ad un'altra. In questo capitolo ne sono già stati citati alcuni, come il NADH, il NADPH e il $FADH_2$, che trasferiscono elettroni.

| Classi di enzimi | Funzione |
|---|---|
| Ossidoreduttasi | Catalizzano reazioni di ossido-riduzione |
| Transferasi | Catalizzano il trasferimento di gruppi funzionali da una molecola donatrice ad una molecola accettrice |
| Idrolasi | Catalizzano reazioni di idrolisi |
| Isomerasi | Catalizzano la conversione di una molecola da una forma isomerica all'altra |
| Ligasi | Catalizzano reazioni in cui due molecole, in un processo accoppiato all'idrolisi di ATP, vengono unite fra loro |
| Liasi | Catalizzano reazioni in cui doppi legami sono formati o rotti |

TABELLA 7-1 Alcune importanti classi di enzimi

L'ATP funge da coenzima in quanto trasferisce gruppi fosfato. Esiste un altro coenzima, il coenzima A, che è coinvolto nel trasferimento di gruppi derivati da acidi organici. Diverse vitamine, cioè composti organici necessari al nostro organismo in piccole quantità ma che non possono essere sintetizzati dalle nostre cellule, sono coenzimi o componenti di coenzimi (vedi descrizione delle vitamine in Tabella 47-3 ).

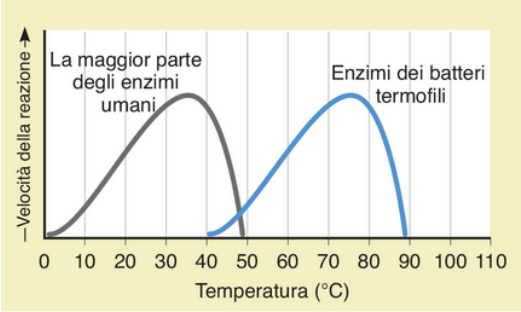
## Gli enzimi esplicano la massima attività in condizioni ottimali

Generalmente, gli enzimi lavorano al meglio in condizioni strettamente definite, come un'appropriata temperatura, un appropriato pH ( FIG. 7-12 ) ed un'adeguata concentrazione ionica. Ogni allontanamento dalle condizioni ottimali influenza negativamente l'attività enzimatica.

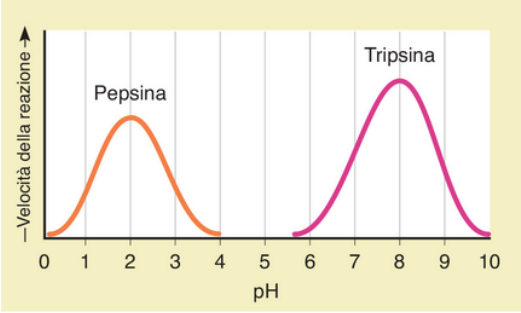
### Ciascun enzima ha una temperatura ottimale

La maggior parte degli enzimi ha una temperatura ottimale alla quale produce la massima velocità di reazione. Per quanto riguarda gli enzimi umani, la temperatura ottimale è molto vicina a quella corporea (35-40°C). A basse temperature, le reazioni enzimatiche sono molto lente o non significative. Con l'innalzamento della temperatura, le molecole si muovono più velocemente ed aumentano le loro collisioni. La velocità di molte delle reazioni controllate da enzimi aumenta perciò all'aumentare della temperatura, ma sempre entro certi limiti ( Fig. 7-12a ). Le alte temperature, infatti, denaturano rapidamente la maggior parte degli enzimi. Con la denaturazione, la conformazione molecolare (3-D) delle proteine viene alterata a causa della rottura dei legami a idrogeno responsabili della stabilizzazione delle strutture secondaria, terziaria e quaternaria. Questo tipo di inattivazione è generalmente irreversibile; ciò significa che l'enzima non può riacquistare la sua attività se è riportato a basse temperature.

Quasi tutti gli organismi muoiono velocemente quando esposti ad alte temperature, poiché non sono più in grado di svolgere alcuna attività metabolica proprio a causa della denaturazione dei loro enzimi. Esistono però notevoli eccezioni: alcune specie di archaea (vedi il Capitolo 1 ) possono sopravvivere nelle acque di sorgenti calde, come quelle del parco di Yellowstone, dove la temperatura è di circa 100 °C; questi organismi sono responsabili dei colori brillanti delle sorgenti calde ( FIG. 7-13 ). Esistono anche altri archaea che possono vivere a temperature molto al di sopra dei 100°C nelle sorgenti calde sottomarine, dove la pressione elevata fa sì che l'acqua sia allo stato liquido (vedi il Capitolo "Batteri e archeobatteri" per gli archaea che vivono in ambienti estremi; vedi anche il Capitolo 55 , *Approfondimenti: La vita senza il Sole).*




**(a)** Curve generali per illustrare l'effetto della temperatura sull'attività enzimatica. All'aumentare della temperatura, l'attività enzimatica aumenta sino a quando la temperatura raggiunge un valore ottimale L'attività enzimatica bruscamente precipita quando si supera il valore ottimale di temperatura poiché gli enzimi, essendo di natura proteica, sono denaturati dal calore.




**(b)** L'attività enzimatica è molto sensibile al pH. La pepsina è un enzima digestivo presente nel succo acido dello stomaco. La tripsina, secreta dal pancreas nell'ambiente basico dell'intestino tenue, digerisce i polipeptidi

### Ciascun enzima ha un pH ottimale

La maggior parte degli enzimi funziona solo in un piccolo intervallo di pH ed ha un pH ottimale al quale la velocità di reazione è massima. Per gli esseri umani, tale pH va da 6 a 8. Si ricordi dal Capitolo 2 , che i tamponi minimizzano le variazioni di pH nelle cellule, per cui il pH è mantenuto entro limiti ristretti. La pepsina, un enzima per la digestione delle proteine secreto dalle cellule ghiandolari della mucosa gastrica, è particolare in quanto funziona solo in ambiente molto acido, a pH 2 (vedi Fig. 7-12b ). Al contrario, la tripsina, secreta dal pancreas ed anch'essa in grado di digerire le proteine, funziona al meglio nelle condizioni debolmente basiche dell'intestino tenue.

←FIGURA 7-12 *Gli effetti della temperatura e del pH sull'attività enzimatica*
Nelle reazioni illustrate, le concentrazioni di enzima e di substrato sono mantenute costanti.

FIGURA 7-13 *La Grande Sorgente Prismatica nel Parco Nazionale di Yellowstone*
La terza sorgente più grande al mondo, con un diametro di circa 61 m, è la Grande Sorgente Prismatica nel Parco Nazionale di Yellowstone, che contiene archeobatteri termofili. Gli anelli attorno al perimetro, dove l'acqua è leggermente più fredda, devono i loro colori ai vari tipi di archeobatteri che vi vivono.

© Henry Holdworth/4wildbynaturegallery.com

L'attività di un enzima può variare notevolmente ad ogni cambiamento di pH, poiché questo influenza le cariche elettriche sulla molecola dell'enzima. Cambiamenti nelle cariche influenzano a loro volta i legami ionici che contribuiscono a stabilizzare la struttura terziaria e quaternaria delle proteine, modificando quindi la conformazione e l'attività di un enzima. Gli enzimi cellulari vengono generalmente inattivati, e solitamente denaturati in modo irreversibile, in ambiente molto acido o molto basico.

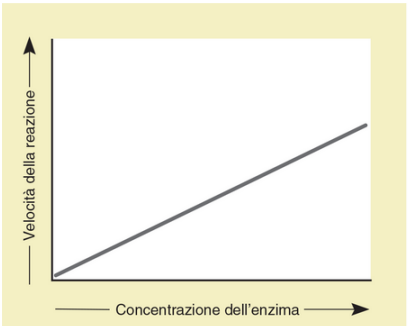
## Gli enzimi nelle vie metaboliche sono organizzati in complessi enzimatici

Gli enzimi rivestono un ruolo fondamentale nell'accoppiamento energetico, in quanto lavorano generalmente in sequenza, in modo che il prodotto di una reazione controllata da un enzima diventi immediatamente il substrato della reazione successiva. Possiamo perciò immaginare l'interno di una cellula come una fabbrica con diverse catene di assemblaggio (e disassemblaggio) che operano contemporaneamente. Ogni catena di montaggio è costituita da diversi enzimi, ciascuno dei quali svolge una funzione; così, ad esempio, un primo enzima catalizza la trasformazione della molecola A nella molecola B; la molecola B passa poi all'enzima successivo, che la trasforma nella molecola C, e così via. Questa serie di reazioni costituisce una via metabolica.

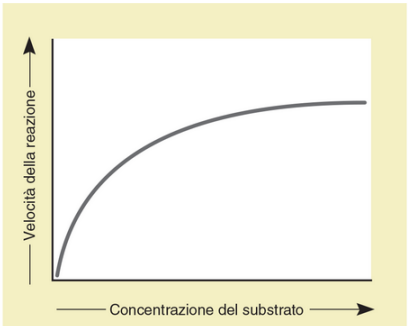
$$A \xrightarrow{\text{Enzima 1}} B \xrightarrow{\text{Enzima 2}} C$$

Ciascuna di queste reazioni è in teoria reversibile ed il fatto che sia catalizzata da un enzima non modifica tale proprietà poiché, come già osservato, un enzima di per sé non determina la direzione della reazione catalizzata. Tuttavia, la sequenza complessiva delle reazioni è descritta correttamente come se procedesse da sinistra verso destra. È da ricordare, infatti, che se tra i reagenti e i prodotti di una data reazione esiste una piccola differenza di energia libera intrinseca, la direzione della reazione sarà determinata principalmente dalle concentrazioni relative dei reagenti e dei prodotti.

Nelle vie metaboliche, sia i prodotti intermedi che quelli finali vengono spesso rimossi e trasformati in altri composti chimici. Tale rimozione dirige la sequenza di reazioni in una direzione particolare. Supponiamo che il reagente A venga fornito di continuo e che la sua concentrazione rimanga costante. L'enzima 1 trasforma il reagente A nel prodotto B. La concentrazione di B è sempre inferiore a quella di A, in quanto B viene rimosso e tra-sformato in C nella reazione catalizzata dall'enzima 2. Se C viene rimosso non appena si forma (ad esempio lasciando la cellula), l'intera via metabolica viene "tirata" verso C.
In alcuni casi, gli enzimi di una via metabolica si associano a formare un complesso multienzimatico che trasferisce efficientemente gli intermedi della via da un sito attivo ad un altro. Un esempio di complesso multienzimatico, la piruvato deidrogenasi, è discusso nel Capitolo 8.




**(a)** In questo esempio, la velocità di reazione è misurata a differenti concentrazioni di enzima, con un eccesso di substrato. (La temperatura e il pH sono mantenuti costanti). La velocità di reazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di enzima.




**(b)** In questo esempio, la velocità di reazione è misurata a differenti concentrazioni di substrato, e la concentrazione di enzima, la temperatura, e il pH sono costanti. Se la concentrazione di substrato è relativamente bassa, la velocità di reazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di substrato. Comunque, concentrazioni più alte di substrato non incrementano la velocità di

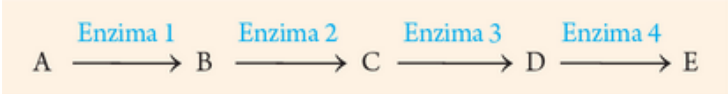
←FIGURA 7-14 *Gli effetti delle concentrazioni di enzima e di substrato sulla velocità di una reazione*

## Le cellule regolano l'attività enzimatica

Gli enzimi controllano la chimica cellulare, ma come sono a loro volta regolati? Uno dei meccanismi di controllo dell'attività enzimatica è basato esclusivamente sulla quantità di enzima prodotto. La sintesi di ciascun enzima è diretta da un gene specifico il quale, a sua volta, può

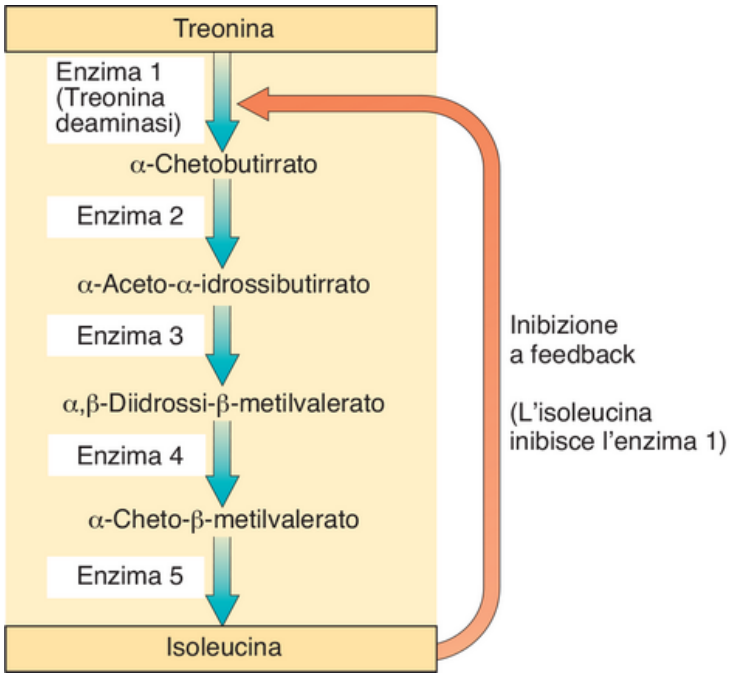
essere attivato da segnali quali ad esempio un ormone o un prodotto cellulare di altro tipo. Quando il gene è attivo, viene sintetizzato l'enzima e la quantità di enzima presente nella cellula influenza la velocità della reazione.
Se pH e temperatura vengono mantenuti costanti, la velocità di una reazione enzimatica è influenzata sia dalla concentrazione del substrato che da quella dell'enzima. Se è presente un eccesso di substrato, la concentrazione dell'enzima è il fattore limitante la velocità della reazione. La velocità iniziale della reazione è allora direttamente proporzionale alla concentrazione dell'enzima presente ( FIG. 7-14a ).

Se la concentrazione dell'enzima è mantenuta costante, la velocità iniziale della reazione è direttamente proporzionale alla concentrazione del substrato presente. La concentrazione del substrato è il fattore limitante la velocità della reazione a basse concentrazioni; la velocità della reazione è pertanto direttamente proporzionale alla concentrazione del substrato. Tuttavia, a concentrazioni più elevate di substrato, le molecole di enzima si saturano di substrato, ovvero tutti i siti attivi disponibili delle molecole di enzima sono legati a molecole di substrato. In questa situazione, l'aumento di concentrazione del substrato non porta ad un aumento della velocità di reazione ( FIG. 7-14B ).
Il prodotto di una reazione enzimatica, specialmente se essa appartiene ad una sequenza complessa di reazioni, può controllare l'attività di un altro enzima. Ad esempio, consideriamo la seguente via metabolica:




Ciascun passaggio è catalizzato da un enzima diverso e il prodotto finale E può inibire l'attività dell'enzima 1. Quando la concentrazione di E è bassa, la sequenza delle reazioni procede rapidamente. Tuttavia, un aumento della concentrazione di E costituisce un segnale che rallenta e infine blocca la reazione catalizzata dall'enzima 1. L'inibizione dell'enzima 1 blocca l'intera sequenza di reazioni. Questo tipo di regolazione enzimatica, in cui la formazione di un prodotto inibisce una reazione a monte, viene chiamato inibizione da feedback o retroazione ( FIG. 7-15 ).
Un importante meccanismo di controllo dell'attività enzimatica si basa sull'attivazione. Quando un enzima è in forma inattiva, i suoi siti attivi hanno una conformazione non adatta ad accogliere il substrato, cosicché questo non vi si può incastrare. Tra i fattori che influenzano la forma di un enzima troviamo il pH, la concentrazione di alcuni ioni e l'aggiunta di gruppi fosfato a specifici residui aminoacidici dell'enzima.

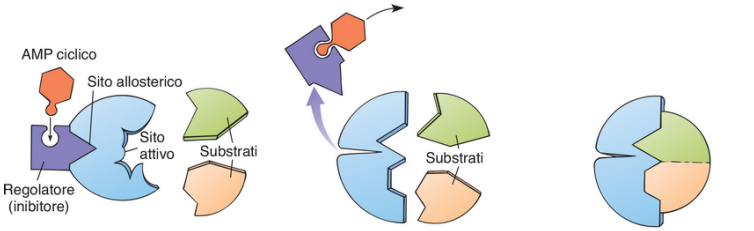
Alcuni enzimi possiedono un sito recettoriale detto sito allosterico , distinto dal sito attivo (la parola allosterico significa "un altro spazio"). Quando una sostanza si lega ad un sito allosterico di un enzima, la conformazione del sito attivo dell'enzima cambia, modificando l'attività enzimatica. Le sostanze che influenzano l'attività enzimatica legandosi al sito allosterico sono dette regolatori allosterici . Alcuni regolatori allosterici sono inibitori allosterici perché mantengono l'enzima nella sua forma inattiva, mentre altri sono attivatori perché stabilizzano la forma attiva dell'enzima.




←FIGURA 7-15 *Inibizione a feedback*
I batteri sintetizzano l'aminoacido isoleucina a partire dall'aminoacido treonina. La via di sintesi dell'isoleucina comprende cinque reazioni, ciascuna catalizzata da un enzima diverso. Quando nella cellula si accumula abbastanza isoleucina, questa va ad inibire la treonina deaminasi, l'enzima che catalizza il primo passaggio della catena metabolica.

L'enzima *protein chinasi AMP ciclico-dipendente* è un esempio di enzima allosterico, con un regolatore rappresentato da una proteina che si lega reversibilmente al sito allosterico, inattivando l'enzima stesso. La protein chinasi si trova per la maggior parte del tempo in forma inattiva ( FIG. 7-16 ). Quando è necessaria l'attivazione della protein chinasi, un particolare nucleotide, detto AMP ciclico (cAMP; vedi Fig. 3-25 per la struttura) viene a contatto con il complesso enzima-inibitore, si lega all'inibitore e lo allontana dalla protein chinasi, che può così assumere la sua forma attiva.

FIGURA 7-16→
*Un enzima allosterico*




**(a) Forma inattiva dell'enzima.** L'enzima protein chinasi è inibito da una proteina regolatoria che si lega reversibilmente al suo sito allosterico. Quando l'enzima è in questa forma inattiva, la forma del sito attivo è modificata così che il substrato non può legarsi ad esso.

**(b) Forma attiva dell'enzima.** L'AMP ciclico rimuove l'inibitore allosterico e attiva l'enzima.

**(c) Complesso enzima-substrato.** Il substrato può allora legarsi al sito attivo dell'enzima.

L'attivazione della protein chinasi da parte del cAMP costituisce un importante aspetto della segnalazione cellulare, compreso il meccanismo di azione di alcuni ormoni (vedi Capitoli 6 e 49 per la segnalazione cellulare).

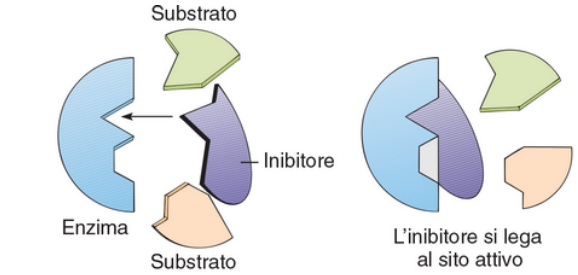
## Gli enzimi sono inibiti da alcuni agenti chimici

Molti enzimi possono essere inibiti o distrutti da alcuni agenti chimici. L'inibizione enzimatica può essere reversibile o irreversibile. L' inibizione reversibile si verifica quando un inibitore forma con l'enzima legami chimici deboli. L'inibizione reversibile può essere competitiva o non competitiva.

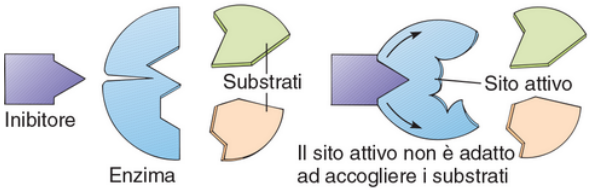
Nell' inibizione competitiva , l'inibitore compete con il substrato per il legame con il sito attivo dell'enzima ( FIG. 7-17a ). L'inibitore competitivo ha generalmente una struttura simile a quella del substrato e, come questo, si inserisce bene nel sito attivo e può interagire con l'enzima. Malgrado tale somiglianza, però, esso non può sostituire completamente il substrato nella reazione chimica e l'enzima non può operare su di esso per formare i prodotti della reazione. Un inibitore competitivo occupa i siti attivi solo temporaneamente e non danneggia l'enzima. Nell'inibizione competitiva, infatti, il sito attivo di un enzima è occupato parte del tempo dall'inibitore e per il resto dal substrato normale. Se si aumenta la concentrazione del substrato relativamente a quella dell'inibitore, il sito attivo dell'enzima tornerà ad essere normalmente occupato solo dalle molecole di substrato. L'inibizione competitiva è dimostrata sperimentalmente proprio dal fatto che può essere revertita aumentando la concentrazione del substrato.

Nell' inibizione non competitiva , l'inibitore si lega all'enzima in un sito diverso da quello attivo ( FIG. 7-17b ). Un inibitore non competitivo inattiva l'enzima perché ne altera la forma, impedendo al sito attivo di legarsi con il substrato. Molti tra i più importanti inibitori non competitivi sono sostanze metaboliche che regolano l'attività enzimatica combinandosi reversibilmente con l'enzima. L'inibizione allosterica, discussa precedentemente, è un tipo di inibizione non competitiva in cui l'inibitore si lega ad un sito speciale, il sito allosterico.

Nell' inibizione irreversibile , l'inibitore inattiva permanentemente o distrugge un enzima, combinandosi con un suo gruppo funzionale nel sito attivo o in un altro sito. Molti veleni sono inibitori irreversibili di enzimi. Ad esempio, metalli pesanti come il mercurio o il piombo si legano irreversibilmente a molte proteine, compresi gli enzimi, determinando la loro denaturazione. Alcuni tipi di gas nervino, ad esempio, inattivano l'enzima acetilcolinesterasi, che è fondamentale per il funzionamento di nervi e muscoli. La citocromo ossidasi, uno degli enzimi responsabili del trasporto di elettroni nella respirazione cellulare, è molto sensibile al cianuro. L'avvelenamento da cianuro provoca la morte in quanto inibisce irreversibilmente la citocromo ossidasi, bloccando così il trasferimento di elettroni dalla catena di trasporto degli elettroni all'ossigeno.




**(a) Inibizione competitiva.** L'inibitore compete con il normale substrato per il sito attivo dell'enzima. Un inibitore competitivo occupa il sito attivo solo temporaneamente.




**(b) Inibizione non competitiva.** L'inibitore si lega con l'enzima in un sito diverso dal sito attivo, alterando la forma dell'enzima e di conseguenza inattivandolo.

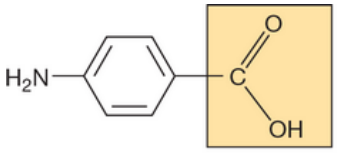
## Alcuni farmaci sono inibitori enzimatici

Molte infezioni batteriche sono trattate con farmaci che, in maniera diretta o indiretta, inibiscono alcune attività enzimatiche dei batteri. Ad esempio, i sulfamidici hanno una struttura chimica simile a quella *dell'acidopara-aminobenzoico* ( *PABA* ) ( FIG. 7-18 ), una sostanza nutritiva che i microrganismi possono utilizzare per sintetizzare acido folico, una vitamina necessaria alla loro crescita.

←FIGURA 7-17
*Inibizione competitiva e non competitiva*

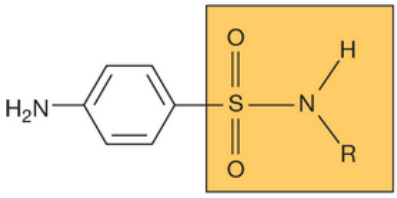
Nell'uomo non viene sintetizzato acido folico dal PABA e questa è la ragione per cui i sulfamidici agiscono selettivamente sui batteri. La somministrazione di sulfamidici determina nelle cellule batteriche un'inibizione competitiva dell'enzima che ha come substrato normale il PABA. L'enzima batterico che viene a contatto con i

sulfamidici sintetizza con questi una sostanza che non può essere convertita in acido folico, e come risultato la crescita batterica si blocca.
La penicillina e tutti gli antibiotici simili ad essa inibiscono irreversibilmente un enzima batterico chiamato transpeptidasi. Questo enzima è responsabile della formazione di alcuni legami chimici che stabilizzano la struttura della parete cellulare batterica. I batteri suscettibili alla penicillina non possono sintetizzare una parete cellulare ben strutturata e di conseguenza non si moltiplicano normalmente. Le cellule umane non hanno parete cellulare e quindi non utilizzano l'enzima transpeptidasi. Perciò, eccetto quei soggetti allergici a questo antibiotico, la penicillina è innocua per l'uomo. Purtroppo, da quando la penicillina è stata introdotta in terapia, la resistenza verso questo antibiotico si è svi-luppata in molti ceppi batterici. I batteri resistenti sono in grado di attaccare a loro volta la penicillina grazie ad un loro enzima, la penicillinasi, che idrolizza la molecola della penicillina rendendola inefficace. Poiché i batteri mutano a una velocità estremamente alta, la farmaco resistenza agli antibiotici è un problema in continuo aumento nella pratica medica.



Acido para-aminobenzoico
(PABA)

FIGURA 7-18→
*Acido para-aminobenzoico e sulfonamidi*
I sulfamidici inibiscono un enzima batterico necessario per la sintesi dell'acido folico, una vitamina importante per la crescita batterica. (È da notare la struttura inusuale della molecola di sulfonamide, in cui lo zolfo forma sei legami covalenti, mentre comunemente ne forma solo due).



Sulfonamide generica
(Sulfamidico)

**Verifica**

- Che effetto ha un enzima sull'energia di attivazione di una reazione?
- Qual è la differenza funzionale tra il sito attivo ed un sito allosterico di un enzima?
- In che modo la temperatura e il pH ottimali di un enzima sono correlati alla sua struttura ed alla sua funzione?
- L'inibizione allosterica è competitiva o non competitiva?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

7.1

1. Definire il concetto di energia, spiegando come lo si può correlare ai concetti di lavoro e calore.
    - L' energia è la capacità di compiere lavoro (espressa in kilojoule , kJ ). Può essere conveniente misurare l'energia sotto forma di energia termica , ovvero di energia che fluisce da un oggetto a temperatura maggiore ad un oggetto a temperatura minore, la cui unità di misura è la kilocaloria (kcal) , che corrisponde a 4,184 kJ. L'energia termica non può svolgere lavoro cellulare.
2. Sottolineare con esempi le differenze tra energia potenziale ed energia cinetica.
    - L' energia potenziale è l'energia immagazzinata; l' energia cinetica è l'energia di movimento.
    - Tutte le forme di energia sono interconvertibili. Ad esempio, gli organismi fotosintetici catturano energia radiante e ne convertono una parte in energia chimica , una forma di energia potenziale che mette in moto molti processi vitali, come la contrazione muscolare.

7.2

3. Enunciare la prima e la seconda legge della termodinamica e discuterne le implicazioni relative agli organismi viventi.
    - Un sistema chiuso non scambia energia con l'ambiente esterno. Gli organismi sono sistemi aperti che scambiano energia con l'ambiente esterno.
    - La prima legge della termodinamica afferma che l'energia non può essere né creata né distrutta, ma può essere trasferita e modificata. La prima legge ci spiega come mai gli organismi non possano produrre energia ma, in quanto sistemi aperti, debbano assumerla continuamente dall'esterno.
    - La seconda legge della termodinamica asserisce che il disordine (entropia) dell'universo, un sistema chiuso, è in continuo aumento. Nessun trasferimento di energia è efficiente al 100%; parte dell'energia viene dissipata sotto forma di calore , il movimento casuale che contribuisce all'aumento di entropia (S) , o disordine. Gli organismi mantengono il loro stato ordinato a spese dell'ambiente esterno.

7.3

4. Discutere come i cambiamenti di energia libera in una reazione siano correlati con i cambiamenti di entropia ed entalpia.
    - L'aumento di entropia determina una diminuzione di energia libera , come mostrato

dall'equazione G = H — TS, in cui G è l'energia libera, H rappresenta l' entalpia (l'energia potenziale totale del sistema), T la temperatura assoluta (espressa in unità Kelvin) e S l'entropia.

- L'equazione Δ G = Δ H T Δ S indica che la variazione di energia libera (Δ G ) nel corso di una reazione chimica è uguale alla variazione di entalpia (Δ H ) meno il prodotto della temperatura assoluta ( T ) per la variazione di entropia (Δ S ).

5. Distinguere tra reazioni esoergoniche ed endoergoniche e spiegare con esempi come queste possano essere accoppiate.
   - Una reazione esoergonica ha un valore negativo di AG, ovvero l'energia libera diminuisce. Tale reazione è spontanea; essa rilascia energia libera che può svolgere lavoro.
   - L'energia libera aumenta nel corso di una reazione endoergonica . Tale reazione ha un valore positivo di AG e non è spontanea. Nelle reazioni accoppiate , l'apporto di energia libera necessaria per spingere una reazione endoergonica viene fornito da una reazione esoergonica.
6. Confrontare Le Dinamiche Energetiche Di Una Reazione All'equilibrio E Di una non all'equilibrio.
   - Quando una reazione chimica è in uno stato di equilibrio dinamico , la velocità in una direzione è esattamente uguale alla velocità nella direzione opposta, e il sistema non può svolgere lavoro perché la differenza di energia libera tra i reagenti e i prodotti è zero.
   - Quando si aumenta la concentrazione delle molecole di reagente, la reazione si sposta verso destra e si formano ulteriori molecole di prodotto fino a che non si ristabilisce l'equilibrio.

7.4

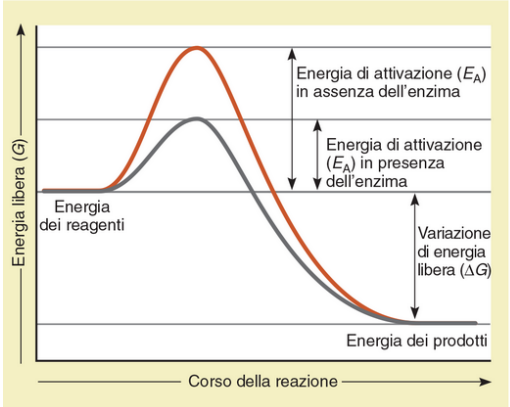
7. Spiegare come la struttura chimica dell'ATP permette il trasferimento di un gruppo fosfato. Discutere il ruolo centrale dell'ATP nel metabolismo energetico della cellula.
   - L' adenosina trifosfato (ATP) è la forma di energia prontamente utilizzabile dalla cellula. Essa trasferisce energia mediante il trasferimento del suo gruppo fosfato terminale a molecole accettrici. L'ATP si forma per fosforilazione dell' adenosina difosfato (ADP) , un processo endoergonico che necessita di un apporto energetico.
   - L'ATP costituisce il comune tramite cellulare tra reazioni esoergoniche ed endoergoniche, e tra il catabolismo (demolizione di grandi molecole complesse con formazione di piccole molecole più semplici) ed anabolismo (sintesi di molecole complesse a partire da molecole più semplici).

7.5

8. Mettere in relazione il trasferimento di elettroni (o di atomi di idrogeno) con il trasferimento di energia.
   - L'energia può essere trasferita nelle reazioni di ossido-riduzione (redox) . Una sostanza si ossida quando cede uno o più elettroni ad una sostanza che si riduce. Gli elettroni vengono generalmente trasferiti come parte di atomi di idrogeno.
   - Il NAD + e il NADP + accettano elettroni come parte di atomi di idrogeno e si riducono formando rispettivamente, NADH e NADPH ; gli elettroni acquisiti (insieme a parte della loro energia) possono essere trasferiti ad altri accettori.

7.6

9. Spiegare come un enzima sia in grado di abbassare l'energia di attivazione di una reazione.
   - Un enzima è un catalizzatore biologico capace di aumentare notevolmente la velocità di una reazione chimica senza essere consumato.
   - Un enzima abbassa l' energia di attivazione (E A ) , l'energia cinetica necessaria per innescare una reazione. Il sito attivo di un enzima è una regione tridimensionale di tale molecola in cui i substrati vengono a stretto contatto e, in tal modo, reagiscono più rapidamente. Quando il substrato si lega al sito attivo, si forma un complesso enzima-substrato in cui la forma dell'enzima e del substrato sono leggermente modificate. Questo adattamento indotto facilita la rottura dei legami esistenti e la formazione di nuovi legami.




10. Descrivere specifiche modalità di regolazione degli enzimi.
    - Gli enzimi funzionano al meglio in condizioni specifiche di temperatura e di pH.
    - Una cellula può regolare l'attività enzimatica controllando la quantità di enzima prodotto e regolando le condizioni metaboliche che influenzano la conformazione dell'enzima.
    - Alcuni enzimi hanno siti allosterici , cioè siti non catalitici ai quali può legarsi un regolatore

allosterico , che ne modifica l'attività. Alcuni enzimi allosterici sono soggetti ad inibizione da feedback o retroazione , in cui la formazione del prodotto finale inibisce una delle prime reazioni della via metabolica.

- L' inibizione reversibile si ha quando un inibitore forma legami deboli con l'enzima. L'inibizione reversibile può essere competitiva , se l'inibitore compete con il substrato per il sito attivo dell'enzima, o non competitiva , se l'inibitore si lega all'enzima in un sito diverso dal sito attivo. L' inibizione irreversibile si ha quando un inibitore si lega ad un enzima e lo inattiva permanentemente.

## AUTOVERIFICHE

1. Quale delle seguenti forme di energia può compiere lavoro in una cellula? (a) entropia; (b) calore; (c) energia termica; (d) tutte quelle indicate; (e) nessuna di quelle indicate.
2. In una reazione chimica della cellula, l'energia libera è equivalente a: (a) energia termica; (b) calore; (c) disordine; (d) energia potenziale; (e) più di una risposta è esatta.
3. Le cellule sono capaci di svolgere le loro funzioni poiché: (a) sono soggette alle leggi della termodinamica; (b) sono dotate di meccanismi che trasformano l'energia ricavata dall'ambiente esterno in forme utilizzabili; (c) tramite gli enzimi possono convertire reazioni endoergoniche in reazioni spontanee; (d) tutte le risposte.
4. La diffusione è un (a) processo endoergonico poiché l'energia libera aumenta; (b) processo endoergonico poiché l'energia libera diminuisce; (c) processo esoergonico poiché l'entropia aumenta; (d) processo esoergonico poiché l'entropia diminuisce; (e) più di una risposta di quelle sopra riportate.
5. Una reazione spontanea è una reazione in cui la variazione di energia libera (Δ G ) ha un valore: (a) positivo; (b) negativo; (c) positivo o negativo; (d) nessun valore di quelli indicati (Δ G non ha un valore misurabile).
6. Le cellule sane mantengono: (a) ATP e ADP in equilibrio; (b) uguale concentrazione di ATP e ADP; (c) un rapporto ATP/ADP di almeno 10:1; (d) un rapporto ATP/ADP non maggiore di 1:10; (e) la maggior parte delle cellule conservano l'energia sotto forma di ATP.
7. Quale delle seguenti reazioni potrebbe essere accoppiata ad una reazione endoergonica con Δ G = +3,56 kJ/mol?

   A → B, ΔG = +6,08 kJ/mol;
   C → D, ΔG = +3,56 kJ/mol;
   E → F, ΔG = 0 kJ/mol;
   G → H, ΔG = −1,22 kJ/mol;
   I → J, ΔG = −5,91 kJ/mol.

8. Considerate la reazione: Glucosio + 6O 2 → 6CO 2 + 6H 2 O (Δ G = -2280 kJ/mol). Quale delle seguenti affermazioni relativa a questa reazione non è vera? (a) La reazione in termini termodinamici è spontanea; (b) una piccola quantità di energia (energia di attivazione) deve essere fornita all'inizio, quindi la reazione procederà con rilascio di energia; (c) la reazione è esoergonica; (d) la reazione può essere accoppiata con una reazione endoergonica; (e) la reazione deve essere accoppiata con una reazione esoergonica.
9. L'energia di attivazione richiesta per una reazione: (a) è fissa e, non può essere modificata; (b) può essere abbassata da un enzima specifico; (c) può essere innalzata da un enzima specifico; (d) le risposte b o c dipendono dall'enzima; (e) nessuna delle risposte è esatta.
10. "Adattamento indotto" significa che quando un substrato si lega al sito attivo dell'enzima: (a) si adatta perfettamente, similmente a una chiave nella serratura; (b) il substrato e l'enzima variano la loro conformazione; (c) un sito diverso dal sito attivo subisce una modificazione conformazionale; (d) il substrato e l'enzima sono legati irreversibilmente l'uno all'altro; (e) c e d sono le risposte esatte.
11. La funzione di una via metabolica è: (a) fornire energia alle reazioni; (b) spingere una sequenza di reazioni in una particolare direzione; (c) mantenere l'equilibrio chimico; (d) fornire energia utilizzabile per le reazioni endoergoniche; (e) una qualsiasi delle risposte è valida a seconda della via metabolica.

(a) $A \longrightarrow B$, $\Delta G = +6{,}08$ kJ/mol;

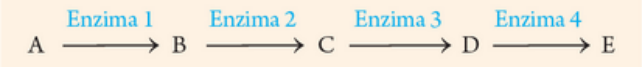
(b) $C \longrightarrow D$, $\Delta G = +3{,}56$ kJ/mol;

(c) $E \longrightarrow F$, $\Delta G = 0$ kJ/mol;

(d) $G \longrightarrow H$, $\Delta G = -1{,}22$ kJ/mol;

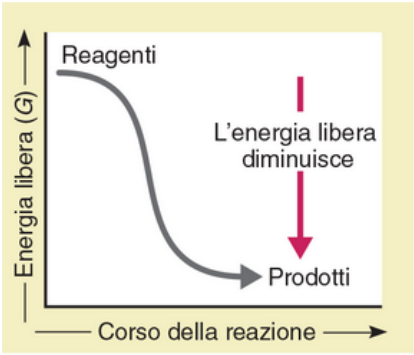
(e) $I \longrightarrow J$, $\Delta G = -5{,}91$ kJ/mol.

12. Nella seguente serie di reazioni, quale enzima ha la più alta probabilità di avere un sito allosterico al quale si lega il prodotto finale E? (a) enzima 1; (b) enzima 2; (c) enzima 3; (d) enzima 4; (e) enzimi 3 e 4.



**PENSIERO CRITICO**

1. In base a quanto avete imparato in questo capitolo, spiegate perché la febbre alta (temperatura corporea oltre i 40 °C) può risultare letale.
2. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Cosa suggerisce il fatto che tutti gli organismi utilizzano ATP/ADP come connessione centrale tra reazioni esoergoniche ed endoergoniche nell'evoluzione del metabolismo energetico?
3. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Qualcuno ha detto che "l'evoluzione è impossibile perché la seconda legge della termodinamica stabilisce che l'entropia è in continuo aumento; pertanto, i processi naturali non possono generare una maggiore complessità". In che senso questa affermazione è un fraintendimento delle leggi della termodinamica?
4. ANALISI DEI DATI. La figura sottostante illustra una reazione esoergonica o una reazione endoergonica? Come lo spiegate?
5. ANALISI DEI DATI. Le reazioni 1 e 2 avvengono con la stessa variazione di energia libera standard: $\Delta G$ = -41,8 kJ/mol (-10 kcal/mol). La reazione 1 è all'equilibrio, mentre la reazione 2 è molto lontana dall'equilibrio. Una delle due reazioni è capace di compiere lavoro? Se sì, quale?
6. ANALISI DEI DATI. State conducendo un esperimento nel quale misurate la velocità con cui l'enzima succinato deidrogenasi trasforma il succinato in fumarato. Decidete di aggiungere una piccola quantità di malonato per rendere più interessante l'esperimento. Osservate che la velocità di reazione diminuisce sensibilmente e quindi ipotizzate che il malonato debba essere un inibitore della succinato deidrogenasi. Potete programmare un esperimento che possa aiutarvi a capire se il malonato agisce come un inibitore competitivo o non competitivo?




# Articolo VIII. La sintesi di ATP nelle cellule: le vie metaboliche che rilasciano energia 8

Le cellule possono essere considerate come minuscole fabbriche in cui sono lavorati materiali a livello molecolare, attraverso migliaia di reazioni chimiche. Esse si trovano in uno stato dinamico di continua produzione e degradazione di tutti i loro diversi costituenti. Come già visto nel Capitolo 7 , il metabolismo consiste di due tipi fondamentali di processi tra loro complementari, defniti catabolismo (che si riferisce a tutti i processi che rilasciano energia per scissione delle molecole in componenti più piccoli) ed anabolismo (che si riferisce ai processi di sintesi di molecole complesse a partire da componenti più semplici). Le reazioni anaboliche servono a produrre proteine, acidi nucleici, lipidi, polisaccaridi ed altre molecole complesse necessarie per mantenere in vita una cellula o un organismo di cui questa fa parte. Le reazioni anaboliche sono generalmente endoergoniche e necessitano di ATP o di un'altra fonte di energia perché avvengano.

Questa energia è estratta da ciascun organismo dalle molecole organiche di cibo, prodotte mediante la fotosintesi o prese dall'ambiente. Gli orsi grizzly, come quello nella fotografia, ottengono le molecole organiche con una dieta varia che include piante ed animali. In che modo essi ricavano energia da queste molecole organiche? Per prima cosa, le macromolecole nutritive sono trasformate mediante la digestione in molecole semplici che sono assorbite e trasportate dal sangue a tutte le cellule dell'organismo. Successivamente, ogni cellula converte l'energia dei legami chimici delle sostanze nutritive in ATP, in un processo chiamato respirazione cellulare . La respirazione cellulare può essere aerobica o anaerobica. La *respirazione aerobica* richiede la presenza di ossigeno molecolare ($O_2$), mentre le vie *anaerobiche*, che comprendono la respirazione anaerobica e la fermentazione, non richiedono ossigeno. Nel processo della respirazione polmonare (discussa nel Capitolo 46 ), i nostri polmoni riforniscono continuamente le nostre cellule di ossigeno che è utilizzato per convertire l'energia delle molecole nutritive in ATP mediante la respirazione aerobica, che rappresenta di gran lunga la più comune via catabolica, ed è anche l'argomento principale di questo capitolo. Tutte e tre le vie cataboliche — la respirazione aerobica, quella anaerobica e la fermentazione — sono esoergoniche e rilasciano energia libera che è convertita dalla cellula in ATP.

# 8.1 REAZIONI REDOX

## Verifica

1. Scrivere la reazione complessiva della respirazione aerobica, indicando quali reagenti vengono ossidati e quali vengono ridotti.

La maggior parte degli organismi, sia eucarioti che procarioti, utilizza una forma di respirazione cellulare che richiede ossigeno e per tale motivo è detta respirazione aerobica . Mediante la respirazione aerobica, le sostanze nutritive sono catabolizzate in anidride carbonica ed acqua. La maggior parte delle cellule utilizza la respirazione aerobica per ottenere energia dal glucosio, che entra nelle cellule attraverso una speciale proteina di trasporto della membrana plasmatica (vedi nel Capitolo 5 la discussione sulla diffusione facilitata). La reazione complessiva della respirazione aerobica del glucosio può essere così riassunta:

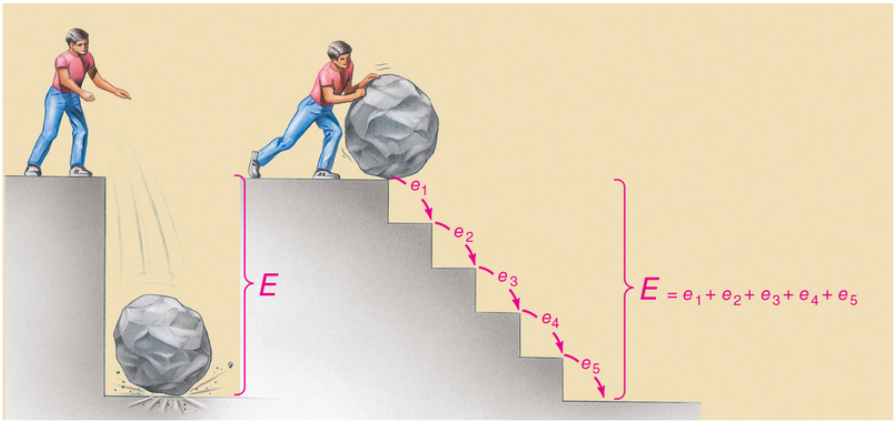
$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O \longrightarrow 6\,CO_2 + 12\,H_2O + \text{Energia (nei legami chimici dell'ATP)}$$

L'acqua è presente ad entrambi i lati dell'equazione globale perché essa è un reagente in alcune delle reazioni ed un prodotto in altre. L'equazione può essere semplificata come segue per indicare che si ha una produzione netta di acqua:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \rightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + \text{Energia (nei legami chimici dell'ATP)}$$

(Ossidazione: $C_6H_{12}O_6$ → $CO_2$; Riduzione: $O_2$ → $H_2O$)

Analizzando questa reazione riassuntiva, appare evidente come l'anidride carbonica sia prodotta per rimozione degli atomi di idrogeno dal glucosio, e come l'acqua si formi dal trasferimento degli atomi di idrogeno all'ossigeno. Dal momento che il trasferimento di atomi di idrogeno è equivalente, di fatto, al trasferimento di elettroni, questo processo rappresenta una reazione redox in cui il glucosio viene ossidato e l'ossigeno ridotto (vedi Capitoli 2 e 7 ).
I prodotti della reazione sarebbero gli stessi se un po' di glucosio fosse messo in una provetta e bruciato in presenza di ossigeno. Tuttavia, se le cellule bruciassero glucosio allo stesso modo, l'energia dello zucchero verrebbe rilasciata tutta in una volta sotto forma di calore e non soltanto risulterebbe inutilizzabile per la cellula, ma anzi la distruggerebbe. Per questo motivo, le cellule non trasferiscono gli atomi di idrogeno dal glucosio all'ossigeno in maniera diretta. Il complesso processo redox nel quale gli elettroni associati agli atomi di idrogeno del glucosio sono trasferiti mediante numerosi passaggi all'ossigeno ( FIG. 8-1 ) costituisce la respirazione aerobica. Durante questo processo, l'energia libera degli elettroni è utilizzata per sintetizzare ATP.




←FIGURA 8-1
*Variazioni di energia libera*
Il rilascio di energia da una molecola di glucosio è analogo alla liberazione di energia da parte di un oggetto che cade. L'energia totale liberata ( E ) è la stessa, sia che venga rilasciata tutta in una volta, sia in una serie di passaggi.

## Verifica

- Nella reazione complessiva della respirazione aerobica, quale reagente si ossida e quale si riduce?
- Qual è il ruolo specifico dell'ossigeno nella maggior parte delle cellule?

# 8.2 I QUATTRO STADI DELLA RESPIRAZIONE AEROBICA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Elencare e descrivere i quattro stadi della respirazione aerobica.
3. Indicare in quali parti di una cellula eucariotica avvengono le reazioni di ciascuno stadio della respirazione aerobica.
4. Sommare l'energia catturata (in forma di ATP, NADH e FADH 2 ) in ciascuno stadio della respirazione aerobica.
5. Definire la chemiosmosi e spiegare le modalità di formazione del gradiente di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna.
6. Descrivere il processo con cui il gradiente di protoni dirige la sintesi di..

Le reazioni chimiche che fanno parte della respirazione aerobica del glucosio possono essere raggruppate in quattro stadi ( FIG. 8-2 e TABELLA 8-1 , vedi anche le equazioni complessive alla fine del capitolo). Negli eucarioti, il primo stadio (la glicolisi) avviene nel citosol; il resto avviene all'interno dei mitocondri. Nelle cellule procariotiche che utilizzano la respirazione aerobica, tutti questi processi avvengono nel citosol e sono associati alla membrana plasmatica, dal momento che i procarioti sono privi di mitocondri.

1. Glicolisi . Una molecola di glucosio (a sei atomi di carbonio) è trasformata in due molecole di piruvato 1 (a tre atomi di carbonio ciascuna). Parte dell'energia del glucosio è utilizzata per la formazione di due tipi di trasportatori di energia, l'ATP ed il NADH 2 . Si veda il Capitolo 7 per riesaminare come l'ATP trasferisce energia mediante il trasferimento di un gruppo fosfato (vedi Figg. 7-5 e 7-6 ). Il NADH è una molecola ridotta che trasferisce energia mediante il trasferimento di elettroni come parte di atomi di idrogeno (vedi Fig. 7-7 ).
2. Formazione dell'acetil coenzima A . Ciascuna molecola di piruvato, nel mitocondrio, si ossida per dare luogo ad una molecola di acetato (a due atomi di carbonio), che reagiscecon il coenzima A per formare l'acetil coenzima A; in questisti passaggi sono prodotti NADH e, come scarto, anidride carbonica.
3. Ciclo dell'acido citrico . Il gruppo acetato dell'acetil coenzima A reagisce con una molecola a quattro atomi di carbonio (ossalacetato), per formare una molecola a sei atomi di carbonio (citrato). Attraverso il ciclo, il citrato è riportato ad ossalacetato in una serie di reazioni che portano all'estrazione di energia per formare ATP, alla formazione dei composti ridotti altamente energetici NADH e FADH 2 , e al rilascio di molecole di anidride carbonica come prodotti di scarto (vedi Capitolo 7 per richiamare il FADH 2 ).
4. Catena di trasporto degli elettroni e chemiosmosi . Gli elettroni estratti dal glucosio negli stadi precedenti sono trasferiti dal NADH e dal FADH 2 ad una catena di molecole accettrici di elettroni. In ogni trasferimento di elettroni da un accettore al successivo, una porzione della loro energia è utilizzata per pompare ioni idrogeno (protoni) attraverso la membrana mitocondriale interna dando origine ad un gradiente protonico. Nel processo chiamato chemiosmosi , che descriveremo più avanti, l'energia del gradiente protonico è infine utilizzata per produrre ATP.

[1 Il piruvato e molti altri composti della respirazione cellulare esistono nella forma anionica al pH della cellula. Talvolta si combinano con ioni H + per formare acidi. Per esempio, il piruvato forma acido piruvico. In alcuni libri di testo questi composti sono rappresentati come acidi.

2 Anche se il modo corretto di scrivere la forma ridotta di NAD + è NADH + H + , per semplicità rappresenteremo tale forma come NADH in tutto il capitolo.]

**PUNTO CHIAVE** Le diverse fasi della respirazione aerobica hanno luogo in sedi specifiche.

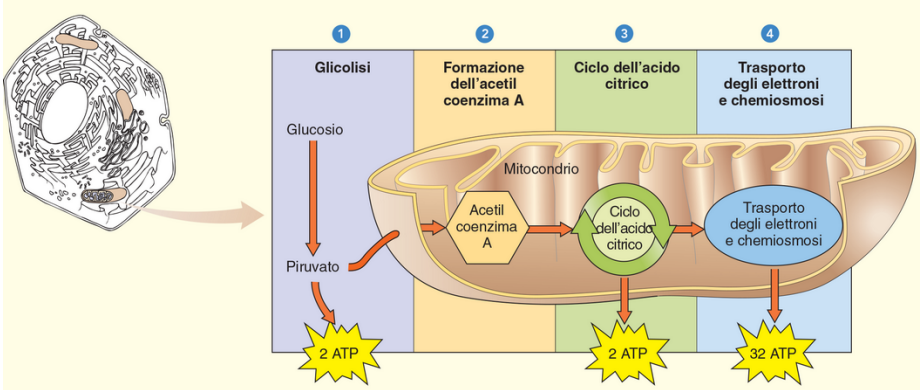



FIGURA 8-2 Le quattro fasi della respirazione aerobica
Il primo stadio, la glicolisi, avviene nel citosol. Il piruvato, prodotto nella glicolisi, entra nei mitocondri, dove la respirazione cellulare prosegue con la formazione dell'acetil coenzima A, il ciclo dell'acido citrico, la catena di trasporto degli elettroni e la chemiosmosi. La maggior parte dell'ATP è sintetizzata mediante la chemiosmosi

**TABELLA 8-1**
Una visione d'insieme della respirazione aerobica

| Fase | Riepilogo | Alcune sostanze di partenza | Alcuni prodotti finali |
|---|---|---|---|
| 1. Glicolisi (nel citosol) | Serie di reazioni in cui il glucosio è degradato a piruvato; guadagno netto di due molecole di ATP; gli atomi di idrogeno sono trasferiti ai trasportatori di elettroni; può avvenire in anaerobiosi | Glucosio, ATP, $NAD^+$, ADP, $P_i$ | Piruvato, ATP, NADH |
| 2. Formazione di acetil CoA (nel mitocondrio) | Il piruvato è degradato e combinato con il coenzima A per formare acetil-CoA; gli atomi di idrogeno sono trasferiti ai trasportatori; è rilasciata $CO_2$ | Piruvato, coenzima A, $NAD^+$ | Acetil-CoA, $CO_2$, NADH |
| 3. Ciclo dell'acido citrico (nel mitocondrio) | Serie di reazioni in cui il radicale acetile dell'acetil-CoA è degradato a $CO_2$; è sintetizzato ATP | Acetil-CoA, $H_2O$, $NAD^+$, FAD, ADP, $P_i$ | $CO_2$, NADH, $FADH_2$, ATP |
| 4. Trasporto degli elettroni e chemiosmosi (nel mitocondrio) | Catena di parecchie molecole enzimatiche per il trasporto degli elettroni; gli elettroni sono trasferiti tra i componenti della catena; l'energia rilasciata è utilizzata per creare un gradiente protonico; l'ATP è sintetizzato grazie alla diffusione secondo gradiente dei protoni; l'ossigeno è l'accettore finale degli elettroni | NADH, $FADH_2$, $O_2$, ADP, $P_i$ | ATP, $H_2O$, $NAD^+$, FAD |

Le reazioni coinvolte nella respirazione aerobica sono essenzialmente di tre tipi: deidrogenazioni, decarbossilazioni e reazioni che chiameremo informalmente di preparazione. Le deidrogenazioni sono reazioni nelle quali due atomi di idrogeno, in realtà due elettroni più due protoni, vengono rimossi da una molecola di substrato per essere trasferiti al NAD + o al FAD. Nelle decarbossilazioni , parte del gruppo carbossilico (—COOH) è rimossa dal substrato formando anidride carbonica. L'anidride carbonica che noi espiriamo proviene dalle reazioni di decarbossilazione che avvengono nelle nostre cellule. Nelle rimanenti reazioni, che sono di preparazione, le molecole sono riarrangiate in maniera da poter essere poi deidrogenate o decarbossilate. Esaminando le singole reazioni della respirazione aerobica, incontreremo numerosi esempi di questi tre tipi di reazioni.
Nel seguire le reazioni della respirazione aerobica, è utile fare alcuni conteggi man mano che si procede. Poiché il glucosio è il materiale di partenza, esprimeremo ogni calcolo riferendolo ad una molecola di glucosio. Particolare attenzione verrà data alla variazione nel numero di atomi di carbonio di ciascuna molecola ed agli stadi in cui avvengono i trasferimenti di energia.

## Nella glicolisi, il glucosio è convertito in due molecole di piruvato

Il termine glicolisi, che deriva dalle parole greche che significano "rottura dello zucchero", si riferisce al fatto che lo zucchero glucosio viene metabolizzato. La glicolisi non richiede ossigeno e può perciò avvenire sia in condizioni aerobiche che anaerobiche. La FIGURA 8-3 mostra un riassunto molto semplificato della glicolisi, in cui una molecola di glucosio, che è costituita da sei atomi di carbonio, è convertita in due molecole di piruvato , un composto a tre atomi di carbonio. Durante questo processo, parte dell'energia del glucosio viene catturata con una produzione netta di due molecole di ATP e due molecole di NADH. Le reazioni della glicolisi avvengono nel citosol, dove si trovano libere le molecole dei reagenti, come l'ADP, il NAD + e il fosfato inorganico, che vengono utilizzate quando necessarie.
La via della glicolisi consiste in una serie di reazioni, ciascuna delle quali è catalizzata da un enzima specifico ( FIG. 8-4 , pagine 178 e 179). La glicolisi può essere divisa in due fasi principali: la prima comprende reazioni endoergoniche che necessitano di ATP, mentre la seconda comprende reazioni esoergoniche che permettono di produrre ATP e NADH.

### La prima fase della glicolisi richiede un investimento di ATP

La prima fase della glicolisi è talvolta chiamata fase di "investimento energetico" ( Fig. 8-4 , passaggi 1-5). Il glucosio è una molecola relativamente stabile e quindi non è facile da rompere. In due distinte reazioni di fosforilazione , due gruppi fosfato sono trasferiti dall'ATP allo zucchero. Lo zucchero fosforilato che si viene così a formare (fruttosio-1,6-bisfosfato) è meno stabile del glucosio e può essere scisso per via enzimatica in due molecole a tre atomi di carbonio, la gliceraldeide-3-fosfato (G3P) e il diidrossiacetone fosfato; quest'ultimo viene a sua volta enzimaticamente convertito in G3P, in modo tale che a questo punto i prodotti della glicolisi sono due molecole di G3P. Questa fase della glicolisi può essere riassunta come segue:

$$\underset{\text{Composto a sei atomi di carbonio}}{\text{Glucosio}} + 2\ \text{ATP} \longrightarrow 2\ \underset{\text{Composto a tre atomi di carbonio}}{\text{G3P}} + 2\ \text{ADP}$$

### La seconda fase della glicolisi porta alla formazione di NADH e ATP

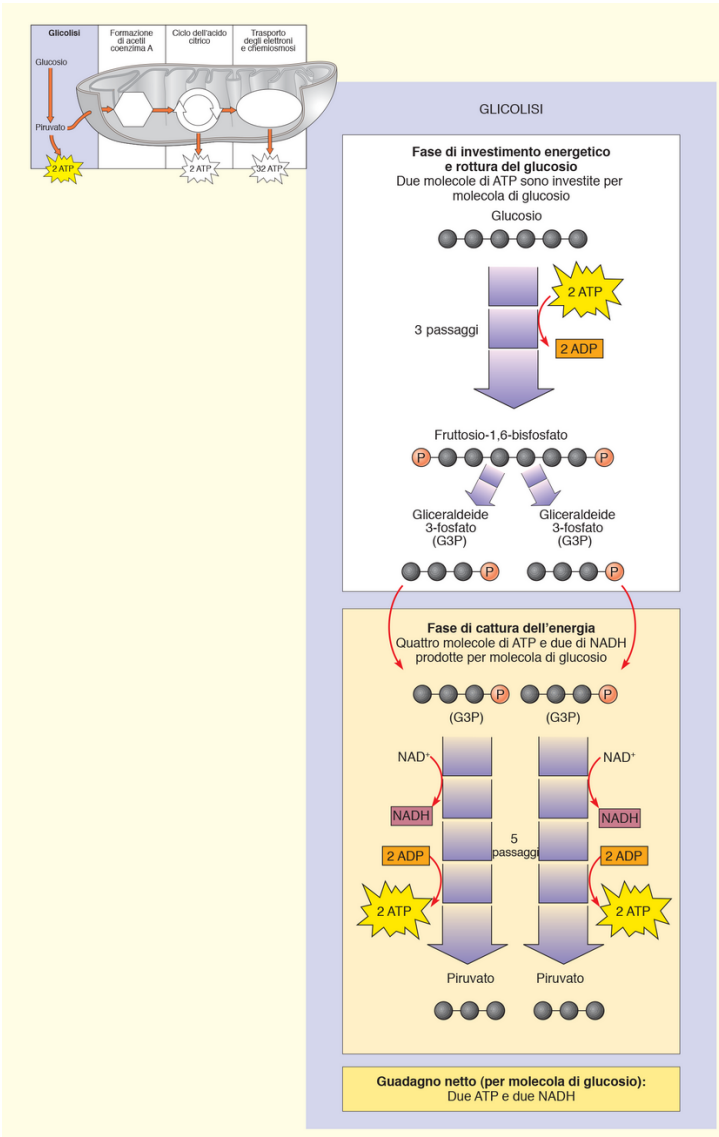
La seconda fase della glicolisi è talvolta chiamata "fase di cattura dell'energia" ( Fig. 8-4 , passaggi 6-10). Ciascuna molecola di gliceraldeide-3-fosfato è trasformata in piruvato. Nel primo passaggio di questo processo, la molecola di gliceraldeide-3-fosfato viene ossidata per rimozione di due elettroni (come parte di due atomi di idrogeno), i quali sono immediatamente catturati da una molecola del trasportatore di idrogeno $NAD^+$:

$$\underset{\text{Ossidato}}{NAD^+} + \underset{\text{(Dalla G3P)}}{2\ H} \longrightarrow \underset{\text{Ridotto}}{NADH} + H^+$$

Poiché le molecole di gliceraldeide-3-fosfato (G3P) prodotte da ciascuna molecola di glucosio sono due, si formano 2 molecole di NADH. L'energia degli elettroni trasportati dal NADH può essere utilizzata in seguito per formare ATP. Il processo per mezzo del

quale ciò è ottenuto verrà spiegato insieme al sistema di trasporto degli elettroni.
In due delle reazioni che portano alla formazione di piruvato si ha formazione di ATP quando un gruppo fosfato viene trasferito all'ADP da un intermedio fosforilato ( Fig. 8-4 , passaggi 7 e 10). Questo processo è chiamato fosforilazione a livello del substrato . È da notare che, se nella prima fase della glicolisi vengono consumate due molecole di ATP, nella seconda fase ne vengono prodotte quattro. Quindi, la glicolisi porta ad un profitto energetico netto di *due molecole* di ATP per ogni molecola di glucosio.
La seconda fase della glicolisi può essere così riassunta:

$$2\ G3P + 2\ NAD^+ + 4\ ADP \longrightarrow 2\ Piruvato + 2\ NADH + 4\ ATP$$




**PUNTO CHIAVE** La glicolisi comprende una fase di investimento energetico ed una fase di cattura dell'energia.

←FIGURA 8-3 *Una visione globale della glicolisi* Le sfere nere rappresentano gli atomi di carbonic. La fase di investimento energetico della glicolisi porta alia rottura della molecola di zucchero;ATP e NADH sono prodotti durante Ia fase di cattura dell'energia. Durante Ia glicolisi, ciascuna molecola di glucosio e convertita in due mole cole di piruvato, con un gua dagno netto di due molecole di ATP e due molecole di NADH.

## Il piruvato è convertito in acetil CoA

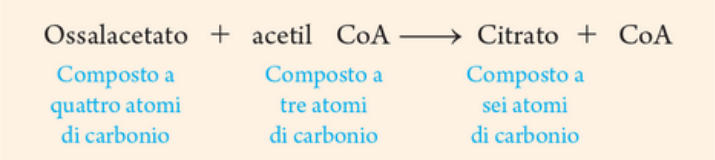
Nelle cellule eucariotiche, le molecole di piruvato formatesi durante la glicolisi entrano nei mitocondri, dove vengono convertite in acetil coenzima A ( acetil CoA ). Nelle cellule procariotiche aerobiche, questi stessi processi avvengono invece nel citosol. Il piruvato è sottoposto a reazioni di decarbossilazione ossidativa . In primo luogo, un gruppo carbossilico viene rimosso sotto forma di anidride carbonica, che diffonde al di fuori della cellula ( FIG. 8-5 ), lasciando come residuo una molecola a due atomi di carbonio; tale residuo è poi ossidato, e gli elettroni rimossi in tale processo sono catturati dal NAD + . Infine, il gruppo acetile reagisce con il coenzima A , dando come prodotto l'acetil coenzima A. La *piruvato deidrogenasi*, l'enzima che catalizza queste reazioni, è un grosso complesso multienzimatico costituito da 72 catene polipeptidiche! Già nel Capitolo 7 si è accennato al fatto che il coenzima A è un trasportatore di gruppi derivati da acidi organici. Nel caso della glicolisi, il coenzima A trasferisce un gruppo acetile, che ha struttura simile all'acido acetico. Il coenzima A è prodotto nella cellula a partire da una vitamina del gruppo B, l'acido pantotenico. La reazione complessiva per la formazione dell'acetil CoA è la seguente:

$$2\ Piruvato + 2\ NAD^+ + 2\ CoA \longrightarrow 2\ Acetil\ CoA + 2\ NADH + 2\ CO_2$$

Si noti che la molecola di glucosio originale è stata parzialmente ossidata, producendo due gruppi acetile e due molecole di anidride carbonica. Gli elettroni rimossi hanno ridotto il NAD + a NADH. A questo punto della respirazione aerobica, si sono formate quattro molecole di NADH, due durante la glicolisi e due durante la formazione di acetil CoA a partire dal piruvato. Si tenga presente che queste molecole di NADH saranno utilizzate più avanti (durante il trasporto degli elettroni) per formare ulteriori molecole di ATP.

## Il ciclo dell'acido citrico ossida l'acetil CoA

Il ciclo dell'acido citrico è anche noto come ciclo degli acidi tricarbossilici ( TCA ) o come ciclo di Krebs , dal nome di Hans Krebs, il biochimico tedesco che negli anni '30 mise insieme il contributo di molti studiosi e tracciò i dettagli dell'intero processo. Nel 1953, egli fuinsignito del premio Nobel per la medicina grazie al suo contributo. Uno schema semplificato del ciclo dell'acido citrico, che ha luogo nella matrice dei mitocondri, è mostrato nella FIGURA 8-6 , pagina 180. Ciascuno degli otto passaggi del ciclo, sono illustrati dettagliatamente in FIGURA 8-7 , pagina 181. Ciascuna reazione è catalizzata da un enzima specifico.
La prima reazione avviene quando l'acetil CoA trasferisce il suo gruppo acetile, che è un composto a due atomi di carbonio, all' ossalacetato , un composto a quattro atomi di carbonio, formando il citrato , una molecola a sei atomi di carbonio:




Il citrato, quindi, subisce una serie di trasformazioni chimiche, perdendo prima uno e poi un secondo gruppo carbossilico sotto forma di CO 2 . Per ogni gruppo acetilico, si forma una molecola di ATP per fosforilazione a livello del substrato. La maggior parte dell'energia resa disponibile nelle fasi ossidative del ciclo è trasferita, in forma di elettroni ricchi di energia, al NAD + conformazione di NADH. Per ogni gruppo acetilico che entra nel ciclo dell'acido citrico, sono prodotte tre molecole di NADH (passaggi 3, 4, e 8). Gli elettroni sono trasferiti anche all'accettore di elettroni FAD, con formazione di FADH 2.

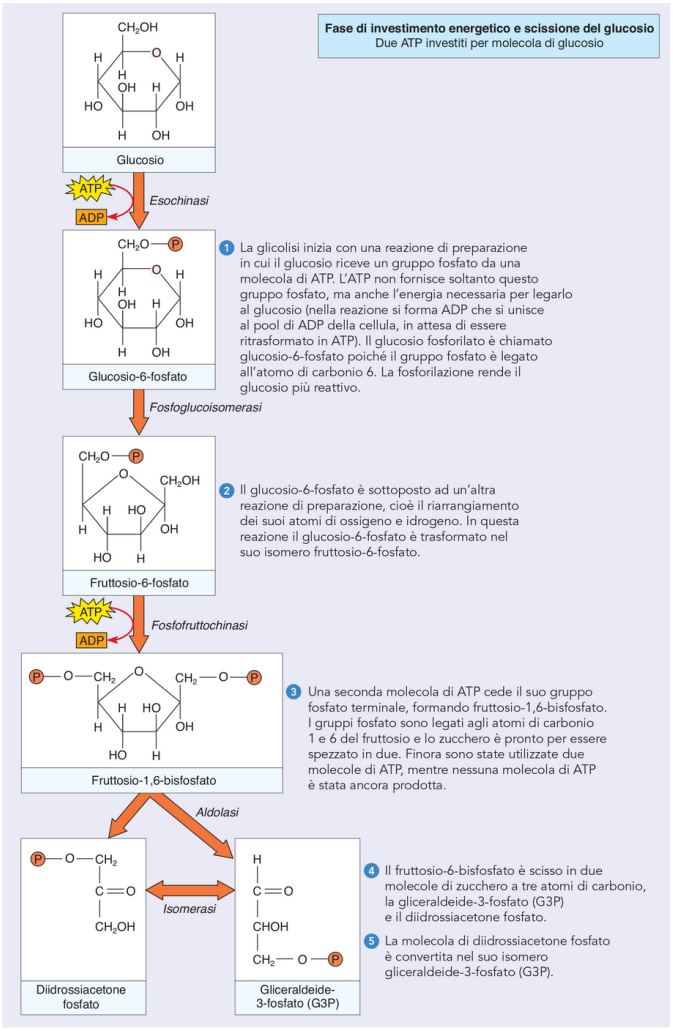
Nel corso del ciclo dell'acido citrico, sono prodotte due molecole di CO 2 ed estratti otto atomi di idrogeno (otto protoni e otto elettroni), con formazione di tre molecole di NADH ed una di FADH 2 . Ci si potrebbe chiedere perché in queste reazioni siano estratti più atomi di idrogeno di quanti ne entrino in realtà con una molecola di acetil CoA nel ciclo. La risposta è che questi atomi provengono da molecole d'acqua utilizzate come reagenti durante il ciclo. Le due molecole di CO 2 prodotte derivano dai due atomi di carbonio del gruppo acetile entrati nel ciclo. Alla fine del ciclo si forma nuovamente l'ossalacetato e il ciclo è pronto a ripartire.
Dal momento che da ciascuna molecola di glucosio sono prodotte due molecole di acetil CoA, per ciascuna molecola di glucosio sono necessari due "giri" del ciclo. Al termine di questi due giri, il glucosio ha perso tutti gli atomi di carbonio e può essere considerato completamente catabolizzato. Il ciclo dell'acido citrico produce 4 CO 2 , 6 NADH, 2 FADH 2 e 2 ATP per molecola di glucosio.
Se consideriamo la produzione di ATP ottenuta mediante fosforilazione a livello del substrato durante la glicolisi e il ciclo dell'acido citrico, arriviamo ad un totale di sole quattro molecole (due ATP nella glicolisi ed una per ciascun giro del ciclo dell'acido citrico). Fino a questo punto, dunque, la maggior parte dell'energia estratta dal glucosio si trova negli elettroni ad alta energia portati dal NADH e dal FADH 2 . L'alta quantità di energia contenuta in questi elettroni sarà utilizzata per sintetizzare molte altre molecole di ATP attraverso la catena di trasporto di elettroni e la chemiosmosi.

## La catena di trasporto degli elettroni è accoppiata alla sintesi di ATP

Consideriamo ora il destino di tutti gli elettroni rimossi dalla molecola di glucosio durante le fasi della glicolisi, della formazione dell'acetil CoA e del ciclo dell'acido citrico. Ricordiamo che questi elettroni sono stati trasferiti (come parte di atomi di idrogeno) agli accettori primari NAD + e FAD, con formazione di NADH e FADH 2 . Questi composti ridotti entrano ora nella catena di trasporto degli elettroni , dove gli elettroni ad alto contenuto energetico dei loro atomi di idrogeno vengono trasferiti da un accettore ad un altro. Questo trasferimento avviene attraverso una serie di reazioni redox esoergoniche, cosicché parte dell'energia degli elettroni è utilizzata nel processo endoergonico di formazione dell'ATP. Poiché la sintesi dell'ATP (per fosforilazione dell'ADP) è accoppiata alle reazioni redox della catena di trasporto degli elettroni, l'intero processo è noto come fosforilazione ossidativa.

### La catena di trasporto degli elettroni trasferisce elettroni dal NADH e dal FADH 2 all'ossigeno

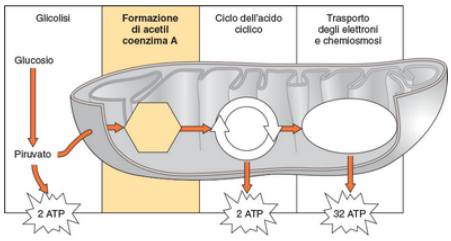
Il sistema di trasporto degli elettroni è costituito da una catena di accettori di elettroni che negli eucarioti è immersa nella membrana mitocondriale interna, mentre nei procarioti aerobi è localizzata nella membrana plasmatica. Come nel caso del NADH e del FADH 2 , ciascun trasportatore può esistere in una forma ossidata ed una ridotta. Gli elettroni passano lungo la catena di trasporto degli elettroni grazie ad una serie di reazioni redox che agisce in maniera molto simile ad una "brigata del secchio", l'antica catena di persone che si passavano l'un l'altra dei secchi d'acqua da un fiume verso un palazzo in fiamme. Nella catena di trasporto degli elettroni, ciascun accettore è, alternativamente, ridotto quando accetta elettroni e ossidato

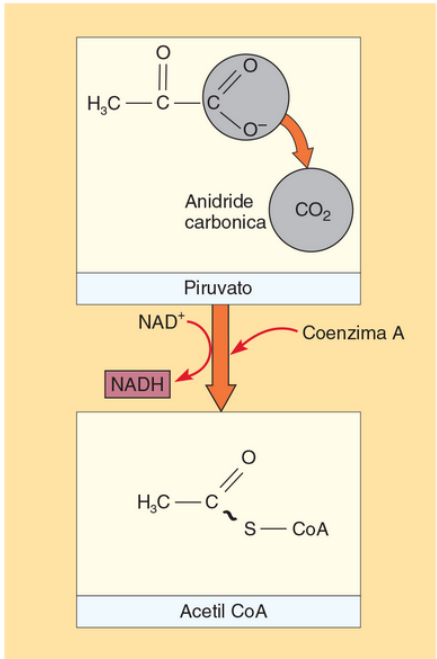



quando li cede. Gli elettroni che entrano nella catena di trasporto hanno un contenuto energetico relativamente alto e ad ogni passaggio lungo la catena dei trasportatori perdono parte di questa energia (proprio come parte dell'acqua schizza fuori dal secchio ad ogni passaggio da una persona ad un'altra).

←FIGURA 8-4 *Unavisione dettagliata della glicolisi* Ciascuna reazioneè catalizzata da un enzima specifico. Notare che si ha un guadagno netto di due molecole di ATP e di due molecole di NADH. (Le linee nere ondulate indicano legami instabili. Questi legami permettono il trasferimento di gruppi fosfato ad altre molecole, in questo caso all'ADP).

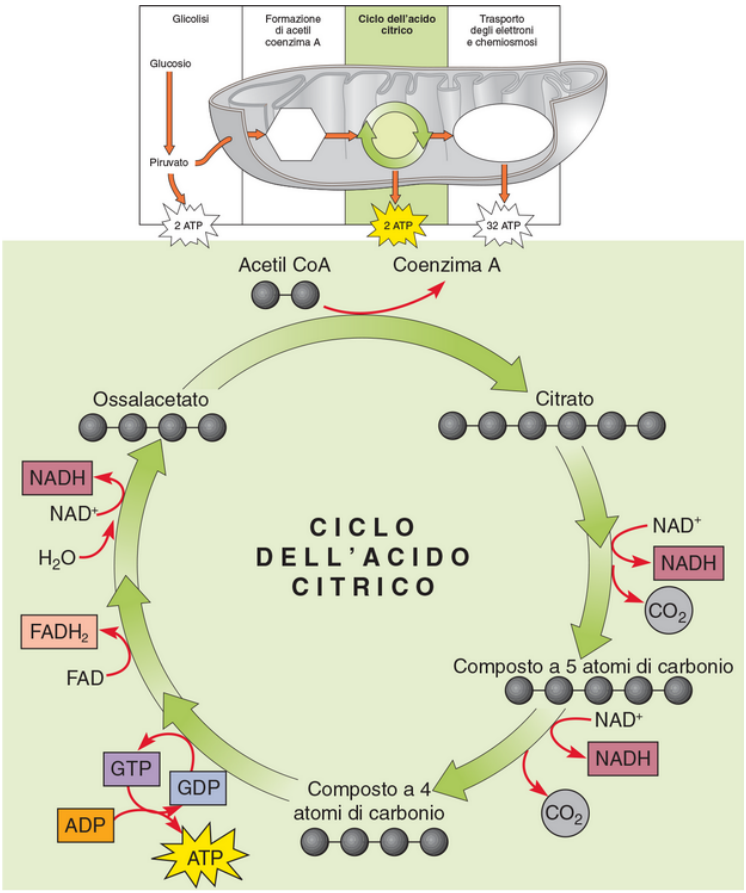
FIGURA 8-5→ *Formazione dell'acetil coenzima A* Questa complessa serie di reazioni è catalizzata dal complesso multienzimatico piruvato deidrogenasi. Il piruvato, prodotto fnale della glicolisi a tre atomi di carbonio, entra nel mitocondrio e subisce una decarbossilazione ossidativa. In primo luogo, il gruppo carbossilico è rimosso in forma di anidride carbonica. Il restante frammento a due atomi di carbonio è quindi ossidato e i suoi elettroni sono trasferiti al NAD + . Il gruppo acetile risultante è legato al coenzima A. Il coenzima A possiede un atomo di zolfo attraverso il quale si forma un legame molto instabile, rappresentato da una linea ondulata, con il gruppo acetile. Quando questo legame viene rotto, il gruppo acetile può essere immediatamente trasferito ad un'altra molecola.




I componenti della catena di trasporto degli elettroni sono: la *flavoproteina flavin mononucleotide* ( FMN ), il lipide ubichinone (anche detto coenzima Q o CoQ), alcune proteine ferro-zolfo e un gruppo di ferro-proteine strettamente correlate chiamate citocromi ( FIG. 8-8 ). Ogni trasportatore di elettroni possiede un meccanismo differente per accettare e cedere gli elettroni. Per esempio, quando i citocromi accettano e donano elettroni, la carica dell'atomo di ferro, che rappresenta la porzione trasportatrice dei citocromi, si alterna tra $Fe^{2+}$ (ridotto) e $Fe^{3+}$ (ossidato).
I quattro grossi complessi proteici degli accettori che costituiscono la catena di trasporto degli elettroni sono

stati isolati e purificati dalla membrana interna dei mitocondri. Il *complesso I* ( *NADH-ubichinone ossidoreduttasi* ) accetta gli elettroni dalle molecole di NADH prodotte durante la glicolisi, la formazione di acetil CoA e il ciclo dell'acido citrico. Il complesso II ( succinato-ubichinone reduttasi ) accetta elettroni dalle molecole di FADH 2 prodotte durante il ciclo dell'acido citrico. Entrambi i complessi I e II originano lo stesso prodotto, l'ubichinone ridotto, che a sua volta è il substrato del complesso III ( ubichinone-citocromo c ossidoreduttasi ). Quindi, il complesso III accetta gli elettroni dall'ubichinone ridotto e li dona al citocromo c . Il complesso IV ( citocromo c ossidasi ) accetta gli elettroni dal citocromo c e li utilizza per ridurre l'ossigeno molecolare, formando acqua. Gli elettroni si uniscono ai protoni per formare idrogeno; la reazione fra idrogeno e ossigeno produce acqua.




←FIGURA 8-6
*Una visione globale del ciclo dell'acido citrico*
Due gruppi acetile entrano nel ciclo dell'acido citrico per ciascuna molecola di glucosio iniziale ( in alto ). Ciascun gruppo acetile, molecola a due atomi di carbonio, si combina con l'ossalacetato, composto a quattro atomi di carbonio, per formare il citrato, molecola a sei atomi di carbonio. Due molecole di CO 2 sono rimosse, l'energia è catturata in forma di un ATP, tre NADH ed un FADH 2 per ciascun gruppo acetile (ovvero due ATP, sei NADH e due FADH 2 per ogni molecola di glucosio).

L'ossigeno molecolare è quindi l'accettore finale della catena di trasporto degli elettroni e ciò spiega come mai un organismo che respira aerobicamente abbia bisogno di ossigeno. Che cosa accade allora quando cellule strettamente aerobiche vengono private dell'ossigeno? Se non c'è ossigeno disponibile ad accettare elettroni, l'ultimo citocromo della catena resta bloccato con i suoi elettroni, non potendo trasferirli ad altre molecole; di conseguenza, tutti gli accettori della catena si vengono a trovare a loro volta bloccati nelle stesse condizioni (cioè in forma ridotta) e il blocco è trasferito in direzione retrograda per tutto il sistema fino ad arrivare al NADH. Poiché la fosforilazione è accoppiata al trasporto di elettroni, non viene più prodotto ATP attraverso questa via. La maggior parte delle cellule degli organismi complessi non può vivere a lungo senza ossigeno perché la quantità di energia che produce con la sola glicolisi non è sufficiente per sostenere le funzioni vitali.

**PUNTO CHIAVE** I trasportatori di elettroni presenti nella membrana mitocondriale interna trasferiscono gli elettroni dal NADH e dal FADH 2 all'ossigeno.

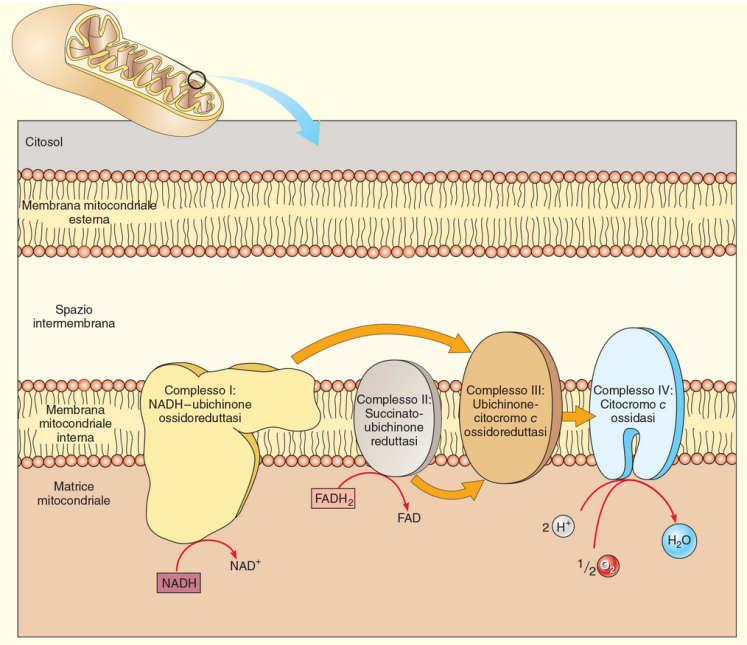
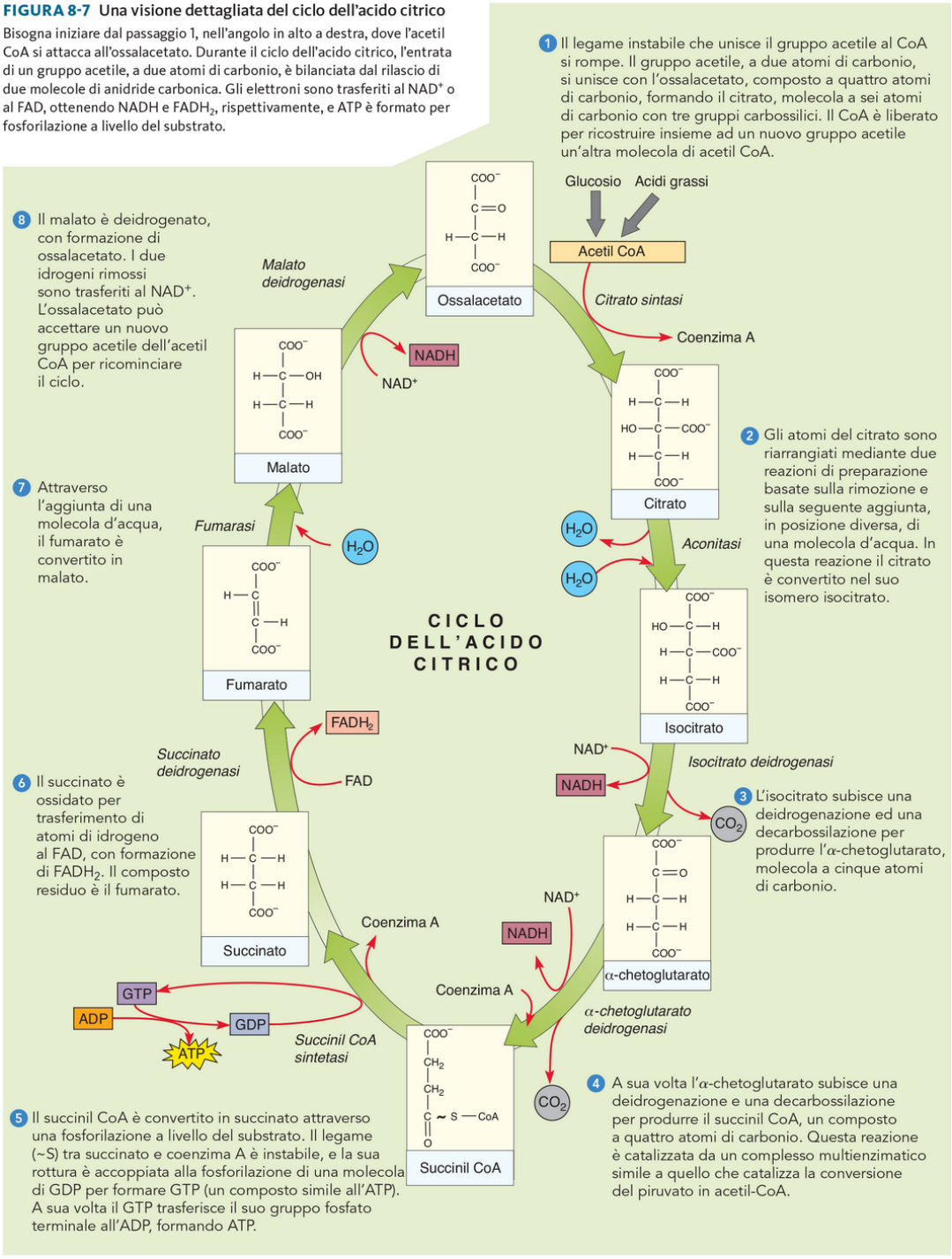



FIGURA 8-8 Una visione globale della catena di trasporto degli elettroni
Gli elettroni passano a livelli energetici progressivamente più bassi durante il loro passaggio attraverso i quattro complessi della catena di trasporto degli elettroni, localizzata nella membrana mitocondriale ridotte ed ossidate quando accettano e rilasciano elettroni.
L'accettore finale è l'ossigeno; uno dei due atomi di una molecola di ossigeno (scritto come 1 2 O 2 ) accetta due elettroni, che sono aggiunti a due protoni provenienti dal mezzo circostante per produrre acqua.

**FIGURA 8-7** Una visione dettagliata del ciclo dell'acido citrico

Bisogna iniziare dal passaggio 1, nell'angolo in alto a destra, dove l'acetil CoA si attacca all'ossalacetato. Durante il ciclo dell'acido citrico, l'entrata di un gruppo acetile, a due atomi di carbonio, è bilanciata dal rilascio di due molecole di anidride carbonica. Gli elettroni sono trasferiti al $NAD^+$ o al FAD, ottenendo NADH e $FADH_2$, rispettivamente, e ATP è formato per fosforilazione a livello del substrato.




←FIGURA 8-7
*Una visione dettagliata del ciclo dell'acido citrico*
Bisogna iniziare dal passaggio 1, nell'angolo in alto a destra, dove l'acetil CoA si attacca all'ossalacetato.Durante il ciclo dell'acido citrico, l'entrata di un gruppo acetile,a due atomi di carbonio, e bilanciata dal rilascio di due molecole di anidride carbonica.Gli elettroni sono trasferiti al NAD + o al FAD, ottenendo NADH e FADH 2 , rispettivamente,e ATP è formato per fosforilazione a livello del substrato.

La mancanza di ossigeno non è l'unico fattore che può interferire con la catena di trasporto degli elettroni. Alcuni veleni, tra i quali il cianuro, inibiscono la normale attività del sistema dei citocromi. Il cianuro si lega saldamente al ferro dell'ultimo citocromo della catena di trasporto degli elettroni, rendendolo incapace di trasferire elettroni all'ossigeno. Ciò blocca il passaggio di elettroni nella catena, impedendo la sintesi dell'ATP. Anche se il flusso di elettroni nella catena di trasporto è strettamente legato alla produzione di ATP, alcuni organismi sono in grado di disaccoppiare i due processi per produrre calore (vedi Approfondimenti : Trasporto di elettroni e calore ).

### Il modello chemiosmotico spiega l'accoppiamento della sintesi di ATP al trasporto degli elettroni nella respirazione aerobica

È noto da molto tempo che la fosforilazione ossidativa avviene nei mitocondri e che, come mostrato da numerosi esperimenti, il trasferimento di due elettroni da ciascun NADH all'ossigeno attraverso la catena di trasporto degli elettroni ha come conseguenza la produzione di un massimo di tre molecole di ATP. Per lungo tempo, tuttavia, la relazione tra sintesi di ATP e trasporto di elettroni è rimasta avvolta dal mistero.

**Approfondimenti**

**TRASPORTO DI ELETTRONI E CALORE**

Qual è la fonte del nostro calore corporeo? Questo calore è essenzialmente un sottoprodotto di varie reazioni esoergoniche ed in particolare di quelle che riguardano la catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri. Alcuni animali adattati a vivere al freddo, gli animali ibernanti e i neonati sono in grado di produrre quantità inusualmente grandi di calore disaccoppiando la catena di trasporto degli elettroni dalla produzione di ATP. Questi animali posseggono un tessuto adiposo (tessuto che immagazzina il grasso) bruno. Il colore deriva dal grande numero di mitocondri presente nelle cellule di questo tessuto. La

membrana interna di questi mitocondri contiene una proteina di disaccoppiamento, che produce un canale protonico attraverso il quale i protoni fluiscono passivamente nella matrice. Come conseguenza, la maggior parte dell'energia del glucosio viene convertita in calore, piuttosto che nell'energia chimica dell'ATP. Persino alcune piante, che non sono generalmente considerate organismi "caldi", hanno questa capacità. Il cavolo fetido (*Symplocarpus foetidus*), ad esempio, vive nelle paludi e nei terreni umidi del Nord America, e fiorisce nei mesi di febbraio e marzo quando il terreno è ancora coperto di neve (vedi figura). Il disaccoppiamento mitocondriale genera in questa pianta una grande quantità di calore che le permette di sciogliere la neve e presumibilmente di attrarre gli impollinatori mediante la vaporizzazione di alcune molecole odorose nell'aria. La temperatura del fiore del cavolo fetido è di 15-22°C quando la temperatura dell'aria circostante varia da –15 °C a 10 °C. Questa temperatura è mantenuta dal flore anche per più di due settimane. Altre piante, come il filodendro a foglie separate (*Philodendron selloum*) e il loto sacro (*Nelumbo nucifera*), producono anch'esse calore quando fioriscono e mantengono la loro temperatura entro limiti ben precisi.

Alcune piante producono una quantità di calore per grammo di tessuto uguale o addirittura maggiore di quella generata dagli animali in volo, che sono da sempre considerati i maggiori produttori di calore fra tutti gli organismi viventi. L'*Arum maculatum*, una pianta europea, ad esempio, produce 0,4 joule (0,1 cal) di calore al secondo per grammo di tessuto, mentre un colibrì in volo produce 0,24 joule (0,06 cal) al secondo per grammo di tessuto.

←*Cavolo fetido ( Symplocarpus foetidus )*
Questa pianta non solo produce una cospicua quantità di calore quando fiorisce, ma regola anche la sua temperatura entro uno specifico intervallo.

Nel 1961, Peter Mitchell, un biochimico britannico, propose il modello chemiosmotico, basandosi su suoi esperimenti e su considerazioni teoriche. Un tipo di esperimento utilizza un modello batterico ( FIG. 8-9 ). Poiché la catena di trasporto degli elettroni è localizzata nella membrana plasmatica delle cellule dei batteri aerobi, tale membrana può essere considerata corrispondente alla membrana mitocondriale interna. Mitchell fu in grado di dimostrare che cellule batteriche poste in ambiente acido (un ambiente cioè con un'alta concentrazione di ioni idrogeno, o protoni) potevano sintetizzare ATP anche in assenza di trasporto di elettroni. Sulla base dei suoi risultati, Mitchell propose che il trasporto di elettroni e la sintesi di ATP fossero accoppiati da un gradiente di protoni che si forma attraverso la membrana mitocondriale interna negli eucarioti (o la membrana plasmatica nei procarioti). Il suo modello era così radicale che all'inizio non fu accettato, ma nel 1978, si erano accumulate così tante prove sperimentali a sostegno della chemiosmosi che a Peter Mitchell fu conferito il Premio Nobel per la Chimica.
Il gradiente protonico si stabilisce grazie al sistema di trasporto degli elettroni; parte dell'energia rilasciata quando gli elettroni attraversano la catena di trasporto è infatti utilizzata per pompare i protoni (H + ) attraverso la membrana. Negli eucarioti, i protoni vengono pompati attraverso la membrana mitocondriale interna nello spazio intermembrana ( FIG. 8-10 ), determinando in questo spazio una concentrazione protonica molto più alta di quella della matrice mitocondriale.

**ESPERIMENTO CHIAVE**
*PORSI DOMANDE CRITICHE:* Qual è il meccanismo della fosforilazione ossidativa?

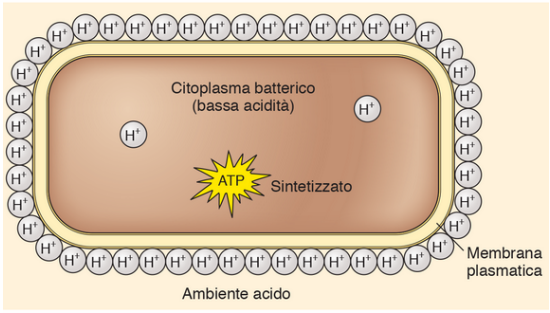
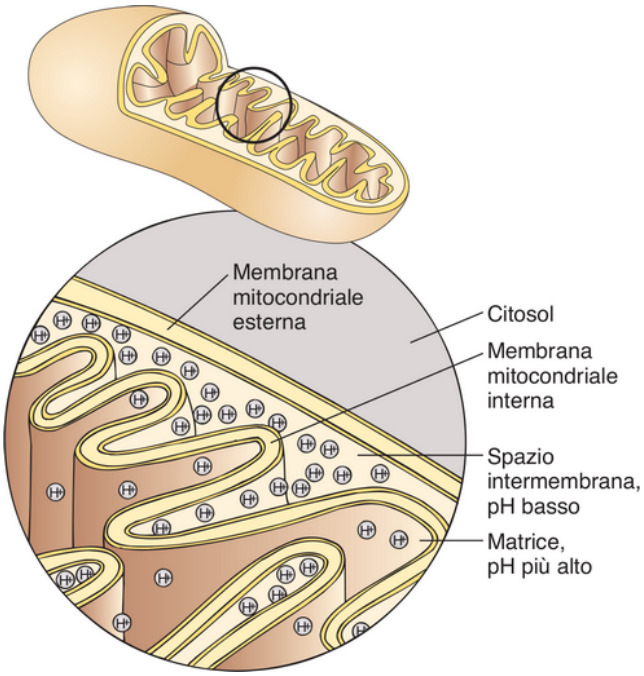



FIGURA 8-9→
*Prova sperimentale della chemiosmosi*

SVILUPPARE UN'IPOTESI: Peter Mitchell ipotizzò che le cellule usano l'energia rilasciata durante il trasporto degli elettroni per creare un gradiente protonico attraverso la membrana. L'energia potenziale accumulata in questo gradiente, quindi, rende possibile la sintesi di ATP.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Batteri aerobici furono coltivati in ambiente acido (elevata concentrazione di H + ), creando così un gradiente protonico attraverso la membrana plasmatica. Ciò venne fatto in condizioni in cui non si verificava il trasporto degli elettroni.
RISULTATI E CONCLUSIONI: I batteri sintetizzarono ATP in assenza di respirazione aerobica. Questi risultati supportavano la visione di Mitchell che la formazione di un gradiente protonico attraverso una membrana fosse un passaggio essenziale nella conversione dell'energia elettrica della catena di trasporto degli elettroni in energia chimica nella molecola di ATP.




←FIGURA 8-10
*L'accumulo di protoni (H + ) nello spazio intermembrana*
Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena di trasporto degli elettroni, i complessi proteici dei trasportatori di elettroni trasferiscono protoni (H + ) dalla matrice allo spazio intermembrana, creando un gradiente di protoni. L'elevata concentrazione protonica nello spazio intermembrana ne diminuisce il pH.

I protoni sono pompati da tre dei quattro complessi di trasferimento elettronico che si trovano nella membrana mitocondriale interna (complessi I, III e IV) ( FIG. 8-11a ). Il gradiente protonico che si forma in conseguenza dell'attività di questi complessi è, come l'acqua trattenuta da una diga, una forma di energia potenziale che può essere sfruttata per sintetizzare ATP.
La diffusione dei protoni dallo spazio intermembrana, dove sono molto concentrati, alla matrice attraverso la membrana mitocondriale interna è limitata a specifici canali formati da un quinto complesso enzimatico, la proteina transmembrana ATP sintasi . Porzioni di questi complessi si proiettano dalla superficie della membrana rivolta verso la matrice e sono visibili al microscopio elettronico ( FIG. 8-11b ). La diffusione dei protoni secondo gradiente attraverso il complesso dell'ATP sintasi è un processo esoergonico perché aumenta l'entropia del sistema. Questo processo esoergonico fornisce l'energia per la sintesi di ATP, anche se l'esatto meccanismo mediante il quale l'ATP sintasi catalizza la fosforilazione di ADP è noto solo in parte. Nel 1997, Paul Boyer dell'Università della California di Los Angeles e John Walker del Laboratorio di Biologia Molecolare del Consiglio di Ricerca Medica di Cambridge, nel Regno Unito, condivisero il premio Nobel per la Chimica in seguito alla scoperta che la ATP sintasi funziona in un modo non usuale, come un efficiente motore molecolare. Durante la sintesi di ATP, a partire da ADP e fosfato inorganico, una struttura centrale dell'ATP sintasi ruota, probabilmente in risposta alla forza dei protoni che si muovono attraverso il complesso enzimatico. Apparentemente, la rotazione altera la conformazione della subunità catalitica in modo tale da consentire la sintesi di ATP.
La chemiosmosi è un meccanismo fondamentale nell'accoppiamento energetico all'interno delle cellule. Essa infatti consente ai processi esoergonici di ossido-riduzione di trascinare la reazione endoergonica di fosforilazione dell'ADP in ATP. Nella fotosintesi (trattata nel Capitolo 9 ) si ha produzione di ATP mediante un meccanismo simile.

## La respirazione aerobica di una molecola di glucosio produce un massimo di 36 o 38 molecole di ATP

Riassumiamo ora le fasi della respirazione aerobica in cui c'è rilascio di energia biologicamente utile e calcoliamo la produzione totale di energia derivante dall'ossidazione completa di una molecola di glucosio. La FIGURA 8-12 riassume il calcolo delle molecole totali di ATP prodotte dall'ossidazione completa del glucosio.

1. Nella glicolisi, si ha dapprima l'attivazione del glucosio per aggiunta di gruppi fosfato da 2 molecole di ATP e poi, come prodotti finali, si hanno: 2 piruvato + 2 NADH + 4 ATP, con un guadagno netto di 2 molecole di ATP.
2. Le 2 molecole di piruvato sono metabolizzate a 2 acetil CoA + 2 CO 2 + 2 NADH.
3. Nel ciclo dell'acido citrico, le 2 molecole di acetil CoA sono metabolizzate a 4 CO 2 + 6 NADH + 2 FADH 2 + 2 ATP.

Poiché l'ossidazione del NADH nella catena di trasporto degli elettroni porta alla produzione di un massimo di 3 molecole di ATP per ogni molecola di NADH, le 10 molecole di NADH possono fornire una resa massima di 30 ATP. Le 2 molecole di NADH ottenute nella glicolisi, tuttavia, producono 2 o 3 molecole di ATP ciascuna, perché in alcuni tipi di cellule eucariotiche è necessario consumare energia per trasportare il NADH prodotto nella glicolisi attraverso la membrana mitocondriale. Le cellule procariotiche, invece, producono sempre 3 molecole di ATP per ogni NADH perché, essendo prive di mitocondri, non hanno bisogno di trasportare le molecole di NADH provenienti dalla glicolisi. Il numero totale di molecole di ATP formate dall'ossidazione del NADH varia quindi da 28 a 30.
L'ossidazione del FADH 2 produce 2 ATP per ogni molecola (ricorda che il FADH 2 entra nella catena di trasporto degli elettroni in un sito diverso da quello del NADH), cosicché le due molecole di FADH 2 prodotte nel ciclo dell'acido citrico portano alla formazione di 4 ATP.

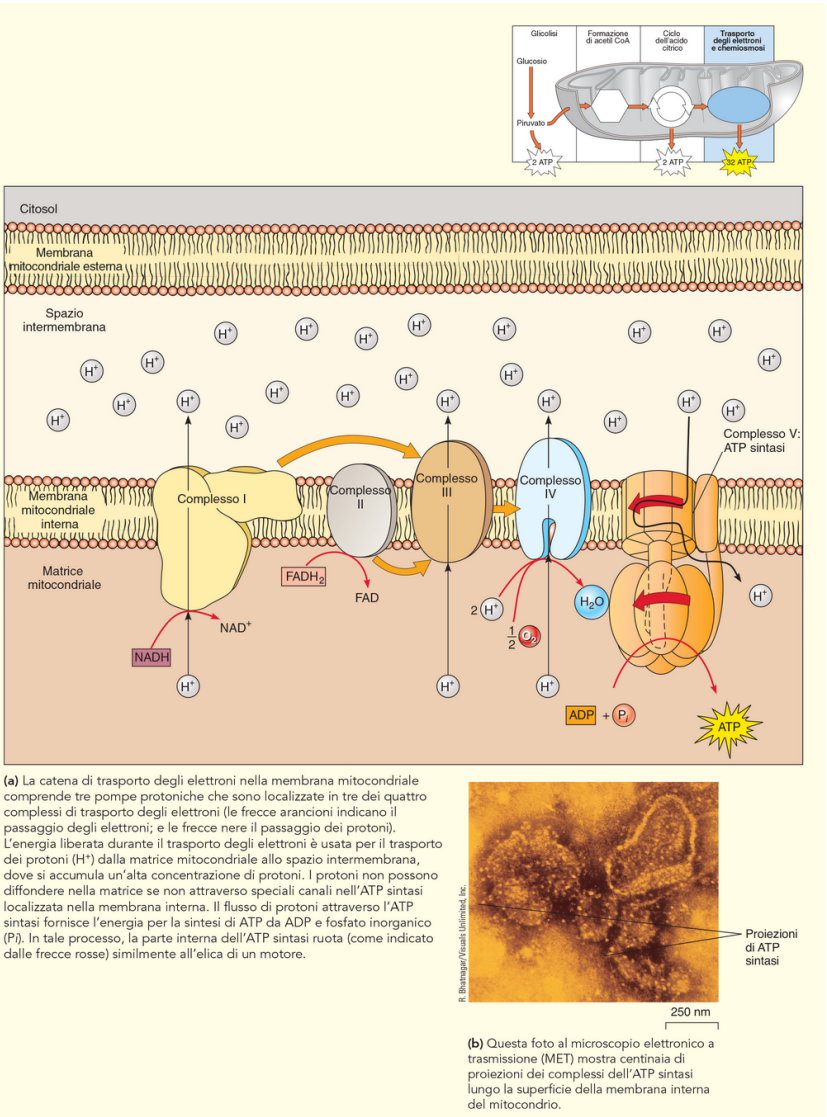
4. Sommando tutte le molecole di ATP prodotte (2 dalla glicolisi, 2 dal ciclo dell'acido citrico e 32 o 34

dalla catena di trasporto degli elettroni e dalla chemiosmosi), si vede che il metabolismo aerobico completo di una molecola di glucosio può dare al massimo 36 o 38 molecole di ATP. È da notare che la maggior parte delle molecole di ATP è formata mediante fosforilazione ossidativa, che comprende i processi di trasporto degli elettroni e di chemiosmosi. Solo 4 molecole di ATP sono prodotte mediante fosforilazione a livello del substrato nella glicolisi e nel ciclo dell'acido citrico.

L'efficienza complessiva della respirazione aerobica può essere calcolata rapportando l'energia libera catturata sotto forma di ATP all'energia libera totale della molecola di glucosio. Come già visto nel Capitolo 7 , è molto conveniente misurare l'energia sotto forma di calore, anche se l'energia termica non può azionare le reazioni cellulari. Ciò può essere fatto utilizzando il calorimetro, uno strumento in grado di misurare il calore prodotto da una reazione. Un campione è posto in un compartimento circondato da una camera piena di acqua. Quando il campione brucia, si ossida e la temperatura dell'acqua sale, fornendo così la misura del calore rilasciato durante la reazione.

**PUNTO CHIAVE** La catena di trasporto degli elettroni genera un gradiente di concentrazione di ioni H + , che diffondono attraverso i complessi dell'ATP sintasi consentendo Ia produzione di ATP.

FIGURA 8-11→
Una visione dettagliata del trasporto degli elettroni e della chemiosmosi

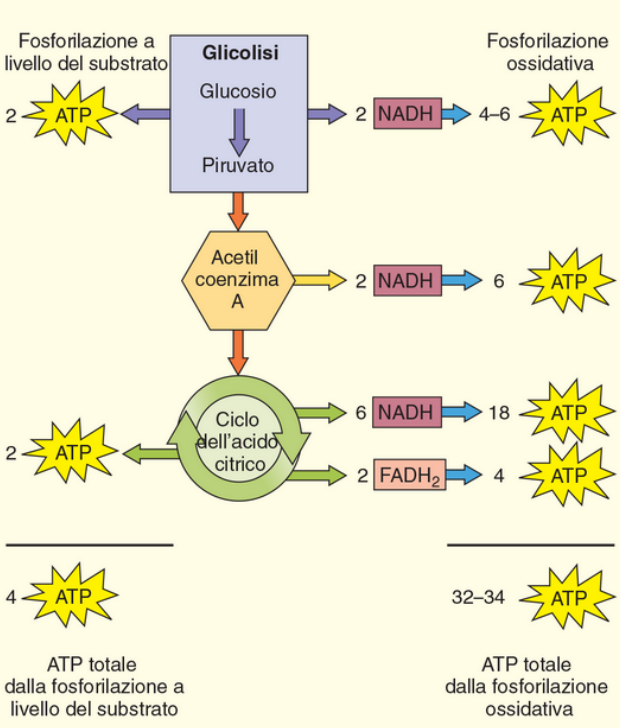



(a) La catena di trasporto degli elettroni nella membrana mitocondriale comprende tre pompe protoniche che sono localizzate in tre dei quattro complessi di trasporto degli elettroni (le frecce arancioni indicano il passaggio degli elettroni; e le frecce nere il passaggio dei protoni). L'energia liberata durante il trasporto degli elettroni è usata per il trasporto dei protoni ($H^+$) dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana, dove si accumula un'alta concentrazione di protoni. I protoni non possono diffondere nella matrice se non attraverso speciali canali nell'ATP sintasi localizzata nella membrana interna. Il flusso di protoni attraverso l'ATP sintasi fornisce l'energia per la sintesi di ATP da ADP e fosfato inorganico ($P_i$). In tale processo, la parte interna dell'ATP sintasi ruota (come indicato dalle frecce rosse) similmente all'elica di un motore.




(b) Questa foto al microscopio elettronico a trasmissione (MET) mostra centinaia di proiezioni dei complessi dell'ATP sintasi lungo la superficie della membrana interna del mitocondrio.

Quando una mole di glucosio è bruciata in un calorimetro, essa rilascia una quantità di calore pari a 686 kcal (2870 kJ). Poiché l'energia libera immagazzinata nel legame fosfato dell'ATP è circa 7,6 kcal (31,8 kJ) per mole e poiché nella respirazione aerobica del glucosio si formano da 36 a 38 molecole di ATP, l'energia totale immagazzinata nell'ATP ammonta a 7,6 kcal/mol × 36 = circa 274 kcal (1146 kJ)/mol. L'efficienza della respirazione aerobica è data dal rapporto 274/686, che è circa 0,4, cioè il 40%. (Una centrale a vapore ha, in confronto, un'efficienza di conversione dell'energia del carburante in elettricità del 35-36%). L'energia rimanente del glucosio è rilasciata sotto forma di calore.




**PUNTO CHIAVE** La maggior parte dell'ATP è prodotta attraverso il trasporto degli elettroni e la chemiosmosi (fosforilazione ossidativa).

←FIGURA 8-12 *Resa energetica dell'ossidazione completa del glucosio con la respirazione aerobica*

### I sistemi navetta mitocondriali acquistano gli elettroni del NADH prodotto nel citosol

La membrana mitocondriale interna è impermeabile al NADH, che è una grossa molecola. Per questo motivo, il NADH che si forma nel citosol durante la glicolisi non può diffondere nel mitocondrio per trasferire i suoi elettroni al sistema di trasporto degli elettroni. A differenza dell'ATP e dell'ADP, il NADH non possiede una proteina carrier che lo trasporti attraverso la membrana. Si sono invece evoluti diversi sistemi per trasferire gli elettroni del NADH (piuttosto che la molecola di NADH) all'interno del mitocondrio.

Nelle cellule epatiche, renali e cardiache esiste un particolare sistema navetta per trasferire gli elettroni dal NADH, attraverso la membrana mitocondriale interna, ad una molecola di NAD + già presente nella matrice. Questi elettroni entrano nel sistema di trasporto degli elettroni della membrana mitocondriale interna, fornendo la massima resa di tre molecole di ATP per ogni coppia di elettroni.

Nelle cellule muscolari scheletriche, in quelle cerebrali e in alcuni altri tipi cellulari opera invece un diverso sistema navetta che richiede più energia rispetto al precedente. Per questo motivo, gli elettroni trasportati, al momento in cui entrano nella catena di trasporto, si trovano ad un livello energetico più basso e sono catturati dall'ubichinone invece che dal NAD + mitocondriale. La resa energetica è di sole due molecole di ATP per ogni coppia di elettroni. È questo il motivo per cui, durante la respirazione aerobica di una molecola di glucosio nelle cellule muscolari scheletriche, si formano 36 molecole di ATP anziché 38.

### Le cellule regolano la respirazione aerobica

La respirazione aerobica necessita di un apporto costante di molecole di carburante e di ossigeno. In condizioni normali, questi materiali sono forniti adeguatamente e non influiscono sulla velocità della respirazione. Invece, la velocità della respirazione aerobica è regolata dalle quantità di ADP e fosfato disponibili, in quanto la sintesi di ATP procede fin quando la maggior parte dell'ADP è stato convertito in ATP. A questo punto, la fosforilazione ossidativa rallenta notevolmente e, di conseguenza, rallenta anche il ciclo dell'acido citrico.

La glicolisi è controllata in parte dalla regolazione a feedback (vedi Fig. 7-15 per una illustrazione dei meccanismi di regolazione a feedback) esercitata sull'enzima fosfofruttochinasi, che catalizza una delle prime reazioni della glicolisi (vedi Fig. 8-4 ). Il sito attivo della fosfofruttochinasi lega l'ATP e il fruttosio-6-fosfato. Tuttavia, l'enzima possiede due siti allosterici: un sito inibitore, al quale si lega l'ATP quando è presente a livelli molto elevati, ed un sito attivatore, al quale si lega l'AMP (adenosina monofosfato, una molecola che si forma dall'ATP per rimozione di due gruppi fosfato). Pertanto, questo enzima è inattivato quando i livelli di ATP sono elevati ed è attivato quando sono bassi. Quando l'enzima viene attivato, la respirazione procede generando ulteriore ATP.

### Verifica

- Quanto ATP è reso disponibile per la cellula a partire da una singola molecola di glucosio ad opera di (1) glicolisi, (2) formazione di acetilCoA, (3) ciclo dell'acido citrico e (4) catena di trasporto degli elettroni e chemiosmosi?
- Perché ciascuno dei seguenti fattori è essenziale per la sintesi chemiosmotica dell'ATP? (1) Catena di trasporto degli elettroni, (2) gradiente protonico e (3) complesso dell'ATP sintasi.
- Qual è il ruolo del NAD +, del FAD e dell'ossigeno nella respirazione aerobica?
- Quali sono alcune delle modalità di controllo della respirazione aerobica?

## 8.3 LA RESA ENERGETICA DI SOSTANZE NUTRITIVE DIVERSE DAL GLUCOSIO

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

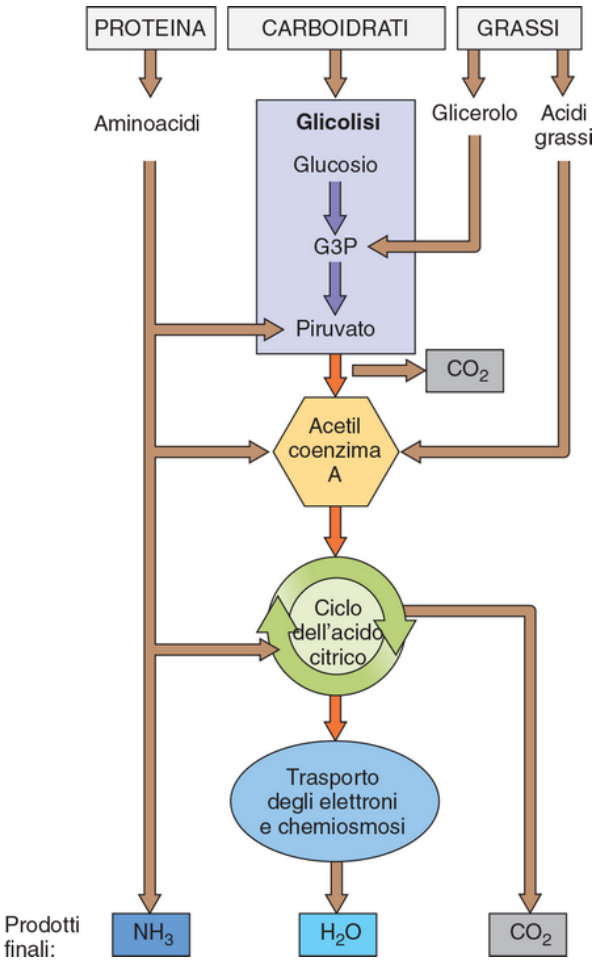
7. Elencare le varie modalità con cui i prodotti del catabolismo proteico e lipidico possono entrare nella stessa via metabolica che porta all'ossidazione del glucosio.

Molti organismi dipendono da sostanze nutritive diverse dal glucosio come fonte energetica. Gli esseri umani e molti altri animali traggono maggiore energia dall'ossidazione degli acidi grassi che da quella del glucosio. Anche gli aminoacidi derivati dalla digestione delle proteine funzionano da carburante. Ciò è reso possibile dal fatto che tali sostanze sono trasformate in uno dei metaboliti intermedi o della glicolisi o del ciclo dell'acido citrico ( FIG. 8-13 ).

Gli aminoacidi sono metabolizzati mediante una reazione iniziale di deaminazione , ovvero di rimozione del gruppo amminico, il quale, nei mammiferi e in altri animali, è convertito in urea (vedi Fig. 48-1 per le vie

metaboliche) ed escreto. La catena carboniosa residua dell'aminoacido può quindi essere utilizzata come reagente in uno dei passaggi della respirazione aerobica. La deaminazione dell'aminoacido alanina, ad esempio, produce piruvato, quella del glutammato produce α -chetoglutarato, e quella dell'aspartato produce ossalacetato. Il piruvato entra nella via della respirazione aerobica come prodotto finale della glicolisi, mentre l'α-chetoglutarato e l'ossalacetato vi entrano entrambi come intermedi del ciclo dell'acido citrico. In questo modo, possono essere metabolizzati tutti gli aminoacidi.

Ogni grammo di lipidi della nostra dieta trasporta una quantità di energia pari a 9 kcal (38 kJ), cioè più del doppio di quella contenuta in un grammo di glucosio o di aminoacidi (circa 4 kcal o 17 kJ per grammo). I lipidi sono ricchi di energia in quanto sono costituiti da molecole altamente ridotte; in altre parole, essi possiedono molti atomi di idrogeno e pochi di ossigeno. Quando, nella respirazione aerobica, una molecola di acido grasso a sei atomi di carbonio viene completamente ossidata, essa permette di produrre fino a 44 molecole di ATP (invece delle 36-38 che si ottengono da una molecola di glucosio, anch'essa a sei atomi di carbonio).




←FIGURA 8-13
*L'energia derivante da carboidrati, proteine e grassi*
I prodotti del catabolismo dei carboidrati, delle proteine e dei grassi entrano a far parte della glicolisi o del ciclo dell'acido citrico a vari livelli. Questo schema è estremamente semplificato e mostra solo alcune delle vie metaboliche principali.

Sia il glicerolo sia gli acidi grassi che costituiscono un triacilglicerolo (vedi Figura 3-12 per le strutture) vengono utilizzati come carburante: il glicerolo è fosforilato e convertito in gliceraldeide-3-fosfato, che entra nella glicolisi; gli acidi grassi sono ossidati e scissi enzimaticamente a produrre gruppi acetile (a due atomi di carbonio). I gruppi acetile si legano al coenzima A, formando acetil CoA, in un processo che avviene nella matrice mitocondriale detto β -ossidazione (beta-ossidazione). L'acetil CoA ottenuto dalla β -ossidazione entra nel ciclo dell'acido citrico.

**Verifica**
- In che modo una persona che segue una dieta povera di carboidrati può ottenere energia?
- Quale processo deve avvenire prima che gli aminoacidi possano entrare nella via della respirazione aerobica?
- In quale punto della via della respirazione aerobica entrano gli acidi grassi?

## 8.4 LA RESPIRAZIONE ANAEROBICA E LA FERMENTAZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Confrontare la respirazione anaerobica e la fermentazione, considerando il meccanismo di formazione dell'ATP, l'accettore finale di elettroni e la natura dei prodotti finali.

La respirazione anaerobica , che non utilizza l'ossigeno come accettore finale di elettroni, è effettuata da alcune forme batteriche che vivono in ambienti anaerobici, come i terreni paludosi, le acque stagnanti o l'intestino degli animali. Come nella respirazione aerobica, gli elettroni sono trasferiti dal glucosio al NADH, e da qui passano lungo una catena di trasporto degli elettroni che è accoppiata alla sintesi dell'ATP per chemiosmosi. In questo caso, però, l'accettore finale di elettroni, che nella respirazione aerobica è l'ossigeno molecolare, è costituito da una sostanza inorganica, come il nitrato ($NO_3^-$) o il solfato ($SO_4^{2-}$). I prodotti finali della respirazione anaerobica sono, oltre all'ATP, anidride carbonica e una o più sostanze inorganiche ridotte. La seguente equazione sintetizza un tipo rappresentativo di respirazione anaerobica,

che fa parte di un ciclo biogeochimico noto come ciclo dell'azoto (vedi Capitolo 55 ).

$$C_6H_{12}O_6 + 12\ KNO_3 \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O + 12\ KNO_2 + \text{energia (nei legami chimici dell'ATP)}$$

(Nitrato di potassio; Nitrito di potassio)

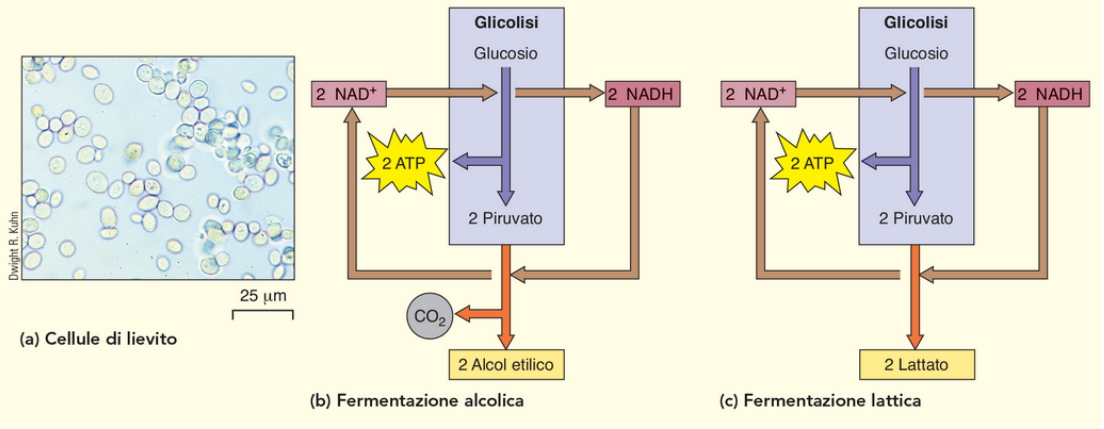
TABELLA 8-2
Un confronto tra respirazione aerobica, respirazione anaerobica e fermentazione

| | Respirazione aerobica | Respirazione anaerobica | Fermentazione |
|---|---|---|---|
| Destino degli elettroni trasportati dal NADH | Trasferimento alla catena di trasporto degli elettroni | Trasferimento alla catena di trasporto degli elettroni | Trasferimento a molecole organiche |
| Accettore finale di elettroni nella catena di trasporto degli elettroni | $O_2$ | Sostanze inorganiche come $NO_3^-$ o $SO_4^{2-}$ | Non c'è catena di trasporto degli elettroni |
| Prodotti ridotti formati | Acqua | Sostanze inorganiche relativamente ridotte | Composti organici relativamente ridotti (comunemente alcol o lattato) |
| Meccanismo della sintesi di ATP | Fosforilazione ossidativa/chemiosmosi; fosforilazione a livello del substrato | Fosforilazione ossidativa/chemiosmosi; fosforilazione a livello del substrato | Solo fosforilazione a livello del substrato (nella glicolisi) |

Altri batteri ed alcuni funghi usano regolarmente la fermentazione , un processo anaerobico che, a differenza della respirazione, non comprende una catena di trasporto elettronico, e perciò permette di produrre ATP soltanto mediante la fosforilazione a livello del substrato durante la glicolisi (solo due ATP per ogni molecola di glucosio). Ci si potrebbe aspettare che una cellula che trae energia dalla glicolisi accumuli piruvato (il prodotto finale della glicolisi). Questo però non succede, perché ogni cellula ha una scorta limitata di NAD + . Se tutto il NAD + si riducesse a NADH durante la glicolisi, quest'ultima si fermerebbe e non verrebbe più prodotto ATP.
Nella fermentazione, le molecole di NADH trasferiscono i loro atomi di idrogeno a molecole organiche, rigenerando così il NAD + necessario perché la glicolisi possa continuare. Le molecole organiche ridotte che vengono prodotte, generalmente alcol o lattato, sono prodotti di rifiuto tossici per le cellule stesse.
La TABELLA 8-2 riporta una comparazione tra respirazione aerobica, respirazione anaerobica e fermentazione.

## La fermentazione alcolica e la fermentazione lattica sono energeticamente inefficienti

I lieviti sono anerobi facoltativi : quando è disponibile ossigeno, effettuano la respirazione aerobica, ma passano alla fermentazione alcolica quando privati dell'ossigeno ( FIG. 8-14a ). Questi eucarioti, funghi unicellulari, possiedono infatti enzimi che decarbossilano il piruvato, rilasciando anidride carbonica e formando un composto a due atomi di carbonio chiamato acetaldeide . Il NADH prodotto durante la glicolisi trasferisce gli atomi di idrogeno all'acetaldeide, riducendola ad alcol etilico ( FIG. 8-14b ). La fermentazione alcolica è il processo alla base della produzione di birra, vino ed altre bevande alcoliche. Le cellule di lievito sono utilizzate anche nella panificazione, perché l'anidride carbonica prodotta durante la fermentazione è responsabile del processo di lievitazione (l'alcol evapora durante la cottura dell'impasto).




**PUNTO CHIAVE** La fermentazione rigenera il NAD + necessario per la glicolisi.

FIGURA 8-14
La fermentazione
( a ) Cellule di lievito di birra ( Saccharomyces cerevisiae ) al microscopio ottico. I lieviti possiedono mitocondri e svolgono la respirazione aerobica quando è disponibile ossigeno molecolare. In assenza di ossigeno, invece, essi svolgono la fermentazione alcolica ( b, c). La prima parte della fermentazione è rappresentata dalla glicolisi. Nella fermentazione alcolica ( b ), viene eliminata anidride carbonica e il prodotto finale è l'alcol etilico, molecola a due atomi di carbonio. Nella fermentazione lattica (c), il prodotto finale è il lattato, molecola a tre atomi di carbonio. Sia nella fermentazione alcolica che in quella lattica vi è una resa energetica pari a solo due molecole di ATP per molecola di glucosio. Da notare che il NAD + utilizzato durante la glicolisi è rigenerato sia nella fermentazione alcolica che nella fermentazione lattica.

Alcuni funghi e batteri effettuano invece la fermentazione lattica . In questa via alternativa, il NADH prodotto durante la glicolisi trasferisce gli atomi di idrogeno direttamente al piruvato per formare *lattato* (acido lattico) ( FIG. 8-14c ). Anche la capacità di alcuni batteri di trasformare il piruvato in lattato è sfruttata dall'uomo: basti pensare alla produzione dello yogurt e alla fermentazione dei cavoli nella preparazione dei crauti.
Il lattato viene prodotto anche nelle cellule muscolari. Un esercizio può causare fatica e crampi muscolari, probabilmente a causa di carenza di ossigeno, diminuzione di molecole combustibili ed accumulo di acido lattico durante un'intensa attività fisica. Infatti, se la quantità di ossigeno portato alle cellule muscolari è insufficiente per sostenere la respirazione aerobica, come durante una corsa veloce, queste passano a svolgere temporaneamente la fermentazione lattica. Il cambiamento di metabolismo è solo temporaneo, e l'ossigeno è comunque richiesto per sostenere un lavoro continuato nel tempo. Circa l'80% del lattato è trasportato dalle cellule muscolari al fegato, nelle cui cellule è utilizzato per sintetizzare nuove molecole di glucosio, che possono tornare alle cellule muscolari. Il restante 20% è metabolizzato nelle stesse cellule muscolari quando sufficiente ossigeno è di nuovo a loro disposizione. È questo il motivo per cui, dopo che una fatica fisica pesante è terminata, il respiro continua ad essere affannoso: una quantità addizionale di ossigeno è infatti richiesta dal nostro corpo per ossidare il lattato accumulato nelle cellule muscolari e riportare così queste cellule alle loro condizioni normali.
Anche se l'uomo può utilizzare la fermentazione lattica per produrre ATP solo per pochi minuti, esistono alcuni animali che possono sopravvivere in assenza di ossigeno per periodi molto più lunghi. La testuggine dalle guance rosse, una tartaruga di acqua dolce, può rimanere sott'acqua per un periodo di due settimane. Durante questo periodo, è relativamente inattiva, per cui non spende grandi quantità di energia. Essa si affida alla sola fermentazione lattica per produrre l'ATP necessario alla sua vita.
Sia la fermentazione alcolica che quella lattica sono poco efficienti, perché il substrato viene ossidato solo parzialmente. L'alcol etilico, il prodotto finale della fermentazione nelle cellule di lievito, può essere bruciato e persino usato come combustibile per le automobili: è chiaro, quindi, che contiene ancora molta energia che le cellule del lievito non sono in grado di estrarre mediante processi anaerobici. L'acido lattico, composto a tre atomi di carbonio, contiene ancora più energia dell'alcol etilico. Al contrario, durante la respirazione aerobica, tutta l'energia disponibile viene estratta, perché le molecole di substrato vengono ossidate completamente ad anidride carbonica. Durante la fermentazione, si ha una resa netta di sole due molecole di ATP per una molecola di glucosio, contro le 36-38 che si ottengono quando si può utilizzare l'ossigeno.
L'inefficiente metabolismo anaerobico necessita di grosse quantità di substrato. Per svolgere una certa quantità di lavoro, una cellula che utilizza la fermentazione deve consumare fino a 20 volte più glucosio, o un altro carboidrato, di una cellula che invece utilizza la respirazione aerobica. Per questo motivo, le cellule muscolari scheletriche accumulano grandi quantità di glucosio sotto forma di glicogeno, che permettono loro di adottare un metabolismo anaerobico per brevi periodi.

**Verifica**

- Qual è il destino degli atomi di idrogeno rimossi dal glucosio durante la glicolisi quando nelle cellule muscolari è presente l'ossigeno? Fate il confronto con il destino degli atomi di idrogeno rimossi dal glucosio quando la quantità di ossigeno disponibile non è sufficiente a sostenere la respirazione aerobica.
- Perché la quantità di ATP prodotta con la fermentazione rappresenta solo una piccola frazione di quella prodotta con la respirazione aerobica?

## Reazioni complessive della respirazione aerobica

Reazione complessiva dell'ossidazione completa del glucosio:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O \longrightarrow 6\,CO_2 + 12\,H_2O + \text{energia (36 a 38 ATP)}$$

Reazione complessiva della glicolisi:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,ATP + 2\,ADP + 2\,P_i + 2\,NAD^+ \longrightarrow 2\,\text{piruvato} + 4\,ATP + 2\,NADH + H_2O$$

Reazione complessiva della conversione del piruvato in acetil CoA:

$$2\,\text{piruvato} + 2\,\text{coenzima A} + 2\,NAD^+ \longrightarrow 2\,\text{acetil CoA} + 2\,CO_2 + 2\,NADH$$

Reazione complessiva del ciclo dell'acido citrico:

$$2\,\text{acetil CoA} + 6\,NAD^+ + 2\,FAD + 2\,ADP + 2\,P_i + 2\,H_2O \longrightarrow 4\,CO_2 + 6\,NADH + 2\,FADH_2 + 2\,ATP + 2\,CoA$$

Reazioni complessive del processamento degli atomi di idrogeno di NADH e FADH 2 nella catena di trasporto degli elettroni:

$$NADH + 3\,ADP + 3\,P_i + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow NAD^+ + 3\,ATP + H_2O$$

$$FADH_2 + 2\,ADP + 2\,P_i + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow FAD^+ + 2\,ATP + H_2O$$

## Reazioni complessive della fermentazione

Reazione complessiva della fermentazione lattica:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\,CO_2 + 2\,\text{alcol etilico} + \text{energia (2 ATP)}$$

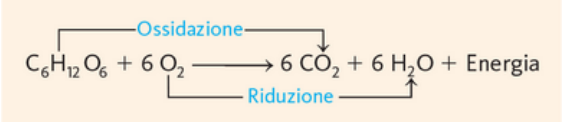
Reazione complessiva della fermentazione alcolica:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\,\text{lattato} + \text{energia (2 ATP)}$$

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

8.1

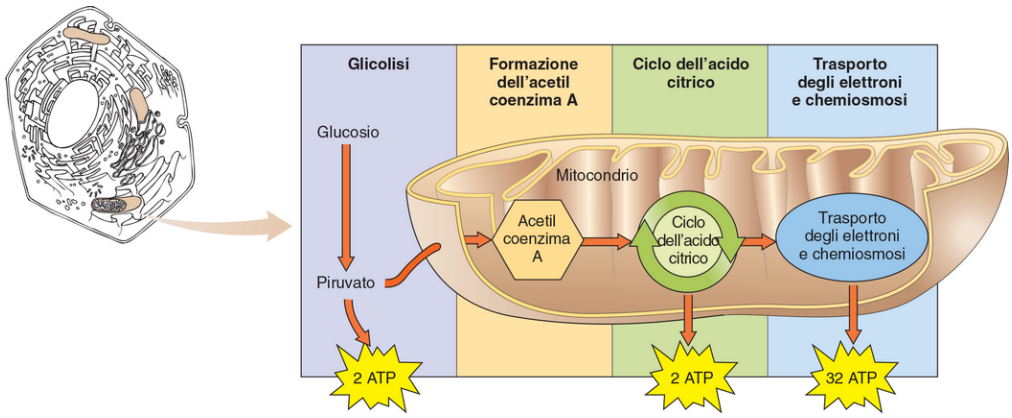
1. Scrivere la reazione complessiva della respirazione aerobica, indicando quali reagenti vengono ossidati e quali vengono ridotti.



- La respirazione aerobica è un processo catabolico in cui una molecola di combustibile, come il glucosio, viene degradata per formare anidride carbonica ed acqua. Essa include reazioni redox che comportano il trasferimento di elettroni dal glucosio (che viene ossidato ) all'ossigeno (che viene ridotto ).
- L'energia rilasciata con la respirazione aerobica è utilizzata per produrre da 36 a 38 molecole di ATP per ogni molecola di glucosio.

8.2

2. Elencare e descrivere i quattro stadi della respirazione aerobica.
    - Le reazioni chimiche della respirazione aerobica avvengono in quattro stadi: glicolisi, formazione dell'acetil CoA, ciclo dell'acido citrico e catena di trasporto degli elettroni/chemiosmosi.
    - Nel corso della glicolisi , si ha la scissione di una molecola di glucosio in due molecole di piruvato , sono prodotte due molecole di ATP mediante fosforilazione a livello del substrato e quattro atomi di idrogeno sono sottratti ed utilizzati per formare due molecole di NADH.
    - Nel corso della formazione dell' acetil CoA , ciascuna delle due molecole di piruvato rilascia una molecola di anidride carbonica e i due gruppi acetile residui si combinano con il coenzima A per formare due molecole di acetil CoA. Per ciascuna molecola di piruvato, si produce una molecola di NADH.
    - Ciascuna molecola di acetil CoA entra nel ciclo dell' acido citrico combinandosi con l' ossalacetato (composto a quattro atomi di carbonio) per formare citrato (composto a sei atomi di carbonio). Due molecole di acetil CoA entrano nel ciclo per ogni molecola di glucosio. Per ciascuna coppia di atomi di carbonio che entra nel ciclo trasportata dall'acetil CoA, due ne escono in forma di anidride carbonica. Per ciascuna molecola di acetil CoA, atomi di idrogeno sono trasferiti a tre molecole di NAD + e ad una di FAD; una sola molecola di ATP è prodotta mediante fosforilazione a livello del substrato.
    - Gli atomi di idrogeno (e i loro elettroni) rimossi dalle molecole di substrato sono trasferiti da un accettore di elettroni all'altro attraverso una catena di trasporto degli elettroni situata nella membrana mitocondriale interna; infine, questi elettroni riducono l'ossigeno molecolare, formando acqua. Nella fosforilazione ossidativa , le reazioni redox nella catena di trasporto degli elettroni sono accoppiate alla sintesi di ATP mediante il meccanismo della chemiosmosi .




3. Indicare in quali parti di una cellula eucariotica avvengono le reazioni di ciascuno stadio della respirazione aerobica.
    - La glicolisi ha luogo nel citosol, mentre gli altri stadi della respirazione aerobica avvengono nel mitocondrio.
4. Sommare l'energia catturata (in forma di ATP, NADH e FADH 2 ) in ciascuno stadio della respirazione aerobica.
    - Nel corso della glicolisi, per ciascuna molecola di glucosio c'è una produzione netta di 2 NADH e 2 ATP. La conversione di due molecole di piruvato in acetil CoA porta alla formazione di 2 NADH. Nel ciclo dell'acido citrico, le due molecole di acetil CoA sono metabolizzate con formazione di 6 NADH, 2 FADH 2 e 2 ATP. Sommando tutti i termini, si ottengono 4 ATP, 10 NADH e 2 FADH 2 .
    - Quando le 10 molecole di NADH e le 2 molecole di FADH 2 passano attraverso la catena di trasporto degli elettroni, vengono prodotte da 32 a 34 molecole di ATP mediante la chemiosmosi. Perciò, ciascuna molecola di glucosio produce in totale da 36 a 38 molecole di ATP.

5. Definire la chemiosmosi e spiegare le modalità di formazione del gradiente protonico attraverso la membrana mitocondriale interna.
    - Nella chemiosmosi, parte dell'energia liberata dagli elettroni durante il loro trasferimento lungo la catena di trasporto è utilizzata per pompare protoni attraverso la membrana mitocondriale interna nello spazio intermembrana; si stabilisce così un gradiente protonico attraverso la membrana mitocondriale interna. I protoni (H + )si accumulano nello spazio intermembrana abbassandone il pH.
6. Descrivere il processo con cui il gradiente di protoni dirige la sintesi di ATP nella chemiosmosi.
    - La diffusione dei protoni dallo spazio intermembrana alla matrice mitocondriale attraverso i canali formati dall'enzima ATP sintasi nella membrana mitocondriale interna fornisce l'energia per la sintesi di ATP.

8.3

7. Elencare le varie modalità con cui i prodotti del catabolismo proteico e lipidico possono entrare nella stessa via metabolica che porta all'ossidazione del glucosio.
    - Gli aminoacidi subiscono deaminazione e il loro scheletro carbonioso viene trasformato in un intermedio metabolico della respirazione aerobica.
    - Sia il glicerolo che gli acidi grassi che costituiscono i lipidi sono utilizzati come molecole energetiche. Gli acidi grassi sono trasformati in molecole di acetil CoA mediante un processo detto β -ossidazione.

8.4

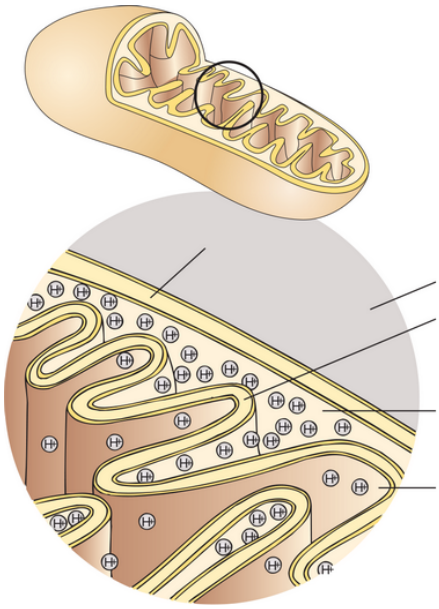
8. Confrontare la respirazione anaerobica e la fermentazione, considerando il meccanismo di formazione dell'ATP, l'accettore finale di elettroni e la natura dei prodotti finali.
    - Nella respirazione anaerobica , gli elettroni sono trasferiti dalle molecole di substrato ad una catena di trasporto degli elettroni che è accoppiata alla sintesi di ATP attraverso la chemiosmosi; l'accettore finale di elettroni è una sostanza inorganica come il nitrato o il solfato, e non l'ossigeno molecolare.
    - La fermentazione è un processo anaerobico che non utilizza una catena di trasporto degli elettroni e fornisce una resa pari a sole due molecole di ATP per molecola di glucosio, che sono prodotte durante la glicolisi per fosforilazione a livello del substrato. Per mantenere la riserva di NAD + essenziale per la glicolisi, gli atomi di idrogeno del NADH sono trasferiti ad un composto organico derivato dal substrato di partenza.
    - Le cellule di lievito svolgono la fermentazione alcolica , i cui prodotti finali di scarto sono l'alcol etilico e l'anidride carbonica.
    - Alcuni funghi, batteri e cellule animali svolgono la fermentazione lattica , nella quale gli atomi di idrogeno si legano al piruvato formando lattato, un prodotto di scarto.

## AUTOVERIFICHE

1. Il processo chimico durante il quale una sostanza acquista elettroni è denominato: (a) ossidazione; (b) fosforilazione ossidativa; (c) deaminazione; (d) riduzione; (e) deidrogenazione.
2. Quale delle seguenti sequenze di molecole sono corrette rispetto al loro valore energetico nella glicolisi? (Il simbolo: > significa "maggiore di") (a) Due molecole di piruvato > di una molecola di glucosio; (b) una molecola di glucosio > una molecola di fruttosio-1,6-difosfato; (c) due molecole di gliceraldeide-3-fosfato (G3P) > una molecola di glucosio (d) due molecole di piruvato > una di fruttosio-1,6-bifosfato; (e) due molecole di piruvato > due molecole di gliceraldeide-3-fosfato (G3P).
3. Le reazioni della_____avvengono nel citosol delle cellule eucariotiche: (a) glicolisi; (b) ossidazione del piruvato; (c) ciclo dell'acido citrico; (d) chemiosmosi; (e) catena di trasporto degli elettroni.
4. Prima di entrare nel ciclo dell'acido citrico, il piruvato è decarbossilato, ossidato e combinato con il coenzima A, formando acetil CoA, anidride carbonica e una molecola di: (a) NADH; (b) $FADH_2$ ; (c) ATP; (d) ADP; (e) $C_6H_{12}O_6$ .
5. Nel primo stadio del ciclo dell'acido citrico, l'acetil CoA reagisce con l'ossalacetato per formare: (a) piruvato; (b) citrato; (c) NADH; (d) ATP; (e) $CO_2$ .
6. Quale delle seguenti è la maggiore sorgente di elettroni che fluiscono attraverso la catena di trasporto degli elettroni mitocondriale? (a) $H_2O$; (b) ATP; (c) NADH; (d) ATP sintasi; (e) coenzima A.
7. La parte "aerobica" della respirazione cellulare aerobica si verifica durante: (a) glicolisi; (b) conversione del piruvato ad acetil CoA; (c) ciclo dell'acido citrico; (d) trasporto degli elettroni; (e) tutti i processi sopraindicati sono aerobici.
8. La fosforilazione a livello del sbstrato: (a) si verifica con un meccanismo chemiosmotico; (b) avviene per la maggior parte delle molecole di ATP che si formano durante la respirazione cellulare aerobica;

(c) avviene durante la conversione del piruvato ad acetil CoA (d) avviene durante la glicolisi e il ciclo dell'acido citrico; (e) richiede elettroni ad alta energia dal NADH.

9. Quale delle seguenti è la sequenza corretta di molecole riguardo il loro valore energetico? (Il simbolo: > significa "maggiore di") (a) ATP = NADH; (b) NAD + > NADH; (c) FAD > FADH 2 ; (d) NADH > ATP.
10. Una resa netta di solo due molecole di ATP è fornita anaerobicamente dalla _____ di una molecola di glucosio, contro un massimo di 38 ATP prodotti nella _____. (a) Fermentazione, respirazione anaerobica; (b) respirazione aerobica, fermentazione; (c) respirazione aerobica, respirazione anaerobica; (d) deidrogenazione, decarbossilazione; (e) fermentazione, respirazione aerobica.
11. Quando private di ossigeno, le cellule di lievito ottengono energia dalla fermentazione, producendo anidride carbonica, ATP e: (a) acetil CoA; (b) alcol etilico; (c) lattato; (d) piruvato; (e) citrato.
12. Aggiungete la didascalia alla figura sottostante. Fate riferimento alla Figura 8-10 per verificare le risposte.



**PENSIERO CRITICO**

1. Come fanno le reazioni endoergoniche della prima fase della glicolisi ad essere accoppiate all'idrolisi di ATP, che è esoergonica? Come fanno le reazioni esoergoniche della seconda fase della glicolisi ad essere accoppiate alla sintesi endoergonica di ATP e NADH?
2. Qual è il ruolo della membrana mitocondriale interna nell'accoppiamento del trasporto di elettroni alla sintesi di ATP? La membrana potrebbe svolgere ugualmente la sua funzione se il suo doppio strato lipidico fosse completamente permeabile agli ioni idrogeno (protoni)?
3. Sulla base di quanto avete imparato in questo capitolo, spiegate perché un ragazzo può correre a quasi 30 km orari i 100 metri piani, ma un atleta allenato può correre solo a circa 20 km orari i 42 chilometri di una maratona.
4. Quando si perde peso, dove finisce?
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Le reazioni della glicolisi sono identiche in tutti gli organismi – procarioti, protisti, funghi, piante e animali – che ottengono energia dal catabolismo del glucosio. Che cosa vi suggerisce questa universalità della glicolisi circa la sua evoluzione?
6. CONNESSIONE EVOLUTIVA . L'ossigeno molecolare è così reattivo che l'atmosfera terrestre oggi non esisterebbe se esso non fosse continuamente rifornito dagli organismi che rilasciano ossigeno come prodotto di scarto della fotosintesi. Cosa vi suggerisce questa osservazione sull'evoluzione dei processi di respirazione aerobica e di rilascio fotosintetico di ossigeno?

# Articolo IX. Fotosintesi: la cattura dell'energia luminosa 9

Osservate tutti gli esseri viventi che vi circondano — gli alberi, il vostro pesciolino rosso, il vostro stesso corpo. La maggior parte della loro biomassa è costituita da molecole organiche a base di carbonio. Qual è la sorgente ultima di tutto questo carbonio? Qualcuno si sorprenderà, ma la sorgente è rappresentata dall'anidride carbonica presente nell'aria. Le vostre cellule non sono capaci di catturare l'anidride carbonica dall'aria e di incorporarla nelle molecole organiche, mentre alcune cellule vegetali possono farlo. Il processo che utilizzano è la fotosintesi , la sequenza di eventi con cui l'energia luminosa è convertita nell'energia chimica immagazzinata nelle molecole organiche. La fotosintesi è il primo passaggio del flusso di energia attraverso la maggior parte del mondo vivente, catturando la gran parte dell'energia che gli organismi viventi utilizzano. La fotosintesi sostiene non solo le piante (vedi fotografia) e gli altri organismi fotosintetici, come le alghe e i batteri fotosintetici, ma indirettamente anche la maggior parte degli organismi non fotosintetici, come gli animali, i funghi, i protozoi e la gran parte dei batteri.

Ogni anno gli organismi fotosintetici convertono la CO 2 in miliardi di tonnellate di molecole organiche. Queste molecole ricoprono due ruoli importanti sia negli organismi fotosintetici che in quelli non

fotosintetici: costituiscono i mattoni per la costruzione delle cellule e, come si è visto nel Capitolo 8 , rappresentano una sorgente di energia chimica che alimenta le reazioni metaboliche che sostengono quasi tutte le forme di vita.
La fotosintesi rilascia anche O 2 , che è essenziale per la respirazione cellulare aerobica, il processo mediante il quale piante, animali e la maggior parte degli altri organismi convertono l'energia chimica di legame in ATP che alimenta i processi metabolici cellulari.
In questo capitolo, esamineremo dapprima il modo in cui l'energia luminosa è utilizzata nella sintesi dell'ATP e di altre molecole che immagazzinano temporaneamente energia chimica, ma sono instabili e non possono essere accumulate nella cellula. Vedremo poi come la loro energia alimenti la via anabolica con cui una cellula fotosintetica sintetizza molecole organiche stabili a partire da CO 2 ed acqua, che sono composti inorganici semplici. Infine, analizzeremo il ruolo della fotosintesi nelle piante e nell'ambiente terrestre.

## 9.1 LUCE E FOTOSINTESI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

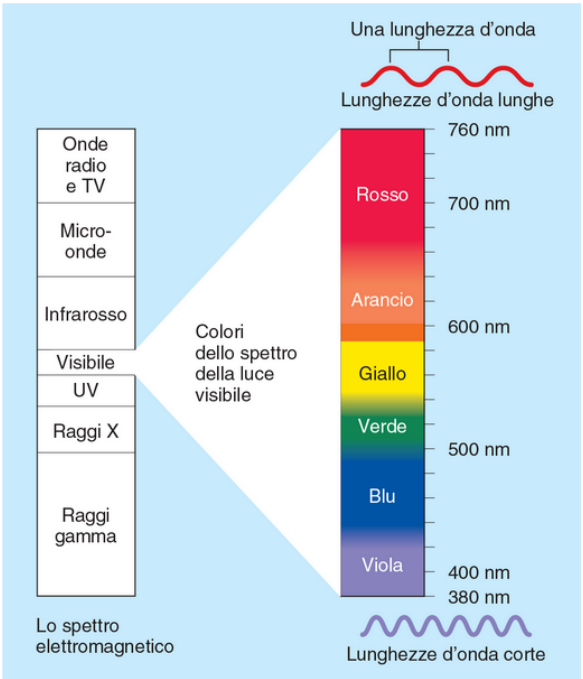
1. Descrivere le proprietà fisiche della luce e spiegare la relazione che intercorre tra la lunghezza d'onda della luce e la sua energia.

Poiché quasi tutta la vita sul nostro pianeta dipende dalla luce, in maniera diretta o indiretta, è molto importante comprendere la natura della luce e il meccanismo mediante il quale essa consente la realizzazione della fotosintesi. La luce visibile è una piccolissima porzione di un vasto spettro continuo di radiazioni, chiamato *spettro elettromagnetico* ( FIG. 9-1 ). Ogni tipo di radiazione in questo spettro ha natura ondulatoria, ed è perciò caratterizzato da una lunghezza d'onda , cioè la distanza fra due picchi successivi dell'onda stessa.

Ad un estremo dello spettro vi sono i raggi gamma, che hanno una lunghezza d'onda molto corta misurata in frazioni di nanometro, o nm (1 nanometro equivale a 10 –9 m), ed all'altro estremo vi sono le onde radio, che hanno lunghezze d'onda talmente grandi da essere misurate in chilometri. La porzione dello spettro elettromagnetico compresa fra 380 a 760 nm è chiamata *spettro visibile* perché l'occhio dell'uomo è sensibile a tali lunghezze d'onda. Lo spettro visibile comprende tutti i colori dell'arcobaleno ( FIG. 9-2 ); il violetto ha la lunghezza d'onda più corta, il rosso la più lunga.

La luce appare costituita da particelle o pacchetti di energia chiamati fotoni . L'energia di un fotone è inversamente proporzionale alla sua lunghezza d'onda: minore è la lunghezza d'onda della radiazione, maggiore è l'energia per fotone.

Per quale ragione la fotosintesi dipende dalla luce percepibile dall'occhio umano (luce visibile) e non da radiazioni di diversa lunghezza d'onda? A questa domanda possiamo dare solo risposte ipotetiche. Forse perché la luce visibile eccita certi tipi di molecole biologiche, spostandone gli elettroni su livelli energetici più alti. Radiazioni con lunghezze d'onda maggiori del visibile non possiedono energia sufficiente ad eccitare le molecole biologiche, mentre quelle a lunghezza d'onda minore possono addirittura spezzarne i legami a causa del loro elevato contenuto energetico. Dunque, la luce visibile possiede proprio la giusta quantità di energia che può essere utile per la fotosintesi.




←FIGURA 9-1 *Lo spettro elettromagnetico*
Le onde dello spettro elettromagnetico hanno caratteristiche simili, ma differenti lunghezze d'onda. Le onde radio sono le più lunghe (lunghezze d'onda di circa 20 km) e le meno energetiche, mentre i raggi gamma sono le onde più corte e più energetiche. La luce visibile rappresenta una piccola frazione dello spettro elettromagnetico ed è compresa in un intervallo di lunghezze d'onda che va da 380 a 760 nm circa. Nella fotosintesi è utilizzata l'energia della luce visibile.

Quando una molecola assorbe l'energia di un fotone, questa energia è catturata da uno dei suoi elettroni, che diventa eccitato, cioè passa da un orbitale a bassa energia ad un altro a

più elevato contenuto energetico e localizzato più lontano dal nucleo. In queste condizioni, a seconda dell'atomo e del suo ambiente circostante, possono verificarsi due eventi ( FIG. 9-3 ): l'atomo ritorna allo stato fondamentale (stato in cui tutti i suoi elettroni sono nella condizione normale di più basso contenuto energetico) e l'energia acquisita viene dispersa come calore o come luce di lunghezza d'onda maggiore di quella della luce assorbita (questa emissione di luce è chiamata fluorescenza ), oppure l'elettrone eccitato lascia l'atomo e può essere catturato da una molecola accettrice di elettroni, che si riduce. Questo è esattamente ciò che avviene nella fotosintesi.

Avendo compreso alcune delle proprietà della luce, passiamo ad esaminare gli organelli cellulari che utilizzano la luce per compiere la fotosintesi.

FIGURA 9-2→
*La radiazione visibile emessa dal sole*
La radiazione elettromagnetica proveniente dal sole contiene raggi ultravioletti e luce visibile di diversi colori e lunghezze d'onda.

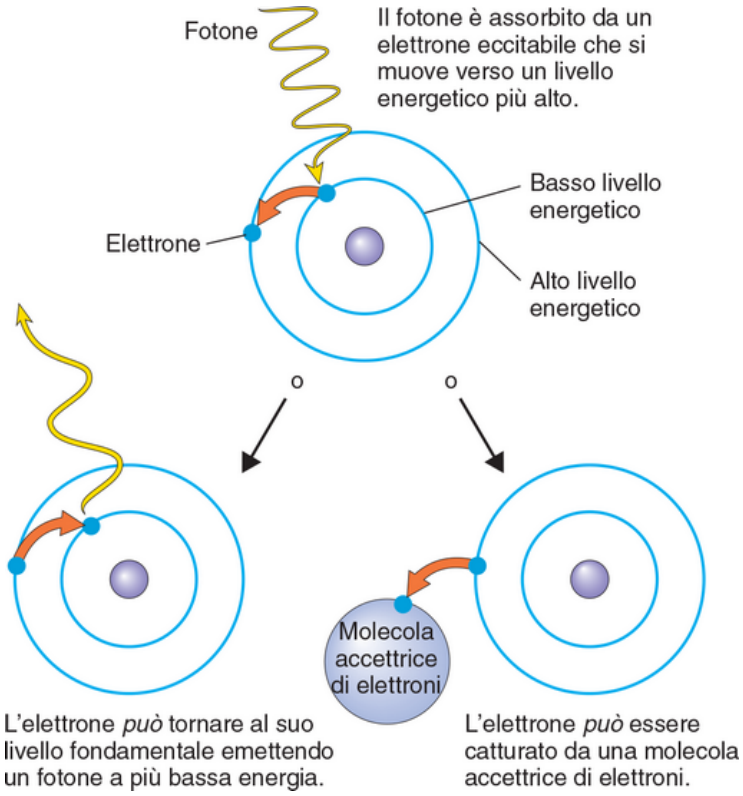



FIGURA 9-3
*Interazioni tra luce e atomi o molecole*
( In alto ) Quando un fotone di energia luminosa colpisce un atomo, o una molecola di cui l'atomo fa parte, l'energia del fotone può spingere un elettrone in un orbitale più lontano dal nucleo (cioè ad un livello energetico più alto). ( In basso a sinistra ) Se l'elettrone ritorna nel livello energetico più basso, che è più stabile, viene emesso un fotone a contenuto energetico più basso ma di lunghezza d'onda maggiore, fenomeno noto come fluorescenza ( mostrato ), o come calore. ( In basso a destra ) Se è disponibile un appropriato accettore di elettroni, l'elettrone può abbandonare l'atomo. Durante la fotosintesi, un accettore primario di elettroni cattura l'elettrone eccitato e lo trasferisce lungo una catena di accettori di elettroni.

**Verifica**
- Perché la fotosintesi necessita della luce visibile?
- La luce di quale colore ha la lunghezza d'onda maggiore, il violetto o il rosso?
- La luce di quale colore ha la maggiore energia per fotone, il violetto o il rosso?

## 9.2 I CLOROPLASTI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Illustrare la struttura interna di un cloroplasto e spiegare come i suoi componenti interagiscono, permettendo lo svolgimento del processo fotosintetico.
2. Descrivere il destino di un elettrone di una molecola biologica come la clorofilla quando questa assorbe un fotone di energia luminosa.

Osservando al microscopio la sezione di una foglia, si può vedere come il pigmento verde, la clorofilla, non sia distribuito uniformemente nelle cellule, ma sia concentrato in piccoli organuli detti cloroplasti. Nelle piante, i cloroplasti sono localizzati principalmente all'interno della foglia, nelle cellule del mesofillo , un tessuto con numerosi spazi intercellulari ed una elevatissima concentrazione di vapore acqueo (FIG. 9-4a). L'interno della foglia effettua scambi gassosi con l'esterno attraverso pori microscopici, chiamati stomi (sing. stoma ). Ogni cellula del mesofillo contiene approssimativamente un numero di cloroplasti compreso tra 20 e 100.

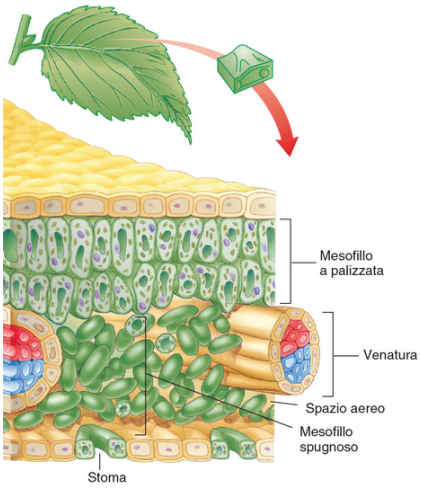
Il cloroplasto, similmente al mitocondrio, è delimitato da due membrane, una esterna ed una interna ( FIG. 9-4b ). La membrana interna racchiude una regione contenente una matrice fluida chiamata stroma , in cui si trova la maggior parte degli enzimi necessari per la produzione di molecole di carboidrati. Sospeso nello stroma vi è un terzo sistema di membrane, che forma un insieme di sacculi appiattiti a forma di disco interconnessi tra loro, detti tilacoidi.

Le membrane tilacoidali racchiudono uno spazio interno, detto lume tilacoidale , ripieno di liquido. In alcune regioni, i tilacoidi sono disposti in pile chiamate grana (sing. *granum*). Ogni granum sembra una pila di monete, in cui una singola moneta è rappresentata da un disco tilacoidale. Alcune membrane tilacoidali si estendono da un granum ad un altro. Le membrane tilacoidali, similmente alla membrana mitocondriale interna (vedi Capitolo 8 ), sono coinvolte nella sintesi di ATP. (I procarioti fotosintetici non hanno cloroplasti, ma possiedono membrane tilacoidali, generalmente organizzate nella zona periferica della cellula, che prendono origine da introflessioni della membrana plasmatica).

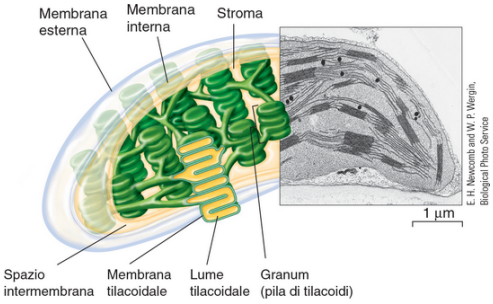
## La clorofilla si trova nella membrana tilacoidale

Le membrane tilacoidali contengono diversi tipi di pigmenti , cioè sostanze che assorbono la luce visibile. I vari pigmenti assorbono luce di diverse lunghezze d'onda. La clorofilla , il pigmento fondamentale della fotosintesi, assorbe luce principalmente nelle regioni del blu e del rosso dello spettro visibile. La luce verde non è invece assorbita in modo apprezzabile, ma per la maggior parte è trasmessa o riflessa dalle foglie; la conseguenza di questo fenomeno è proprio l'aspetto verde degli apparati fogliari delle piante.

La molecola della clorofilla è formata da due parti fondamentali, un anello complesso e una lunga catena laterale ( FIG. 9-5 ). La struttura ad anello, chiamata *anello porfirinico*, è costituita da anelli più piccoli di atomi di carbonio e azoto (*anelli pirrolici*) uniti tra loro; l'anello porfirinico è deputato all'assorbimento di energia luminosa. La struttura porfirinica della clorofilla è molto simile al gruppo eme dell'emoglobina, il pigmento rosso contenuto nei globuli rossi. Tuttavia, diversamente dall'eme, che contiene un atomo di ferro al centro dell'anello, la clorofilla contiene in quella posizione un atomo di magnesio. La molecola di clorofilla contiene anche una lunga catena idrocarburica laterale che la rende estremamente apolare e la àncora alla membrana.




**(a)** Questa sezione trasversale della foglia mostra che il mesofillo è il tessuto fotosintetico. La $CO_2$ penetra nella foglia attraverso minuscoli pori o stomi, e l'$H_2O$ è trasportata al mesofillo dai vasi.




**(b)** Nel cloroplasto, i pigmenti necessari per la cattura della luce nelle reazioni della fase luminosa della fotosintesi sono inseriti nelle membrane tilacoidali, mentre gli enzimi per la sintesi delle molecole di carboidrati sono contenuti nello stroma.

Tutte le molecole di clorofilla delle membrane tilacoidali sono associate con specifiche *proteine che legano la clorofilla*, di cui ne sono stati identificati circa 15 tipi differenti. Ogni membrana tilacoidale è riempita da molecole di clorofilla e da proteine che legano la clorofilla, orientate in modo preciso, un'organizzazione che permette il trasferimento dell'energia da una molecola all'altra.

Esistono diversi tipi di clorofilla. La più importante è la clorofilla a, il pigmento che inizia le reazioni luce-dipendenti. La clorofilla b è un pigmento accessorio che prende anch'esso parte alla fotosintesi, e differisce dalla clorofilla a soltanto in un gruppo funzionale dell'anello porfirinico: il gruppo metilico (—$CH_3$ ) della clorofilla a è rimpiazzato nella clorofilla b da un gruppo carbonilico (—CHO) terminale. Questa differenza sposta la lunghezza d'onda della luce assorbita e, conseguentemente, di quella riflessa dalla clorofilla b, facendola apparire giallo-verde, mentre la clorofilla a è verde brillante.

I cloroplasti contengono anche altri pigmenti fotosintetici accessori, come i carotenoidi , di colore giallo e arancio (vedi Fig. 3-14 ). I carotenoidi assorbono luce di lunghezza d'onda diversa da quella della clorofilla, allargando così lo spettro di luce che fornisce energia per la fotosintesi. La clorofilla può essere eccitata direttamente dalla luce o indirettamente da altri pigmenti a loro volta eccitati dalla luce. Quando una molecola di carotenoide è eccitata, la sua energia può essere trasferita alla clorofilla a . Inoltre, i carotenoidi sono antiossidanti capaci di inattivare le forme dell'ossigeno altamente reattive generate nel cloroplasto.

←FIGURA 9-4 *I siti della fotosintesi*

## La clorofilla è il principale pigmento fotosintetico

Come abbiamo visto, la membrana tilacoidale contiene pigmenti di diverso tipo. Mediante uno strumento chiamato *spettrofotometro* è possibile misurare le capacità relative dei vari pigmenti di assorbire luce a diverse lunghezze d'onda. Lo spettro di assorbimento di un pigmento è una rappresentazione grafica dell'assorbimento delle diverse lunghezze d'onda della luce. La FIGURA 9-6a mostra gli spettri di assorbimento per la clorofilla a e la clorofilla b.

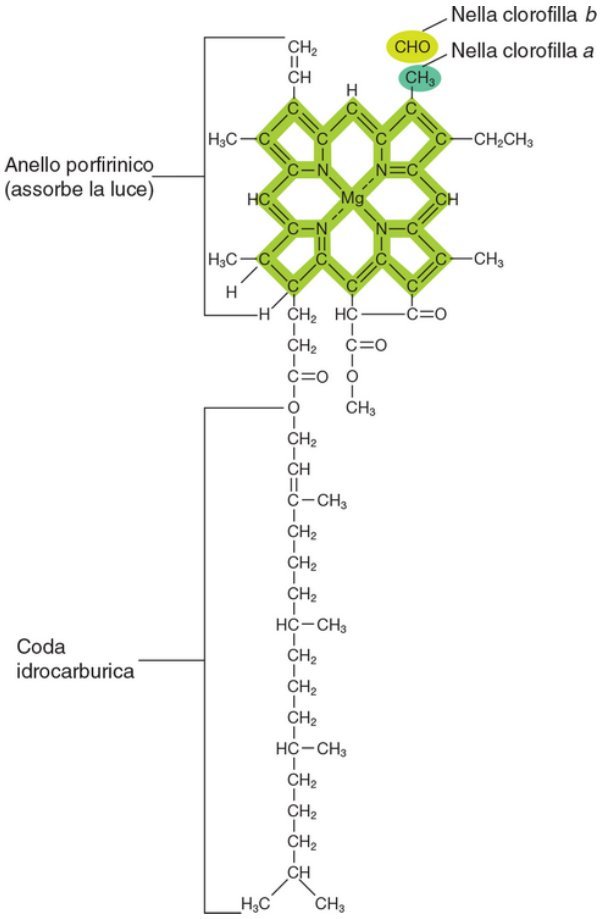
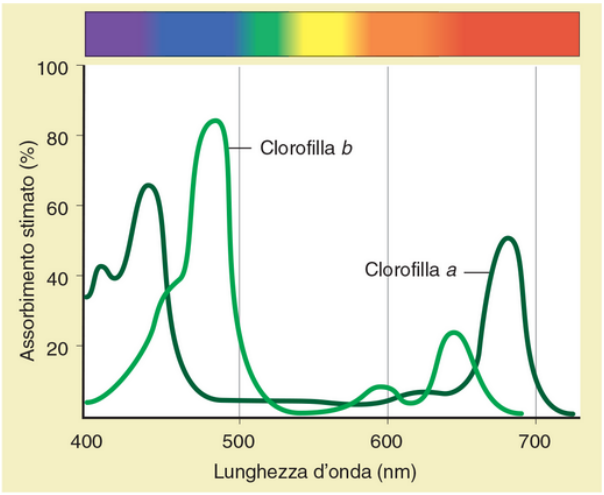
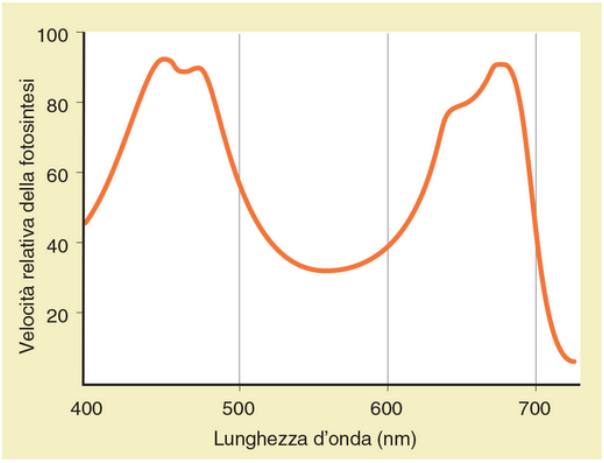



FIGURA 9-5→
*La struttura della clorofilla*
La clorofilla è costituita da un anello porfirinico e da una catena laterale idrocarburica. L'anello porfirinico, che ha al centro un atomo di magnesio, è una molecola contenente un sistema alternato di legami singoli e doppi; questa struttura si incontra comunemente nelle molecole dotate della proprietà di assorbire fortemente certe lunghezze d'onda della luce visibile e di rifietterne altre (la clorofilla riflette il verde). Nell'angolo in alto a destra del diagramma, un gruppo metilico (—CH 3 ) distingue la clorofilla a dalla clorofilla b , che nella stessa posizione ha un gruppo carbonilico (—CHO). La catena laterale idrocarburica è idrofobica ed ancora la clorofilla alla membrana tilacoidale.




**(a)** Le clorofille *a* e *b* assorbono luce principalmente nelle regioni del blu (da 422 a 492 nm) e del rosso (da 647 a 760 nm).




**(b)** Lo spettro di azione della fotosintesi indica l'efficacia di diverse lunghezze d'onda della luce nel promuovere la fotosintesi. Per molte specie di piante lo spettro di azione della fotosintesi ricade nello spettro di azione mostrato in figura

Uno spettro di azione della fotosintesi è un grafico della efficacia relativa di differenti lunghezze d'onda della luce. Per ottenere uno spettro di azione, si misura la velocità della fotosintesi ad ogni lunghezza d'onda per foglie o tessuti esposti alla luce monocromatica (luce di una sola lunghezza d'onda) ( FIG. 9-6b ).

Il primo spettro di azione fuottenuto nel 1883, in un esperimento divenuto un classico della biologia, ad opera del biologo tedesco T. W. Engelmann, il quale si servì dei cloroplasti della Spirogyra , un'alga verde di forma filamentosa che vive in acque dolci stagnanti o molto lente ( FIGURE 9-7 ). Le singole cellule di Spirogyra contengono nel citoplasma un cloroplasto verde smeraldo a forma di lunga spirale. Engelmann espose queste cellule a uno spettro di colori ottenuto facendo passare la luce attraverso un prisma. Egli ipotizzò che se la clorofilla fosse stata veramente responsabile dei processi fotosintetici, questi sarebbero stati effettuati più velocemente in quelle aree dell'alga colpite dalla luce della lunghezza d'onda maggiormente assorbita dalla clorofilla stessa.

←FIGURA 9-6
*Un confronto tra gli spettri di assorbimento della clorofilla a e della clorofilla b e lo spettro di azione della fotosintesi*

**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE:* È un pigmento presente nel cloroplasto ad essere responsabile della fotosintesi?

SVILUPPARE UN'IPO TESI: Engelmann ipotizzò che la clorofilla fosse il principale pigmento fotosintetico. In base a questo, egli si aspettava di osservare differenze nell'entità della fotosintesi, misurata in termini di quantità di ossigeno prodotto, a seconda delle lunghezze d'onda della luce utilizzate; si aspettava anche che tali lunghezze d'onda fossero coerenti con lo spettro di assorbimento della clorofilla, che era noto.

EFFETTUARE ESPERIMENTI: La fotografia in (a) mostra cellule dell'alga filamentosa Spirogyra , che contengono un lungo cloroplasto a forma di spirale. Il disegno in (b) mostra il modo in cui Engelmann utilizzò un prisma per esporre le cellule ad una luce che era stata scomposta in varie lunghezze d'onda. Egli stimò la formazione di ossigeno (che sapeva essere un prodotto della fotosintesi) sfruttando il fatto che alcuni batteri aerobi ne sarebbero stati attratti. Come controllo ( non mostrato ), espose allo spettro luminoso anche i batteri in assenza di cellule di Spirogyra .

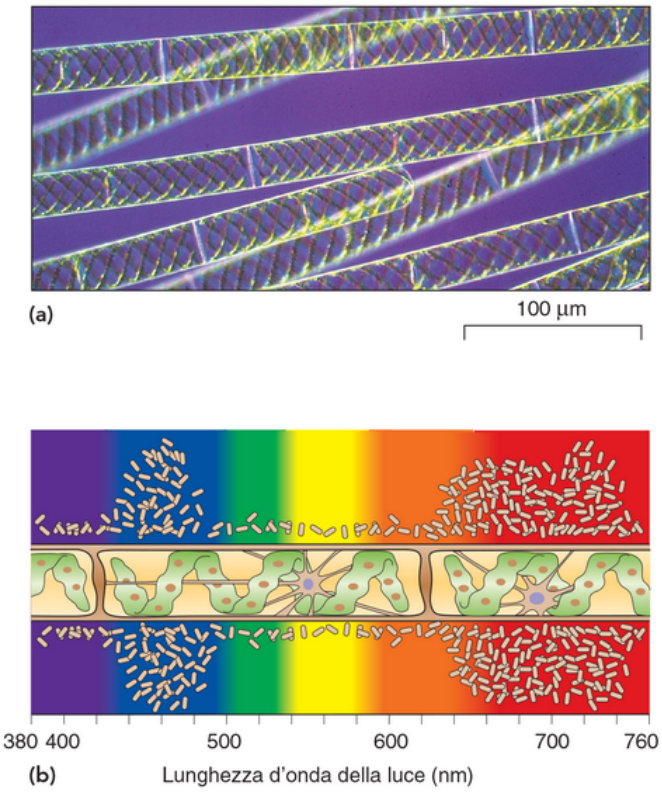



FIGURA 9-7 →
*Il primo spettro d'azione della fotosintesi*

RISULTATI E CONCLUSIONI: Mentre i batteri isolati ( controllo ) non mostravano preferenza per una particolare lunghezza d'onda, essi erano attratti in gran numero dalle cellule fotosintetiche esposte a luce rossa o blu, lunghezze d'onda che sono fortemente assorbite dalla clorofilla (vedi Fig. 9-6 ). Pertanto, Engelmann concluse che la clorofilla fosse responsabile della fotosintesi.

Come potevano, però, essere misurate differenze nell'efficienza fotosintetica in tempi nei quali la tecnologia non era sofisticata come lo è oggi? Engelmann sapeva che la fotosintesi produce ossigeno e che esistono batteri capaci di muoversi che sono attratti da zone ad alta concentrazione di ossigeno. Egli determinò lo spettro di azione della fotosintesi osservando che i agente in alcune reazioni e come prodotto in altre. Inoltre, tutto l'ossigeno prodotto deriva dall'acqua, per cui sono richieste 12 molecole di acqua per produrre 12 atomi di ossigeno. Tuttavia, poiché non vi è una produzione netta di acqua, la reazione può, per la nostra discussione, essere così semplificata: batteri sciamavano verso le porzioni di *Spirogyra* illuminate dalla luce nelle regioni del rosso e del blu. Il fatto che, in assenza di Spirogyra, i batteri non si raccogliessero in alcuna regione particolare della luce mostrava che i batteri non erano stati attratti dalla sola presenza della luce di colore rosso o blu. Poiché lo spettro di azione corrispondeva esattamente allo spettro di assorbimento della clorofilla, Engelmann concluse che la clorofilla nei cloroplasti (e non un'altra sostanza in un altro organulo) fosse responsabile della fotosintesi. Le osservazioni di Engelmann sono state, in seguito, confermate da esperimenti condotti con metodologie più sofisticate.

Se si esamina attentamente la Figura 9-6 , si può notare come lo spettro di azione della fotosintesi non è esattamente sovrapponibile allo spettro di assorbimento della clorofilla. La spiegazione di tale fenomeno è che i pigmenti accessori, come i carotenoidi, trasferiscono una parte dell'energia di eccitazione prodotta dalla luce verde alle molecole di clorofilla. La presenza di questi pigmenti fotosintetici accessori può essere dimostrata mediante analisi chimica della maggior parte delle foglie, anche se è ovvia nei climi temperati, quando le foglie delle piante terrestri cambiano colore in autunno. Verso la fine della stagione vegetativa, la clorofilla è degradata (il magnesio dell'anello porfirinico è accumulato nei tessuti permanenti dell'albero) e nelle foglie diventano visibili i pigmenti accessori arancio e gialli.

**Verifica**

- Quale membrana del cloroplasto è la più importante nel processo di fotosintesi?
- Quali sono le due regioni separate da tale membrana?
- Qual è il significato del fatto che gli spettri di assorbimento combinati della clorofilla a e della

clorofilla b sono grosso modo sovrapponibili allo spettro di azione della fotosintesi? Perché tali spettri non coincidono perfettamente?
La fluorescenza riveste un ruolo nella fotosintesi?

## 9.3 UNA VISIONE D'INSIEME DELLA FOTOSINTESI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Descrivere la fotosintesi come processo di ossido-riduzione.
5. Distinguere tra le reazioni dipendenti dalla luce e le reazioni di fissazione del carbonio della fotosintesi.

Durante la fotosintesi, una cellula utilizza l'energia luminosa catturata dalla clorofilla per dirigere la sintesi di carboidrati. Globalmente, la reazione della fotosintesi può essere così sintetizzata:

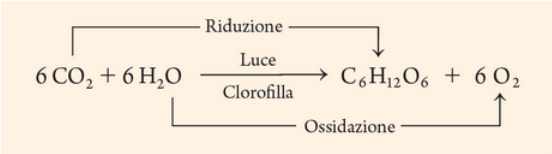
$$6\,CO_2 + 12\,H_2O \xrightarrow[\text{Clorofilla}]{\text{Energia luminosa}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O$$

Anidride carbonica; Acqua; Glucosio; Ossigeno; Acqua

L'equazione è comunemente scritta nella forma sopra riportata, con l'acqua da entrambe le parti, perché essa è presente come reagente in alcune reazioni e come prodotto in altre. Inoltre, tutto l'ossigeno prodotto deriva dall'acqua, per cui sono richieste 12 molecole di acqua per produrre 12 atomi di ossigeno. Tuttavia, poiché non vi è una produzione netta di acqua, la reazione può, per la nostra discussione, essere così semplificata:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O \xrightarrow[\text{Clorofilla}]{\text{Luce}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

È evidente che in questa reazione gli atomi di idrogeno sono trasferiti dall'acqua all'anidride carbonica per formare i carboidrati, in un tipico processo di ossido-riduzione (redox). Come già osservato nel Capitolo 7 , nel corso di una reazione redox, uno o più elettroni, generalmente come parte di uno o più atomi di idrogeno, sono trasferiti da un donatore di elettroni (agente riducente) ad un accettore di elettroni (agente ossidante).



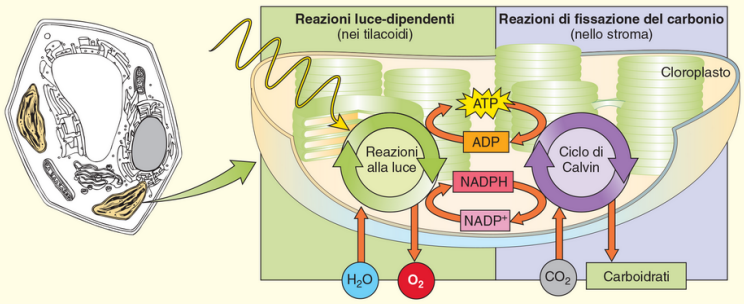

Quando gli elettroni vengono trasferiti, è trasferita anche una parte della loro energia. La reazione globale della fotosintesi è tuttavia ingannevole perché, in realtà, non si verifica alcun trasferimento diretto di atomi di idrogeno. L'equazione globale descrive *cosa* accade, ma *non come* accade. L'intero processo è molto complesso e implica numerosi passaggi, molti dei quali sono reazioni di ossido-riduzione.
Le reazioni della fotosintesi sono divise in due fasi: le reazioni dipendenti dalla luce (la fase *luminosa* della fotosintesi) e le reazioni di fissazione del carbonio (la fase di *sintesi* della fotosintesi). Ciascuna di queste fasi ha luogo in parti diverse del cloroplasto: le reazioni dipendenti dalla luce avvengono a livello dei tilacoidi, mentre le reazioni di fissazione del carbonio avvengono nello stroma ( FIG. 9-8 ).

### ATP e NADPH sono i prodotti delle reazioni dipendenti dalla luce: una visione d'insieme

Nei tilacoidi, l'energia luminosa è trasformata in energia chimica nel corso delle reazioni dipendenti dalla luce . Queste reazioni iniziano con la cattura di energia luminosa da parte della clorofilla, con il conseguente passaggio di uno dei suoi elettroni da un livello fondamentale ad un livello energetico più elevato. L'elettrone eccitato è trasferito ad una molecola accettrice ed è rimpiazzato da un elettrone proveniente dall'acqua. Quando ciò accade, la molecola d'acqua che fornisce l'elettrone viene scissa, liberando in tal modo ossigeno molecolare ( FIG. 9-9 ). Parte dell'energia contenuta negli elettroni eccitati è utilizzata per fosforilare l' adenosina difosfato ( ADP ), formando adenosina trifosfato ( ATP ). In aggiunta, si ha la riduzione del coenzima nicotinammide adenin dinucleotide fosfato ( NADP + ) a NADPH . 1 Il NADPH è un trasportatore di idrogeno simile al NADH, ma si differenzia per la presenza di un gruppo fosfato.
1 Sebbene il modo corretto di scrivere la forma ridotta del NADP + sia NADPH + H + , per semplicità nel testo viene abbreviata come NADPH.

**PUNTO CHIAVE** Le reazioni dipendenti dalla luce che avvengono nei tilacoidi catturano l'energia in forma di ATP e NADPH; tale energia viene poi utilizzata per alimentare le reazioni di fissazione del carbonio che avvengono nello stroma.

FIGURA 9-8→
*Una visione globale della fotosintesi*




Diversamente dal NADH, che è generalmente associato a vie cataboliche come la respirazione cellulare aerobica, il NADPH fornisce elettroni ad alta energia per promuovere reazioni di vie anaboliche, come le reazioni di fissazione del carbonio della fotosintesi. Così, i prodotti delle reazioni dipendenti dalla luce, ATP e NADPH, sono entrambi necessari nelle reazioni endoergoniche di fissazione del carbonio.

### I carboidrati sono prodotti durante le reazioni di fissazione del carbonio: una visione d'insieme

Le molecole di ATP e NADPH prodotte durante la fase luminosa non sono adatte a costituire un deposito energetico di lunga durata. Per tale motivo, parte della loro energia è trasferita ai legami chimici dei carboidrati, che possono essere prodotti in gran quantità e conservati a lungo termine. La fissazione del carbonio consiste nell'unione degli atomi di carbonio, provenienti dall'anidride carbonica, allo scheletro di molecole organiche preesistenti. Dato che queste reazioni non richiedono un intervento diretto della luce, esse venivano in passato anche definite "reazioni al buio". Esse, tuttavia, non richiedono necessariamente il buio e, di fatto, molti degli enzimi coinvolti nell'intero processo sono più attivi alla luce. Inoltre, le reazioni della fissazione del carbonio dipendono dai prodotti delle reazioni della fase luminosa. Le reazioni di fissazione del carbonio avvengono nello stroma dei cloroplasti.

Bernard Wittiech/Visuals Unlimited

FIGURA 9-9
*L'ossigeno prodotto dalla fotosintesi*
Nelle giornate di sole, l'ossigeno rilasciato dalle piante acquatiche è talvolta visibile in forma di bollicine nell'acqua. Questa pianta ( Elodea ) è in piena attività fotosintetica.

Dopo aver presentato una visione globale della fotosintesi, esaminiamo ora l'intero processo in modo più dettagliato.

### Verifica

- È più ossidato l'ossigeno che fa parte di una molecola di acqua oppure l'ossigeno molecolare?
- In che modo le reazioni di fissazione del carbonio dipendono dalle reazioni dipendenti dalla luce?

## 9.4 LE REAZIONI DIPENDENTI DELLA LUCE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Descrivere il flusso di elettroni attraverso i fotosistemi I e II nella via di trasporto non ciclico degli elettroni ed i prodotti sintetizzati; fare il confronto con il trasporto ciclico degli elettroni.
7. Spiegare la formazione del gradiente di protoni (H + ) attraverso la membrana tilacoidale e la funzione di questo gradiente nella sintesi di ATP.

Nelle reazioni dipendenti dalla luce, l'energia dei raggi solari è utilizzata per fosforilare l'ADP, con produzione di ATP, e per ridurre il NADP + a NADPH. L'energia luminosa catturata dalla clorofilla è temporaneamente immagazzinata in questi due composti. Queste reazioni possono essere riassunte come segue:

$$12\ H_2O + 12\ NADP^+ + 18\ ADP + 18\ P_i \xrightarrow[\text{Clorofilla}]{\text{Luce}} 6\ O_2 + 12\ NADPH + 18\ ATP$$

## I fotosistemi I e II comprendono ciascuno “complessi antenna” multipli e un centro di reazione

Le reazioni dipendenti dalla luce iniziano quando la clorofilla a e/o i pigmenti accessori assorbono luce. Secondo il modello correntemente accettato, le molecole di clorofilla a e b e i pigmenti accessori sono organizzati con proteine che legano i pigmenti nella membrana tilacoidale in unità chiamate complessi antenna . Le molecole di pigmento e le proteine associate sono disposte in questi complessi in gruppi altamente ordinati di 250 molecole di clorofilla associate a specifici enzimi ed altre proteine. Ciascun complesso antenna capta la luce e ne trasferisce l’energia ad un centro di reazione , un complesso formato da molecole di clorofilla e proteine, inclusi i componenti di trasferimento degli elettroni che partecipano direttamente alla fotosintesi ( FIG. 9-10 ). L’energia luminosa è convertita in energia chimica nei centri di reazione mediante una serie di reazioni di trasferimento di elettroni.

Nella fotosintesi sono coinvolti due tipi di unità fotosintetiche, definiti fotosistema I e fotosistema II. I rispettivi centri di reazione si distinguono per l’associazione delle molecole di clorofilla a proteine che ne spostano leggermente, ma in maniera specifica, lo spettro di assorbimento. La clorofilla a ha normalmente un picco di assorbimento intorno ai 660 nm. Invece, il centro di reazione del fotosistema I consiste di un paio di molecole di clorofilla a con un picco di assorbimento a 700 nm e viene indicato come P700 . Il centro di reazione del fotosistema II è costituito da un paio di molecole di clorofilla a con un picco di circa 680 nm e viene indicato come P680 .

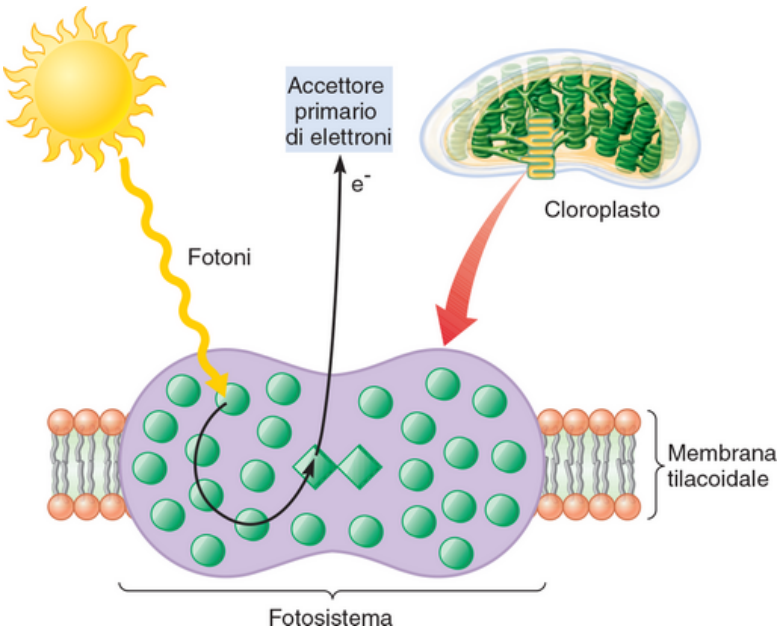



FIGURA 9-10
*Visione schematica di un fotosistema*
Le molecole di clorofilla ( cerchietti verdi ) e i pigmenti accessori ( non mostrati ) sono organizzati in strutture che catturano la luce, dette complessi antenna. È illustrata una porzione di uno di tali complessi all’interno di un fotosistema. Ogni complesso è costituito da diverse centinaia di molecole di pigmento, a cui sono associate speciali proteine ( non mostrate ). Tali proteine mantengono i pigmenti in una disposizione spaziale altamente ordinata, in modo tale che quando una molecola di un complesso antenna assorbe un fotone, l’energia derivante da quel fotone può essere immediatamente trasferita da una molecola di pigmento ad un’altra (freccia nera). Quando questa energia raggiunge una delle due molecole di clorofilla nel centro di reazione (rombi verdi), un elettrone viene eccitato ed è catturato da un accettore primario di elettroni.

Quando una molecola di pigmento assorbe energia luminosa, questa viene trasferita attraverso un processo noto come *risonanza*, direttamente da una molecola di pigmento ad un’altra del complesso antenna, fino a raggiungere il centro di reazione. Nel momento in cui l’energia raggiunge una molecola di P700 o P680 del centro di reazione dei fotosistemi I e II rispettivamente, si ha il trasferimento di un elettrone ad un livello energetico più alto. Come sarà spiegato nel paragrafo seguente, questo elettrone eccitato può essere ceduto ad un accettore primario, che in tal modo viene ridotto.

## Il trasporto non ciclico di elettroni produce ATP e NADPH

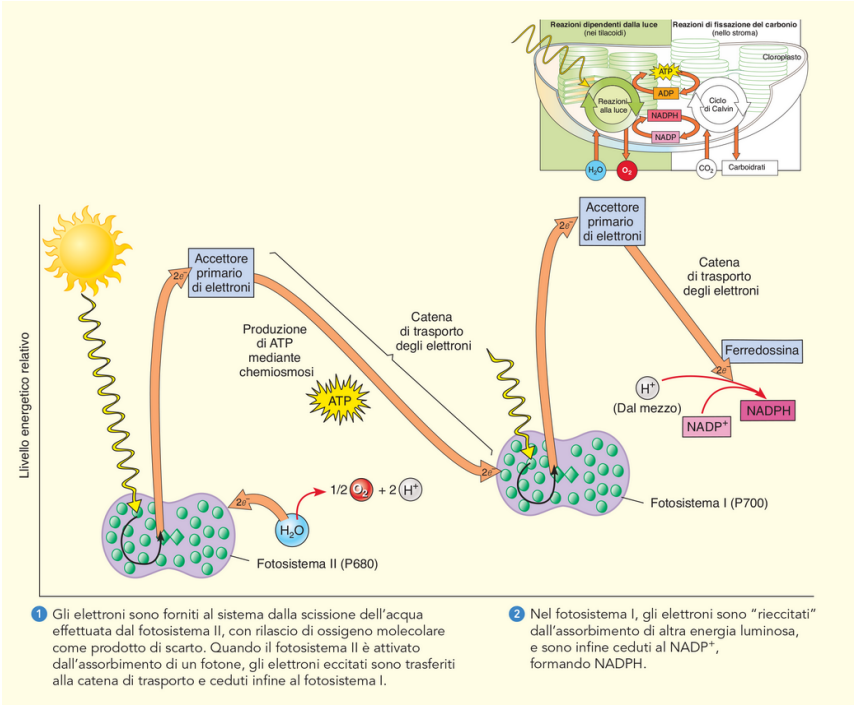
Iniziamo la discussione sul trasporto non ciclico degli elettroni con gli eventi associati al fotosistema I ( FIG. 9-11 ). Una molecola di pigmento in un complesso antenna del fotosistema I assorbe un fotone di luce. L’energia assorbita è trasferita al centro di reazione, dove eccita un elettrone di una molecola di P700. L’elettrone eccitato è trasferito ad un accettore primario, una speciale molecola di clorofilla a , che rappresenta il primo di una serie di accettori di elettroni. L’elettrone eccitato è quindi trasferito, attraverso una catena di trasporto degli elettroni , da un accettore all’altro, fino alla ferredossina, una proteina contenente ferro. La ferredossina trasferisce l’elettrone al NADP + mediante l’enzima ferredossinaNADP⁺ reduttasi.

Quando il NADP + accetta due elettroni ed un protone (H + ), si forma il composto ridotto NADPH, che viene rilasciato nello stroma. Il P700, cedendo un elettrone all’accettore primario, si carica positivamente; l’elettrone perso viene reintegrato dal fotosistema II.

Analogamente al fotosistema I, il fotosistema II è attivato ogni volta che una molecola di pigmento di un suo complesso antenna cattura un fotone di energia luminosa. L’energia è trasferita al centro di reazione.

dove sposta un elettrone del P680 ad un livello energetico superiore. L'elettrone eccitato è quindi raccolto da un accettore primario (una molecola di clorofilla altamente modificata, detta feofitina) e può passare lungo la catena di trasporto per arrivare fino al P700 del fotosistema I.

In che modo viene rimpiazzato l'elettrone che è stato donato alla catena di trasporto degli elettroni? Questo avviene attraverso la fotolisi (scissione alla luce) dell'acqua, un processo che non solo fornisce elettroni, ma rappresenta anche la fonte della quasi totalità dell'ossigeno presente nell'atmosfera terrestre. In conseguenza della cessione di un elettrone all'accettore primario, una molecola di P680 del fotosistema II, caricata positivamente (P680 + ), diventa un agente ossidante così potente da essere capace di estrarre elettroni da un atomo di ossigeno di una molecola d'acqua. Nel corso di tale reazione, probabilmente catalizzata da un unico enzima contenente magnesio, si ha la scissione dell'acqua in due elettroni, due protoni ed un atomo di ossigeno. Ciascun elettrone è donato ad una molecola di P680 + , che perde la sua carica positiva, mentre i protoni sono rilasciati nel lume tilacoidale. Poiché l'ossigeno non può esistere in forma atomica, l'atomo di ossigeno prodotto dalla scissione di una molecola di H 2 O è scritto come 1 2 O 2 . Devono essere scisse due molecole d'acqua per produrre una molecola di ossigeno. La fotolisi dell'acqua è una reazione importante, ma il suo nome è ingannevole: infatti, la luce non scinde l'acqua direttamente, ma solo indirettamente, causando l'ossidazione delle molecole di P680.




**PUNTO CHIAVE** Il trasporto non ciclico di elettroni converte l'energia luminosa nell'energia chimica dell'ATP e del NADPH.

FIGURA 9-11 Il trasporto non ciclico di elettroni
Nel trasporto non ciclico di elettroni, la produzione di ATP è accoppiata ad un flusso unidirezionale di elettroni eccitati ( frecce arancioni ), dall'acqua ( in basso a sinistra ) al NADP + ( al centro a destra ). Attraverso la catena di trasporto passa un solo elettrone per volta, anche se nella figura sono mostrati due elettroni perché tanti sono quelli richiesti per formare una molecola di NADPH.

## Il trasporto non ciclico degli elettroni è un processo lineare continuo

In presenza di luce, vi è un flusso continuo e unidirezionale di elettroni dalla sorgente primaria, l'acqua, all'accettore finale, il NADP + . L'acqua va incontro a fotolisi catalizzata enzimaticamente, per rimpiazzare gli elettroni eccitati ceduti alla catena di trasporto degli elettroni dalle molecole di P680 del fotosistema II. Questi elettroni si spostano lungo la catena di trasporto degli elettroni che connette il fotosistema II con il fotosistema I. Così, continuamente vanno a rimpiazzare gli elettroni eccitati ceduti dalP700.

Nel corso del loro trasferimento attraverso la catena di trasporto che unisce il fotosistema II al fotosistema I, gli elettroni perdono progressivamente energia. Parte dell'energia rilasciata è utilizzata per pompare protoni attraverso la membrana tilacoidale, dallo stroma al lume tilacoidale, con la produzione di un gradiente protonico. L'energia contenuta in questo gradiente è sfruttata per produrre ATP mediante chemiosmosi, che sarà discussa più avanti. L'ATP e il NADPH, prodotti nel corso delle reazioni dipendenti dalla luce, sono rilasciati nello stroma del cloroplasto, dove sono entrambi utilizzati nelle reazioni di fissazione nel carbonio.

## Il trasporto ciclico di elettroni produce ATP ma non NADPH

Solamente il fotosistema I è coinvolto nel trasporto ciclico degli elettroni , la più semplice delle reazioni dipendenti dalla luce. Questo processo è ciclico in quanto gli elettroni che provengono dal P700 nel centro di reazione alla fine ritornano allo stesso P700. In presenza di luce, vi è un continuo flusso di elettroni attraverso una catena di trasporto degli elettroni posta nella membrana tilacoidale. Nel trasferimento di elettroni da un accettore ad un altro, si ha una perdita di energia che è in parte utilizzata per pompare

protoni attraverso la membrana tilacoidale. Un enzima (ATP sintasi), localizzato nella membrana tilacoidale, sfrutta l'energia del gradiente protonico per sintetizzare ATP. Non si ha produzione di NADPH, né scissione dell'acqua, e non è generato ossigeno. Da solo, il trasporto ciclico di elettroni non può servire come base per la fotosintesi perché, come si vedrà in seguito, il NADPH è necessario per la riduzione della CO 2 a carboidrati.
Il significato del trasporto ciclico di elettroni nella fotosintesi delle piante è ancora poco chiaro. Questo processo può verificarsi nelle cellule vegetali quando vi è una quantità troppo scarsa di NADP + per accettare elettroni dalla ferredossina. Osservazioni recenti suggeriscono che il flusso ciclico degli elettroni potrebbe contribuire a mantenere il rapporto ottimale tra ATP e NADPH necessario per la fissazione del carbonio e a fornire ATP extra per alimentare altri processi ATP-dipendenti nei cloroplasti. È generalmente accettata l'idea che tale processo fosse utilizzato da batteri molto antichi per produrre ATP dall'energia luminosa. Una catena di reazioni analoga al trasporto di elettroni ciclico delle piante è presente in alcuni moderni procarioti fotosintetici. Il trasporto di elettroni ciclico è confrontato con quello non ciclico nella TABELLA 9-1 .

## La sintesi di ATP avviene mediante chemiosmosi

Ciascun componente della catena di trasporto degli elettroni, che lega il fotosistema II al fotosistema I, può esistere in una forma ossidata (a più bassa energia) e in una ridotta (a più alta energia). L'elettrone catturato dal P680 e proveniente dall'accettore primario è altamente eccitato ed è trasferito da un trasportatore all'altro in una serie di reazioni redox esoergoniche. Ad ogni trasferimento si ha perdita di energia, ma parte di questa energia è utilizzata per alimentare la sintesi di ATP (una reazione endoergonica). Poiché la sintesi di ATP (che avviene per fosforilazione dell'ADP) è accoppiata al trasporto di elettroni eccitati dai fotoni della luce, questo processo è chiamato fotofosforilazione.

| | Trasporto non ciclico degli elettroni | Trasporto ciclico degli elettroni |
|---|---|---|
| Donatore di elettroni | $H_2O$ | Nessuno – gli elettroni si muovono ciclicamente |
| Rilascio di ossigeno? | Sì (dall'$H_2O$) | No |
| Accettore terminale di elettroni | $NADP^+$ | Nessuno – gli elettroni si muovono ciclicamente |
| Forma nella quale l'energia è temporaneamente catturata | ATP (mediante chemiosmosi); NADPH | ATP (mediante chemiosmosi) |
| Fotosistema(i) coinvolto(i) | PSI (P700) e PSII (P680) | Solo PSI (P700) |

TABELLA 9-1
Un confronto fra il trasporto non ciclico e ciclico degli elettroni

### Il modello chemiosmotico spiega l'accoppiamento tra sintesi di ATP e trasporto degli elettroni

Come discusso in precedenza, i pigmenti e gli accettori di elettroni delle reazioni dipendenti dalla luce sono immersi nella membrana tilacoidale. L'energia liberata dagli elettroni che viaggiano lungo la catena degli accettori è utilizzata per pompare protoni dallo stroma, attraverso la membrana tilacoidale, nel lume tilacoidale ( FIG. 9-12 ). Come conseguenza di questa attività, si genera un gradiente protonico a cavallo della membrana tilacoidale. I protoni si accumulano nel lume tilacoidale anche in conseguenza della scissione dell'acqua durante il trasporto non ciclico degli elettroni. Poiché i protoni non sono altro che ioni idrogeno (H + ), il loro accumulo provoca una caduta di pH all'interno del tilacoide ad un valore di circa 5, mentre il pH dello stroma è di circa 8. Questa differenza di pH di circa 3 unità corrisponde ad una differenza di concentrazione di ioni idrogeno ai due lati della membrana tilacoidale superiore a 1000 volte.
Il gradiente protonico possiede una grande quantità di energia libera dovuta al suo stato di bassa entropia. Come avviene all'interno del cloroplasto la conversione di questa energia in una forma più utile alla cellula? In accordo con i principi generali della diffusione, è ragionevole aspettarsi che i protoni, altamente concentrati nel tilacoide, mostrino una forte tendenza a diffondere rapidamente all'esterno. Questo, tuttavia, non può avvenire in maniera incontrollata, perché la membrana tilacoidale è impermeabile agli H + , eccetto che attraverso alcuni canali formati dall'enzima ATP sintasi , una proteina transmembrana, presente anche nei mitocondri, che forma complessi sporgenti nello stroma di dimensioni tali da essere osservabili al microscopio elettronico (vedi Fig. 8-11b ). Quando i protoni diffondono attraverso i complessi dell'ATP sintasi, l'energia libera diminuisce in conseguenza dell'aumento di entropia. Ciascun complesso dell'ATP sintasi è in grado di accoppiare il processo esoergonico della diffusione dei protoni secondo il loro gradiente di concentrazione al processo endoergonico di fosforilazione dell'ADP performare ATP, che è rilasciato nello stroma del cloroplasto ( FIG. 9-13 ). Il movimento di protoni attraverso l'ATP sintasi si pensa induca cambiamenti nella conformazione dell'enzima, che sembrano essere necessari per la sintesi di ATP. È stato stimato che la sintesi di una molecola di ATP richieda il passaggio di quattro protoni attraverso l'ATP sintasi.

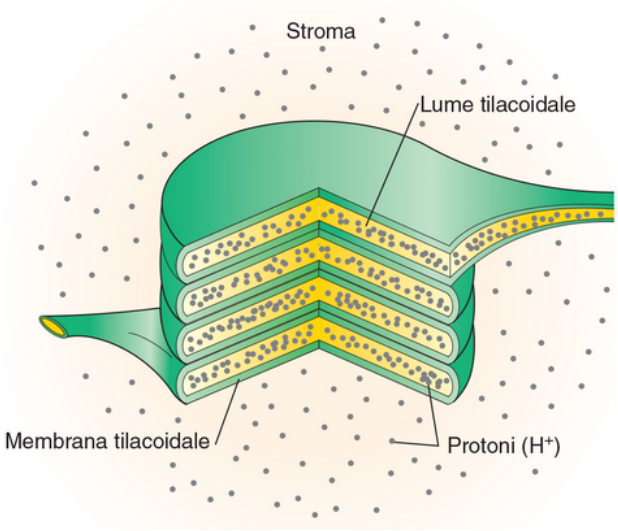
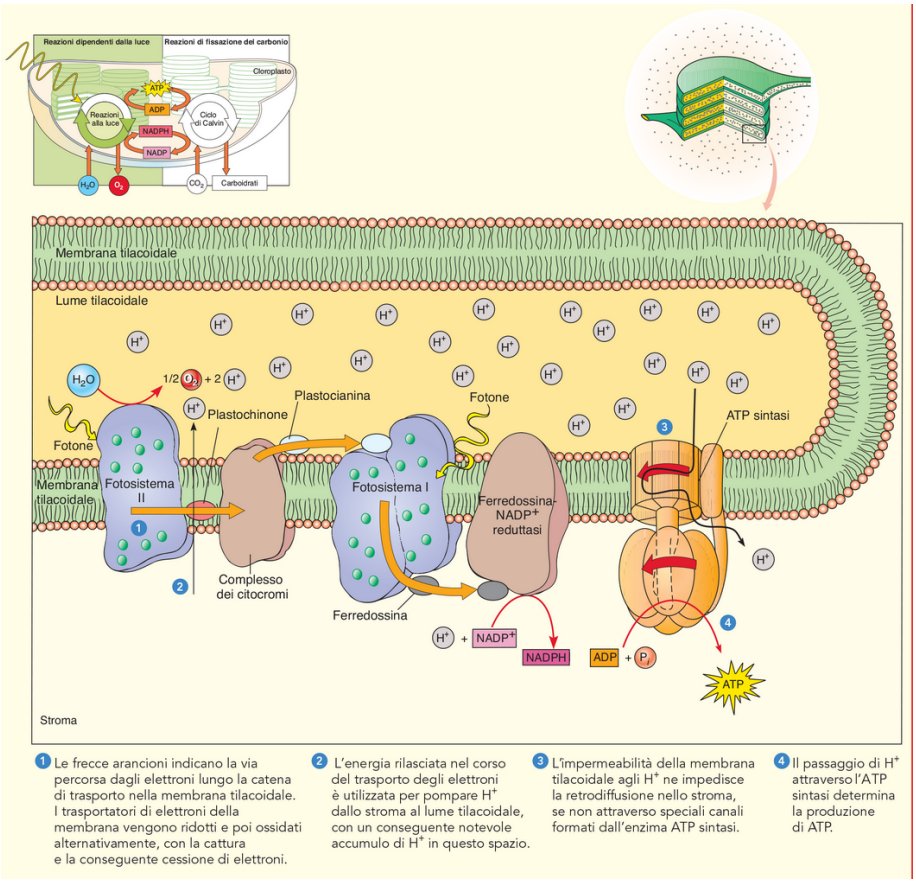



FIGURA 9-12
*L'accumulo di protoni nel lume tilacoidale*
Durante il movimento degli elettroni lungo la catena di trasporto degli elettroni, i protoni sono pompati dallo stroma al lume tilacoidale, con la creazione di un gradiente protonico. La più alta concentrazione di H + nel lume tilacoidale ne abbassa il pH.

Il meccanismo mediante il quale la fosforilazione dell'ADP è accoppiata alla diffusione dei protoni secondo gradiente è detto chemiosmosi . Costituendo la connessione essenziale tra catena di trasporto degli elettroni e fosforilazione dell'ADP, la chemiosmosi rappresenta un meccanismo fondamentale per gli accoppiamenti energetici nella cellula. È importante ricordare dal Capitolo 8 che la sintesi di ATP mediante chemiosmosi avviene anche nella respirazione aerobica (vedi TABELLA 9-2 ).

**PUNTO CHIAVE**
I trasportatori di elettroni associati con la membrana tilacoidale trasferiscono elettroni ad alta energia, dall'acqua al NADP + , formando NADPH. L'ATP è generato per chemiosmosi.

FIGURA 9-13
*Una visione dettagliata del trasporto degli elettroni e della chemiosmosi*




[ * Il NADPH è un trasportatore di idrogeno (e quindi di elettroni) molto simile al NADH, da cui differisce solo per la presenza di un gruppo fosfato. Tuttavia, il NADPH è generalmente utilizzato con enzimi appartenenti a vie anaboliche, come la fotosintesi. Il NADH è invece associato a vie cataboliche, come la respirazione cellulare.]

TABELLA 9-2
**Confronto tra fotosintesi e respirazione aerobica**

| | Fotosintesi | Respirazione aerobica |
|---|---|---|
| Tipo di reazione metabolica | Anabolismo | Catabolismo |
| Materiali di partenza | $CO_2$, $H_2O$ | $C_6H_{12}O_6$, $O_2$ |
| Prodotti finali | $C_6H_{12}O_6$, $O_2$ | $CO_2$, $H_2O$ |
| Cellule in cui hanno luogo questi processi | Cellule contenenti clorofilla (alcune cellule vegetali, alghe, alcuni batteri) | Qualsiasi cellula metabolicamente attiva possiede la respirazione aerobica o un'altra via di rilascio d'energia |
| Siti coinvolti (nelle cellule eucariotiche) | Cloroplasti | Citoplasma (glicolisi); mitocondri |
| Produzione di ATP | Mediante la fotofosforilazione (un processo chemiosmotico) | Mediante fosforilazione a livello del substrato e fosforilazione ossidativa (un processo chemiosmotico) |
| Principale molecola di trasferimento degli elettroni | $NADP^+$ (è ridotto a NADPH*) | $NAD^+$ (è ridotto a NADH*) |
| Localizzazione della catena di trasporto degli elettroni | Membrana tilacoidale | Membrana mitocondriale interna (creste) |
| Donatore degli elettroni per la catena di trasporto | Nel trasporto di elettroni non ciclico: $H_2O$ (è fotolisata con rilascio di elettroni, protoni ed ossigeno) | Donatore immediato: NADH, $FADH_2$<br>Donatore primario: glucosio o altri carboidrati |
| Accettore terminale di elettroni della catena | Nel trasporto di elettroni non ciclico: $NADP^+$ (è ridotto a NADPH) | $O_2$ (è ridotto a formare $H_2O$) |

* Il NADPH è un trasportatore di idrogeno (e quindi di elettroni) molto simile al NADH, da cui differisce solo per la presenza di un gruppo fosfato. Tuttavia, il NADPH è generalmente utilizzato con enzimi appartenenti a vie anaboliche, come la fotosintesi. Il NADH è invece associato a vie cataboliche, come la respirazione cellulare.

**Verifica**

- Perché l'ossigeno molecolare è un prodotto secondario necessario della fotosintesi?
- Quale processo rappresenta il meccanismo effettivo della fotofosforilazione?
- Perché per il processo fotosintetico sono richiesti sia il fotosistema I che il fotosistema II? La fosforilazione ciclica può sostenere da sola la fotosintesi? Motivate la vostra risposta.

## 9.5 LE REAZIONI DI FISSAZIONE DEL CARBONIO

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Riassumere le tre fasi del ciclo di Calvin ed indicare il ruolo che l'ATP e il NADPH svolgono in questo processo.
9. Spiegare in che modo la fotorespirazione riduce l'efficienza fotosintetica.
10. Confrontare le vie C 4 e CAM.

Nella fissazione del carbonio, l'energia dell'ATP e del NADPH è utilizzata per formare molecole organiche a partire dall'anidride carbonica. Le reazioni di fissazione del carbonio possono essere così sintetizzate:

$$12\,NADPH + 18\,ATP + 6\,CO_2 \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 12\,NADP^+ + 18\,ADP + 18\,P_i + 6\,H_2O$$

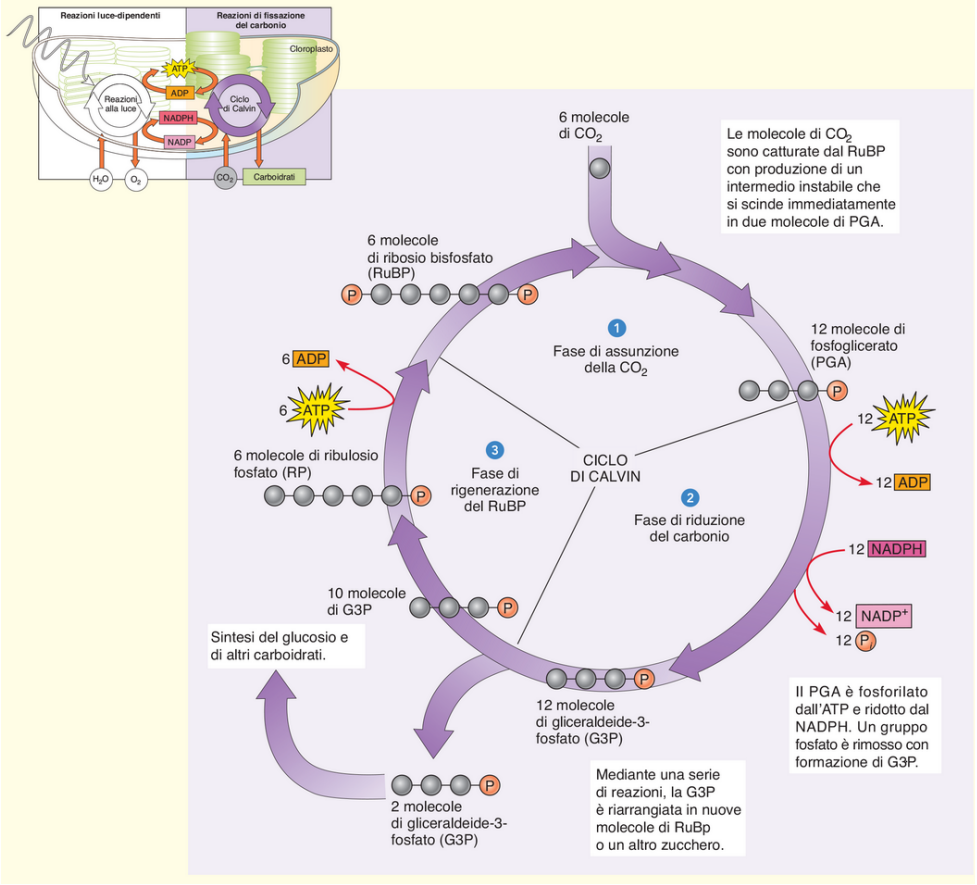
### La maggior parte delle piante utilizza il ciclo di Calvin per fissare il carbonio

La fissazione del carbonio avviene nello stroma del cloroplasto attraverso una serie di 13 reazioni nota come ciclo di Calvin . Negli anni '50, Melvin Calvin, Andrew Benson ed altri ricercatori dell'Università della California riuscirono a chiarire i dettagli di questo ciclo e per questo risultato, nel 1961, fuassegnato a Calvin il premio Nobel per la Chimica.

Le 13 reazioni del ciclo di Calvin si dividono in tre fasi: assunzione di CO 2 , riduzione del carbonio, e rigenerazione del RuBP ( FIG. 9-14 ). I 13 enzimi che catalizzano le reazioni del ciclo di Calvin sono localizzati nello stroma del cloroplasto. Dieci di essi partecipano anche alla glicolisi (vedi Capitolo 8 ). Questi enzimi sono in grado di catalizzare reazioni reversibili, degradando molecole di carboidrati nella respirazione cellulare e sintetizzando molecole di carboidrati nella fotosintesi.

1. Assunzione di CO 2 . La prima fase del ciclo di Calvin consiste in una singola reazione, in cui una molecola di CO 2 reagisce con un composto fosforilato a cinque atomi di carbonio, il ribulosio bisfosfato ( RuBP ). Questa reazione è catalizzata dall'enzima ribulosio bisfosfato carbossilasi/ossigenasi , noto anche come rubisco . L'enzima rubisco rappresenta la proteina contenuta in maggiore quantità nel cloroplasto, e può essere considerato una delle proteine più abbondanti della biosfera. Il prodotto di questa reazione è un composto intermedio instabile a sei atomi di carbonio, che immediatamente è scisso in due molecole di fosfoglicerato ( PGA ) a tre atomi di carbonio. Il carbonio che originariamente faceva parte della molecola di anidride carbonica è ora parte di uno scheletro carbonioso; il carbonio è stato "fissato". Poiché il prodotto iniziale delle reazioni di fissazione del carbonio è un composto a tre atomi di carbonio, il ciclo di Calvin è anche noto come via C 3 . Le piante che inizialmente fissano il carbonio in questo modo sono chiamate piante C 3 .
2. Riduzione del carbonio . La seconda fase del ciclo è costituita da due passaggi in cui l'energia dell'ATP e il potere riducente del NADPH (entrambi prodotti dalle reazioni dipendenti dalla luce) sono utilizzati per trasformare le molecole di PGA in gliceraldeide-3-fosfato ( G3P ). Come mostrato in Figura 9-14 , ogni sei atomi di carbonio che entrano nel ciclo sotto forma di CO 2 , sei atomi di carbonio lasciano il ciclo sotto forma di due molecole di G3P, per essere utilizzate nella sintesi dei carboidrati. Ciascuna di queste molecole di G3P è sostanzialmente uguale a mezza molecola di esoso. (In effetti, è da ricordare che la G3P è un intermedio chiave nella scissione del glucosio nel corso della glicolisi; vedi Figg. 8-3 e 8-4 ). Due molecole di G3P reagiscono fra loro esoergonicamente, formando glucosio o fruttosio. In alcune piante, il glucosio e il fruttosio sono poi uniti per produrre saccarosio (il comune zucchero da tavola), che si estrae normalmente dalla canna da zucchero, dalla barbabietola o dal succo d'acero. Le cellule vegetali possono usare il glucosio anche per produrre amido o cellulosa.
3. Rigenerazione del RuBP . È da notare che, sebbene due molecole di G3P vengano rimosse dal ciclo, dieci molecole di G3P rimangono; queste rappresentano un totale di trenta atomi di carbonio. Attraverso una serie di dieci reazioni che costituisce la terza fase del ciclo di Calvin, questi 30 atomi di carbonio, insieme agli atomi ad essi associati, sono riarrangiati in sei molecole di ribulosio

fosfato, ciascuna delle quali viene fosforilata per produrre RuBP, cioè il composto a cinque atomi di carbonio da cui il ciclo era iniziato. Queste molecole di ribulosio bisfosfato possono a loro volta ricominciare le reazioni di fissazione della CO 2 e produrre ancora G3P.




**PUNTO CHIAVE** L'ATP ed il NADPH forniscono l'energia che guida la fissazione del carbonio nel ciclo di Calvin.

FIGURA 9-14 *Una visione dettagliata del ciclo di Calvin*

In sintesi, per le reazioni di fissazione del carbonio sono richieste sei molecole di CO 2 (la sorgente degli atomi di carbonio e ossigeno nei carboidrati), gruppi fosfato trasferiti dall'ATP, ed elettroni (sotto forma di atomi di idrogeno) forniti dal NADPH (ma in definitiva derivati dalla fotolisi dell'acqua). Alla fine, i sei atomi di carbonio della CO 2 si possono considerare come utilizzati per la produzione di una molecola di esoso. Le restanti molecole di G3P sono utilizzate per sintetizzare altre molecole di RuBP, con cui possono combinarsi nuove molecole di CO 2. Un riepilogo della fotosintesi è presentato nella TABELLA 9-3 .

**TABELLA 9-3 Sommario della fotosintesi**

| Serie di reazioni | Riassunto del processo | Materiali necessari | Prodotti finali |
|---|---|---|---|
| Reazioni alla luce (avvengono nella membrana tilacoidale) | L'energia solare è utilizzata per scindere l'acqua, per produrre ATP e per ridurre il $NADP^+$ | | |
| Reazioni fotochimiche | La clorofilla viene attivata; il centro di reazione cede un elettrone eccitato dalla luce ad una molecola accettrice | Energia luminosa; pigmenti (clorofilla) | Elettroni |
| Trasporto degli elettroni | Gli elettroni sono trasportati lungo la catena di accettori nella membrana tilacoidale; gli elettroni riducono il $NADP^+$; la scissione dell'acqua fornisce alcuni degli $H^+$ che si accumulano nello spazio tilacoidale | Elettroni, $NADP^+$, $H_2O$, accettori di elettroni | NADPH, $O_2$ |
| Chemiosmosi | Gli $H^+$ diffondono attraverso la membrana tilacoidale, secondo il loro gradiente di concentrazione; questo passaggio può, però, avvenire solo attraverso canali di membrana formati dall'ATP sintasi; l'energia rilasciata è utilizzata per produrre ATP | Gradiente protonico, ADP, $P_i$, ATP sintasi | ATP |
| Reazioni di fissazione del carbonio (avvengono nello stroma del cloroplasto) | Fissazione del carbonio: l'anidride carbonica è utilizzata per produrre carboidrati | Ribulosio bisfosfato; $CO_2$, ATP, NADPH, enzimi necessari | Carboidrati, ADP, $P_i$, $NADP^+$ |

## La fotorespirazione riduce l'efficienza fotosintetica

Molte piante C 3 , comprese alcune di grande importanza per l'agricoltura, come la soia, il grano e le patate, producono carboidrati con la fotosintesi con una resa inferiore a quella attesa, specialmente durante il periodo delle alte temperature estive. Questo fenomeno è una conseguenza dei compromessi attuati dalla pianta tra la richiesta di CO 2 e la necessità di evitare la perdita di acqua. Ricordiamo che gran parte del processo fotosintetico avviene nelle cellule del mesofillo, che si trovano all'interno della foglia, e che l'ingresso e l'uscita dei gas da questa zona è regolata dagli stomi, piccoli pori concentrati sulla superficie inferiore della foglia (vedi Fig. 9-4a ). Nelle giornate calde e secche, le piante chiudono i loro stomi per conservare l'acqua. Una volta chiusi gli stomi, la fotosintesi consuma rapidamente la CO 2 intrappolata nella foglia e produce O 2 , che si accumula nel cloroplasto.

Ricordiamo che l'enzima responsabile della fissazione del carbonio nel ciclo di Calvin è il ribulosio bisfosfato carbossilasi/ ossigenasi (rubisco), che lega la CO 2 al ribulosio bisfosfato. Come è indicato dal nome completo dell'enzima, il rubisco agisce non solo da carbossilasi, ma anche da ossigenasi, dal momento che alti livelli di O 2 competono con la CO 2 per il suo sito attivo. Alcuni composti intermedi coinvolti nel ciclo di Calvin sono degradati a CO 2 e H 2 O in un processo denominato fotorespirazione , poiché: (1) avviene in presenza di luce; (2) richiede ossigeno, come la respirazione aerobica; (3) produce CO 2 e H 2 O, come la respirazione aerobica. Tuttavia, la fotorespirazione non produce ATP, e riduce in tal modo l'efficienza della fotosintesi poiché rimuove alcuni composti intermedi usati nel ciclo di Calvin.
Le ragioni della fotorespirazione nelle piante non sono state completamente chiarite; si ipotizza, però, che essa sia collegata alla comparsa dell'enzima rubisco già in tempi molto antichi quando i livelli di CO 2 erano alti e quelli dell'ossigeno molecolare bassi. Questa visione è supportata dalla recente osservazione che alcune sequenze aminoacidiche in rubisco sono simili a sequenze in alcune proteine batteriche che sembra si siano evolute prima della comparsa del ciclo di Calvin. L'ingegneria genetica per produrre piante con rubisco a più bassa affinità per l'ossigeno è un'area di ricerca promettente per migliorare il rendimento di certe piante di enorme valore per l'agricoltura.

## La tappa iniziale di fissazione del carbonio differisce nelle piante C 4 e in quelle CAM

La fotorespirazione non è il solo problema che devono affrontare le piante impegnate nella fotosintesi. Dato che l'anidride carbonica non è un gas molto abbondante nell'atmosfera (solo lo 0,038%), non è sempre facile per le piante ottenerla nella quantità necessaria a svolgere efficacemente i processi fotosintetici. Quando l'ambiente è caldo e secco, gli stomi sono chiusi per ridurre la perdita di acqua, con il risultato che l'apporto di anidride carbonica è fortemente diminuito. Paradossalmente, quindi, l'anidride carbonica è potenzialmente meno disponibile proprio quando si ha il massimo di illuminazione per promuovere le reazioni alla luce.
Molte specie di piante che vivono in ambienti caldi e aridi hanno sviluppato adattamenti che facilitano la fissazione del carbonio. Le piante C 4 fissano inizialmente la CO 2 in un composto a quattro atomi di carbonio, l' ossalacetato . Le piante CAM fissano inizialmente il carbonio durante la notte attraverso la formazione dell'ossalacetato. Queste speciali vie metaboliche che avvengono nelle piante C 4 e CAM precedono il ciclo di Calvin (la via C 3 ); non lo sostituiscono.

### La via C 4 fissa in modo efficiente la CO 2 a basse concentrazioni

La via C 4 , in cui la fissazione della CO 2 avviene mediante la formazione dell'ossalacetato, non soltanto ha luogo prima della via C 3 , ma avviene anche in cellule differenti. I caratteri morfologici delle foglie delle piante C 4 sono tipici: le cellule fotosintetiche del mesofillo sono strettamente associate alle cellule della guaina del fascio , che contengono cloroplasti e circondano strettamente i vasi della foglia ( FIG. 9-15 ). La via C 4 ha luogo nelle cellule del mesofillo, mentre il ciclo di Calvin avviene nelle cellule della guaina del fascio.
Il componente chiave della via C 4 è un enzima dotato di affinità estremamente alta per l'anidride carbonica che è quindi capace di legarla efficacemente anche quando questa è presente a concentrazioni particolarmente basse. Questo enzima, denominato PEP carbossilasi , catalizza la reazione tra CO 2 e fosfoenolpiruvato ( PEP ), un composto a 3 atomi di carbonio, formando ossalacetato ( FIG. 9-16 ).
In una tappa che richiede il NADPH, l'ossalacetato è convertito in un altro composto a quattro atomi di carbonio, solitamente il malato. Questo passa poi nei cloroplasti delle cellule della guaina del fascio, dove un enzima diverso catalizza la reazione di decarbossilazione del malato per formare piruvato, un composto a tre atomi di carbonio, e CO 2 . Contemporaneamente si forma NADPH, che rimpiazza quello consumato in precedenza:

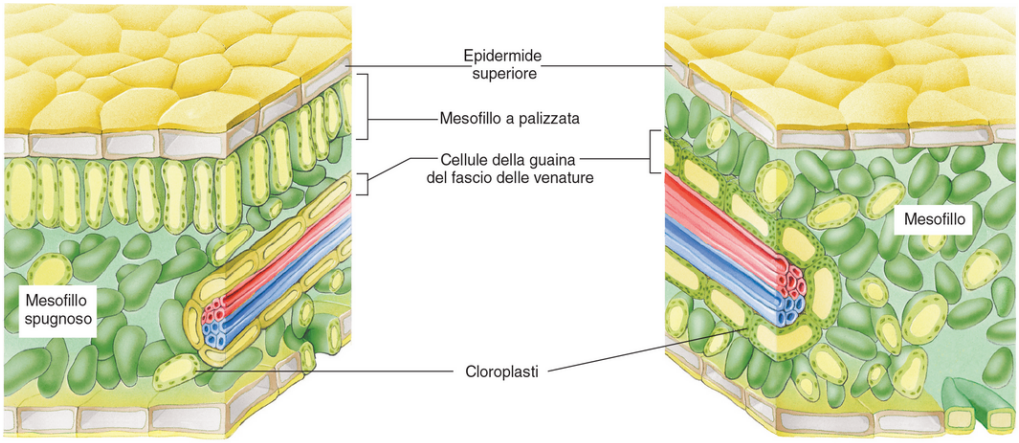
$$\text{Malato} + \text{NADP}^+ \longrightarrow \text{Piruvato} + \text{CO}_2 + \text{NADPH}$$

La CO 2 liberata nelle cellule della guaina del fascio si combina con il ribulosio bisfosfato in una reazione catalizzata dal rubisco ed entra nel ciclo di Calvin, mentre il piruvato formato dalla reazione di decarbossilazione ritorna nelle cellule del mesofillo, dove reagisce con l'ATP rigenerando il fosfoenolpiruvato.
Grazie alla via C 4 , la concentrazione della CO 2 nelle cellule della guaina del fascio è aumentata da 10 a 60 volte rispetto a quella che si osserva nelle cellule del mesofillo delle piante che utilizzano la sola via C 3 . La fotorespirazione è trascurabile nelle piante C 4 , dal momento che la concentrazione di CO 2 nelle cellule della guaina del fascio (dove è presente l'enzima rubisco) è sempre elevata.
Le vie C 3 -C 4 combinate consumano 30 molecole di ATP per molecola di esoso contro le 18 molecole di ATP consumate in assenza della via C 4 . Il consumo extra di ATP per rigenerare il PEP dal piruvato risulta però vantaggioso in presenza di una forte illuminazione, perché assicura un'alta concentrazione di CO 2 nelle cellule della guaina del fascio e consente al processo fotosintetico di svolgersi più velocemente. A

intensità luminose e temperature minori, invece, sono le piante C 3 ad essere avvantaggiate. Ad esempio, l'avena invernale, una pianta C 3 , cresce abbondantemente in climi freddi, mentre ciò non è possibile per la sanguinella, in quanto le piante C 4 richiedono maggiore energia delle piante C 3 per fissare la CO 2.

## Le piante CAM fissano la CO 2 di notte

Le piante che vivono in un ambiente estremamente arido, o xerico , hanno numerose modificazioni strutturali che consentono loro di sopravvivere. Molte piante xerofile presentano anche adattamenti fisiologici, tra cui una speciale via metabolica per la fissazione del carbonio, detta via CAM , o metabolismo acido delle crassulacee . Il nome di questa particolare via metabolica deriva dalle piante che la possiedono, le quali appartengono alla famiglia delle Crassulaceae. È da rilevare però che la via CAM si è evoluta indipendentemente in alcuni membri di oltre 25 famiglie di piante, che comprendono le Cactaceae, le Liliaceae e le Orchidaceae ( FIG. 9-17 ).




**(a)** Nelle piante $C_3$ il ciclo di Calvin ha luogo nelle cellule del mesofillo e le cellule della guaina del fascio non sono fotosintetiche.

**(b)** Nelle piante $C_4$ le reazioni di fissazione della $CO_2$ in composti a quattro atomi di carbonio avvengono nelle cellule del mesofillo. I composti a quattro atomi di carbonio sono quindi trasferiti dalle cellule del mesofillo alle cellule fotosintetiche della guaina del fascio, nelle quali ha luogo il ciclo di Calvin.

FIGURA 9-15 *Struttura di piante C 3 e C 4 a confronto*

Diversamente dalla maggior parte delle piante, le piante CAM aprono gli stomi durante la notte, in modo da incamerare la CO 2 minimizzando la perdita di acqua. Le piante CAM utilizzano l'enzima PEP carbossilasi per fissare la CO 2 formando ossalacetato, che è convertito a malato ed è quindi immagazzinato nel vacuolo delle cellule. Durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi e gli scambi gassosi fra atmosfera e piante non avvengono, la CO 2 è ottenuta dal malato mediante una reazione di decarbossilazione. La CO 2 , resa in questa maniera disponibile all'interno dei tessuti della foglia, può quindi essere fissata e trasformata in zucchero mediante il ciclo di Calvin (la via C3).

La via CAM è molto simile alla via metabolica C 4 , ma con alcune importanti differenze. Le piante C 4 fissano inizialmente l'anidride carbonica in acidi organici a quattro atomi di carbonio nelle cellule del mesofillo. Questi acidi sono poi decarbossilati per produrre CO 2 , che è fissata dalla via metabolica C 3 nelle cellule della guaina del fascio. In altre parole, nelle foglie di una pianta C 4 le vie C 3 e C 4 hanno luogo in *cellule diverse*. Nelle piante CAM, la fissazione iniziale di CO 2 avviene di notte, mentre la decarbossilazione del malato e la produzione di zuccheri dalla CO 2 avvengono di giorno, e quindi in tempi diversi, ma nella stessa cellula.

Anche se incapace di promuovere la crescita rapida data dalla via $C_4$ , la via CAM è un adattamento di grande successo in condizioni xeriche. Infatti, le piante CAM, essendo capaci di sostenere scambi gassosi per la fotosintesi mantenendo ridotta in maniera significativa la perdita d'acqua, possono vivere nei deserti, dove né le piante $C_3$ né le piante $C_4$ sopravvivono.

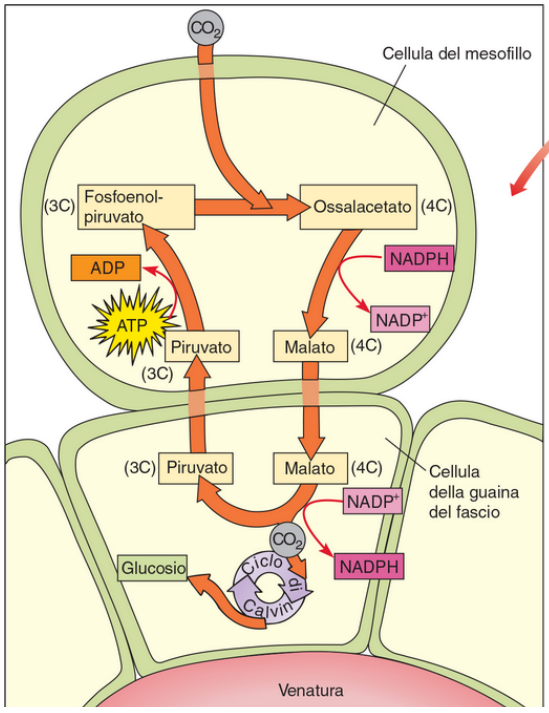



FIGURA 9-16
*Una visione schematica della via $C_4$*
La CO 2 si combina con il fosfoenolpiruvato (PEP) nei cloroplasti delle cellule del mesofillo, formando un composto a quattro atomi di carbonio che è trasformato in malato. Il malato passa poi all'interno dei cloroplasti delle cellule della guaina del fascio, dove è decarbossilato. La CO 2 in tal modo liberata nelle cellule della guaina del fascio è utilizzata per la sintesi di carboidrati mediante il ciclo di Calvin.

FIGURA 9-17 *Una tipica pianta CAM*
Il cactus spinoso ( Opuntia ) è una pianta CAM. Le oltre 200 specie attuali di Opuntia si sono originate nei vari habitat xerici del Nord e Sud America.

**Verifica**
- Quali sono le tre fasi del ciclo di Calvin?
- Quale fase del ciclo di Calvin richiede sia ATP che NADPH?
- Sotto quali aspetti la fotorespirazione differisce dalla respirazione aerobica?
- Le piante C 3 , C 4 e CAM sono tutte dotate di rubisco ? E di PEP carbossilasi?

## 9.6 DIVERSITÀ METABOLICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

11. Confrontare i fotoautotrofi e i chemioeterotrofi rispetto alle loro fonti di energia e di carbonio.

Le piante terrestri, le alghe ed alcuni procarioti sono fotoautotrofi . Sono fototrofi in quanto utilizzano l'energia luminosa per sintetizzare ATP e NADPH, che temporaneamente immagazzinano energia chimica, ma sono instabili e non possono essere accumulati nella cellula. Sono autotrofi (dal greco *auto*, che significa "da sè", e *trophos* che significa "nutrirsi") poiché sintetizzano complesse molecole organiche da semplici molecole inorganiche. L'energia chimica dell'ATP e del NADPH alimenta la fissazione del carbonio, la via anabolica con la quale una cellula sintetizza molecole organiche stabili a partire da $CO_2$ e acqua. I composti organici vengono utilizzati sia come materiale di partenza per la sintesi di altre molecole di cui la cellula necessita (carboidrati, aminoacidi e lipidi), sia come riserva di energia. Il glucosio e gli altri carboidrati prodotti durante la fotosintesi sono composti relativamente ridotti, che possono essere successivamente ossidati dalla respirazione aerobica o da altre vie cataboliche (vedi Capitolo 8 ).

Al contrario, gli animali, i funghi e la maggior parte dei batteri sono chemioeterotrofi . Sono chemiotrofi in quanto ottengono l'energia dai composti chimici mediante reazioni redox (vedi Capitoli 7 e 8 ). Sono eterotrofi (dal greco heter, che significa "altro", e trophos , che significa "nutrirsi") poiché non possono fissare il carbonio; essi utilizzano, invece, molecole organiche prodotte da altri organismi come molecole di partenza per sintetizzare i composti del carbonio di cui necessitano.

Ci sono così familiari le piante come fotoautotrofie gli animali come chemioeterotrofiche siamo portati a pensare che tutti gli organismi ricadano in queste due grandi categorie. In realtà, in alcuni batteri si ritrovano altre due tipologie di nutrizione. Alcuni batteri, noti come batteri purpurei non sulfurei, sono fotoeterotrofi , ovvero in grado di utilizzare l'energia luminosa, ma non di fissare il carbonio, e quindi devono ottenere il carbonio da composti organici. Alcuni altri batteri sono chemioautotrofi , ovvero ricavano l'energia dall'ossidazione di molecole inorganiche ridotte, come idrogeno solforato ($H_2S$), nitriti ($NO_2^-$ )o ammoniaca ($NH_3$ ). Parte di questa energia è poi utilizzata per la fissazione del carbonio.

**Verifica**
- In che modo una pianta verde ottiene energia? E carbonio? In che modo il nostro organismo ottiene queste cose?

## 9.7 LA FOTOSINTESI NELLE PIANTE E NELL'AMBIENTE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

13. Analizzare l'importanza della fotosintesi sia nelle piante che in altri organismi.

Sebbene abbiamo classificato le piante come fotoautotrofi, non tutte le loro cellule effettuano la fotosintesi, ed anche le cellule dotate di cloroplasti posseggono anche i mitocondri ed effettuano la respirazione aerobica. Infatti, la respirazione, che utilizza le molecole organiche sintetizzate dalla pianta stessa, rappresenta la fonte diretta dell'ATP necessario per la gran parte del metabolismo della pianta.

Nelle piante, esistono vari meccanismi che regolano le attività relative di respirazione aerobica e fotosintesi. Benché gli enzimi del ciclo di Calvin non necessitino della luce per funzionare, essi sono regolati dalla luce. Come conseguenza delle reazioni dipendenti dalla luce, lo stroma diventa maggiormente basico (approssimativamente pH 8), attivando l'enzima rubisco ed altri enzimi del ciclo di Calvin. Al contrario, la luce tende ad inibire gli enzimi della glicolisi localizzati nel citosol. Pertanto, la fotosintesi è favorita dalla luce, mentre la respirazione aerobica non lo è. Quando la luce è molto scarsa, ad un livello noto come *punto di compensazione della luce*, la fotosintesi continua ad avvenire, ma non è evidente in quanto la velocità di fissazione della CO 2 ad opera della fotosintesi è uguale alla velocità di rilascio della CO 2 attraverso la respirazione aerobica. D'altra parte, quando la luce è molto intensa, la resa fotosintetica può essere notevolmente ridotta dalla fotorespirazione.

Come abbiamo sottolineato in questo capitolo, le reazioni del ciclo di Calvin forniscono una resa netta di G3P, uno zucchero fosforilato a tre atomi di carbonio. Quali sono i diversi destini della G3P nella pianta? Consideriamo una cellula fogliare attivamente impegnata nella fotosintesi. Una serie di enzimi possono convertire parte della G3P in glucosio e quindi in amido; quest'ultimo viene immagazzinato in granuli di amido che si formano nei cloroplasti. Di recente, è stato dimostrato che la demolizione di questo amido porta normalmente alla produzione del disaccaride maltosio (vedi Fig. 3-8a ). Il maltosio è trasportato fuori dal cloroplasto e scisso nel citosol, fornendo glucosio per la respirazione aerobica. Non tutta la G3P finisce col formare carboidrati; una parte è infine convertita in aminoacidi, acidi grassi ed altre molecole organiche richieste dalle cellule fotosintetiche.

Una parte della G3P è esportata nel citosol, dove degli enzimi la convertono nel disaccaride saccarosio (vedi Fig. 3-8b ). Il saccarosio è quindi attivamente trasportato fuori dalla cellula, si muove attraverso il sistema vascolare della pianta (vedi il Capitolo 35 per una discussione sul trasporto nelle piante) ed è attivamente trasportato all'interno delle varie cellule. Il saccarosio può essere scisso in glucosio e fruttosio, che sono utilizzati nella respirazione aerobica o come materiali di partenza per la sintesi delle varie molecole organiche di cui le cellule necessitano, come gli aminoacidi, i lipidi ed i carboidrati. Tali carboidrati includono la cellulosa, importante per le pareti cellulari (vedi Fig. 3-10 ), e l'amido, particolarmente abbondante negli organi di riserva come le radici (vedi Fig. 3-9a ) e i tuberi (come le patate), e nei semi in via di sviluppo.

I benefici della fotosintesi per l'ambiente sono sbalorditivi. Ovviamente, grazie alla loro capacità di fissare il carbonio, i fotoautotrofi sono la fonte ultima di tutte le molecole organiche utilizzate come sorgente di energia e di carbonio dai chemioeterotrofi, come l'uomo (per l'eccezione, vedi *Approfondimenti: La vita senza il Sole* nel Capitolo 55 ). Inoltre, nello svolgimento della fissazione del carbonio, questi organismi rimuovono la CO 2 dall'atmosfera, rallentando in tal modo il fenomeno del riscaldamento globale (vedi Capitolo 57 ). Di importanza primaria è anche il fatto che la fotolisi dell'acqua ad opera del fotosistema II rilascia l'ossigeno molecolare di cui tutti gli organismi aerobi necessitano per la respirazione aerobica. L'ossigeno molecolare è così reattivo che non potrebbe essere mantenuto a certi livelli nell'atmosfera se non fosse continuamente rifornito in questo modo.

Come sarà discusso nel Capitolo 21 , l'evoluzione della fotosintesi che produce ossigeno ha rappresentato un evento centrale nella storia della vita sulla terra. Difatti, non solo ha permesso l'evoluzione degli organismi aerobi, ma ha reso anche possibile la vita sulla terra poiché nella stratosfera l'O 2 è convertito in ozono (O3), che protegge il pianeta dai danni dei raggi ultravioletti.

**Verifica**

- In che modo una cellula della radice ottiene energia? E molecole organiche?
- Qual è la fonte dell'ossigeno molecolare presente nell'atmosfera terrestre?

## Reazioni complessive della fotosintesi

Reazioni dipendenti dalla luce (trasporto non ciclico degli elettroni):

$$12\ H_2O + 12\ NADP^+ + 18\ ADP + 18\ P_i \xrightarrow[\text{Clorofilla}]{\text{Luce}} 6\ O_2 + 12\ NADPH + 18\ ATP$$

Reazioni di fissazione del carbonio (ciclo di Calvin):

$$12\ NADPH + 18\ ATP + 6\ CO_2 \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 12\ NADP^+ + 18\ ADP + 18\ P_i + 6\ H_2O$$

Cancellando i termini comuni da una parte e dall'altra delle frecce in queste due equazioni accoppiate, si ottiene l'equazione complessiva semplificata per la fotosintesi:

$$\underset{\text{Anidride carbonica}}{6\ CO_2} + \underset{\text{Acqua}}{12\ H_2O} \xrightarrow[\text{Clorofilla}]{\text{Energia luminosa}} \underset{\text{Glucosio}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Ossigeno}}{6\ O_2} + \underset{\text{Acqua}}{6\ H_2O}$$

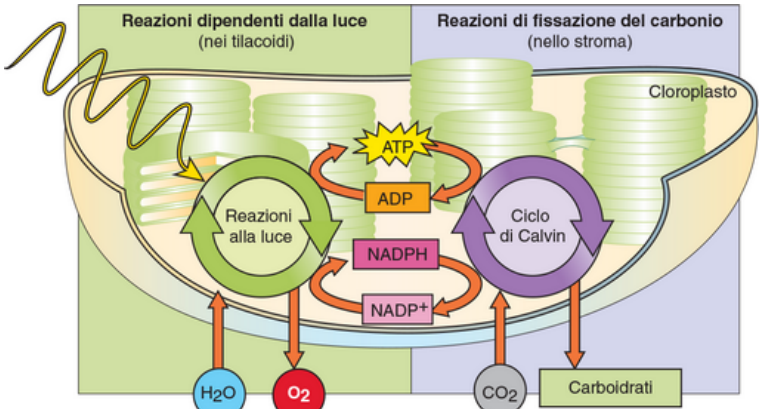
## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIET TIVI DI APPRENDIMENTO

9.1

1. Descrivere le proprietà fisiche della luce e spiegare la relazione che intercorre tra la lunghezza d'onda della luce e la sua energia.
    - La luce è costituita da particelle, denominate fotoni, che si muovono come delle onde.
    - I fotoni con lunghezza d'onda minore posseggono più energia di quelli con lunghezza d'onda maggiore.

9.2

2. Descrivere la struttura interna di un cloroplasto e spiegare come i suoi componenti interagiscono, permettendo lo svolgimento del processo fotosintetico.
    - Nelle piante, la fotosintesi ha luogo nei cloroplasti, che sono localizzati in prevalenza nelle cellule del mesofillo , all'interno della foglia.
    - I cloroplasti sono organuli delimitati da una doppia membrana; la membrana interna racchiude lo stroma , in cui sono sospesi i tilacoidi, membrane sacciformi. I tilacoidi delimitano il lume tilacoidale . I tilacoidi disposti in pile prendono il nome di grana.
    - La clorofilla a , la clorofilla b , i carotenoidi e altri pigmenti fotosintetici sono componenti delle membrane tilacoidali dei cloroplasti.
3. Descrivere il destino di un elettrone in una molecola biologica come la clorofilla quando questa assorbe un fotone di energia luminosa.
    - I fotoni possono eccitare alcune molecole biologiche, come la clorofilla ed altri pigmenti fotosintetici, causando l'eccitazione di uno o più elettroni, i quali possono essere catturati da molecole accettrici di elettroni.
    - Gli spettri di assorbimento combinati della clorofilla a e della clorofilla b sono simili allo spettro di azione della fotosintesi.




9.3

4. Descrivere la fotosintesi come processo di ossido-riduzione.
    - Durante la fotosintesi, l'energia luminosa è catturata e convertita in energia chimica dei carboidrati; gli atomi di idrogeno derivanti

dall'acqua sono utilizzati per ridurre il carbonio, mentre l'ossigeno dell'acqua viene ossidato, formando ossigeno molecolare.

5. Distinguere nella fotosintesi le reazioni dipendenti dalla luce da quelle di fissazione del carbonio.
    - Durante le reazioni dipendenti dalla luce , gli elettroni eccitati dalla luce sono utilizzati per produrre ATP e NADPH; queste molecole forniscono l'energia per la formazione dei carboidrati nel corso delle reazioni di fissazione del carbonio .

9.4

6. Descrivere il flusso di elettroni attraverso i fotosistemi I e II nella via di trasporto non ciclico degli elettroni e i prodotti sintetizzati; fare il confronto con il trasporto ciclico degli elettroni.
    - I fotosistemi I e II sono i due tipi di unità fotosintetiche coinvolte nella fotosintesi. Ciascun fotosistema comprende molecole di clorofilla e pigmenti accessori, organizzati con proteine che legano i pigmenti in complessi antenna .
    - Solo una particolare molecola di clorofilla a nel centro di reazione di un complesso antenna cede i suoi elettroni eccitati ad un vicino accettore di elettroni. P700 è il centro di reazione del fotosistema I, mentre P680 è il centro di reazione del fotosistema II.
    - Durante le reazioni dipendenti dalla luce non cicliche, note come trasporto non ciclico di elettroni , si formano ATP e NADPH.
    - Gli elettroni del fotosistema I sono eccitati mediante assorbimento della luce e trasferiti, attraverso una catena di trasporto degli elettroni, al NADP + formando NADPH. Gli elettroni ceduti dal P700 del fotosistema I sono rimpiazzati da elettroni provenienti dal P680 del fotosistema II.
    - Una serie di reazioni redox avviene quando gli elettroni eccitati passano lungo la catena di trasporto degli elettroni dal fotosistema II al fotosistema I. Gli elettroni donati dal P680 del fotosistema II sono rimpiazzati da elettroni resi disponibili dalla fotolisi dell'acqua; in questo processo viene liberato ossigeno.
    - Durante il trasporto ciclico di elettroni , gli elettroni del fotosistema I tornano alla fine allo stesso fotosistema. Si produce ATP per chemiosmosi , ma non si generano NADPH e ossigeno.
7. Spiegare la formazione del gradiente di protoni (H + ) attraverso la membrana tilacoidale e la funzione di questo gradiente nella sintesi di ATP.
    - La fotofosforilazione è la sintesi di ATP accoppiata al trasporto di elettroni eccitati dai fotoni di luce. Parte dell'energia degli elettroni è utilizzata per pompare protoni attraverso la membrana tilacoidale, fornendo l'energia per sintetizzare ATP mediante chemiosmosi.
    - La diffusione dei protoni attraverso la ATP sintasi , un complesso enzimatico della membrana tilacoidale, provoca la fosforilazione dell'ADP ad ATP.

9.5

8. Riassumere le tre fasi del ciclo di Calvin ed indicare il ruolo che l'ATP e il NADPH svolgono in questo processo.
    - Le reazioni di fissazione del carbonio avvengono attraverso il ciclo di Calvin , conosciuto anche come via C 3.
    - Durante la fase di assunzione di CO 2 del ciclo di Calvin, la CO 2 reagisce con il ribulosio bisfosfato (RuBP), uno zucchero a cinque atomi di carbonio, per azione dell'enzima ribulosio bisfosfato carbossilasi/ossigenasi, noto comunemente come rubisco , per formare il fosfoglicerato (PGA) , un composto a tre atomi di carbonio.
    - Durante la fase di riduzione del carbonio del ciclo di Calvin, l'energia e il potere riducente dell'ATP e del NADPH sono usati per convertire le molecole di PGA in gliceraldeide-3-fosfato (G3P) . Per ogni 6 molecole di CO 2 fissate, si producono 12 molecole di G3P, di cui 2 lasciano il ciclo per produrre l'equivalente di una molecola di glucosio.
    - Durante la fase di rigenerazione del RuBP del ciclo di Calvin, le rimanenti molecole di G3P sono modificate per rigenerare il RuBP.
9. Spiegare in che modo la fotorespirazione riduce l'effcienza fotosintetica.
    - Nella fotorespirazione , le piante C 3 consumano ossigeno e producono CO 2 degradando intermedi del ciclo di Calvin, ma senza produrre ATP. La fotorespirazione si verifica in maniera significativa nelle giornate luminose, calde e secche, quando le piante chiudono gli stomi per conservare acqua, ostacolando però l'afflusso di CO 2 nelle foglie.
10. Confrontare le vie C 4 e CAM.
    - Nella via C 4 , l'enzima PEP carbossilasi lega efficacemente la CO 2 , anche quando questa è a bassa concentrazione. Le reazioni C 4 hanno luogo nelle cellule del mesofillo. La CO 2 è fissata nell'ossalacetato, che è poi trasformato in malato. Il malato migra nelle cellule della

guaina del fascio , dove rilascia la CO 2 permettendo lo svolgimento del ciclo di Calvin.

- La via del metabolismo acido delle crassulacee (CAM) è simile alla via C 4 . Nelle cellule del mesofillo, la PEP carbossilasi fissa il carbonio durante la notte; nelle stesse cellule, durante il giorno, ha invece luogo il ciclo di Calvin.

9.6

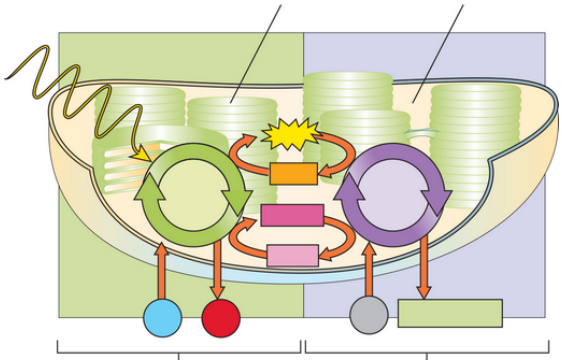
11. Confrontare i fotoautotrofie i chemioeterotrofi rispetto alle loro fonti di energia e di carbonio.
    - I fotoautotrofi utilizzano la luce come fonte di energia e sono capaci di incorporare la CO 2 atmosferica in scheletri carboniosi preesistenti.
    - I chemioeterotrofi ottengono energia attraverso l'ossidazione di composti chimici e il carbonio da molecole organiche prodotte da altri organismi.

9.7

12. Analizzare l'importanza della fotosintesi per una pianta e per gli altri organismi.
    - La fotosintesi rappresenta la sorgente ultima di tutta l'energia chimica e delle molecole organiche disponibili per i fotoautotrofi , come le piante, ed anche per tutti gli altri organismi. Essa, inoltre, rifornisce costantemente l'atmosfera di ossigeno, che è vitale per tutti gli organismi aerobi.

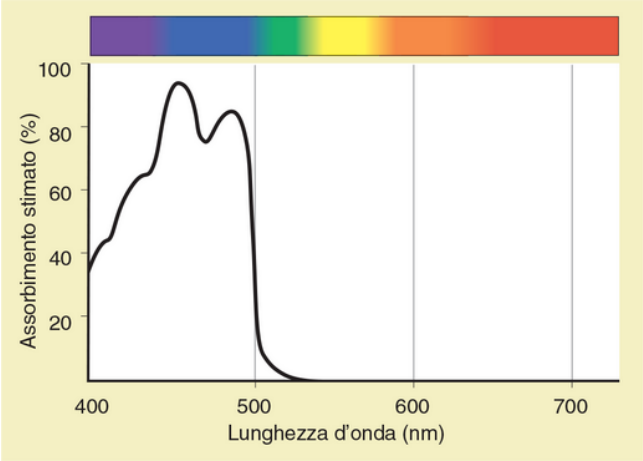
## AUTOVERIFICHE

1. Dov'è localizzata la clorofilla all'interno del cloroplasto? (a) Associata alle membrane tilacoidali; (b) nello stroma; (c) nella matrice; (d) nel lume tilacoidale; (e) tra la membrana interna e quella esterna.
2. Nella fotolisi, parte dell'energia catturata dalla clorofilla è utilizzata per scindere: (a) la CO 2 ; (b) l'ATP; (c) il NADPH; (d) l'H 2 O; (e) sia b che c.
3. La luce è composta da particelle di energia denominate: (a) carotenoidi; (b) centri di reazione; (c) fotoni; (d) complessi antenna; (e) fotosistemi.
4. L'efficienza relativa delle diverse lunghezze d'onda della luce nella fotosintesi è dimostrata da: (a) lo spettro di azione; (b) la fotolisi; (c) le reazioni di fissazione del carbonio; (d) i fotoeterotrofi; (e) uno spettro di assorbimento.
5. Nelle piante, l'accettore finale di elettroni nel flusso di elettroni non ciclico è: (a) NADP + ; (b) CO 2 ; (c) H 2 O; (d) O 2 ; (e) G3P.
6. In _____, gli elettroni che sono stati eccitati dalla luce forniscono energia per aggiungere un gruppo fosfato all'ADP producendo ATP. (a) metabolismo acido delle crassulacee; (b) ciclo di Calvin; (c) fotorespirazione; (d) via C 4 ; (e) fotofosforilazione.
7. Il meccanismo mediante il quale si ha l'accoppiamento tra trasporto di elettroni e produzione di ATP tramite un gradiente protonico è detto: (a) chemiosmosi; (b) metabolismo acido delle crassulacee; (c) fluorescenza; (d) via C 3 ; (e) via C 4 .
8. Il ciclo di Calvin inizia quando l'anidride carbonica reagisce con: (a) il PEP; (b) la G3P; (c) il ribulosio bisfosfato; (d) l'ossalacetato; (e) il PGA.
9. L'enzima direttamente responsabile della fissazione di quasi tutto il carbonio sulla Terra è: (a) rubisco; (b) PEP carbossilasi; (c) ATP sintasi; (d) fosfofruttochinasi; (e) ligasi.
10. Nelle piante C 4 , le vie C 4 e C 3 hanno luogo in _____, mentre nella piante CAM le vie CAM e C 3 hanno luogo in differenti _____. (a) Momenti della giornata; cellule all'in- terno della foglia; (b) stagioni; cellule all'interno della foglia; (c) cellule all'interno della foglia; momenti della giornata; (d) cellule all'interno della foglia; stagioni; (e) momenti della giornata; stagioni.
11. Un organismo classificato come fotoautotrofo ottiene energia da _____ e carbonio da _____. (a) Luce; molecole organiche; (b) luce; CO 2 ; (c) molecole organiche; molecole organiche; (d) molecole organiche; CO 2 ; (e) O 2 ; CO 2 .
12. Aggiungete la didascalia alla figura sottostante. Fate riferimento alla Figura 9-8 per verificare le vostre risposte.



**PENSIERO CRITICO**

1. Tutti gli organismi autotrofi utilizzano l'energia luminosa? Fornite una spiegazione.
2. Per quale motivo, nelle piante, solo alcune cellule sono dotate di cloroplasti, ma tutte le cellule con metabolismo attivo possiedono mitocondri?
3. Spiegate perché il gradiente protonico formato durante la chemiosmosi rappresenta uno stato di bassa entropia. (Potreste dover fare riferimento alla discussione sull'entropia nel Capitolo 7 ).
4. Gli elettroni del glucosio hanno energia libera relativamente alta. Qual è l'origine della loro energia?
5. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Quali strategie si potrebbero usare nel futuro per aumentare il rifornimento alimentare nel mondo? Date una risposta sulla base delle vostre conoscenze sulla fotosintesi e sui fenomeni ad essa correlati.
6. Come sarebbe la vita dei fotoautotrofi se non esistessero i chemioeterotrofi? E quella dei chemioeterotrofi se non esistessero i fotoautotrofi?
7. Cosa vi suggerirebbe l'esistenza di un pianeta lontano con un'atmosfera costituita per il 15% da ossigeno molecolare?
8. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Fornite una spiegazione del fatto che i batteri, i cloroplasti e i mitocondri posseggono tutti quanti complessi di ATP sintasi.
9. ANALISI DEI DATI. La figura sottostante mostra lo spettro di assorbimento di un pigmento vegetale. Quali colori/lunghezze d'onda assorbe? Qual è il colore di questo pigmento?

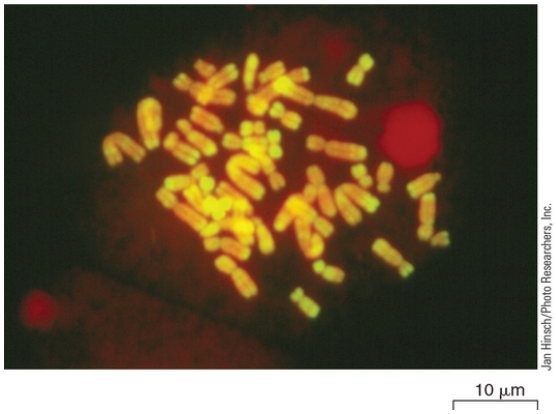



# Articolo X. Cromosomi, mitosi e meiosi 10

Tutte le cellule si originano dalla divisione di cellule preesistenti. Tramite questo importante processo, un organismo può crescere, riparare parti danneggiate e riprodursi. Le cellule funzionano come unità di base della vita e come connessione essenziale tra le generazioni. Anche la cellula più semplice contiene una grande quantità di informazioni codificate nel DNA (acido desossiribonucleico). Il DNA di un individuo è organizzato in unità di informazione chiamate geni, che controllano le attività della cellula e sono trasmessi alla sua progenie. Quando una cellula si divide, l'informazione contenuta nel DNA deve essere prima fedelmente duplicata e quindi le copie prodotte sono trasmesse alle cellule figlie, attraverso una serie precisa di eventi (vedi fotografia).

Il DNA è una molecola molto lunga e sottile, che può facilmente aggrovigliarsi e rompersi, e il nucleo di una cellula eucariotica contiene un'enorme quantità di DNA. In questo capitolo, prenderemo in considerazione come gli eucarioti risolvono questo problema, impacchettando ogni molecola di DNA con proteine e assemblando il complesso risultante in unità strutturali chiamate *cromosomi*. Ogni cromosoma contiene centinaia o migliaia di geni.

Prenderemo quindi in considerazione la mitosi, il meccanismo che assicura che la cellula madre trasmetta una copia di ogni cromosoma a ciascuna delle cellule figlie. In tal modo, il numero dei cromosomi è mantenuto uguale ad ogni divisione mitotica. La maggior parte delle cellule somatiche (cellule del corpo) di un organismo eucariotico si divide per mitosi. Lo studio della mitosi è un'area di ricerca molto attiva per ottime ragioni: gli errori nella mitosi possono causare una serie di disordini e malattie come il cancro, una condizione patologica in cui le cellule si dividono ad una velocità incontrollata e diventano invasive. Pertanto, una comprensione più chiara della mitosi ha la potenzialità di portare al miglioramento delle cure per molte malattie.




Infine, si prenderà in considerazione la meiosi, lo speciale meccanismo con cui si riduce a metà il numero dei cromosomi. Negli eucarioti, i cicli vitali sessuati richiedono la meiosi. La riproduzione sessuata è caratterizzata dalla fusione di due cellule sessuali, o gameti, con formazione di una singola cellula chiamata zigote. La meiosi garantisce che ogni gamete abbia la metà del numero di cromosomi parentale, impedendo così che lo zigote contenga il doppio dei cromosomi dei genitori.

FIGURA 10-1 *cromosomi*
In questa immagine al microscopio ottico a fluorescenza sono mostrati cromosomi umani estratti da una cellula non identificata.

# 10.1 I CROMOSOMI EUCARIOTICI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Discutere il significato dei cromosomi in relazione al loro contenuto di informazione.
2. Spiegare come il DNA è impacchettato in cromosomi nelle cellule eucariotiche.

I principali portatori dell'informazione genetica negli eucarioti sono i cromosomi contenuti nel nucleo cellulare. Sebbene il termine cromosoma significhi "corpo colorato", i cromosomi sono virtualmente incolori; il nome si riferisce alla loro capacità di essere colorati da coloranti specifici. Attorno al 1880, i microscopi ottici erano stati migliorati al punto che i biologi, tra cui il tedesco Walther Fleming, cominciarono ad osservare i cromosomi durante la divisione cellulare. Nel 1903, il biologo americano Walter Sutton e il biologo tedesco Theodor Boveri notarono indipendentemente che i cromosomi erano i portatori fisici dei geni, ovvero di quei fattori genetici che Gregor Mendel aveva scoperto nel diciannovesimo secolo (vedi Capitolo 11 ).
I cromosomi sono costituiti da cromatina , un materiale complesso composto da DNA e proteine ad esso associate. Quando una cellula non è in divisione, la cromatina si trova sotto forma di lunghi e sottili filamenti parzialmente srotolati che, aggregandosi, le conferiscono all'osservazione al microscopio elettronico un aspetto granulare (vedi Fig. 4-13 ). Al momento della divisione cellulare, le fibre di cromatina si condensano e i cromosomi si rendono visibili come strutture distinte ( FIG. 10-1 ).

### Il DNA è organizzato in unità informazionali chiamate geni

Un organismo può possedere centinaia o anche migliaia di geni. Ad esempio, gli uomini possiedono circa 20.000 geni che codificano per proteine. Come vedremo più avanti nei prossimi capitoli, il concetto di gene è cambiato notevolmente dagli albori della genetica ad oggi, ma le nostre definizioni si sono sempre riferite al gene come ad una unità informazionale. Fornendo l'informazione necessaria per svolgere una o più funzioni cellulari specifiche, in definitiva un gene influenza alcune caratteristiche dell'organismo. Ad esempio, i geni controllano il colore degli occhi nell'uomo, la lunghezza delle ali nelle mosche e il colore del seme nei piselli.

### Il DNA è impacchettato in modo altamente organizzato nei cromosomi

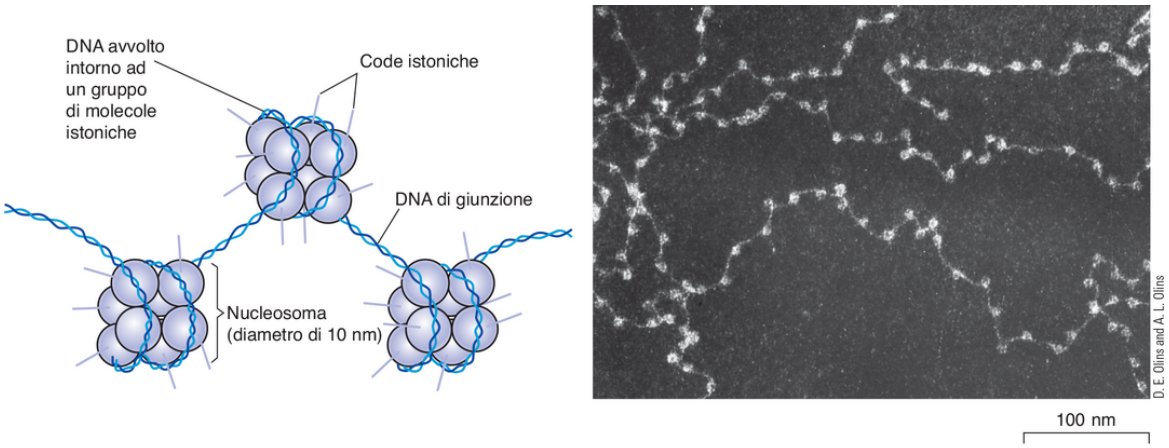
Le cellule procariotiche ed eucariotiche differiscono notevolmente nel contenuto e nell'organizzazione delle molecole di DNA. Il batterio *Escherichia coli* contiene normalmente un DNA lungo circa 4 × 10 6 coppie di basi (quasi 1,35 mm), organizzato in una singola molecola circolare. Dal momento che la lunghezza totale del suo DNA è circa 1000 volte superiore alla lunghezza della cellula, la molecola di DNA è avvolta e ripiegata, con l'aiuto di proteine, per poter essere contenuta nella cellula batterica (vedi Fig. 25-2 ).

Una tipica cellula eucariotica contiene molto più DNA rispetto ad un batterio, ed esso è organizzato all'interno del nucleo in diversi cromosomi, che sono ampiamente variabili in dimensioni e numero tra specie diverse. Benché il nucleo di una cellula umana abbia le dimensioni di una grossa cellula batterica, esso contiene una quantità di DNA pari a oltre 1000 volte quella presente in E. coli . Il contenuto di DNA di uno spermatozoo umano è di circa 3 × 10 9 coppie di basi; se questo fosse stirato da un estremo all'altro, avrebbe una lunghezza di quasi un metro. È sorprendente che tutto questo DNA sia contenuto in un nucleo che ha un diametro di soli 10 µ m.

Come fa una cellula eucariotica a compattare il suo DNA nei cromosomi? Il processo di compattazione è facilitato da proteine chiamate istoni. 1 Gli istoni sono carichi positivamente poiché posseggono un gran numero di aminoacidi con catena laterale basica (vedi Capitolo 3 ). Essi si associano con il DNA, che è carico negativamente per l'abbondanza di gruppi fosfato, per formare strutture dette nucleosomi. L'unità

fondamentale di ciascun nucleosoma consiste in una struttura simile ad una perla con un tratto di DNA di 146 coppie di basi avvolto intorno ad un nucleo discoidale costituito da otto molecole di istoni (due molecole di ciascuno dei quattro tipi differenti di istoni) ( FIG. 10-2 ). Anche se il nucleosoma è stato originariamente definito come l'insieme di una "perla" e del segmento di DNA che la lega alla "perla" adiacente, oggi il termine si riferisce più comunemente alla sola "perla" (ovvero, gli otto istoni e il DNA avvolto intorno ad essi).

[1 Alcuni tipi di cellule eucariotiche sono prive di istoni. Al contrario, gli istoni sono presenti in un gruppo di procarioti, gli archaea (vedi Capitolo "Batteri e Archeobatteri").]




**(a) Un modello della struttura di un nucleosoma.** Ciascun nucleosoma contiene un gruppo di otto molecole di istoni che forma un nucleo proteico intorno al quale si avvolge il DNA a doppia elica. Il tratto di DNA che circonda gli istoni è lungo 146 coppie di basi; un altro segmento di DNA, della lunghezza di circa 60 coppie di basi, collega i nucleosomi tra loro.

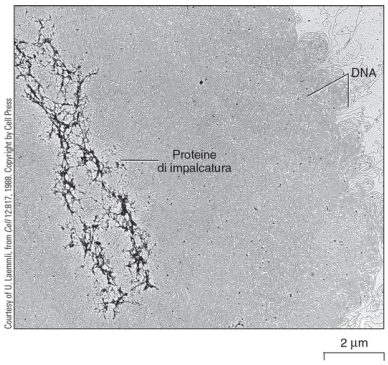
**(b) Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione dei nucleosomi derivanti dal nucleo di una cellula di pollo.** Normalmente, i nucleosomi sono impacchettati più strettamente, ma qui risultano sparsi a causa della procedura di preparazione, rivelando i tratti di DNA di giunzione.

←FIGURA 10-2
Nucleosomi

I nucleosomi funzionano come dei piccoli rocchetti che impediscono al DNA di aggrovigliarsi. L'importanza del ruolo dei nucleosomi è evidenziata nella FIGURA 10-3 , che illustra l'enorme lunghezza del DNA che si libera da un cromosoma di topo in seguito alla rimozione degli istoni. Il ruolo degli istoni, tuttavia, non è soltanto strutturale, in quanto la loro disposizione influisce anche sull'attività del DNA a cui sono associati. Gli istoni sono considerati sempre più una componente importante della regolazione dell'espressione genica (accensione e spegnimento dei geni). La regolazione genica ad opera degli istoni sarà discussa nel Capitolo 14 .

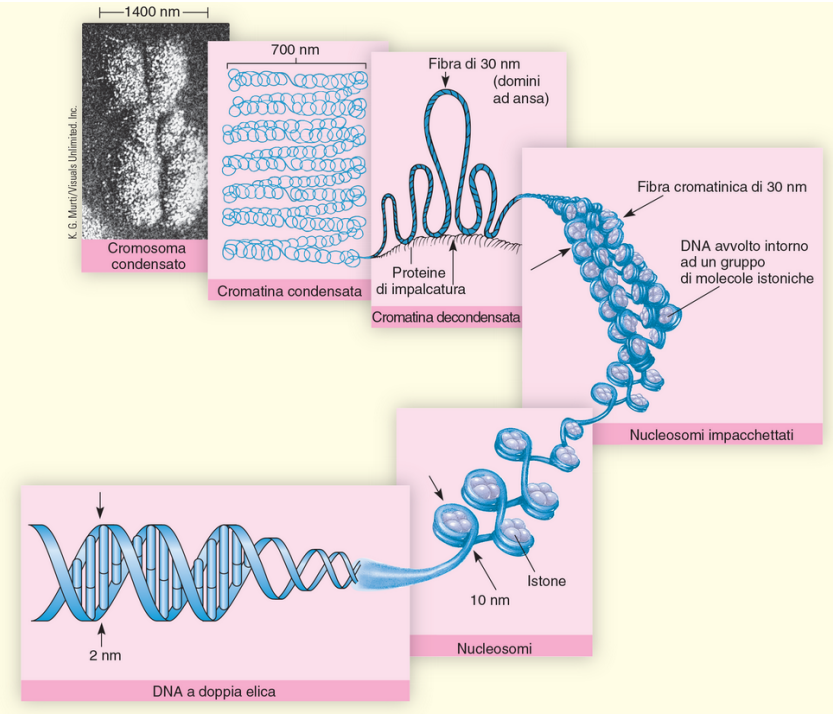
L'avvolgimento del DNA in nucleosomi rappresenta il primo livello di struttura dei cromosomi. La FIGURA 10-4 mostra le strutture di livello superiore che portano la cromatina a formare un cromosoma condensato. I nucleosomi hanno un diametro di 10 nm; lo stato "a nucleosomi impacchettati" si raggiunge quando un quinto tipo di istone, noto come *istone H1* , si associa con il DNA di giunzione (DNA linker), compattando tra loro nucleosomi adiacenti per formare una fibra del diametro di 30 nm. Nella cromatina in forma estesa, queste fibre formano delle grandi anse a spirale, tenute insieme da proteine di impalcatura , proteine non istoniche che contribuiscono al mantenimento della struttura del cromosoma. Le anse poi interagiscono per formare la cromatina condensata che costituisce i cromosomi metafasici. I biologi cellulari hanno identificato un gruppo di proteine, collettivamente chiamate condensina , necessarie per la compattazione cromosomica. La condensina si lega al DNA e lo avvolge in anse raggomitolate che sono compattate in un cromosoma mitotico o meiotico.

FIGURA 10-3→
*Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione di un cromosoma di topo privato degli istoni*
È da notare come le fibre di DNA siano densamente impaccate, nonostante siano state private delle proteine istoniche che le organizzano in strutture superavvolte.




## I cromosomi di specie diverse differiscono nel numero e nel contenuto informazionale

Ogni individuo di una data specie possiede un caratteristico numero di cromosomi nel nucleo delle cellule somatiche. Tuttavia, non è il numero di cromosomi ciò che rende ogni specie unica, ma piuttosto l'informazione specificata dai singoli geni nei cromosomi. Nell'uomo, la maggior parte delle cellule somatiche ha esattamente 46 cromosomi. L'uomo non è tale semplicemente per il fatto di possedere 46 cromosomi, infatti alcuni individui possiedono cariotipi anomali, con più o meno di 46 cromosomi (vedi Fig. 16-4 ). L'uomo, inoltre, non è il solo ad avere 46




**PUNTO CHIAVE** Quando una cellula si prepara a dividersi, i suoi cromosomi si ispessiscono e si accorciano via via che le loro fibre cromatiniche vengono compattate.

←FIGURA 10-4
*Organizzazione di un cromosoma eucariotico*
La figura mostra il modo in cui il DNA viene impacchettato in cromosomi altamente condensati. Prima di tutto, il DNA è avvolto intorno a proteine istoniche a formare i nucleosomi. Quindi, i nucleosomi sono compattati in fibre di cromatina, che sono avvolte in domini ad ansa.Tali domini sono a loro volta compattati, formando Infine i cromosomi.

Altre specie hanno un numero diverso di cromosomi. Una particolare specie di anellidi ha soltanto 2 cromosomi in ogni cellula, alcuni granchi ne hanno fino a 200 e alcune felci più di 1000. La maggior parte delle specie animali e vegetali possiede tra 8 e 50 cromosomi e, in genere, è raro trovare numeri superiori o inferiori a questi. Il numero di cromosomi posseduti da una specie non è indice della complessità di quella specie o della sua appartenenza ad un particolare dominio o regno.

**Verifica**

- Come si chiamano le unità informazionali presenti sui cromosomi? In cosa consistono tali unità informazionali?
- Come viene risolto il problema dell'enorme discrepanza tra la lunghezza del DNA e le dimensioni del nucleo nelle cellule eucariotiche?

## 10.2 IL CICLO CELLULARE E LA MITOSI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

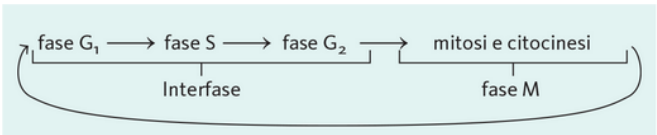
3. Identificare le tappe del ciclo cellulare eucariotico e descriverne gli eventi principali.
4. Descrivere la struttura di un cromosoma duplicato, evidenziando i cromatidi fratelli, i centromeri e i cinetocori.
5. Spiegare il significato della mitosi e schematizzare il processo.

Solitamente, quando le cellule raggiungono una certa dimensione, devono arrestare l'accrescimento o dividersi. Non tutte le cellule si dividono. Alcune cellule, come le cellule nervose, quelle del muscolo scheletrico e gli eritrociti, una volta mature, cessano di dividersi. Altre cellule vanno incontro a sequenze di attività richieste per la crescita e la divisione cellulare.

Gli stadi attraverso i quali una cellula passa da una divisione cellulare alla successiva costituiscono il ciclo cellulare . La durata del ciclo cellulare varia, ma nelle cellule animali e vegetali in attiva crescita è compresa tra le 8 e le 20 ore. Il ciclo cellulare consiste in due fasi principali, l'interfase e la fase M, ciascuna delle quali può essere riconosciuta mediante l'utilizzo di un microscopio ottico ( FIG. 10-5 ).

### I cromosomi si duplicano durante l'interfase

La cellula trascorre la maggior parte della propria vita in interfase , il periodo in cui non avviene la divisione cellulare. Una cellula è metabolicamente attiva in questo periodo, poiché sintetizza le sostanze necessarie e si accresce. La maggior parte delle proteine, dei lipidi e degli altri materiali biologicamente importanti è sintetizzata durante l'interfase. Qui di seguito è riportata la sequenza degli stadi dell'interfase e della fase M nel ciclo cellulare eucariotico:



Il periodo che intercorre tra la fine della mitosi e l'inizio della fase S è definito fase G 1 ( ***G*** sta per ***gap***, un intervallo durante il quale non c'è sintesi di DNA). La crescita e il normale metabolismo si verificano in fase G 1 , che è di solito la più lunga. Le cellule che non si dividono solitamente si arrestano in questa fase del ciclo cellulare e si trovano in uno stato definito G 0 . Verso la fine della fase G 1 , viene incrementata l'attività degli enzimi richiesti per la sintesi del DNA. La sintesi di tali enzimi, insieme a quella delle proteine necessarie per iniziare la divisione cellulare (che saranno trattate più avanti in questo capitolo), rende possibile l'ingresso della cellula in fase S.

Durante la fase di sintesi , o fase S , avvengono la replicazione del DNA e la sintesi degli istoni, poiché la cellula deve duplicare i propri cromosomi. Come è stata identificata la fase S del ciclo cellulare? All'inizio degli anni '50, fu dimostrato che le cellule che si preparano a dividersi duplicano i propri cromosomi in un intervallo di tempo relativamente ristretto dell'interfase e non all'inizio della mitosi, come era stato ipotizzato in precedenza. Per dimostrare questo, furono utilizzati isotopi, come il 3 H, per sintetizzare quando questo viene sintetizzato. Dopo aver fornito timidina radioattiva per un breve periodo (circa 30 minuti) alle cellule in attiva crescita, l'autoradiografia (vedi Fig. 2-3 ) mostrò sulla lastra impressionata la presenza di granuli d'argento sui cromosomi di una frazione di cellule. I nuclei di queste cellule erano radioattivi perché durante l'esperimento il loro DNA si era replicato. La replicazione del DNA non era avvenuta invece nelle cellule i cui cromosomi non erano marcati radioattivamente. La proporzione delle cellule marcate, rispetto al numero totale di cellule, fornisce una stima approssimativa della lunghezza della fase S in relazione alla lunghezza totale del ciclo cellulare.

**PUNTO CHIAVE** Il ciclo cellulare consiste nella successione degli eventi che caratterizzano la vita di una cellula.

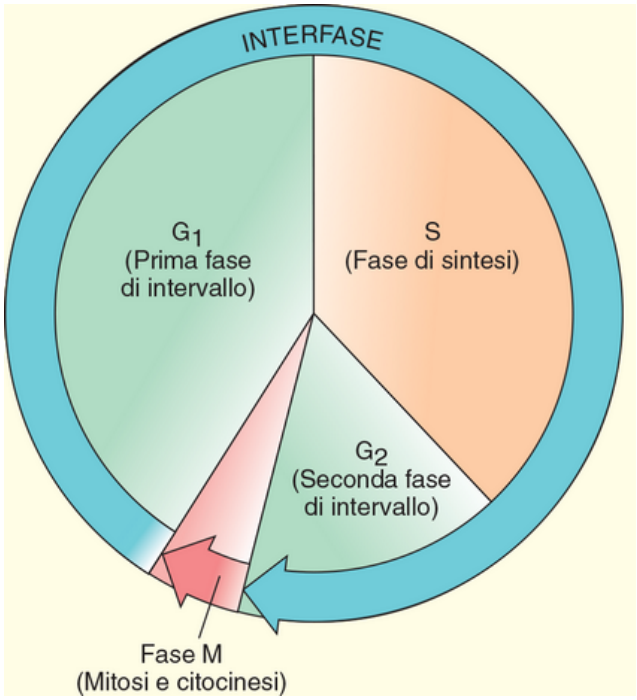
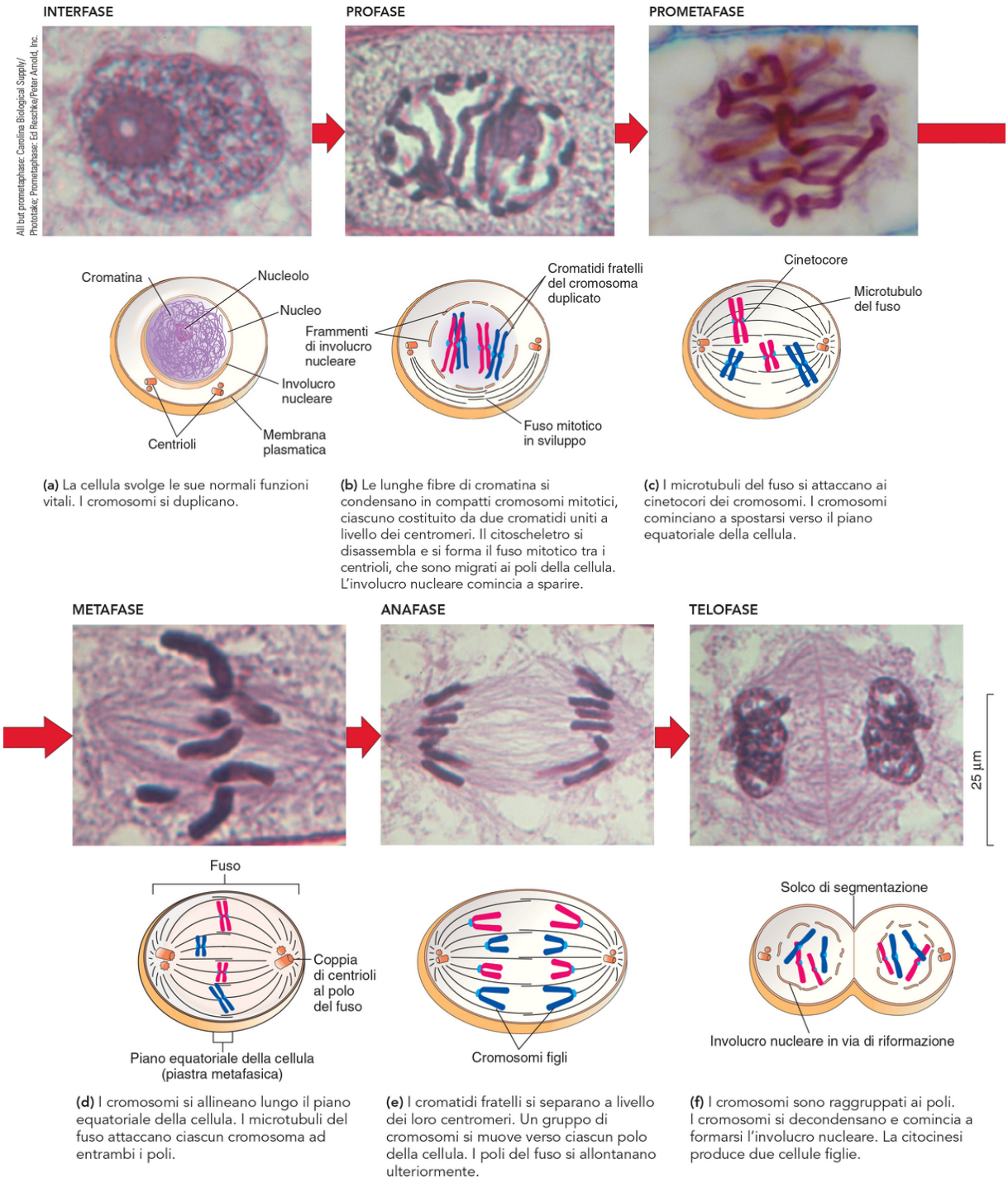



FIGURA 10-5
*Il ciclo cellulare eucariotico*
Il ciclo cellulare include l'interfase (G 1 , S e G 2 ) e la fase M (mitosi e citocinesi). La durata relativa di ciascuno stadio varia a seconda della specie, del tipo di cellula e delle condizioni di crescita. Se il ciclo cellulare avesse una durata di 12 ore, la fase G 1 durerebbe circa 5 ore, la fase S circa 4,5 ore, la fase G 2 circa 2 ore e la fase M circa 30 minuti.

Una volta completata la fase S, la cellula entra in una seconda fase di intervallo, la fase G 2 . In questo periodo, si verifica un aumento della sintesi proteica, come stadio terminale della preparazione della cellula alla divisione. Per molte cellule, la durata della fase G 2 è più breve rispetto a quella delle fasi G 1 e S.

La fase M coinvolge due principali processi, mitosi e cito- cinesi. La mitosi, la divisione nucleare che produce due nuclei identici a quello della cellula madre, inizia al termine della fase G 2 . La citocinesi, che generalmente inizia prima che la mitosi sia completata, è la divisione del citoplasma cellulare per formare due cellule. La mitosi è un processo continuo; tuttavia, a scopo descrittivo, viene suddivisa in cinque stadi:

profase ⟶ prometafase ⟶ metafase ⟶ anafase ⟶ telofase




←FIGURA 10-6 *L'interfase e gli stadi della mitosi*
Le immagini al microscopio ottico mostrano cellule vegetali, che sono prive di centrioli. I disegni descrivono cellule animali, con un numero diploide di cromosomi pari a quattro. Le dimensioni dei nuclei e dei cromosomi sono aumentate per mostrare meglio la loro struttura.

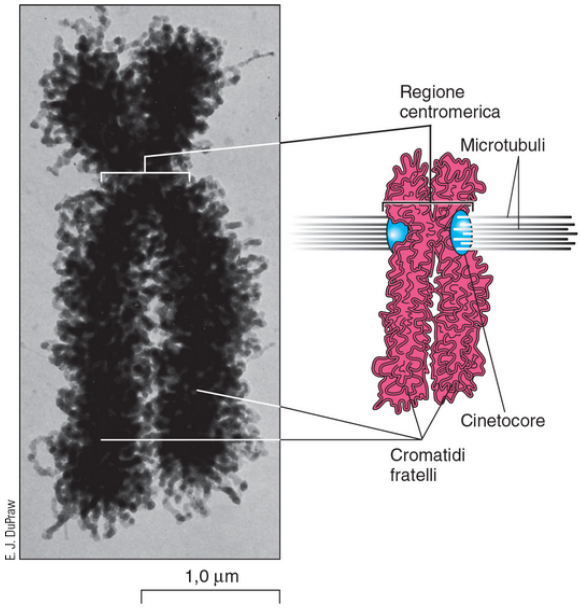
Studiate la FIGURA 10-6 nel corso della lettura delle descrizioni che seguiranno relative ai diversi stadi in una tipica cellula vegetale o animale.

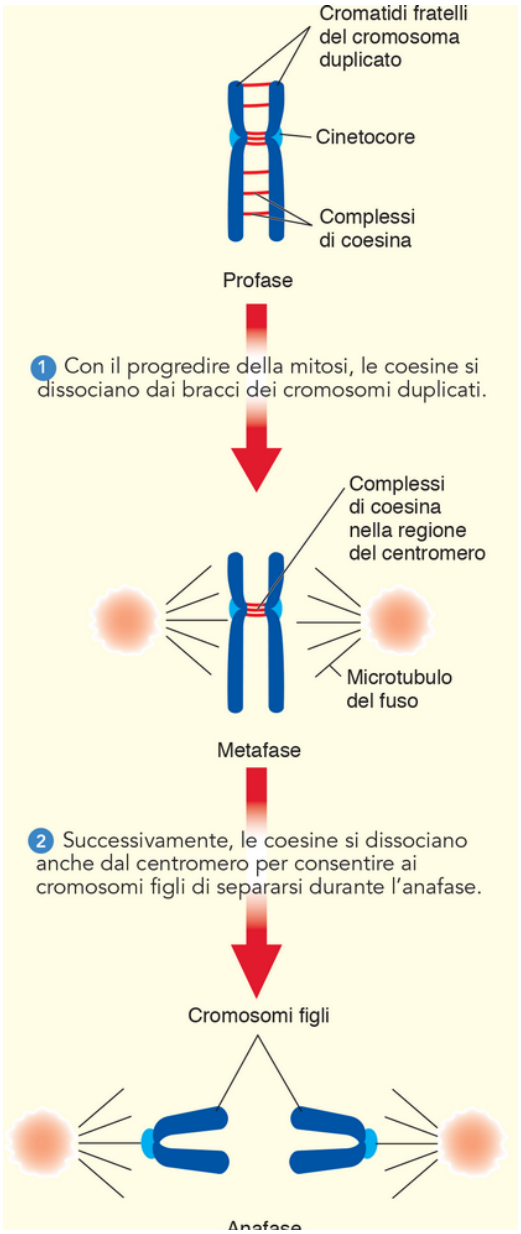
## I cromosomi duplicati divengono visibili al microscopio durante la profase

Il primo stadio della mitosi, la profase , inizia con la compattazione dei cromosomi, quando i lunghi filamenti di cromatina che formano i cromosomi, iniziano un processo di spiralizzazione che li rende contemporaneamente più corti e più spessi. La cromatina compattata può essere così distribuita alle cellule figlie senza aggrovigliarsi.
Quando vengono evidenziati con particolari coloranti e osservati al microscopio ottico, i cromosomi sono visibili durante la profase come corpi scuri. Ogni cromosoma è stato duplicato durante la precedente fase S e consiste di una coppia di unità identiche, chiamate cromatidi fratelli (cromosoma dicromatidico). Ogni cromatidio contiene una regione particolare, chiamata centromero . I cromatidi fratelli sono strettamente associati in corrispondenza dei loro centromeri ( FIG. 10-7 ). La base chimica di questa associazione a livello dei centromeri risiede nella presenza di precise sequenze di DNA saldamente legate a specifiche proteine.
Ad esempio, i cromatidi fratelli sono legati fisicamente da un complesso proteico a forma di anello detto

coesina . Le coesine si estendono per tutta la lunghezza dei bracci dei cromatidi fratelli e sono particolarmente concentrate a livello del centromero ( FIG. 10-8 ). Queste coesine, che tengono i cromosomi replicati uniti traloro dal momento della loro sintesi in fase S in avanti, aiutano ad assicurare una segregazione accurata dei cromosomi durante la mitosi.
Ad ogni centromero è associata una struttura proteica chiamata cinetocore , alla quale possono legarsi i microtubuli . Questi microtubuli sono fondamentali per il processo che permette la separazione dei cromatidi fratelli ciascuno dei quali migra in ciascuna delle due cellule figlie.
Una cellula in divisione è di solito descritta come una sfera, con un equatore che determina il piano equatoriale e due poli opposti. Questa terminologia è utilizzata per tutte le cellule, indipendentemente dalla loro forma reale. I microtubuli si irradiano da ciascun polo e si allungano verso i cromosomi formando una struttura complessa chiamata fuso mitotico ( FIG. 10-9 ). Le estremità meno di questi microtubuli sono ai poli del fuso e le estremità più si estendono verso l'asse mediano della cellula. Potrebbe essere d'aiuto rivedere la Figura 4-24 che mostra l'organizzazione dei microtubuli quali polimeri lineari della proteina tubulina . Il fuso mitotico è responsabile della separazione dei cromosomi durante l'anafase. Per l'organizzazione e la funzione del fuso è necessaria la presenza di proteine motrici e di una varietà di molecole segnale.

FIGURA 10-7 *Cromatidi fratelli e centromeri*
I cromatidi fratelli, ciascuno costituito da fibre di cromatina altamente condensate, sono strettamente associati nella regione del centromero, indicata dalle parentesi. A ciascun centromero è associato un cinetocore, che serve come punto di attacco ai microtubuli. I cinetocori e i microtubuli non sono visibili in questa fotografia di un cromosoma metafasico eseguita al microscopio elettronico a trasmissione.




Esistono delle differenze nell'organizzazione del fuso mitotico fra le cellule animali e vegetali. In entrambi i tipi di cellule, durante la divisione ciascun polo contiene una regione, detta centro organizzatore dei microtubuli (MTOC, Micro-Tubule Organizing Center), dalla quale si irradiano i microtubuli che formano il fuso mitotico. Nelle piante superiori, il centro organizzatore dei microtubuli, osservato al microscopio elettronico, appare formato da materiale denso fibrillare quasi privo di struttura.
Al contrario, nelle cellule animali, immersa nel centro organizzatore dei microtubuli, si trova una coppia di centrioli (vedi Fig. 4-26 ), circondata da fibrille che costituiscono la sostanza pericentriolare . I microtubuli del fuso terminano nella sostanza pericentriolare senza essere mai in effettivo contatto con i centrioli. Si è a lungo creduto che i centrioli fossero coinvolti nella formazione del fuso mitotico, ma probabilmente il loro coinvolgimento è casuale. Prove attuali suggeriscono che i centrioli organizzino la sostanza pericentriolare e ne assicurino la duplicazione quando essi stessi si duplicano.

**PUNTO CHIAVE** Quando i cromosomi mitotici si duplicano, i cromatidi fratelli sono inizialmente associati per mezzo di complessi proteici chiamati coesine. I legami mediati dalle coesine sono particolarmente concentrati in prossimità del centromero.

FIGURA 10-8 Coesine

Ciascun centriolo si duplica durante la fase S dell'interfase, dando origine a due coppie di centrioli. Nella tarda profase, i microtubuli si irraggiano a partire dalla sostanza pericentriolare che circonda i centrioli; questi fasci di microtubuli sono detti aster. I due aster si muovono verso i due lati opposti del nucleo, determinando i due poli del fuso mitotico.

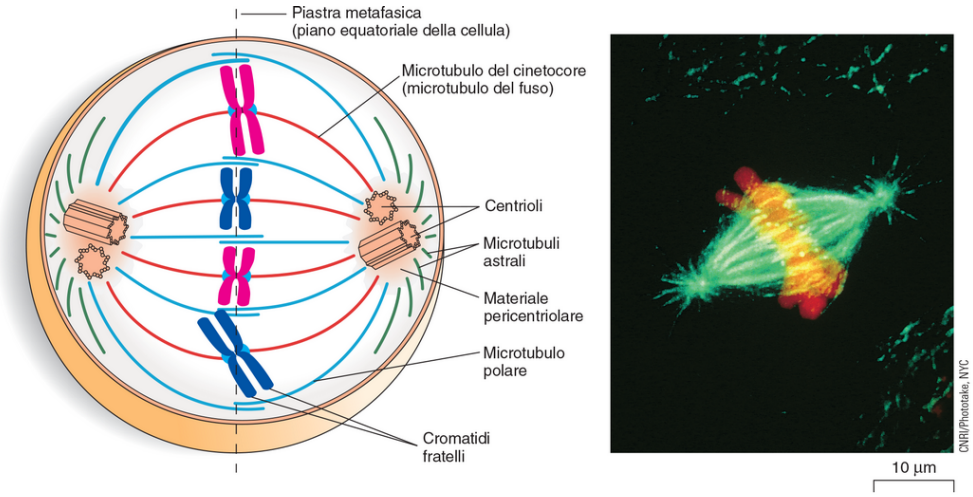
## La prometafase ha inizio con la disgregazione dell'involucro nucleare

Durante la prometafase , l'involucro nucleare si frammenta cosicché i microtubuli del fuso vengono in contatto con i cromosomi; frammenti di involucro nucleare vengono sequestrati all'interno di vescicole in modo da poter essere riutilizzato in seguito per formare gli involucri nucleari delle cellule figlie. Il nucleolo si raggrinzisce e solitamente sparisce, mentre il fuso mitotico è completamente assemblato. All'inizio della prometafase, i cromosomi duplicati sono sparsi in tutta la regione nucleare (vedi la fotografia introduttiva del capitolo, che mostra la prometafase precoce). I microtubuli del fuso si allungano e si accorciano mentre si spostano verso il centro della cellula in un processo di "ricerca e cattura". I loro movimenti casuali e dinamici danno l'impressione che essi stiano "cercando" i cromosomi. Se un microtubulo si avvicina ad un centromero, viene "catturato" da uno dei cinetocori del cromosoma duplicato. Mentre il cromosoma, adesso legato, continua a muoversi verso il piano equatoriale della cellula, il cinetocore non attaccato del suo cromatidio fratello si connette ad un microtubulo del fuso proveniente dal polo opposto della cellula.
Nel corso dei movimenti dei cromosomi verso il piano equatoriale della cellula, i microtubuli lunghi si accorciano per rimozione di subunità di tubulina, mentre i microtubuli corti si allungano per aggiunta di subunità di tubulina. Alcune osservazioni sperimentali indicano che l'accorciamento e l'allungamento si verificano all'estremità del microtubulo vicina al cinetocore (estremità più), e non all'estremità vicina al polo del fuso (estremità meno). Durante l'accorciamento e l'allungamento, il microtubulo del fuso resta saldamente ancorato al cinetocore. Nel fenomeno dell'ancoraggio potrebbero essere coinvolte proteine motrici localizzate a livello dei cinetocori, che si presume agiscano in modo simile ai motori di chinesina mostrati in Figura 4-25 .
Riassumendo gli eventi della prometafase, i cromatidi fratelli di ciascun cromosoma duplicato si attaccano, a livello dei propri cinetocori, ai microtubuli del fuso che si estendono dai poli opposti della cellula, e i cromosomi cominciano a muoversi verso il piano equatoriale della cellula. Durante la transizione da prometafase a metafase, le coesine si dissociano dai bracci dei cromatidi fratelli, liberandoli l'uno dall'altro, anche se alcune coesine restano localizzate in prossimità del centromero.

## I cromosomi duplicati si allineano sul piano equatoriale della cellula durante la metafase

Durante la metafase , tutti i cromosomi della cellula si allineano lungo il piano equatoriale, o piastra metafasica , della cellula. Un cromatidio fratello di ciascun cromosoma si attacca tramite il cinetocore ai microtubuli di un polo, mentre l'altro cromatidio fratello si attacca ai microtubuli dell'altro polo.
Il fuso mitotico è composto da tre tipi di microtubuli: i microtubuli polari, i microtubuli dei cinetocori e i microtubuli dell'aster (vedi Fig. 10-9 ). I microtubuli polari , noti anche come *microtubuli non dei cinetocori*, si estendono dai poli alla regione equatoriale, e generalmente si sovrappongono e interagiscono con i microtubuli polari del polo opposto. I microtubuli dei cinetocori si estendono a partire dai poli e si attaccano ai cromosomi a livello dei loro cinetocori. I microtubuli dell'aster sono corti microtubuli che formano gli aster a livello di ciascun polo.

*FIGURA 10-9→*
*Il fuso mitotico*




**(a)** Un'estremità di ciascun microtubulo di questa cellula animale è collegata ad uno dei poli. I microtubuli astrali (*in verde*) si irradiano in ogni direzione formando l'aster, quelli del cinetocore (*in rosso*) collegano i cinetocori ai poli, quelli polari (*in blu*) si sovrappongono sul piano equatoriale.

**(b)** Cellula animale in metafase, osservata in fluorescenza, con il fuso mitotico e gli aster ben evidenti (i cromosomi sono in *arancio*, i microtubuli in *verde*).

Durante la metafase, ogni cromatidio è totalmente condensato ed appare ben distinguibile. Poiché i singoli cromosomi sono visibili in maniera più distinta nella metafase rispetto a qualsiasi altro momento, è in questo stadio che di solito viene analizzato il cariotipo , ovvero la composizione cromosomica, per valutare la presenza di anomalie cromosomiche (vedi Capitolo 16 ). Nella transizione da metafase ad anafase, le proteine coesine, rimaste legate ai cromatidi fratelli a livello del centromero, si dissociano.

## I cromosomi migrano verso i poli durante l'anafase

L' anafase ha inizio quando i cromatidi fratelli si separano. Nel momento in cui i cromatidi non sono più attaccati alle loro copie, ogni cromatidio è considerato come un *cromosoma*. I cromosomi disgiunti migrano ai poli opposti utilizzando i microtubuli del fuso come binari. I cinetocori, ancora attaccati ai microtubuli dei cinetocori, guidano il cammino, portandosi dietro i bracci dei cromosomi. L'anafase termina quando tutti i cromosomi hanno raggiunto i poli.

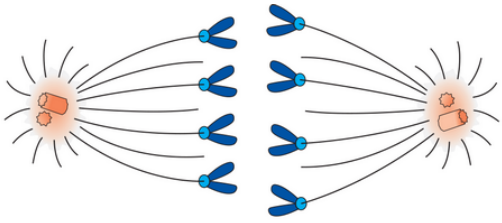
Complessivamente, il meccanismo del movimento dei cromosomi in anafase è ancora poco conosciuto, sebbene siano stati fatti progressi significativi in questo campo. I movimenti dei cromosomi sono studiati in vari modi. Il numero dei microtubuli presenti ad un particolare stadio o dopo specifici trattamenti può essere determinato attraverso un'attenta analisi al microscopio elettronico. È possibile alterare con mezzi fisici cellule vive in divisione usando un microlaser o strumenti meccanici come i *micromanipolatori*. Ricercatori esperti possono trasferire cromosomi, rompere le loro connessioni con i microtubuli e anche asportarli completamente dalla cellula.

I microtubuli mancano di proprietà elastiche o contrattili. Come possono, quindi, i cromosomi allontanarsi? Sono spinti, tirati o intervengono altre forze? I microtubuli sono strutture dinamiche, in cui le subunità di *tubulina* vengono continuamente rimosse ed aggiunte alle estremità. Ci sono molte dimostrazioni sperimentali che durante l'anafase i microtubuli del cinetocore si accorcino, o si *depolimerizzino* a livello della loro estremità più, che si trova in prossimità del piano mediano della cellula ( FIG. 10-10 ). Questo meccanismo di accorciamento dei microtubuli trascina i cromosomi verso i poli.

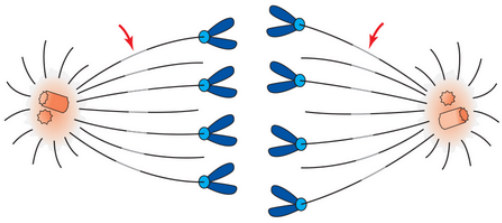
Un secondo meccanismo gioca un ruolo nella separazione dei cromosomi. Durante l'anafase, l'intero fuso si allunga, almeno parzialmente, perché i microtubuli polari che hanno origine ai poli opposti sono associati con dei motori che li rendono capaci di scivolare uno sull'altro all'equatore, diminuendone il grado di sovrapposizione e allontanando quindi i poli. Questo meccanismo, indirettamente, fa sì che i cromatidi si allontanino, dal momento che sono uniti ai poli mediante i microtubuli dei cinetocori.

## Durante la telofase si formano due nuclei distinti

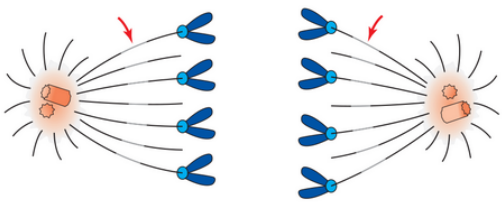
Durante lo stadio finale della mitosi, la telofase , i cromosomi arrivano ai poli e vi è un ritorno ad una condizione simile a quella di interfase. I cromosomi si decondensano despiralizzandosi. Attorno ad ogni serie di cromosomi, si sviluppa un involucro nucleare costituito, almeno in parte, da piccole vescicole e da altri componenti derivati dal vecchio involucro nucleare. I microtubuli del fuso scompaiono, mentre divengono visibili i nucleoli.



I ricercatori marcarono i microtubuli usando un microfascio di raggi laser al fine di sbiancare i microtubuli localmente, mantenendoli intatti.



RISULTATI E CONCLUSIONI: I cromosomi si spostarono verso le aree sbiancate dei microtubuli del fuso, indicando un accorciamento dei microtubuli a livello del cinetocore. I microtubuli non si accorciarono all'estremità polare.



I cromosomi si spostarono verso i poli perchè rimasero ancorati ai microtubuli del cinetocore giacchè le subunità di tubulina vennero rimosse alle estremità dei microtubuli legate al cinetocore.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE:* I microtubuli del fuso muovono i cromosomi mediante accorciamento (ovvero depolimerizzazione) dei microtubuli a livello dei poli del fuso o all'estremità legate al cinetocore?

SVILUPPARE UN'IPOTESI: I microtubuli del fuso spostano i cromosomi verso i poli mediante un meccanismo in cui i microtubuli vengono accorciati all'estremità legata al cinetocore.

EFFETTUARE ESPERIMENTI: I microtubuli in cellule di rene di maiale studiate in anafase precoce sono stati evidenziati con un colorante fluorescente che si lega specificamente ai microtubuli.

FIGURA 10-10 Utilizzo del photobleaching (fotodecadimento) per determinare la modalità con cui i cromosomi vengono trasportati verso i poli del fuso durante l'anafase

## Tramite la citocinesi si formano due distinte cellule figlie

La citocinesi, cioè la divisione del citoplasma per produrre due cellule figlie, è l'ultimo stadio della fase M e normalmente si sovrappone in parte alla mitosi, cominciando durante la telofase. La citocinesi di una cellula animale o fungina (ad esempio, di lievito) comincia nel momento in cui un *anello di acto-miosina contrattile* si forma e viene associato alla membrana plasmatica. L'anello contrattile circonda la cellula nella regione equatoriale, perpendicolarmente al fuso ( FIG. 10-11a ). L'anello contrattile è costituito da filamenti di actina e di miosina associati tra loro; si pensa che l'attività motrice della miosina muova i filamenti di actina in modo da causare la costrizione, analogamente a ciò che

avviene nel processo di contrazione muscolare (vedi Fig. 40-10 ). La contrazione dell'anello produce un solco di divisione che gradualmente diviene più profondo e separa il citoplasma in due cellule figlie, ciascuna con un nucleo completo. L'anello contrattile viene a questo punto disassemblato.
Nelle cellule vegetali, la citocinesi avviene tramite la formazione di una piastra cellulare ( FIG. 10-11b ), un setto costruito nella regione equatoriale del fuso che cresce verso la parete della cellula. La piastra cellulare si forma da vescicole che si originano dal *complesso del Golgi*. Le vescicole contengono materiale per costruire sia la parete cellulare primaria di ogni cellula figlia che la lamella mediana che cementerà le pareti cellulari. Le membrane delle vescicole si fondono per formare le membrane plasmatiche delle cellule figlie.
Le cellule multinucleate si formano quando la mitosi non è seguita dalla citocinesi; questa è una condizione normale per alcuni tipi cellulari. Ad esempio, il corpo delle muffe mucillaginose plasmodiali consiste in una massa di citoplasma multinucleata (vedi Fig. 26-19a ).

## La mitosi produce due cellule geneticamente identiche alla cellula madre

L'eccezionale rigore del processo di divisione cellulare assicura che ognuno dei nuclei figli riceva esattamente lo stesso numero e lo stesso tipo di cromosomi che possedeva la cellula madre. In questo modo, tranne alcune eccezioni, ogni cellula di un organismo pluricellulare possiede esattamente la stessa costituzione genetica. Se una cellula riceve un numero di cromosomi inferiore o superiore, a causa di errori nel processo di divisione cellulare, è possibile che la cellula figlia presenti marcate anomalie e sia incapace di sopravvivere.
La mitosi consente la distribuzione ordinata dei cromosomi (e dei centrioli, se presenti), ma cosa si può dire a proposito della distribuzione dei vari organuli citoplasmatici? Ad esempio, tutte le cellule eucariotiche, anche quelle delle piante, necessitano dei mitocondri, così come le cellule vegetali fotosintetiche non possono effettuare la fotosintesi senza i cloroplasti. Questi organuli contengono un proprio DNA e sembrano originarsi dalla divisione di mitocondri e plastidi preesistenti oppure di loro precursori. Questo processo di divisione non mitotico è simile alla divisione cellulare dei procarioti (discussa nel prossimo paragrafo) e generalmente si verifica durante l'interfase. Poiché in ogni cellula sono presenti molte copie di ciascuno organulo, esse sono più o meno equamente distribuite tra le cellule figlie alla citocinesi.

## Essendo privi di nuclei, i procarioti si dividono per scissione binaria

I batteri e gli archeobatteri contengono molto meno DNA della maggior parte delle cellule eucariotiche, ma anche in esse la precisa distribuzione del materiale genetico in due cellule figlie è un processo formidabile. Il DNA procariotico consiste solitamente in un singolo cromosoma circolare impacchettato con proteine associate. Sebbene la distribuzione del materiale genetico nelle cellule procariotiche in divisione sia un processo più semplice della mitosi, è comunque un processo molto preciso che assicura che le cellule figlie siano geneticamente identiche alla cellula madre.
I procarioti si riproducono in modo asessuato, generalmente per scissione binaria , un processo in cui una cellula si divide in due cellule figlie ( FIG. 10-12 ). Prima di tutto, la molecola di DNA circolare si replica, dando origine a due cromosomi identici. La replicazione del DNA inizia in un punto specifico del cromosoma batterico, denominato *origine di replicazione*. La sintesi del DNA procede a partire da quel punto in entrambe le direzioni fino a quando le estremità si ricongiungono (vedi Fig. 12-16a ).
Terminata la replicazione, i cromosomi originatesi si separano e si muovono verso le estremità opposte della cellula che si sta allungando. La citocinesi che avviene tra i due cromosomi è controllata da un anello Z , una struttura proteica che assembla circa 10 proteine diverse a livello del piano mediale della cellula. In questa regione, la membrana plasmatica si introflette tra le due copie di DNA, dividendo a metà il citoplasma, e viene sintetizzata una nuova parete cellulare trasversale tra le due cellule (la riproduzione batterica sarà descritta ulteriormente nel Capitolo "Batteri e archeobatteri").

## Verifica

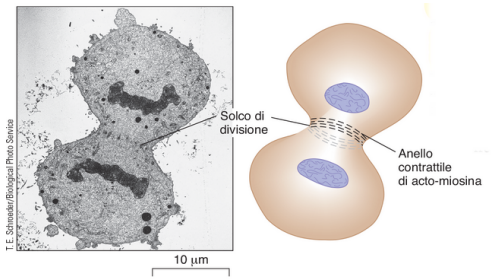
- Quali sono gli stadi del ciclo cellulare? In quale stadio avviene la replicazione del DNA?
- Quali sono gli stadi della mitosi e cosa accade in ciascuno stadio?

# 10.3 LA REGOLAZIONE DEL CICLO CELLULARE

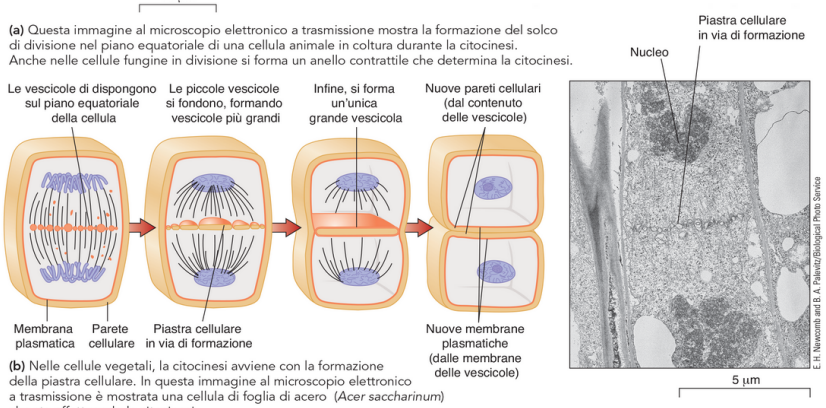
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Illustrare alcune delle modalità di controllo del ciclo cellulare.

Quando le condizioni sono ottimali, alcune cellule procariotiche possono dividersi ogni 20 minuti. I tempi di generazione delle cellule eucariotiche sono generalmente più lunghi, sebbene la frequenza di divisione cellulare vari ampiamente tra le diverse specie e fra cellule di diversi tessuti in organismi della stessa specie. Alcune cellule del muscolo scheletrico cessano di dividersi dopo i primi mesi di vita, mentre i precursori delle cellule del sangue, le cellule del tratto digerente e le cellule della cute si dividono frequentemente nel corso della vita di un organismo. In condizioni ottimali di nutrizione, temperatura e pH, la lunghezza del ciclo cellulare eucariotico è costante per ogni tipo cellulare. In condizioni meno favorevoli, tuttavia, il tempo di generazione può essere più lungo.
Certe molecole di regolazione che controllano il ciclo cellulare sono comuni a tutti gli eucarioti. Queste molecole, programmate geneticamente nel nucleo della cellula, sono componenti del sistema di controllo del ciclo cellulare presente in organismi diversi come lieviti, molluschi, rane, uomini e piante. Le molecole regolatorie inducono una sequenza specifica di eventi nel corso del ciclo cellulare.

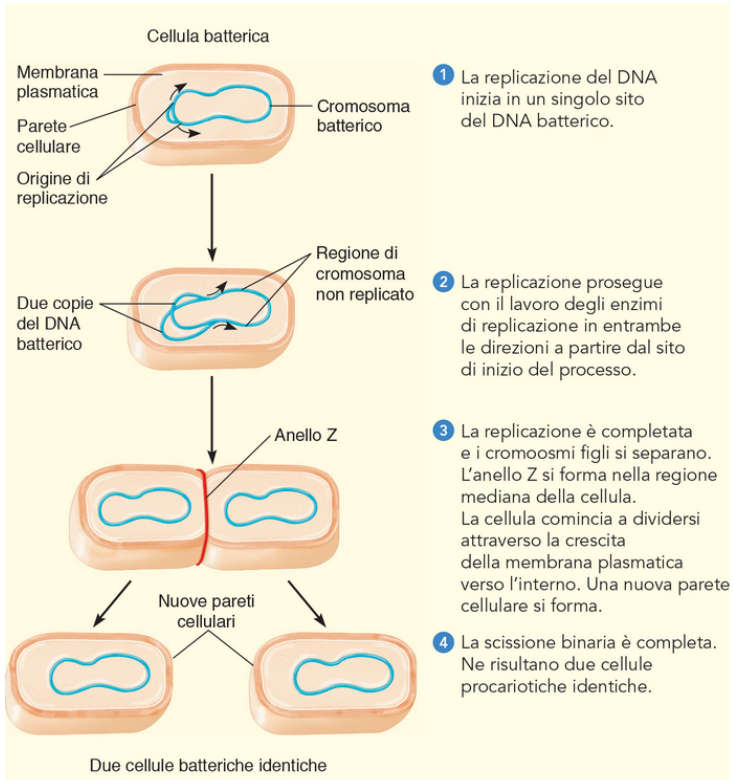



←FIGURA 10-11 *Citocinesi in cellule animali e vegetali*
I nuclei in entrambe le immagini al microscopio elettronico a trasmissione sono allo stadio di telofase. I disegni interpretativi mostrano le relazioni tridimensionali.




**PUNTO CHIAVE** La scissione binaria è una sequenza di eventi finemente regolata che assicura che ciascuna cellula batterica figlia abbia un identico materiale genetico.

FIGURA 10-12 Scissione binaria
Il cromosoma batterico è più lungo rispetto a come viene qui rappresentato ed è legato alla membrana plasmatica in un punto (non mostrato).




Poiché il ciclo cellulare comprende centinaia di eventi sequenziali che procedono in maniera ordinata, un non perfetto funzionamento del controllo di questi eventi può avere effetti disastrosi. I meccanismi di controllo nel programma di regolazione genetica, chiamati punti di controllo del ciclo cellulare , bloccano temporaneamente l'inizio di eventi chiave del ciclo cellulare. I punti di controllo garantiscono che tutti gli eventi di una particolare fase siano stati completati prima che inizi la fase successiva ( FIG. 10-13 ). I punti di controllo, dopo aver compiuto la propria funzione, vengono inattivati in modo che il ciclo cellulare possa continuare.

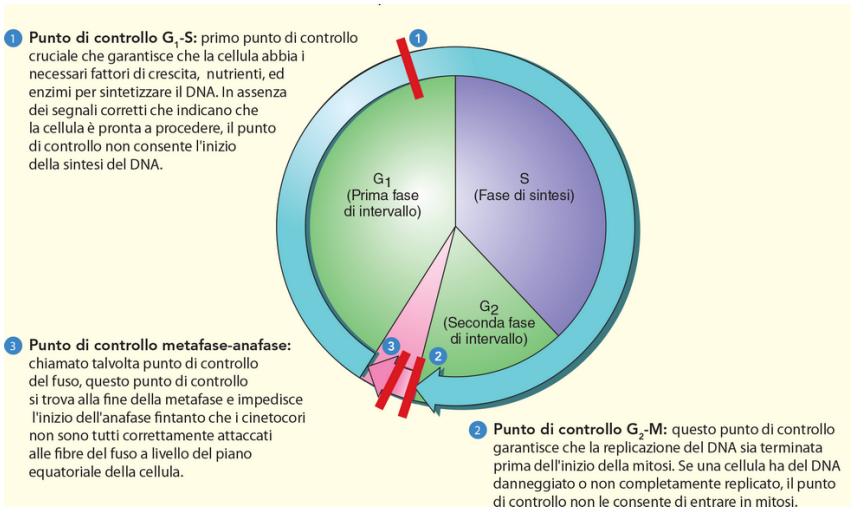
I geni che codificano molecole coinvolte nei punti di controllo sono estremamente importanti per il ciclo cellulare. Se un gene per un punto di controllo funziona in maniera scorretta, può determinare l'insorgenza di tumori o altre malattie gravi. Considerate cosa potrebbe succedere se le molecole

che controllano il passaggio da metafase ad anafase non funzionassero. In questo caso, l'anafase potrebbe iniziare troppo precocemente, prima che tutti i cromosomi siano correttamente attaccati alle fibre del fuso. Le cellule figlie risultanti potrebbero quindi avere meno o troppi cromosomi. Un numero anomalo di cromosomi è associato alla Sindrome di Down e anche a svariati tipi di tumori.

La FIGURA 10-14 mostra alcune delle molecole chiave coinvolte nella regolazione del ciclo cellulare. Tra queste troviamo le protein-chinasi, enzimi che attivano o inattivano altre proteine mediante *fosforilazione* (aggiunta di gruppi fosfato). Le protein-chinasi coinvolte nel controllo del ciclo cellulare sono definite chinasi ciclina-dipendenti (Cdk) . L'attività di varie Cdk aumenta e diminuisce nel corso del ciclo cellulare. Le Cdk sono attive solo quando complessate con proteine di regolazione note come cicline , così chiamate perché i loro livelli fluttuano in maniera prevedibile durante il ciclo cellulare (ovvero, esse sono "cicliche", in altre parole sono alternativamente sintetizzate e degradate nelle varie fasi del ciclo cellulare). Tre ricercatori, che negli anni 1970 e 1980 iniziarono i loro studi sul ruolo delle protein-chinasi e delle cicline nel ciclo cellulare (l'americano Leland Hartwell e i britannici Paul Nurse e Tim Hunt) sono stati insigniti del premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina nel 2001. Le loro scoperte sono state ritenute importanti non solo per la definizione dei dettagli del fondamentale processo cellulare della mitosi, ma anche per la comprensione del perché le cellule tumorali si dividono in maniera incontrollata. Si è evidenziato, ad esempio, che i livelli di cicline sono più alti del normale nelle cellule tumorali umane.

Quando una specifica Cdk si lega ad una specifica ciclina, si forma un complesso ciclina-Cdk , che è capace di fosforilare enzimi ed altre proteine. In seguito alla fosforilazione, alcune di queste proteine diventano attive, mentre altre si inattivano. Ad esempio, si ritiene che la fosforilazione della proteina p27 , uno dei principali inibitori della divisione cellulare, ne induca la degradazione. L'attivazione e o l'inattivazione di vari enzimi modifica le attività cellulari. Così, una diminuzione dei livelli di p27 in una cellula che non si divide fa sì che la cellula ricominci a dividersi.

Le cellule eucariotiche formano quattro principali complessi ciclina–Cdk (G 1 -Cdk, G 1 /S-Cdk, S-Cdk e M-Cdk): ognuno di questi complessi fosforila un diverso gruppo di proteine. G 1 -Cdk prepara la cellula a passare dalla fase G 1 alla fase S, mentre G 1 /SCdk prepara la cellula ad iniziare la replicazione del DNA. S-Cdk determina l'avvio della replicazione del DNA. M-Cdk promuove gli eventi della mitosi, cioè la condensazione dei cromosomi, la disgregazione dell'involucro nucleare e la formazione del fuso mitotico.




**PUNTO CHIAVE** Quando una cellula non ha completato le fasi che precedono un punto di controllo del ciclo cellulare, il punto di controllo è attivo e blocca il ciclo cellulare. Quando le fasi necessarie sono completate, il punto di controllo viene inattivato e il ciclo cellulare procede.

FIGURA 10-13
*Punti di controllo chiave del ciclo cellulare*
Il ciclo cellulare è costituito da centinaia di eventi sequenziali. Le barre rosse indicano tre importanti punti di controllo che verificano che le fasi precedenti siano complete in modo che la fase successiva possa procedere. Ciascun punto di controllo viene inattivato dopo aver svolto la propria azione, consentendo così la prosecuzione del ciclo cellulare.

M-Cdk è anche responsabile dell'attivazione di un altro complesso enzimatico, il complesso che promuove l'anafase (APC) , verso la fine della metafase. L'APC inizia l'anafase promuovendo la degradazione delle proteine che tengono uniti i cromatidi fratelli nel corso della metafase. Di conseguenza, i cromatidi fratelli si separano in due cromosomi distinti. A questo punto, la ciclina viene degradata in modo che i suoi livelli diventino trascurabili e l'attività di M-Cdk crolla, permettendo al fuso mitotico di disassemblarsi e alla cellula di uscire dalla mitosi.
Certi farmaci possono bloccare il ciclo cellulare in punti di controllo specifici. Alcuni di questi ostacolano la sintesi di DNA, mentre altri inibiscono la sintesi di proteine che controllano il ciclo, come pure di proteine strutturali che partecipano alla formazione del fuso mitotico. Le cellule tumorali si dividono molto più rapidamente della maggior parte delle cellule somatiche normali dell'organismo; per questo motivo vengono maggiormente influenzate da questi farmaci. Molti degli effetti collaterali di certe sostanze

antitumorali (ad esempio nausea, perdita dei capelli) sono imputabili agli effetti dei farmaci sulle cellule in rapida divisione del sistema digerente, dei follicoli piliferi, e così via.

È noto che certi ormoni di origine vegetale stimolano la mitosi. I principali fra questi sono le citochinine , che agiscono come promotori della mitosi sia nella crescita normale che nella riparazione delle lesioni (vedi Capitolo 38 ). Analogamente, ormoni come gli steroidi possono agire sulla crescita degli animali e sulla mitosi (vedi Capitolo 49 ).

Fattori di crescita proteici, che sono attivi a concentrazioni estremamente basse, stimolano la mitosi in alcune cellule animali. Dei circa 50 fattori di crescita noti, alcuni agiscono solo su specifici tipi di cellule, mentre altri hanno un raggio d'azione molto più ampio. Per esempio, gli effetti dell'*eritropoietina* sono limitati alle cellule che si svilupperanno in globuli rossi, mentre il *fattore di crescita epidermico* stimola molti tipi cellulari a dividersi. Molti tipi di cellule tumorali si dividono anche in assenza dei fattori di crescita.

**Verifica**

- Cosa sono i punti di controllo del ciclo cellulare?
- Quali sono due controlli molecolari che innescano l'avvio dei diversi stadi del ciclo cellulare?

## 10.4 LA RIPRODUZIONE SESSUATA E LA MEIOSI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Spiegare le differenze tra riproduzione asessuata e sessuata.
8. Fare una distinzione fra cellule aploidi e diploidi e definire i cromosomi omologhi.
9. Spiegare il significato della meiosi e schematizzare il processo.
10. Confrontare mitosi e meiosi, enfatizzandone i differenti risultati.

**PUNTO CHIAVE** Le chinasi ciclina-dipendenti (Cdk) controllano la fosforilazione di altre proteine, regolando in questo modo le transizioni da una fase all'altra del ciclo cellulare.

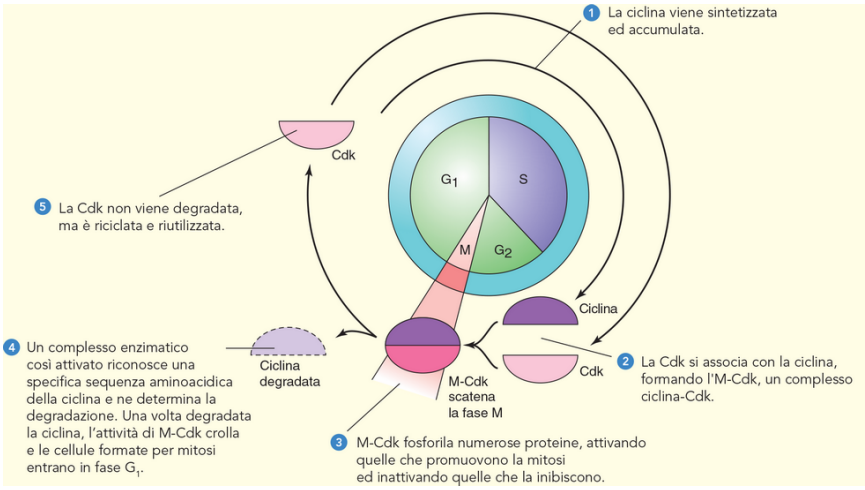



FIGURA 10-14
*Controllo molecolare del ciclo cellulare*
Questo disegno rappresenta una visione semplificata del sistema di controllo che induce la cellula a passare dalla fase G 2 alla fase M.

Sebbene i dettagli del processo riproduttivo varino notevolmente all'interno delle diverse specie di eucarioti, possiamo distinguere due tipi fondamentali di riproduzione: asessuata e sessuata. Nella riproduzione asessuata , un singolo genitore, di solito attraverso un processo di scissione, gemmazione o frammentazione, dà origine a due o più individui. Nella maggior parte delle forme di riproduzione asessuata, tutte le cellule sono prodotte per mitosi, cosicché i loro geni e i caratteri ereditati sono identici a quelli del genitore. Un tale gruppo di organismi geneticamente identici è chiamato clone . La riproduzione asessuata permette agli organismi ben adattati al loro ambiente di produrre nuove generazioni di individui ugualmente adattati. La riproduzione asessuata avviene in modo rapido ed efficiente, in parte perché l'organismo non deve spendere tempo ed energia per trovare un partner.

Al contrario, la riproduzione sessuata comporta l'unione di due cellule sessuali specializzate, i gameti , per formare un'unica cellula chiamata zigote . Di solito, i gameti derivano da due diversi genitori, ma in alcuni casi un singolo genitore li fornisce entrambi. Nel caso di animali e piante, i gameti sono l'uovo e lo spermatozoo, e l'uovo fecondato è lo zigote.

La riproduzione sessuata genera variabilità genetica all'interno della prole (il modo in cui si origina tale variabilità genetica sarà discusso più avanti in questo capitolo e nel Capitolo 11 ). La riproduzione sessuata

dà origine a individui geneticamente non identici ai loro genitori, cosicché alcuni possono essere in grado di sopravvivere a variazioni ambientali o ad altri stress meglio dei genitori, mentre altri che presentano una diversa combinazione di caratteri possono essere meno adatti a sopravvivere.

Si pone ora un problema riguardo alla riproduzione sessuata degli eucarioti: se ogni gamete avesse lo stesso numero di cromosomi delle cellule del genitore che lo produce, allora lo zigote avrebbe un numero doppio di cromosomi, e questo raddoppiamento si verificherebbe ad ogni generazione. Con quale sistema gli organismi evitano di produrre zigoti con un numero sempre crescente di cromosomi? Per rispondere a questa domanda, ci occorrono altre informazioni che riguardano i tipi di cromosomi che si trovano nelle cellule.
I cromosomi di solito sono presenti in coppie nelle cellule somatiche delle piante superiori e degli animali. I membri di una coppia, chiamati cromosomi omologhi , sono simili per dimensioni, forma e posizione dei loro centromeri. Quando vengono colorati con tecniche speciali, i cromosomi spesso mostrano una bandeggiatura caratteristica per ogni coppia. Nella maggior parte delle specie, i cromosomi sono così diversi nell'aspetto morfologico che i citologi possono riconoscere le diverse coppie di omologhi. I 46 cromosomi delle cellule dell'uomo costituiscono 23 diverse coppie.

L'aspetto più importante dei cromosomi omologhi è che essi portano l'informazione per il controllo degli stessi caratteri genetici, sebbene non necessariamente l'identica informazione. Ad esempio, i membri di una coppia di cromosomi omologhi possono portare ognuno un gene che specifica la struttura dell'emoglobina β (vedi Fig. 3-22a ); tuttavia, uno potrebbe avere l'informazione per la catena β dell'emoglobina normale, mentre l'altro potrebbe specificare la forma anomala di emoglobina associata all'anemia falciforme (vedi Capitolo 16 ). I cromosomi omologhi non devono essere confusi con i due membri di una coppia di cromatidi fratelli, che sono invece perfettamente identici.

Un assetto di cromosomi contiene un cromosoma di ogni tipo, in altre parole contiene un membro di ciascun paio di omologhi. Se una cellula o un nucleo contiene due cromosomi di ogni tipo, cioè due serie di cromosomi, si dice che possiede un corredo cromosomico diploide ; se invece è presente solo un cromosoma di ogni coppia di omologhi, si dice che il corredo è aploide .
Nell'uomo, il numero diploide di cromosomi è 46 e il numero aploide è 23. Quando l'uovo e lo spermatozoo si fondono alla fecondazione, ogni gamete fornisce una serie aploide di cromosomi. Il numero diploide viene perciò ristabilito nell'uovo fecondato (zigote). Quando lo zigote si divide per mitosi per formare le prime due cellule dell'embrione, ogni cellula figlia riceve un numero diploide di cromosomi e questo si ripete nelle successive divisioni mitotiche. In questo modo, le cellule somatiche sono diploidi.

Un individuo che presenta nel suo corredo tre o più serie di cromosomi è poliploide . La poliploidia è relativamente rara tra gli animali, ma comune fra le piante (vedi Capitolo 20 ). Infatti, la poliploidia è stato un importante fattore nell'evoluzione delle piante. Quasi l'80% delle piante a fiori è poliploide. Tali piante sono spesso più grandi e più vigorose dei soggetti diploidi dello stesso gruppo. Molte piante di importanza commerciale, come il grano e il cotone, sono poliploidi.

L'abbreviazione utilizzata per indicare il numero di cromosomi che si trova nei gameti di una data specie è n , mentre per il numero di cromosomi dello zigote è 2 n . Per gli organismi che non sono poliploidi, il numero aploide di cromosomi è uguale ad n e il numero diploide è uguale a 2 n . Per esempio, nell'uomo n = 23 e 2 n = 46. Per semplicità, nella parte restante di questo capitolo assumiamo che gli organismi utilizzati negli esempi non siano poliploidi. Pertanto, utilizzeremo in maniera intercambiabile le denominazioni diploide e 2 n , e aploide e n , sebbene questi termini non siano strettamente sinonimi.

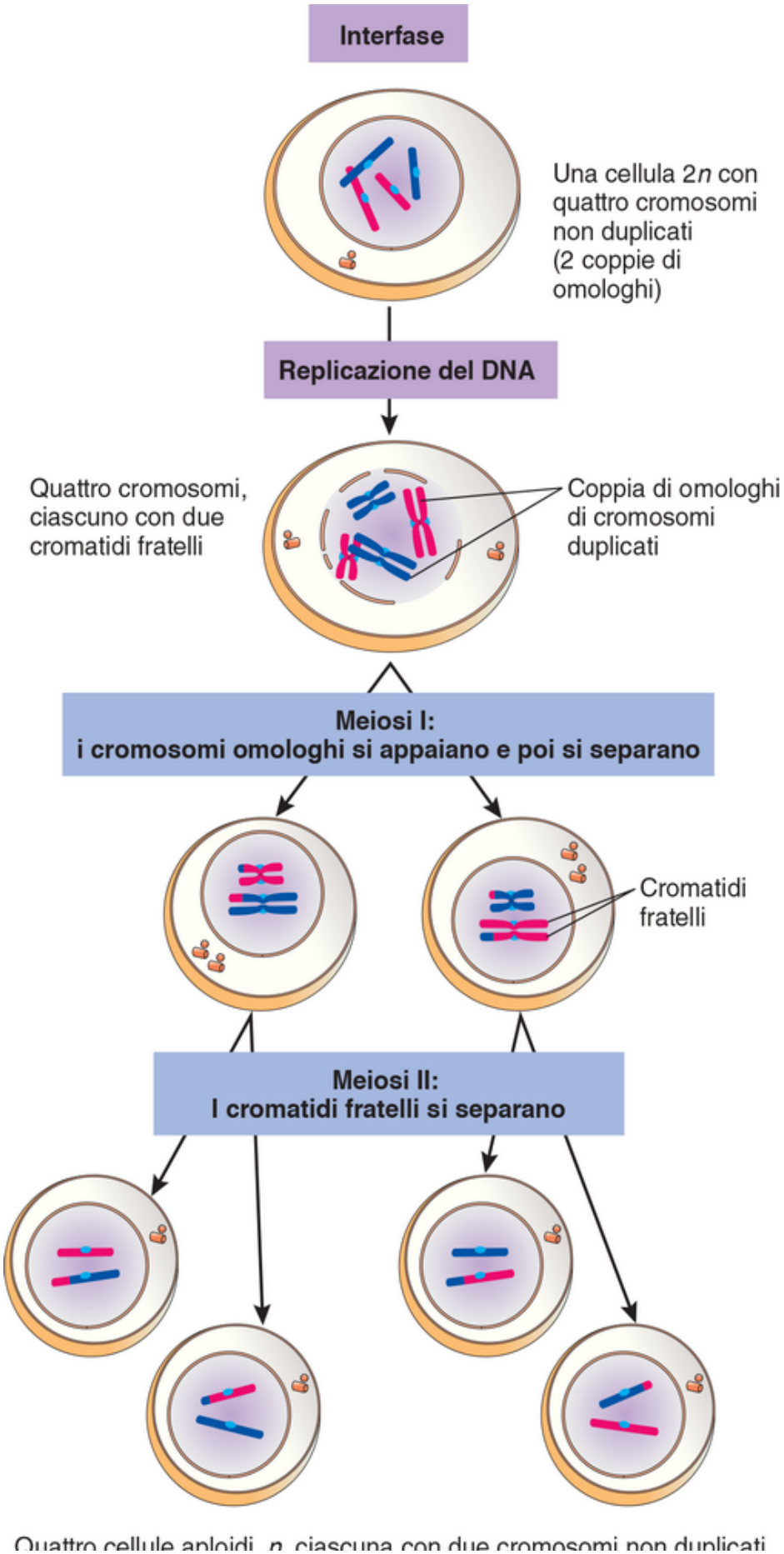
## La meiosi dà origine a cellule aploidi con combinazioni geniche uniche

Un tipo particolare di divisione cellulare che riduce il numero di cromosomi è chiamato meiosi .
Il termine *meiosis* significa diminuzione, in riferimento al fatto che il numero di cromosomi viene dimezzato. Durante la meiosi, una cellula diploide va incontro a due divisioni cellulari, producendo potenzialmente quattro cellule aploidi. È importante notare che le cellule aploidi non contengono semplicemente una certa combinazione di cromosomi, ma un membro di ciascuna coppia di omologhi.

I processi di base della meiosi sono simili a quelli della mitosi, ma presentano quattro importanti differenze:

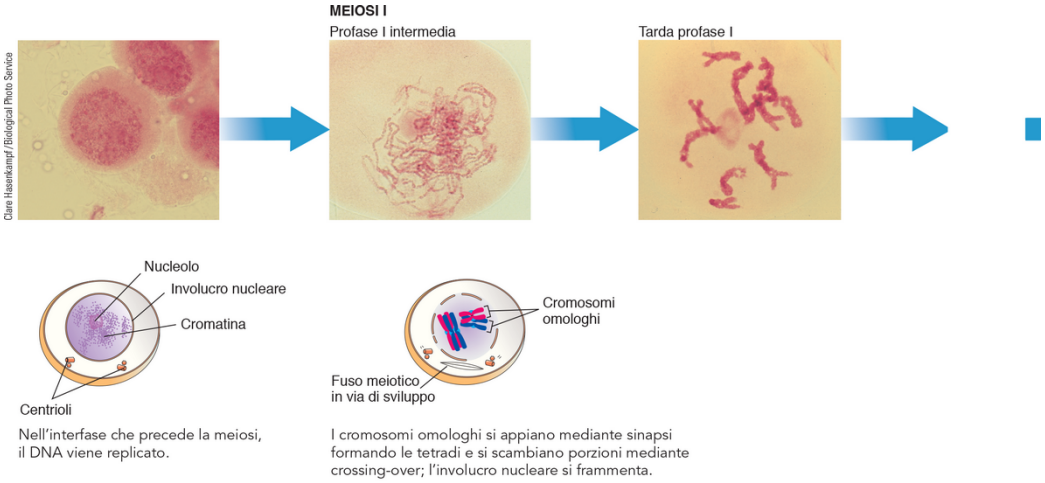
1. La meiosi comporta due successive divisioni nucleari e citoplasmatiche con potenziale produzione di quattro cellule.
2. Nonostante le due successive divisioni nucleari, il DNA e gli altri componenti dei cromosomi subiscono una sola duplicazione durante l'interfase che precede la prima divisione meiotica.

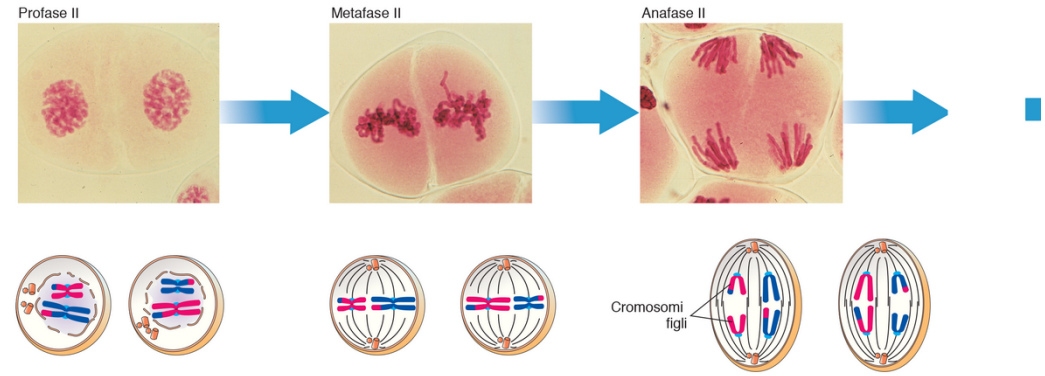
3. Ognuna delle quattro cellule prodotte dalla meiosi contiene un numero aploide di cromosomi — cioè solo un membro di ogni coppia di omologhi.
4. Durante la meiosi, l'informazione genetica che proviene da entrambi i genitori viene mescolata, così che ogni cellula aploide prodotta possiede una combinazione di geni potenzialmente unica.

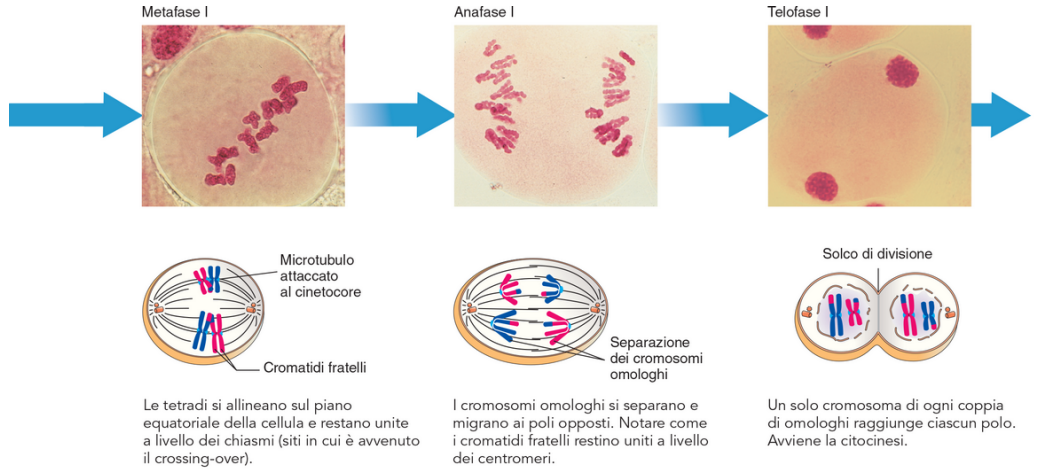



←FIGURA 10-15
*Panoramica della meiosi*
Questa figura inizia con una cellula diploide con quattro cromosomi non duplicati. I cromosomi ereditati da un genitore sono blu, quelli ereditati dall'altro genitore sono rossi. I cromosomi omologhi sono simili in dimensione e forma.

La meiosi consiste di due divisioni nucleari e citoplasmatiche, denominate prima e seconda divisione meiotica , o semplicemente meiosi I e meiosi II ( FIG. 10-15). Ognuna include una profase, una metafase, un'anafase e una telofase. Durante la meiosi I, i cromosomi omologhi si uniscono e poi si separano e vengono distribuiti in nuclei distinti. Nella meiosi II, i cromatidi fratelli che costituiscono ciascun cromosoma omologo si separano e vengono distribuiti ai nuclei delle cellule figlie. Descriviamo ora la meiosi in un organismo con numero diploide di cromosomi uguale a quattro. Nel corso della lettura, si faccia riferimento alla FIGURA 10-16 .



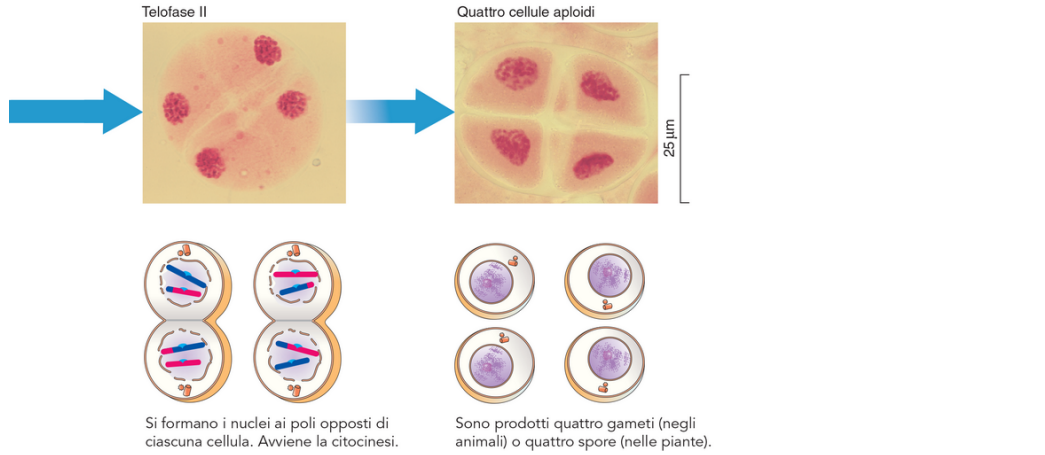
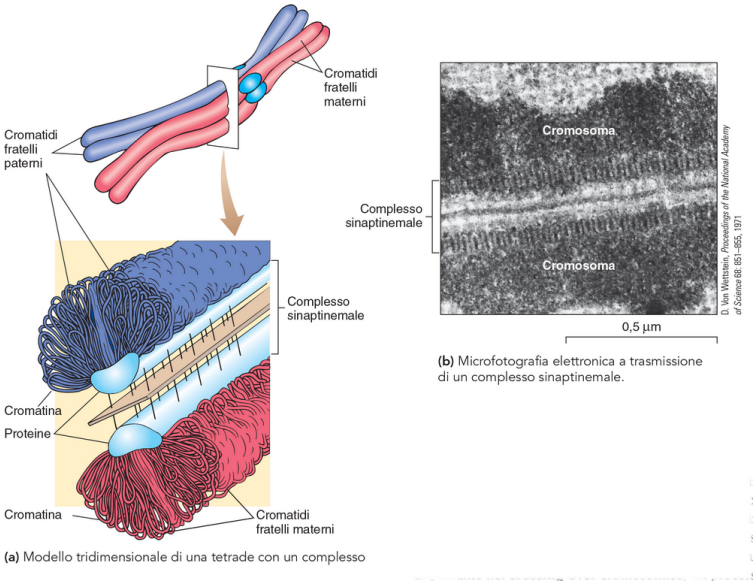




FIGURA 10-16 (figura successiva!!)
*L'interfase e gli stadi della meiosi*
La meiosi comprende due divisioni cellulari, meiosi I ( sequenza in alto ) e meiosi II ( sequenza in basso ). Le immagini al microscopio ottico mostrano cellule vegetali sezionate, che sono prive di centrioli. I disegni illustrano cellule animali generiche con un numero di cromosomi diploide pari a 4; le dimensioni dei nuclei e dei cromosomi sono esagerate per mostrare le strutture con maggiore chiarezza.

## La profase I include sinapsi e crossing-over

Durante la fase S dell'interfase che precede la meiosi, i cromosomi vengono duplicati come nella mitosi, per cui ogni cromosoma duplicato è composto da due cromatidi connessi dalle coesine. Durante la profase I , mentre i cromatidi sono ancora in forma di lunghi e sottili filamenti, i cromosomi omologhi si appaiano longitudinalmente. Questo processo è chiamato sinapsi , che significa "unione". Ad esempio, in una cellula animale con un numero diploide pari a quattro, ci sono due coppie di cromosomi omologhi.
È consuetudine riferirsi a un membro di una coppia di omologhi come ad un omologo materno in quanto è stato ereditato dalla madre: l'altro membro della coppia di omologhi è l' omologo paterno in quanto è stato ereditato dal padre. Poiché ogni cromosoma è stato duplicato durante l'interfase premeiotica e ora consiste di due cromatidi, la sinapsi risulta nell'associazione di quattro

cromatidi. Il complesso risultante è noto come tetrade . Il numero delle tetradi alla profase I è identico al numero aploide di cromosomi. In una cellula animale con numero diploide 4, ci sono due tetradi (e un totale di 8 cromatidi); nelle cellule umane ci sono 23 tetradi (e un totale di 92 cromatidi a questo stadio).
Durante la sinapsi, i cromosomi omologhi si associano strettamente. Osservazioni al microscopio elettronico rivelano che una struttura caratteristica, nota come complesso sinaptinemale , si forma tra gli omologhi appaiati ( FIG. 10-17 ). Questa struttura proteica tiene uniti gli omologhi e si pensa che giochi un ruolo importante nel crossing-over cromosomico, un processo in cui i cromosomi omologhi appaiati si scambiano materiale genetico attraverso l'azione di enzimi che tagliano e riuniscono le molecole di DNA. Il crossing-over produce nuove combinazioni di geni. La ricombinazione genetica che ne risulta aumenta notevolmente la variabilità genetica, cioè le nuove combinazioni di caratteri, tra i discendenti della riproduzione sessuata. Alcuni biologi ritengono che la ricombinazione sia la ragione principale dell'esistenza della riproduzione sessuata negli eucarioti.



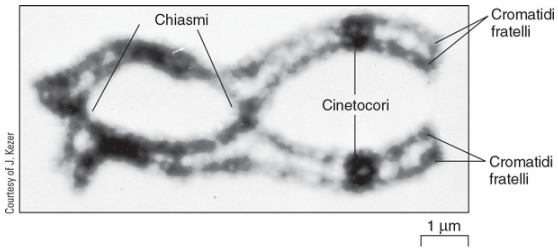
(a) Modello tridimensionale di una tetrade con un complesso

(b) Microfotografia elettronica a trasmissione di un complesso sinaptinemale.

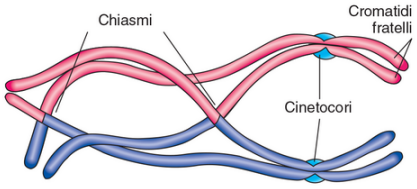
←FIGURA 10-17
*Un complesso sinaptinemale*
Nella profase meiotica I, i cromosomi omologhi in sinapsi sono tenuti insieme da un complesso sinaptinemale, costituito principalmente da proteine.

Oltre alla sinapsi e al crossing-over, tipici della meiosi, si verificano anche eventi simili a quelli già visti durante la profase mitotica. Si forma il fuso, costituito dai microtubuli e dalle altre componenti. Nelle cellule animali, una coppia di centrioli migra ad ogni polo e si costituisce l'aster. Nella tarda profase I, scompare l'involucro nucleare e, al microscopio ottico, nelle cellule con cromosomi di dimensioni appropriate si possono vedere le tetradi.
I cromatidi fratelli continuano ad essere strettamente associati lungo il loro asse maggiore, mentre i centromeri (e i cinetocori) dei cromosomi omologhi si separano l'uno dall'altro. Nella tarda profase I, i cromosomi omologhi rimangono uniti solo in corrispondenza di regioni particolari chiamate chiasmi . Ogni chiasma corrisponde ad un sito in cui i cromatidi omologhi, che hanno subìto precedentemente la rottura e lo scambio di materiale genetico (crossing-over), si sono ricongiunti e mostrano una configurazione ad X ( FIG. 10-18 ). A livello dei chiasmi, le coesine tengono uniti i cromosomi omologhi dopo che il complesso sinaptinemale è stato disassemblato. Successivamente, le coesine si dissociano dai chiasmi, liberando i bracci dei cromosomi omologhi. Le conseguenze del crossing-over e della ricombinazione genetica verranno discusse nel Capitolo 11 (ad esempio, vedi Fig. 11-12 ).

FIGURA 10-18→
*Una tetrade meiotica con due chiasmi*
I due chiasmi sono il risultato di due eventi di crossing-over indipendenti.



(a) Microfotografia ottica di una tetrade durante la tarda profase della prima divisione meiotica di uno spermatocita di salamandra.



(b) Schema interpretativo che illustra la struttura della tetrade, con i cromatidi paterni in blu e quelli materni in rosso.

## I cromosomi omologhi si separano durante la meiosi I

La profase I termina quando le tetradi si allineano sul piano equatoriale; si dice allora che la cellula si trova in metafase I . I cinetocori fratelli di un cromosoma sono connessi mediante le fibre del fuso solo ad uno dei due poli, mentre quelli del cromosoma omologo sono collegati all'altro polo. (Al contrario, nella mitosi, i cinetocori fratelli di ciascun cromosoma duplicato sono connessi ai poli opposti).
Durante l' anafase I , i cromosomi omologhi di ogni coppia si separano e migrano verso i poli opposti; ogni polo riceve un assortimento casuale di cromosomi materni e paterni, ma un solo rappresentante di ogni coppia di omologhi è presente ad ogni polo. I cromatidi fratelli sono ancora uniti nella loro regione centromerica. Anche questo differisce dall'anafase mitotica, nella quale sono i cromatidi fratelli a separarsi e a migrare ai poli opposti.
Durante la telofase I , i cromatidi si decondensano, l'involucro nucleare si riorganizza e in genere ha luogo la citocinesi. Nella telofase I, il nucleo contiene il numero aploide di cromosomi, ma ogni cromosoma è duplicato (cioè consiste di una coppia di cromatidi). Nel nostro esempio, ci sono due cromosomi

dicromatidici ad ogni polo, per un totale di quattro cromatidi; nell'uomo ci sono 23 cromosomi dicromatidici (46 cromatidi) ad ogni polo.
Lo stadio successivo è simile all'interfase ed è chiamato intercinesi . Esso non è un vera interfase: non è presente una fase S e non si verifica nessuna ulteriore duplicazione cromosomica. L'intercinesi è breve nella maggior parte degli organismi ed assente in alcuni.

## I cromatidi fratelli si separano nella meiosi II

Poiché i cromosomi di solito rimangono parzialmente condensati tra le due divisioni, la profase della seconda divisione meiotica è breve. La profase II è simile per molti aspetti alla profase mitotica. Non c'è nessun accoppiamento di cromosomi omologhi (infatti, solo un omologo di ogni coppia è presente in ogni nucleo) e nessun crossing-over.
Durante la metafase II , i cromosomi si allineano sul piano equatoriale delle rispettive cellule. La prima e la seconda metafase possono essere facilmente distinte nello schema; alla metafase I, i cromatidi sono disposti in gruppi di quattro (tetradi) e alla metafase II in gruppi di due (come nella metafase mitotica). Ciò non è sempre così facilmente visibile in vivo .
Durante l' anafase II , i cromatidi, attaccati alle fibre del fuso tramite i loro cinetocori, si separano e migrano ai poli opposti, proprio come farebbero all'anafase mitotica. Come nella mitosi, ogni cromatidio da questo momento viene indicato come un cromosoma . Così, alla telofase II c'è un componente di ciascuna coppia di omologhi ad ogni polo e ogni omologo è un cromosoma monocromatidico. L'involucro nucleare si ricostituisce, i cromosomi progressivamente si despiralizzano per formare i filamenti di cromatina e si verifica la citocinesi. Le due divisioni successive potenzialmente producono quattro nuclei aploidi, ognuno contenente un solo cromosoma di ogni tipo. Ciascuna cellula aploide risultante possiede una diversa combinazione di geni. Questa variabilità genetica ha due origini: (1) segmenti di DNA vengono scambiati tra gli omologhi materni e paterni durante il crossing-over; (2) durante la meiosi, i cromosomi materni e paterni di ciascuna coppia di omologhi si separano indipendentemente ed un componente di ogni coppia viene casualmente scelto e portato ad un polo all'anafase I.

## Mitosi e meiosi portano a risultati diversi

Sebbene la mitosi e la meiosi condividano diverse caratteristiche, le differenze specifiche tra questi processi portano alla formazione di tipi diversi di cellule. La mitosi è una singola divisione nucleare durante la quale i cromatidi fratelli si disgiungono (si separano) l'uno dall'altro e vengono distribuiti alle due cellule figlie dando luogo alla fine a due cellule figlie diploidi identiche tra loro e alla cellula madre. Una cellula diploide che entra in mitosi produce due cellule diploidi. Allo stesso modo, una cellula aploide che entra in mitosi produce due cellule aploidi. (Alcuni organismi eucarioti — alcuni lieviti, ad esempio — sono aploidi come anche le piante in alcune fasi del loro ciclo vitale.) Da notare che durante tutta la mitosi i cromosomi omologhi non si associano mai fisicamente.
La meiosi consiste di due divisioni nucleari successive, meiosi I e meiosi II. Durante la profase I della meiosi, i cromosomi omologhi si appaiano formando le tetradi. Durante la meiosi I si disgiungono i cromosomi omologhi, mentre nella meiosi II si disgiungono i cromatidi fratelli. La meiosi si conclude con la formazione di quattro cellule aploidi geneticamente differenti. I destini di queste cellule dipendono dal tipo di ciclo vitale; negli animali si differenziano come gameti, mentre nelle piante diventano spore.

**PUNTO CHIAVE** Ogni specie ha un numero caratteristico di cromosomi, che è invariabile. In ciascun ciclo vitale, il raddoppiamento del numero di cromosomi che avviene durante la fecondazione è compensato dal dimezzamento del numero di cromosomi che avviene nel corso della meiosi.

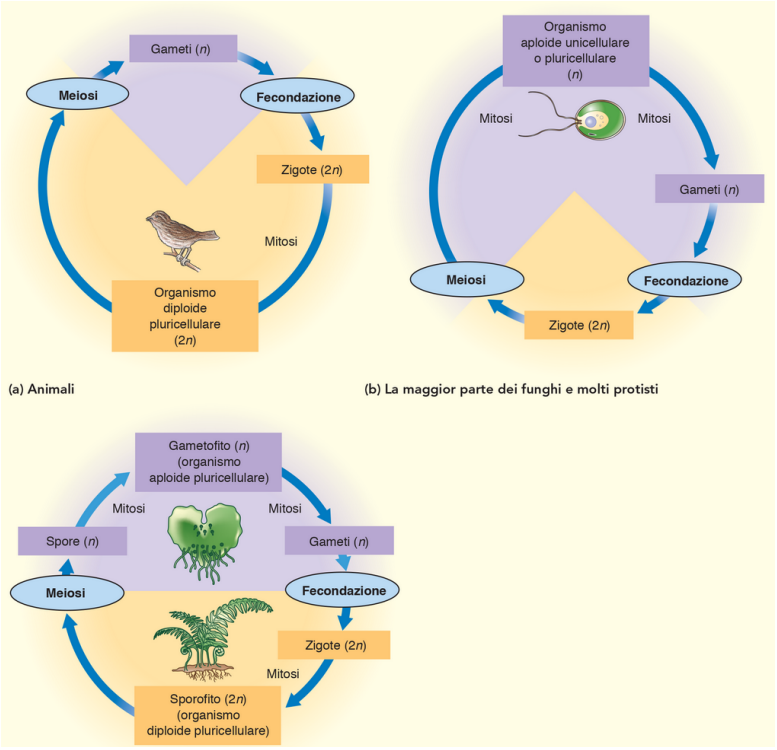



FIGURA 10-19 Cicli vitali rappresentativi
Il tipo di schema e il codice cromatico utilizzati in questa figura saranno utilizzati in tutto il libro. Ad esempio, in tutti i cicli vitali la generazione aploide (n) è mostrata in viola e la generazione diploide (2n) in dorato. Le generazioni aploidi e diploidi sono collegate sempre dai processi di meiosi e fecondazione.

**Verifica**

- I cromosomi omologhi sono presenti in una cellula diploide? Ed in una cellula aploide?
- In che modo il risultato della meiosi differisce da quello della mitosi?
- Le cellule aploidi possono dividersi per mitosi? E per meiosi?

## 10.5 I CICLI DI VITA SESSUALE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

11. Paragonare il ruolo di mitosi e meiosi in diversi cicli vitali.

Dal momento che la riproduzione sessuata è caratterizzata dalla fusione di due cellule sessuali aploidi per formare uno zigote diploide, ne consegue che in un ciclo vitale la meiosi deve avvenire prima che siano prodotti i gameti. Il momento della meiosi nel ciclo vitale varia tra le specie.
Negli animali e in pochi altri organismi, la meiosi porta direttamente alla formazione dei gameti ( FIG. 10-19a nella pagina a fianco). Le cellule somatiche di un individuo si moltiplicano per mitosi e sono diploidi; le sole cellule aploidi prodotte sono i gameti. Queste si formano quando le cellule della linea germinale , che danno origine alla generazione successiva, vanno incontro a meiosi.

La formazione dei gameti è detta gametogenesi . La gametogenesi maschile, definita spermatogenesi , porta alla formazione di quattro spermatozoi aploidi per ciascuna cellula che va incontro a meiosi (vedi Capitolo 50 e Fig. 50-5 per una descrizione dettagliata della spermatogenesi).
Al contrario, la gametogenesi femminile, chiamata *oogenesi*, porta alla formazione di una singola cellula uovo, o uovo, per ogni cellula che entra in meiosi. Questo è determinato da un processo che indirizza tutto il citoplasma ad una sola delle due cellule in ciascuna divisione meiotica. Alla fine della meiosi I, un nucleo viene mantenuto, mentre l'altro, detto primo *globulo polare*, degenera. In modo simile, alla fine della meiosi II, un nucleo diventa il secondo globulo polare, mentre l'altro nucleo sopravvive. In questo modo, un nucleo aploide riceve la maggior parte del citoplasma e dei nutrienti dalla cellula che è entrata in meiosi (vedi Capitolo 50 e Fig. 50-11 per una descrizione dettagliata dell'oogenesi).
Tuttavia, sebbene la meiosi avvenga ad un certo momento di un ciclo vitale sessuale, non sempre precede *immediatamente* la formazione dei gameti. Molti eucarioti, tra i quali la maggior parte dei funghi e dei protisti, rimangono aploidi (le loro cellule si dividono mitoticamente) per la maggior parte della loro vita, con individui che sono unicellulari o multicellulari. Due gameti aploidi(prodotti attraverso la mitosi) si fondono per produrre uno zigote diploide che va incontro a meiosi per ripristinare lo stato aploide ( FIG. 10-19 b). Esempi di questi tipi di ciclo vitale sono illustrati nelle Figure 26-16 e 29-9 .
Le piante, alcune alghe e alcuni funghi hanno cicli vitali complessi ( FIG. 10-19c ). Questi cicli vitali, caratterizzati da un' alternanza di generazioni , consistono di uno stato diploide pluricellulare, detto generazione sporofitica , e di uno stato aploide pluricellulare, detto generazione gametofitica . Le cellule sporofitiche vanno incontro a meiosi per formare spore aploidi, ciascuna delle quali può dividersi mitoticamente per produrre un gametofito pluricellulare aploide. I gametofiti producono i gameti per mitosi. I gameti femminili e maschili (cellula uovo e spermatozoo) si fondono per formare uno zigote diploide che si divide mitoticamente per produrre uno sporofito pluricellulare. Una più dettagliata descrizione dell'alternanza di generazioni nelle piante si trova nei Capitoli 27 e 28 .

**Verifica**

- Negli animali, quali cellule sono prodotte mediante mitosi? Quali mediante meiosi?
- Assumete che un organismo che si riproduce sessualmente sia aploide. In che modo la meiosi e la fertilizzazione mantengono il numero dei cromosomi costante?

### SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

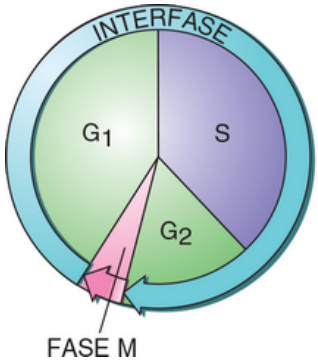
10.1

1. Discutere il significato dei cromosomi in relazione al loro contenuto di informazione.
    - I geni, le unità informazionali della cellula, sono costituiti da DNA. Negli eucarioti, il DNA è legato a proteine per formare le fibre di cromatina che costituiscono i cromosomi .
2. Spiegare come il DNA è compattato nei cromosomi delle cellule eucariotiche
    - L'organizzazione del DNA eucariotico in cromosomi permette al DNA di essere accuratamente replicato e distribuito alle cellule figlie senza aggrovigliarsi.
    - Nelle cellule eucariotiche il DNA è associato con gli istoni (proteine basiche) per formare i nucleosomi , ciascuno dei quali è costituito da una "perla" di istoni e dal DNA che la avvolge. I nucleosomi sono organizzati in grandi anse spiralate, tenute insieme dalle proteine di

impalcatura non istoniche.

10.2

3. Identificare le tappe del ciclo cellulare eucariotico e descriverne gli eventi principali.
   - Il ciclo cellulare eucariotico è il periodo che intercorre tra l'inizio di una divisione e l'inizio della divisione successiva. Esso consiste in un'interfase e in una fase M.
   - L' interfase consiste in una prima fase di intervallo (G 1 ), una fase di sintesi (S) ed una seconda fase di intervallo (G 2 ). Durante la fase G 1 , la cellula si accresce e si prepara per la fase S . Durante la fase S, sono sintetizzati il DNA e le proteine cromosomiche ed avviene la duplicazione dei cromosomi. Durante la fase G 2 , la sintesi proteica aumenta per la preparazione alla divisione cellulare.
   - La fase M consiste in una mitosi, la divisione nucleare che produce due nuclei identici a quello della cellula madre, ed una citocinesi, la divisione del citoplasma che dà origine a due cellule figlie.
4. Descrivere la struttura di un cromosoma duplicato, evidenziando i cromatidi fratelli, i centromeri e i cinetocori.
   - Un cromosoma duplicato è costituito da una coppia di cromatidi fratelli , che contengono sequenze di DNA identiche. Ciascun cromatidio include una regione ristretta, chiamata centromero, a livello della quale i cromatidi fratelli sono strettamente associati.
   - Attaccato a ciascun centromero vi è un cinetocore , una struttura formata da proteine a cui possono legarsi i microtubuli.
5. Spiegare il significato della mitosi e schematizzare il processo.
   - La mitosi assicura che il numero di cromosomi sia conservato quando una cellula eucariotica si divide per formarne due. Durante la mitosi, i cromosomi identici sono distribuiti ai due poli della cellula e, intorno ad ogni gruppo, si riforma l'involucro nucleare.
   - Durante la profase , la struttura dei cromosomi duplicati diventa evidente man mano che la cromatina si condensa; ciascuno è composto da un paio di cromatidi fratelli identici. L'involucro nucleare comincia a disgregarsi ed inizia a formarsi il fuso mitotico.
   - Durante la prometafase , i microtubuli del fuso si attaccano ai cinetocori dei cromosomi, e i cromosomi cominciano a muoversi verso il piano equatoriale della cellula.
   - Durante la metafase , i cromosomi si allineano sulla piastra metafasica della cellula; il fuso mitotico è completo e i cinetocori dei cromatidi fratelli sono connessi mediante i microtubuli ai poli opposti della cellula.
   - Durante l' anafase , i cromatidi fratelli si separano l'uno dall'altro e migrano ai poli opposti della cellula. Ogni cromatidio è ora considerato come un cromosoma.
   - Durante la telofase , attorno ad ogni gruppo di cromosomi si riforma un involucro nucleare, i nucleoli divengono visibili, i cromosomi si despiralizzano e il fuso scompare. La citocinesi inizia generalmente durante la telofase.




10.3

6. Illustrare alcune delle modalità di controllo del ciclo cellulare.
   - I meccanismi di controllo, chiamati punti di controllo del ciclo cellulare, temporaneamente bloccano l'inizio di eventi chiave del ciclo cellulare. Le chinasi ciclina-dipendenti ( Cdk ) sono proteinchinasi coinvolte nella regolazione del ciclo cellulare. Le Cdk sono attive solo quando associate saldamente a proteine di regolazione dette cicline. I livelli delle cicline fluttuano in modo prevedibile nel corso del ciclo cellulare.

10.4

7. Spiegare le differenze tra riproduzione asessuata e sessuata.
   - I discendenti prodotti dalla riproduzione asessuata solitamente hanno caratteristiche ereditarie identiche a quelle del singolo genitore. La mitosi è alla base della riproduzione asessuata negli organismi eucariotici.
   - Nella riproduzione sessuata , due cellule sessuali aploidi, o gameti , si fondono per formare un unico zigote diploide. In un ciclo vitale sessuale, la meiosi deve avvenire prima della formazione dei gameti.
8. Fare una distinzione fra cellule aploidi e diploidi e definire i cromosomi omologhi.
   - Un organismo diploide possiede un numero caratteristico di coppie di cromosomi per cellula. I due componenti di ogni coppia, chiamati cromosomi omologhi , sono simili per lunghezza, forma ed altri aspetti strutturali, e portano geni che controllano gli stessi caratteri dell'organismo.

- Una cellula aploide contiene solamente un membro di ogni coppia di cromosomi omologhi.

9. Spiegare il significato della meiosi e schematizzare il processo.
    - Una cellula diploide che entra in meiosi effettua due successive divisioni cellulari per dare origine a quattro cellule aploidi. I cicli vitali sessuali negli eucarioti necessitano della meiosi, che fa sì che ogni gamete contenga solo la metà del numero di cromosomi presente nella cellula madre.
    - La meiosi I inizia con la profase I , in cui i membri di una coppia di cromosomi omologhi si uniscono fisicamente nel processo di sinapsi . Il crossing-over è un processo di ricombinazione genetica durante il quale i cromatidi omologhi (non fratelli) si scambiano segmenti di DNA.
    - Alla metafase I , le tetradi , ognuna composta da due cromosomi omologhi tenuti insieme da uno o più chiasmi , si allineano sulla piastra metafasica. I membri di ogni coppia di cromosomi omologhi si separano durante l' anafase I e sono distribuiti a nuclei diversi. Ogni nucleo contiene un numero aploide di cromosomi; ogni cromosoma consiste di due cromatidi.
    - Durante la meiosi II , i due cromatidi di ogni cromosoma si separano ed ognuno va ad una cellula figlia. Ogni cromatidio è ora chiamato cromosoma.
10. Confrontare mitosi e meiosi, enfatizzandone i differenti risultati.
    - La mitosi comporta una singola divisione nucleare in cui le due cellule figlie che si formano sono geneticamente identiche tra loro ed alla cellula madre. Durante la mitosi non avviene la sinapsi dei cromosomi omologhi.
    - La meiosi comporta due successive divisioni nucleari e forma quattro cellule aploidi. La sinapsi dei cromosomi omologhi avviene durante la profase I della meiosi.

10.5

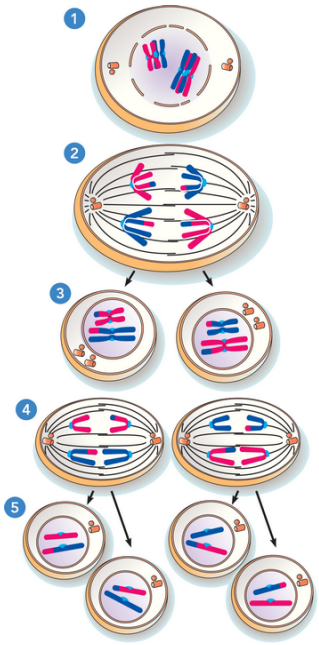
11. Paragonare il ruolo di mitosi e meiosi in diversi cicli vitali.
    - Le cellule somatiche degli animali sono diploidi e sono prodotte per mitosi. Le uniche cellule aploidi sono i gameti, prodotti dalla gametogenesi , che negli animali avviene per meiosi.
    - La maggior parte dei funghi e molti protisti sono aploidi e sono prodotti per mitosi. L'unico stadio diploide è rappresentato dallo zigote, che subisce la meiosi per ripristinare lo stato aploide.
    - I cicli vitali delle piante, di alcune alghe e di alcuni funghi presentano un' alternanza di generazioni . Uno sporofito diploide pluricellulare forma spore aploidi tramite la meiosi. Ciascuna spora si divide per mitosi per formare un gametofito aploide pluricellulare, il quale produce gameti per mitosi. Due gameti aploidi poi si fondono per formare uno zigote diploide, il quale si divide per mitosi per formare un nuovo sporofito pluricellulare.

## AUTOVERIFICHE

1. Le fibre cromatiniche comprendono: (a) DNA e polisaccaridi strutturali; (b) RNA e fosfolipidi; (c) proteine e carboidrati; (d) DNA e proteine; (e) trigliceridi e steroidi.
2. Un nucleosoma consiste di: (a) DNA e proteine di impalcatura; (b) proteine di impalcatura e istoni: (c) DNA ed istoni; (d) DNA, istoni e proteine di impalcatura; (e) solo istoni.
3. Il termine fase S si riferisce a: (a) sintesi di DNA durante l'interfase; (b) sintesi di proteine cromosomiche durante la profase; (c) gametogenesi nelle cellule animali; (d) sinapsi di cromosomi omologhi: (e) fusione di gameti nella riproduzione sessuata.
4. A quali dei seguenti stadi i nuclei delle cellule della cute umana hanno lo stesso contenuto di DNA? (a) Profase precoce mitotica, tarda telofase mitotica; (b) G 1 , G 2 ; (c) G 1 , profase precoce mitotica; (d) G 1 , tarda telofase mitotica; (e) G 2 , tarda telofase mitotica.
5. In una cellula alla _____, ogni cromosoma consiste di una coppia di cromatidi attaccati. (a) Profase mitotica; (b) profase II meiotica; (c) profase I meiotica; (d) anafase I meiotica; (e) tutte le precedenti.
6. L'ancoraggio molecolare che lega tra loro i cromatidi fratelli di un cromosoma duplicato è: (a) la condensina; (b) l'actina; (c) la miosina; (d) la coesina; (e) l'acto-miosina.
7. In una cellula animale alla metafase mitotica, vi aspettereste di trovare: (a) due coppie di centrioli localizzati sulla piastra metafasica; (b) una coppia di centrioli nel nucleo; (c) una coppia di centrioli entro ogni centro di organizzazione dei microtubuli; (d) un centriolo entro ogni centromero; (e) nessun centriolo.
8. La formazione della piastra cellulare di solito inizia durante (a) la telofase in una cellula vegetale; (b) la telofase in una cellula animale; (c) la fase G 2 in una cellula vegetale; (d) la fase G 2 in una cellula animale; (e) a e b.
9. Un nucleo diploide alla profase precoce mitotica ha _____ gruppo(i) di cromosomi; un

nucleo diploide alla telofase mitotica ha _____ gruppo(i) di cromosomi. (a) 1 e 1; (b) 1 e 2; (c) 2 e 2; (d) 2 e 1; (e) non ci sono abbastanza informazioni.

10. Vi aspettereste di trovare un complesso sinaptinemale in una cellula alla: (a) profase mitotica; (b) profase I meiotica; (c) profase II meiotica; (d) anafase I meiotica; (e) anafase II meiotica.
11. Un chiasma lega una coppia di: (a) cromosomi omologhi alla profase II; (b) cromosomi omologhi in tarda profase I; (c) cromatidi fratelli alla metafase II; (d) cromatidi fratelli alla metafase mitotica; (e) cromatidi fratelli alla metafase I.
12. Associate le seguenti descrizioni (a-e) alle fasi della meiosi (1-5) della figura seguente. (a) cellule aploidi con cromosomi non duplicati (b) cellule aploidi con cromosomi duplicati (c) sinapsi di cromosomi omologhi a formare tetradi (d) cromatidi fratelli si muovono verso i poli opposti (e) cromosomi omologhi si muovono verso poli opposti.




**PENSIERO CRITICO**

1. Come possono due specie avere lo stesso numero di cromosomi pur avendo caratteristiche differenti?
2. In che modo il contenuto di DNA della cellula cambia dall'inizio alla fine dell'interfase? Il numero di cromatidi cambia? Spiegate. Il numero di cromosomi cambia? Spiegate.
3. Nelle domande 3-4, stabilite se ciascuno degli esempi rappresenta un caso di riproduzione sessuata oppure asessuata e spiegate il perché.
4. Un'ape regina produce uova aploidi attraverso la meiosi. Alcune di queste non vengono fecondate e si sviluppano producendo maschi aploidi (fuchi).
5. I semi si sviluppano da un fiore che è stato fecondato da polline proveniente dalla stessa pianta.
6. ANALISI DEI DATI . Nell'esperimento con i microtubuli del fuso durante l'anafase (vedi Fig. 10-10 ), come avrebbero potuto apparire i microtubuli del fuso durante l'anafase se fossero stati disassemblati a livello delle estremità polari invece che a livello delle estremità del cinetocore?
7. CONNESSIONE EVOLUTIVA . In che modo la mitosi fornisce prove delle relazioni esistenti tra eucarioti così diversi come mammiferi e alghe?
8. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Alcuni organismi (ad esempio, certi funghi) si riproducono asessualmente quando le condizioni ambientali sono favorevoli e sessualmente quando esse diventano sfavorevoli. Quale potrebbe essere il vantaggio evolutivo della riproduzione sessuata, con il processo associato della meiosi, in caso di condizioni sfavorevoli?

# Articolo XI. I principi fondamentali dell'eredità 11

I caratteri umani quali il colore degli occhi e dei capelli, oltre a una moltitudine di altri caratteri, vengono trasmessi da una generazione all'altra. L' ereditarietà , la trasmissione dell'informazione genetica dai genitori ai figli, segue generalmente un piano prevedibile in organismi diversi come uomini, pinguini, lieviti da panificazione e girasoli. La genetica , la scienza dell'ereditarietà, studia sia le similarità genetiche che la variabilità genetica , ovvero le differenze tra genitori e figli o tra gli individui di una popolazione.

Lo studio dell'ereditarietà come branca moderna della scienza iniziò verso la metà del diciannovesimo secolo con il lavoro di Gregor Mendel (1822-1884), un monaco che coltivava piante di pisello (vedi immagine). Mendel fu il primo scienziato che applicò con efficacia metodi quantitativi allo studio dell'eredità. Egli non si limitò a descrivere le sue osservazioni, ma programmò accuratamente i propri esperimenti, registrò i dati e sottopose i risultati ottenuti all'analisi matematica. Al tempo in cui visse, il suo lavoro non fu apprezzato, ma venne riscoperto nel 1900.

Durante i decenni successivi alla riscoperta dei risultati di Mendel, i genetisti diedero un significato più ampio ai princìpi da lui enunciati, mettendo in relazione la trasmissione delle informazioni genetiche di generazione in generazione con il comportamento dei cromosomi durante la meiosi. Essi, inoltre, attraverso ulteriori studi su organismi diversi, perfezionarono i metodi utilizzati da Mendel, confermando le sue scoperte ed aggiungendo un elenco di cosiddette eccezioni ai suoi principi.
I genetisti non studiano solo la trasmissione dei geni, ma si occupano anche dell'espressione dell'informazione genetica. Come potrete notare, le nostre conoscenze sulla relazione tra i geni presenti in

un organismo e le caratteristiche che esso manifesta stanno diventando man mano più approfondite grazie alle conoscenze acquisite sulla trasmissione ordinata dell'informazione nelle cellule da una generazione all'altra.

**METODO DI RICERCA**

Perché si usa?

Le piante di pisello normalmente si autoimpollinano durante la riproduzione, ovvero sia i gameti femminili che maschili derivano dallo stesso flore. Poichè i petali del flore di pisello avvolgono completamente gli organi riproduttivi, in natura c'è una bassa probabilità che avvenga una cross-impollinazione tra flori diversi. La cross-impollinazione consente ai ricercatori di studiare diversi schemi di trasmissione ereditaria nei piselli.

Come funziona?

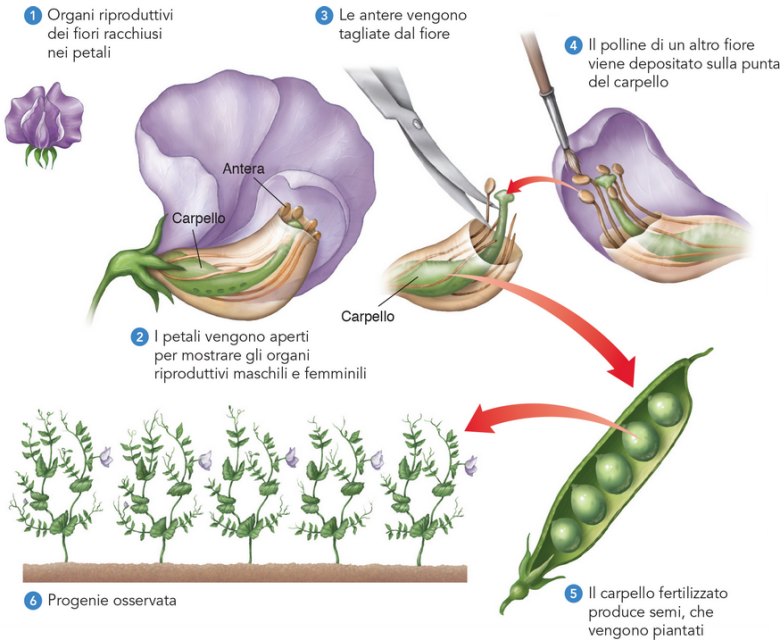



FIGURA 11-1
*Come si effettua un incrocio tra piante di pisello*

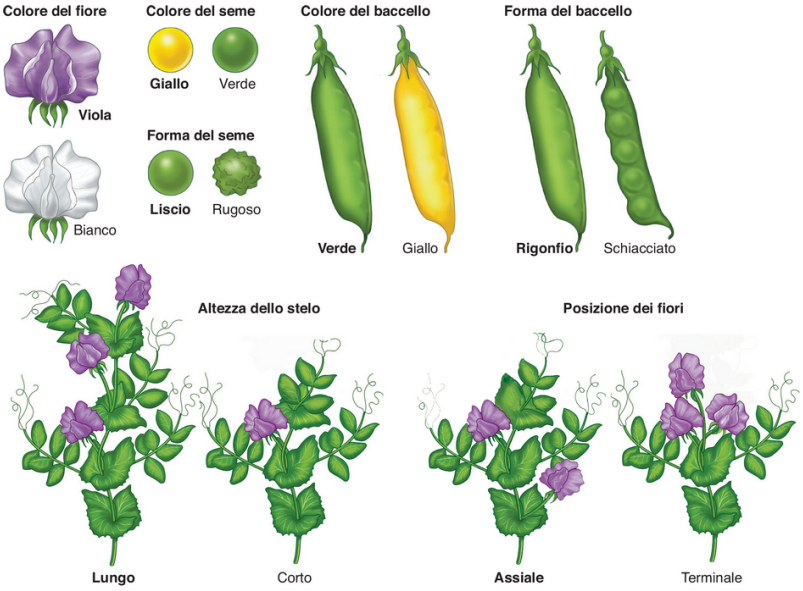
# 11.1 I PRINCIPI DELL'EREDITARIETÀ DI MENDEL

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Definire i termini fenotipo, genotipo, locus, allele, allele dominante, allele recessivo, omozigote ed eterozigote.
2. Enunciare i princìpi di Mendel della segregazione e dell'assortimento indipendente.
3. Fare una distinzione tra incroci monoibridi, incroci diibridi e reincroci.
4. Spiegare i princìpi di Mendel della segregazione e dell'assortimento indipendente in base a ciò che oggi si conosce dei geni e dei cromosomi.

Gregor Mendel non fu il primo ad occuparsi di ibridi: piante e animali ibridi (discendenti di due genitori geneticamente diversi) erano noti da lungo tempo. Quando Mendel iniziò i suoi esperimenti, nel 1856, due importanti dati riguardanti l'eredità erano già ampiamente conosciuti: (1) tutte le piante ibride derivanti da genitori geneticamente puri hanno un aspetto simile; (2) quando gli stessi ibridi vengono incrociati fra loro, essi non generano linee pure ; i loro discendenti mostrano una mescolanza di caratteri: alcuni assomigliano ai loro genitori ed altri presentano caratteristiche simili a quelle della generazione di partenza.

La genialità di Mendel è stata quella di riuscire a individuare regole precise nelle modalità con cui i caratteri dei genitori si ripresentano nella progenie. Nessuno prima di lui aveva raggruppato e contato i discendenti, ed aveva analizzato questi schemi regolari per molte generazioni. Proprio come fanno i genetisti oggi, Mendel scelse con molta attenzione gli organismi per i suoi esperimenti. Il pisello da giardino, *Pisum sativum*, presentava numerosi vantaggi: le piante di pisello crescono facilmente e in commercio ne sono disponibili molte varietà. Le piante di pisello presentano un altro vantaggio, cioè quello di consentire l'impollinazione controllata: esse hanno sia organi riproduttivi maschili che femminili e di norma si autoimpollinano. Le antere (parti maschili del fiore che producono il polline) possono essere rimosse per prevenire l'autoimpollinazione ( FIG. 11-1 ). Pollini di diversa origine possono essere depositati sullo stigma (la superficie recettiva del carpello, l'organo riproduttivo femminile). I fiori di pisello sono facilmente protetti da impollinazioni indesiderate poiché le strutture riproduttive sono completamente avvolte dai petali.
Utilizzando in origine semi di pisello di tipo commerciale, Mendel effettuò alcune importanti operazioni preliminari prima di iniziare gli esperimenti sugli ibridi. Per due anni lavorò per sviluppare linee geneticamente pure per un certo numero di caratteri. Oggi utilizziamo il termine fenotipo per riferirci all'aspetto fisico di un organismo e genotipo per riferirci alla costituzione genetica dell'organismo che viene più spesso espressa in simboli. Una linea pura per un dato carattere, come ad esempio una linea di piante a stelo lungo, produce, generazione dopo generazione, solo piante a stelo lungo. In questa fase egli scelse, fra le caratteristiche delle sue varietà di piselli, quelle che potevano essere meglio studiate. Probabilmente fece anche molte delle osservazioni che più tardi avrebbero costituito le basi delle sue teorie.




←FIGURA 11-2 I sette caratteri degli studi di Mendel sulle piante di pisello
*Ciascun carattere presenta due fenotipi chiaramente distinguibili; il fenotipo dominante è scritto in grassetto.*

Mendel scelse infine delle varietà rappresentative per sette caratteri , gli attributi (come il colore del seme) per i quali le differenze ereditabili, o tratti , erano conosciute (ad esempio, semi gialli e semi verdi). I caratteri scelti da Mendel mostravano fenotipi chiaramente contrastanti ( FIG. 11-2 ). I risultati di Mendel erano molto più facili da analizzare perché aveva scelto fenotipi facilmente distinguibili e aveva limitato la variabilità genetica studiata in ogni esperimento.

Mendel cominciò i suoi esperimenti incrociando piante di due differenti linee pure con fenotipi diversi: questi individui geneticamente puri costituivano la generazione parentale , o P . In ogni caso, i membri della prima generazione filiale erano tutti uguali e assomigliavano a uno dei due genitori. Per esempio, quando incrociò piante a stelo lungo con piante a stelo corto, tutti i discendenti erano a stelo lungo ( FIG. 11-3 ). Questa progenie era la prima generazione filiale , o generazione F 1 . La seconda generazione filiale, o generazione F 2 , era stata prodotta incrociando individui della F 1 o mediante autoimpollinazione di individui della F 1 . La generazione F 2 di Mendel, in questo esperimento, comprendeva 787 piante a stelo lungo e 277 a stelo corto. La TABELLA 11-1 mostra i risultati sperimentali di Mendel per tutti i sette caratteri.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE* Quando la generazione F 1 di piante di pisello a stelo lungo viene autoimpollinata, quali fenotipi appaiono nella generazione F 2 ?

SVILUPPARE UN'IPOTESI: Benché solo il "fattore" (gene) per lo stelo lungo fosse espresso nella generazione F 1 , Mendel ipotizzò che il fattore per lo stelo corto non fosse andato perso. Egli si aspettava che il fenotipo a stelo corto sarebbe riapparso nella generazione F 2 .

EFFETTUARE ESPERIMENTI: Mendel incrociò una linea pura di piante di pisello a stelo lungo con una linea pura di piante di pisello a stelo corto, ed ottenne solo progenie a stelo lungo nella generazione F 1 . Quindi, lasciò che gli individui della F 1 si autoimpollinassero per produrre una generazione F 2 .

RISULTATIE CONCLUSIONI: La generazione F 2 comprendeva 787 piante a stelo lungo e 277 piante a stelo corto, da cui risultava un rapporto approssimativo di 3:1. Pertanto, i caratteri mendeliani sono trasmessi alla generazione successiva in rapporti definiti.

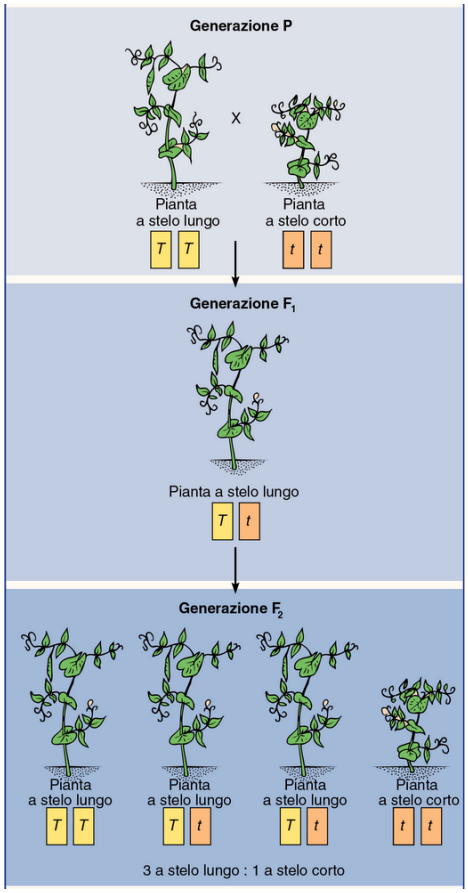



FIGURA 11-3
*Uno degli incroci di Mendel tra piante di pisello*

La maggior parte di coloro che producevano ibridi al tempo di Mendel pensava che l'ereditarietà fosse controllata da fluidi che si mescolavano nel momento in cui si formavano gli ibridi. Questa idea comportava che un ibrido dovesse avere caratteristiche intermedie rispetto a quelle dei genitori. In effetti, questi tipi di ibridi erano stati ottenuti.

Benché Mendel avesse osservato alcuni ibridi di tipo intermedio, egli scelse per gli studi successivi quegli ibridi della F 1 in cui i "fattori ereditari" (come lui li definì) di un genitore apparentemente mascheravano l'espressione di quelli dell'altro genitore. Anche altri selezionatori avevano osservato questi tipi di ibridi, ma non erano riusciti a darne una spiegazione. Usando la terminologia moderna, il carattere espresso nella generazione F 1 (stelo lungo nel nostro esempio) è detto dominante ; quello non espresso (stelo corto) è detto recessivo . Quando entrambi i caratteri sono presenti nello stesso individuo, quelli dominanti mascherano i recessivi. Sebbene oggi sia noto che non sempre si osserva la dominanza, il fatto che la dominanza

si potesse verificare era in contrasto con il concetto della mescolanza dei caratteri ereditari.
I risultati di Mendel non confermavano l'ipotesi di una mescolanza dei caratteri ereditari anche per un altro motivo. Una volta che i fluidi si fossero mescolati, era difficile pensare a come potessero essere separati. Di fatto, nell'esempio che abbiamo discusso, il fattore ereditario che controlla la caratteristica stelo corto non può evidentemente essere perso o mescolato, nella generazione F 1 , in modo inseparabile con i fattori ereditari che controllano la caratteristica stelo lungo dal momento che la caratteristica stelo corto ricompare nella generazione F 2 . Mendel era propenso alla teorizzazione di dati biologici, in quanto era anche uno studioso di fisica e matematica. Di conseguenza, Mendel propose che ciascuna caratteristica ereditaria di un organismo fosse controllata da due fattori che si comportano come particelle presenti in ciascun individuo. Per Mendel questi "fattori ereditari" erano astrazioni, perché non conosceva nulla del DNA e dei cromosomi. Questi fattori sono essenzialmente ciò che noi oggi chiamiamo geni – unità di eredità che determinano un tratto di un organismo. A livello molecolare, un gene è una sequenza di DNA che contiene l'informazione per produrre un RNA o un prodotto proteico con una specifica funzione. (Il capitolo 13 illustra l'evoluzione delle teorie sulla natura dei geni).

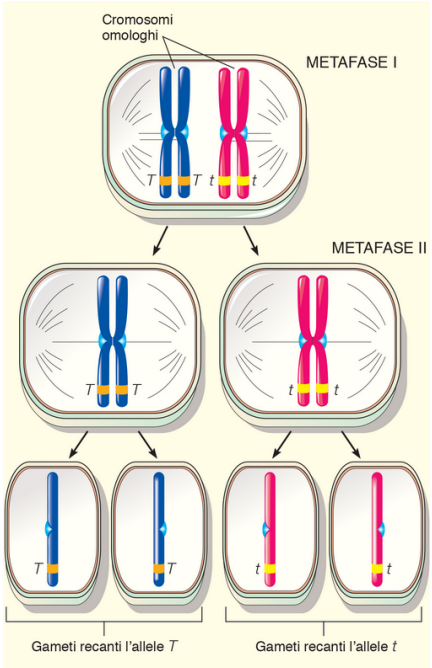
| Caratteri e tratti nelle piante di pisello | | | | Generazione $F_2$ | |
|---|---|---|---|---|---|
| Carattere | Tratto dominante | × | Tratto recessivo | Dominante: Recessivo | Rapporto |
| Lunghezza dello stelo | Lungo | × | Corto | 787:277 | 2,84:1 |
| Colore del fiore | Viola | × | Bianco | 705:224 | 3,15:1 |
| Posizione del fiore | Assiale | × | Terminale | 651:207 | 3,14:1 |
| Colore del baccello | Verde | × | Giallo | 428:152 | 2,82:1 |
| Forma del baccello | Rigonfio | × | Schiacciato | 882:299 | 2,95:1 |
| Colore del seme | Giallo | × | Verde | 6022:2001 | 3,01:1 |
| Forma del seme | Liscio | × | Rugoso | 5474:1850 | 2,96:1 |

TABELLA 11-1 I risultati sperimentali di Mendel per i sette caratteri analizzati

Gli esperimenti di Mendel portarono alla scoperta e alla spiegazione dei princìpi fondamentali dell'ereditarietà che noi oggi conosciamo come il principio della segregazione e il principio dell'assortimento indipendente ( TABELLA 11-2 per un riepilogo del modello mendeliano di ereditarietà). Prendiamo in considerazione il primo principio, mentre il secondo sarà trattato più avanti in questo capitolo.

## Gli alleli si separano prima che si formino i gameti: il principio della segregazione

Il termine alleli si riferisce alle forme alternative di un gene. Nell'esempio descritto nella Figura 11-3 , ciascuna pianta a stelo lungo della generazione F 1 ha due alleli differenti che controllano l'altezza della pianta: un allele dominante per lo stelo lungo (che noi indichiamo con T ) e un allele recessivo per lo stelo corto (che noi indichiamo con t ), ma, dal momento che l'allele per lo stelo lungo è dominante, queste piante sono a stelo lungo. Per spiegare questi risultati sperimentali, Mendel formulò un'ipotesi che noi chiamiamo principio della segregazione . Usando una terminologia moderna, il principio della segregazione stabilisce che, prima della riproduzione sessuata, i due alleli portati da un genitore devono essere separati (segregati).
Si ricordi che durante la meiosi i cromosomi omologhi, e quindi gli alleli presenti su di essi, si separano (rivedere la meiosi nella Figura 10-16 ). Come risultato, ciascuna cellula sessuale che si forma (uovo o spermatozoo) contiene soltanto un allele di ciascun paio. (Successivamente, al momento della fecondazione, ogni gamete aploide fornisce un solo cromosoma di ciascuna coppia di omologhi e quindi un solo allele per ciascuna coppia di geni). Una caratteristica essenziale del processo è che gli alleli rimangono intatti (uno non contamina o elimina l'altro); in questo modo, gli alleli recessivi non sono perduti e possono ricomparire nella generazione F 2 . Nel nostro esempio, prima che le piante della generazione F 1 formino i gameti, l'allele per lo stelo lungo si separa (segrega) dall'allele che codifica per lo stelo corto, così che metà dei gameti conterranno l'allele T e metà l'allele t ( FIG. 11-4 ).
Il processo casuale della fecondazione porta a tre possibili combinazioni di alleli nella progenie F 2 : 1/4 con i due alleli TT , 1/4 con i due alleli tt e 1/2 con gli alleli Tt . Poiché sia le piante TT che Tt sono lunghe, Mendel si aspettava che circa i 3/4 (787/1064) esprimessero il fenotipo dell'allele dominante (lungo), mentre circa 1/4 (277/1064) esprimesse il fenotipo dell'allele recessivo (corto). Il ragionamento matematico alla base di questa predizione sarà spiegato più avanti.




**PUNTO CHIAVE** Il principio della segregazione di Mendel è correlato agli eventi della meiosi: la separazione dei cromosomi omologhi durante la meiosi ha come risultato la segregazione degli alleli.

FIGURA 11-4 *Cromosomi e segregazione*
Notare che metà dei gameti porta l'allele T e l'altra metà porta l'allele t

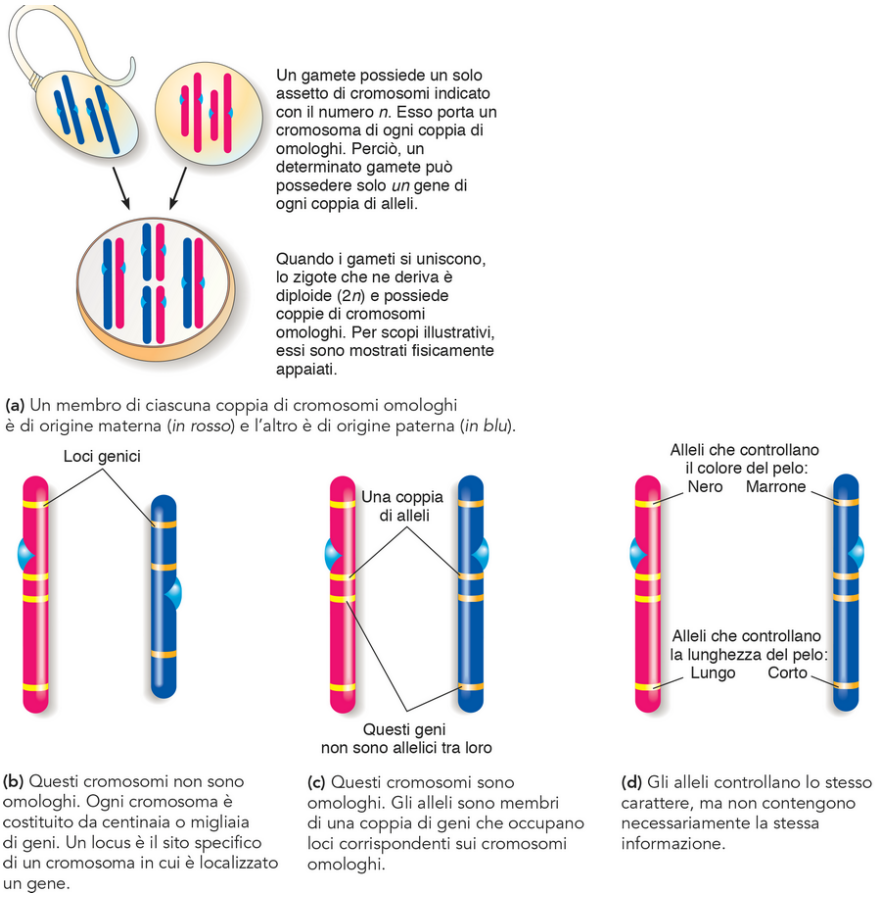
TABELLA 11-2 Il modello di Mendel dell'ereditarietà

| |
|---|
| **1. Le forme alternative di un "fattore" (ciò che oggi chiamiamo *gene*) sono alla base delle variazioni osservabili nei caratteri ereditari.** |
| Anche se Mendel osservò soltanto due forme (ciò che oggi chiamiamo *alleli*) per ogni fattore che analizzò, oggi sappiamo che molti geni hanno più di due alleli. |
| **2. I caratteri ereditari sono trasmessi dai genitori ai figli in forma di fattori non modificati.** |
| Mendel non osservò progenie di aspetto intermedio, come ci si sarebbe aspettati in base all'idea dell'ereditarietà da mescolamento. Oggi sono note eccezioni a questo concetto. |
| **3. Ogni individuo possiede due insiemi di fattori, uno ereditato dalla madre e l'altro dal padre.** |
| Non importa quale insieme di fattori sia fornito da ciascuno dei genitori. |
| **4. I fattori appaiati si separano durante la formazione delle cellule riproduttive (principio della segregazione).** |
| Come risultato della *meiosi*, che fu scoperta in un'epoca successiva a quella di Mendel, ciascun genitore trasmette un insieme di fattori ad ogni figlio. |
| **5. I fattori possono essere espressi o nascosti in una data generazione, ma non vengono mai persi.** |
| Ad esempio, i fattori non espressi nella generazione $F_1$ riappaiono negli individui della $F_2$. |
| **6. Ogni fattore è trasmesso alla generazione successiva indipendentemente da tutti gli altri fattori (principio dell'assortimento indipendente).** |
| Gli studi successivi all'epoca di Mendel hanno rivelato che esistono eccezioni a questo principio. |

## Gli alleli occupano loci corrispondenti sui cromosomi omologhi

Oggi noi sappiamo che ogni cromosoma non duplicato (monocromatidico) è costituito da un'unica lunga molecola di DNA e che i geni sono segmenti di DNA. Sappiamo, inoltre, che i cromosomi omologhi sono simili non solo per dimensione e forma, ma anche perché di solito portano gli stessi geni (spesso con alleli diversi) localizzati in posizioni corrispondenti. Il termine locus (pl. loci ) venne originariamente utilizzato per indicare la posizione di un particolare gene sul cromosoma ( FIG. 11-5 ). Naturalmente, oggi lo intendiamo riferito ad un segmento di DNA che possiede l'informazione necessaria al controllo di qualche aspetto della struttura o della funzione di un organismo. Un locus può determinare il colore del seme, un altro la forma del seme, un altro la forma del baccello, e così via. Un particolare locus può essere identificato (almeno con i metodi genetici tradizionali) solo se almeno due varianti alleliche producono fenotipi alternativi, come ad esempio il colore giallo e verde del pisello. Nei casi più semplici, un individuo può esprimere l'uno o l'altro carattere (giallo o verde), ma non entrambi.

FIGURA 11-5→
*I loci genici e i loro alleli*



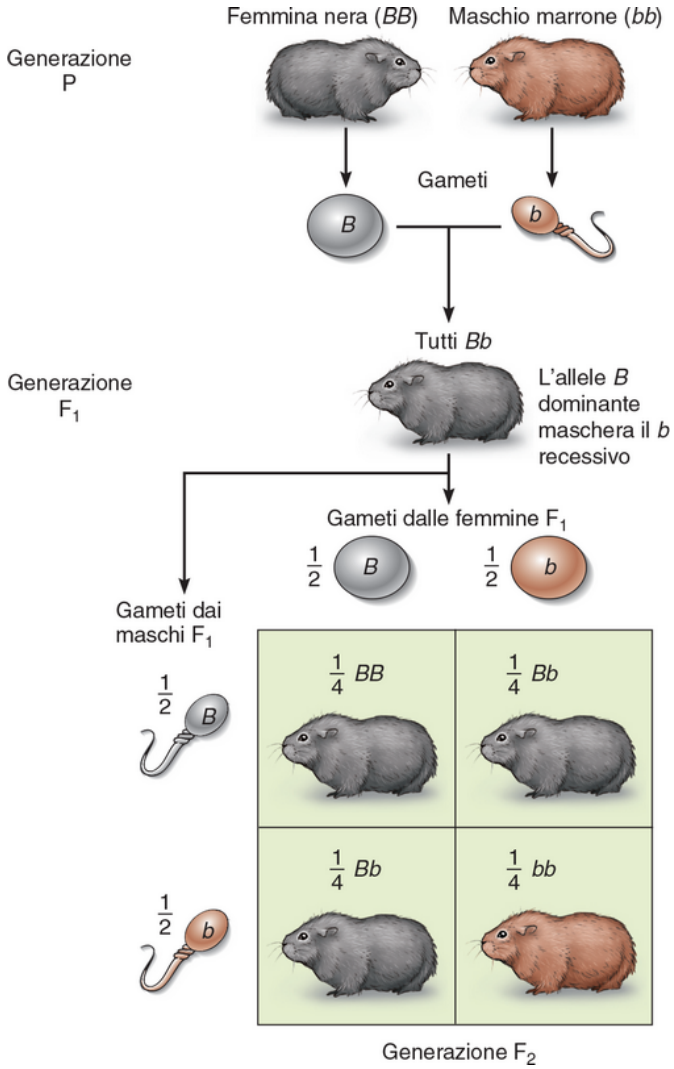

Gli alleli sono pertanto geni che controllano varianti diverse dello stesso carattere (colore del seme giallo o verde) e occupano loci corrispondenti sui cromosomi omologhi. Ad ogni allele (variante) di un locus è assegnato un simbolo che può essere o una singola lettera o un gruppo di lettere.[1]
Sebbene dai genetisti siano spesso utilizzati simboli più complessi, è consuetudine, svolgendo semplici problemi di genetica, indicare l'allele dominante con la lettera maiuscola e l'allele recessivo con la stessa lettera, ma minuscola.
Si deve ricordare che il termine locus viene usato non solo per indicare una posizione su un cromosoma, ma anche un tipo di gene che controlla un particolare tipo di caratteristica. Così Y (giallo) e y (verde) rappresentano una specifica coppia di alleli di un locus coinvolto nella determinazione del colore del seme nel pisello. Sebbene inizialmente si possa essere confusi dal fatto che i genetisti usino il termine gene per indicare a volte un locus e altre volte per specificare uno degli alleli per quel locus, il significato del termine risulta chiaro dal contesto in cui viene utilizzato.

[1 I primi genetisti svilupparono simboli personali per rappresentare i geni e gli alleli. Successivamente, gruppi di scienziati si accordarono sui simboli specifici da utilizzare per ogni determinato organismo modello, come il moscerino della frutta, ma ogni gruppo conservò le proprie regole per l'assegnazione di tali simboli. Ancora oggi non esistono regole universalmente accettate per l'assegnazione dei simboli a geni ed alleli.]

## Un incrocio monoibrido coinvolge individui con alleli diversi per un dato locus

I princìpi basilari della genetica e l'impiego dei termini genetici sono meglio illustrati dagli esempi. Il caso più semplice è l' incrocio monoibrido , che è un incrocio fra due individui che portano alleli diversi di un singolo locus. La FIGURA 11-6 mostra un incrocio monoibrido riferito ad un locus che controlla il colore del pelo nella cavia. La femmina proviene da una linea pura di cavie a pelo nero. Diciamo che essa è omozigote per il colore nero, poiché i due alleli sono identici. Il maschio di colore marrone proviene anch'esso da una linea pura ed è omozigote per il colore marrone. Di quale colore ci aspettiamo che siano i discendenti F 1 ? È impossibile fare una previsione senza possedere ulteriori informazioni.

In questo caso particolare, i discendenti della F 1 sono neri, ma eterozigoti , cioè portano due differenti alleli per questo locus. L'allele per il colore marrone del pelo si esprime solo negli individui omozigoti per il marrone e pertanto questo allele è chiamato allele recessivo. L'allele per il colore nero si esprime sia negli individui omozigoti che negli eterozigoti e si definisce quindi allele dominante. Sulla base di questa informazione, possiamo indicare l'allele dominante con B e l'allele recessivo con b .




Durante la meiosi, nel genitore femmina ( BB ) i due alleli B si separano secondo il principio mendeliano della segregazione, così che ogni cellula uovo contiene un solo allele B . Nel maschio ( bb ) i due alleli b si separano, così che ogni gamete contiene solo un allele b . La fecondazione dell'uovo B con lo spermatozoo b dà origine a progenie (F 1 ) eterozigote Bb , cioè con un allele per il pelo nero e uno per il marrone. Poiché questa è l'unica combinazione possibile degli alleli presenti nelle uova e negli spermatozoi, tutti i discendenti saranno Bb . Va sottolineato che non è importante se la cavie figlie ricevono l'allele dominante dalla madre o dal padre.

←FIGURA 11-6
*Un incrocio monoibrido nelle cavie*
Nell'incrocio monoibrido illustrato, una cavia marrone omozigote è accoppiata con una nera omozigote. La generazione F 1 comprende solamente individui neri. Tuttavia, incrociando due individui della F 1 , si ottiene una generazione F 2 di individui nelle proporzioni attese di 3 neri/1 marrone; ciò indica che gli individui della generazione F 1 sono eterozigoti.

### Il quadrato di Punnettconsente di prevedere i rapporti tra i vari discendenti di un incrocio

Nelle cavie eterozigoti a pelo nero ( Bb ), durante la meiosi il cromosoma che porta l'allele B si separa dal suo omologo che possiede l'allele b , così che ciascun gamete può contenere l'uno o l'altro dei due alleli, ma non entrambi. I gameti che contengono l'allele B e quelli che contengono l'allele b vengono prodotti in egual numero dagli individui eterozigoti. Poiché non si verifica nessuna particolare attrazione o repulsione fra un uovo ed uno spermatozoo che contengono lo stesso allele, la fecondazione è un fenomeno casuale.
Le possibili combinazioni delle uova e degli spermatozoi alla fecondazione possono essere riportate su una "scacchiera", o quadrato di Punnett , inventata da uno dei primi genetisti, Sir Reginald Punnett ( Fig. 11-6 ). I diversi tipi di gameti di un genitore (e le loro frequenze attese) vengono rappresentati lungo il lato superiore del quadrato, e quelli dell'altro lungo il lato sinistro; nei riquadri vengono riportate le combinazioni alleliche dello zigote della F 2 . Tre-quarti dei discendenti della F 2 sono genotipicamente BB o Bb e fenotipicamente neri; un-quarto è genotipicamente bb e fenotipicamente marrone. Il meccanismo genetico responsabile del rapporto approssimativo 3:1 della F 2 (chiamato rapporto fenotipico della generazione F 2 di un incrocio fra monoibridi) ottenuto da Mendel nei suoi esperimenti sui piselli è di nuovo evidente.

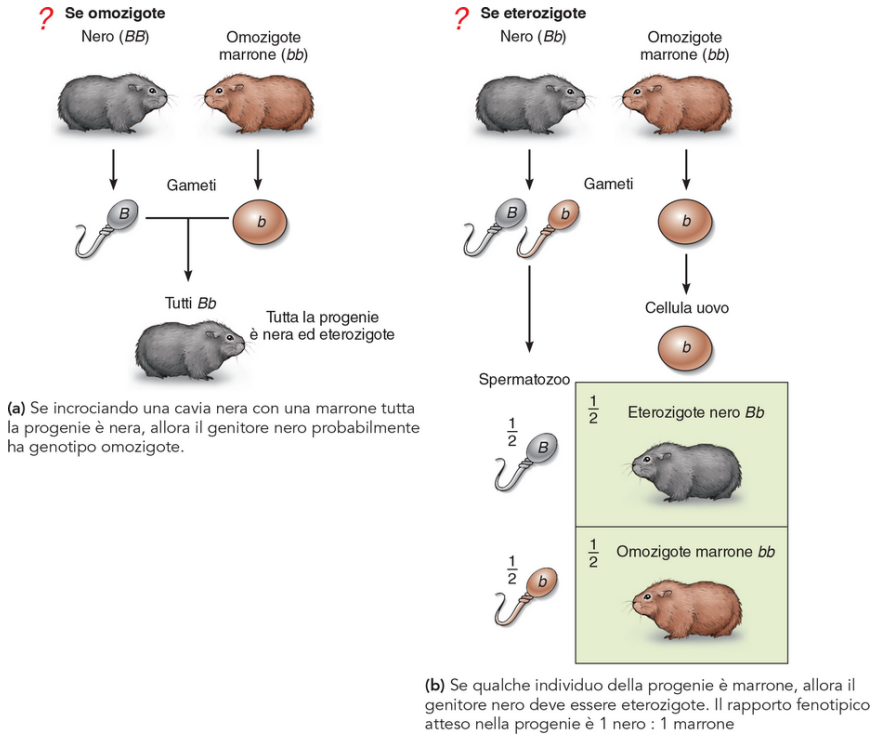
### Il fenotipo di un individuo non sempre rivela il suo genotipo

Il fenotipo di un organismo è come esso appare rispetto a certe caratteristiche ereditarie. Tuttavia, poiché alcuni alleli possono essere dominanti e altri recessivi, non possiamo sempre determinare quali alleli sono

portati da un organismo semplicemente esaminando il suo fenotipo. Nell'incrocio che abbiamo considerato, il genotipo del maschio è omozigote recessivo, bb , e il suo fenotipo è il colore marrone del pelo. Il genotipo della femmina è omozigote dominante, BB , e il suo fenotipo è il colore nero. Il genotipo di tutti i discendenti F 1 è eterozigote, Bb , e il loro fenotipo è il colore nero. Per evitare confusione, si indica sempre il genotipo di un individuo eterozigote scrivendo per primo il simbolo dell'allele dominante, e per secondo quello dell'allele recessivo (cioè sempre Bb e mai bB ). L'espressione della dominanza spiega, almeno in parte, perché un individuo può assomigliare più ad un genitore che all'altro, anche se i due genitori contribuiscono in egual misura alla costituzione genetica dei loro discendenti.
La dominanza non è prevedibile — in altre parole la dominanza non è una caratteristica intrinseca dell'allele, ma una proprietà relativa di un allele rispetto a un altro. La dominanza è prodotta da un meccanismo di espressione genica e può essere determinata solo mediante esperimenti. In una specie di animali il pelo nero può essere dominante sul marrone, in un'altra specie il colore marrone può essere dominante sul nero. All'interno di una popolazione, il fenotipo dominante non è necessariamente più comune del fenotipo recessivo.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

PORSI DOMANDE CRITICHE: Come si può determinare il genotipo di un individuo con fenotipo dominante?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: Un reincrocio tra un individuo con fenotipo dominante, ma genotipo ignoto, e un individuo omozigote recessivo per il gene in questione origina una progenie che fornisce indicazioni sul genotipo dell'individuo con fenotipo dominante.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Si incrocia una cavia nera di genotipo ignoto con una cavia marrone, che quindi avrà genotipo omozigote recessivo.
RISULTATIE CONCLUSIONI: Ci sono due possibili risultati. Se tutta la progenie è nera, allora il genitore nero è probabilmente omozigote. Se qualche individuo della progenie è marrone, allora il genitore nero deve essere eterozigote. Il rapporto atteso in questo caso è 1 nero : 1 marrone.




(a) Se incrociando una cavia nera con una marrone tutta la progenie è nera, allora il genitore nero probabilmente ha genotipo omozigote.

(b) Se qualche individuo della progenie è marrone, allora il genitore nero deve essere eterozigote. Il rapporto fenotipico atteso nella progenie è 1 nero : 1 marrone

FIGURA 11-7 Un reincrocio (test cross) nelle cavie

### Il reincrocio (test cross) viene utilizzato per individuare la condizione eterozigote

Le cavie con genotipo BB e Bb sono fenotipicamente identiche: hanno entrambe pelo nero. Come si può quindi distinguere il genotipo di una cavia di colore nero? I genetisti possono distinguere le cavie a pelo nero omozigoti ( BB ) da quelle eterozigoti ( Bb ) mediante un incrocio sperimentale, chiamato reincrocio ( test cross ), in cui ogni cavia a pelo nero viene incrociata con un individuo recessivo a pelo marrone ( bb ) ( FIG. 11-7 ). In un reincrocio, i due tipi di gameti prodotti dal genitore con genotipo sconosciuto non sono "nascosti" nella discendenza perché non ci sono alleli dominanti che provengono dall'altro genitore. Perciò, attraverso un reincrocio si può dedurre il genotipo di tutte le classi di discendenti direttamente dai loro fenotipi. Quale conclusione si può trarre circa il genotipo dei genitori a pelo nero, se tutti i discendenti sono neri? E se una parte dei discendenti presenta pelo marrone, cosa si può dire del genotipo dei genitori a pelo nero? Sareste più certi della deduzione relativa ad uno dei due casi rispetto all'altro? [2]

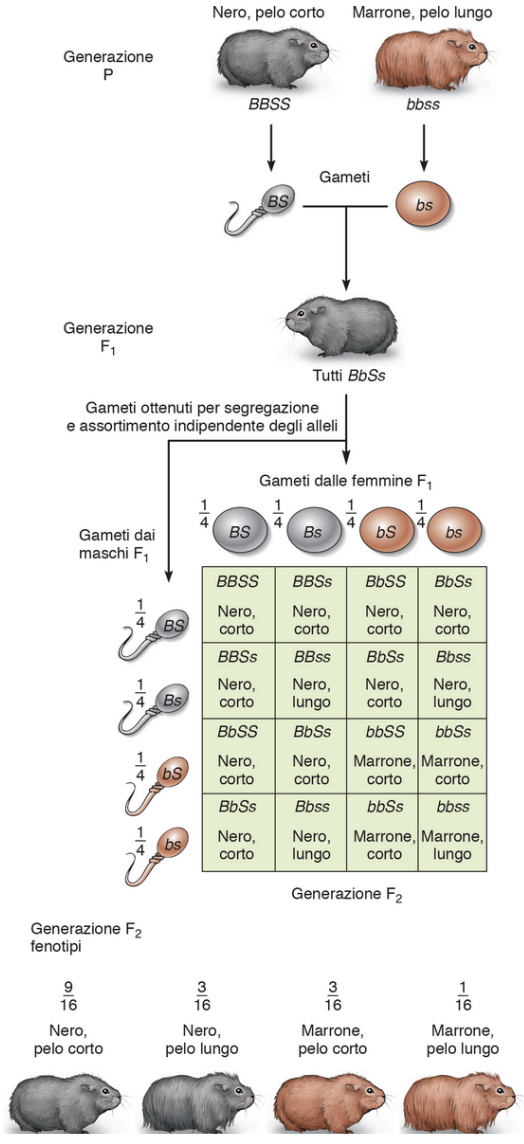
[[2] Se uno qualsiasi degli individui della progenie fosse marrone, potreste dedurre che il genitore nero è eterozigote, Bb . Se tutti i discendenti fossero neri, potreste dedurre che il genitore nero è probabilmente omozigote, BB . (Ad esempio, gli statistici calcolano che se il genitore nero è eterozigote, la probabilità di quattro figli neri e nessuno marrone è solo 1 16 ).]

Mendel effettuò molti esperimenti di reincrocio; ad esempio, incrociò piante di pisello a stelo lungo F 1 con piante omozigoti recessive a stelo corto ( tt ). Egli suppose che, se gli individui F 1 fossero stati eterozigoti, avrebbero prodotto un numero uguale di gameti T e t , mentre i genitori omozigoti a stelo corto avrebbero

prodotto solamente gameti t . Questo avrebbe portato nella progenie a individui a stelo lungo ( Tt ) e individui a stelo corto ( tt ) in ugual numero. I risultati concordarono con le previsioni, fornendo quindi un'ulteriore prova a favore dell'ipotesi che ci sia una segregazione 1:1 degli alleli di un genitore eterozigote. Perciò, il principio mendeliano della segregazione non solo spiega risultati noti, come il rapporto fenotipico di 3:1 della F 2 di un incrocio monoibrido, ma consente di prevedere il rapporto fenotipico di 1:1 del reincrocio.

## Un incrocio di ibrido coinvolge individui che possiedono alleli diversi in due loci

Un semplice incrocio tra monoibridi coinvolge una coppia di alleli di un singolo locus. Mendel analizzò anche incroci fra individui che differivano per gli alleli di due loci; un incrocio di questo tipo è chiamato incrocio diibrido . Consideriamo il caso in cui due coppie di alleli sono localizzate su cromosomi non omologhi (un paio di alleli è situato su un paio di cromosomi omologhi, mentre l'altro paio di alleli è localizzato su un differente paio di cromosomi omologhi). Ogni coppia di alleli è ereditata indipendentemente; ovvero, durante la meiosi segrega indipendentemente dall'altra.
Nella FIGURA 11-8 è illustrato un esempio di incrocio diibrido fino alla generazione F 2 . Se incrociamo una cavia a pelo nero e corto omozigote ( BBSS , poiché il colore nero è dominante sul marrone e l'allele per il pelo corto è dominante su quello per il pelo lungo) con una a pelo marrone e lungo ( bbss ) anch'essa omozigote, l'individuo con genotipo BBSS produce gameti tutti uguali, BS e l'individuo bbss tutti gameti bs . Ogni gamete contiene quindi un solo allele per ognuno dei due loci. L'unione dei gameti BS, e bs produce individui con genotipo BbSs . Pertanto, tutti gli individui della F 1 sono eterozigoti sia per il colore che per la lunghezza del pelo e fenotipicamente sono neri a pelo corto.
Ogni cavia della generazione F 1 produce quattro tipi di gameti con la stessa probabilità: BS , Bs , bS e bs . Si può quindi costruire un quadrato di Punnett costituito da 16 (4 2 ) riquadri che rappresentano gli zigoti, alcuni dei quali sono genotipicamente o fenotipicamente del tutto simili. 9 individui su 16 hanno pelo nero e corto, 3 hanno pelo marrone e corto, 3 hanno pelo nero e lungo e 1 su 16 è a pelo lungo e marrone. Dunque, se i loci per il colore e la lunghezza del pelo si trovano su cromosomi non omologhi, nella generazione F 2 di un incrocio diibrido il rapporto fenotipico atteso è 9:3:3:1.




## Gli alleli posizionati su cromosomi non omologhi sono distribuiti nei gameti in maniera casuale: il principio dell'assortimento indipendente

Sulla base di questi risultati, Mendel formulò il principio sulla ereditarietà dei caratteri conosciuto come principio dell'assortimento indipendente ; esso afferma che i membri di una coppia di geni segregano indipendentemente dai membri di un'altra coppia. Questo avviene in modo preciso e assicura che ogni gamete contenga un singolo allele per ogni locus, ma gli alleli di loci differenti vengono assortiti nei gameti in modo casuale l'uno rispetto all'altro. L'assortimento indipendente di questi alleli può risultare in una ricombinazione genetica (o semplicemente ricombinazione ), il processo che consente il rimescolamento e la trasmissione degli alleli alla progenie in combinazioni nuove che sono diverse da quelle presenti nei genitori.

←FIGURA 11-8 *Un incrocio diibrido nelle cavie*
Se incrociamo una cavia a pelo nero e corto con una a pelo marrone e lungo, tutta la progenie sarà nera a pelo corto. Tuttavia, quando due individui della generazione F 1 vengono incrociati, il rapporto fenotipico della progenie sarà 9:3:3:1.

Oggi sappiamo che l'assortimento indipendente è correlato agli eventi della meiosi. Si verifica perché ci sono due modi diversi in cui due coppie di cromosomi omologhi possono essere disposte nella metafase I della meiosi ( FIG. 11-9 ). La disposizione è casuale e, approssimativamente, metà delle cellule in meiosi ha un orientamento, l'altra metà ha l'orientamento opposto. L'orientamento dei cromosomi omologhi sulla piastra metafasica determina quindi il modo in cui, successivamente, si separeranno e verranno distribuiti nelle cellule aploidi. (Tuttavia, come vedremo tra breve, l'assortimento indipendente non si verifica sempre).

## Il riconoscimento del lavoro di Mendel avvenne all'inizio del XX secolo

Mendel comunicò i suoi risultati ad una riunione della Società per lo Studio delle Scienze Naturali di Brünn (in quella che è ora la Repubblica Ceca); pubblicò questi risultati nel 1866. A quel tempo, la biologia era una scienza ampiamente descrittiva e i biologi avevano poco interesse nell'applicare i metodi quantitativi e sperimentali come quelli che Mendel aveva usato. L'importanza dei suoi risultati e l'interpretazione che ne aveva dato non vennero comprese dai biologi suoi contemporanei e le sue scoperte furono dimenticate per 34 anni.

Nel 1900, Hugo DeVries in Olanda, Karl Correns in Germania ed Erich von Tschermak in Austria rivalutarono gli esperimenti di Mendel e trovarono che essi fornivano una spiegazione ai risultati delle loro ricerche. In quel periodo, i biologi avevano maggiore attenzione per i metodi sperimentali quantitativi. Correns riconobbe il merito di Mendel ed attribuì alle leggi dell'ereditarietà il nome di quest'ultimo.

**PUNTO CHIAVE** Il principio dell'assortimento indipendente di Mendel, che afferma che i fattori per diversi caratteri si separano indipendentemente gli uni dagli altri prima della formazione dei gameti, è una conseguenza diretta degli eventi della meiosi.

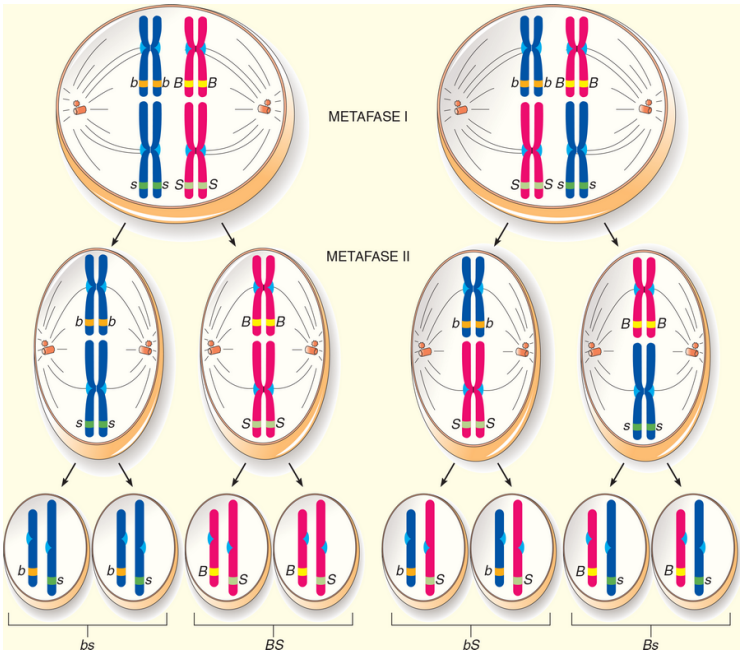



FIGURA 11-9
*La meiosi e l'assortimento indipendente*
Due differenti coppie di cromosomi omologhi possono allinearsi in metafase I secondo due disposizioni alternative. Una cellula con l'orientamento mostrato sulla sinistra produce gameti BS e bs . Al contrario, la cellula sulla destra produce gameti Bs e gameti bS . Dal momento che circa metà delle cellule meiotiche in metafase I è di ciascun tipo, il rapporto tra i 4 possibili tipi di gameti è 1:1:1:1.

Benché si conoscessero i gameti e la fecondazione, al tempo in cui Mendel condusse la sua ricerca non erano state ancora scoperte la mitosi e la meiosi. È davvero sorprendente il fatto che Mendel formulò le sue idee principalmente sulla base di astrazioni matematiche. Oggi, i suoi principi sono molto più semplici da comprendere dal momento che mettiamo in relazione la trasmissione dei geni con il comportamento dei cromosomi.

Le caratteristiche della mitosi, della meiosi e della fecondazione erano già state descritte quando, nel 1902, W. S. Sutton e Boveri individuarono indipendentemente la stretta relazione fra la segregazione mendeliana degli alleli e la separazione dei cromosomi omologhi durante la meiosi. Questa connessione portò allo sviluppo della teoria cromosomica dell'ereditarietà , anche nota come teoria di Sutton-Boveri ; essa afferma che l'ereditarietà può essere spiegata assumendo che i geni siano disposti linearmente in posizioni specifiche lungo i cromosomi.

La teoria cromosomica dell'ereditarietà fu inizialmente oggetto di controversie, poiché a quel tempo non esistevano dimostrazioni dirette che i geni si trovassero sui cromosomi. Tuttavia, nuove ricerche fornirono i risultati necessari per una più ampia accettazione ed estensione di queste idee e delle loro implicazioni. Ad esempio, nel 1910 il lavoro del genetista americano Thomas Hunt Morgan fornì la prova della localizzazione di un determinato gene (per il colore bianco dell'occhio) su uno specifico cromosoma (il cromosoma X) nei moscerini della frutta. Morgan e i suoi studenti fornirono anche suggerimenti sul modo in cui i geni sono organizzati sui cromosomi; discuteremo alcune delle ricerche di Morgan più avanti.

## Verifica

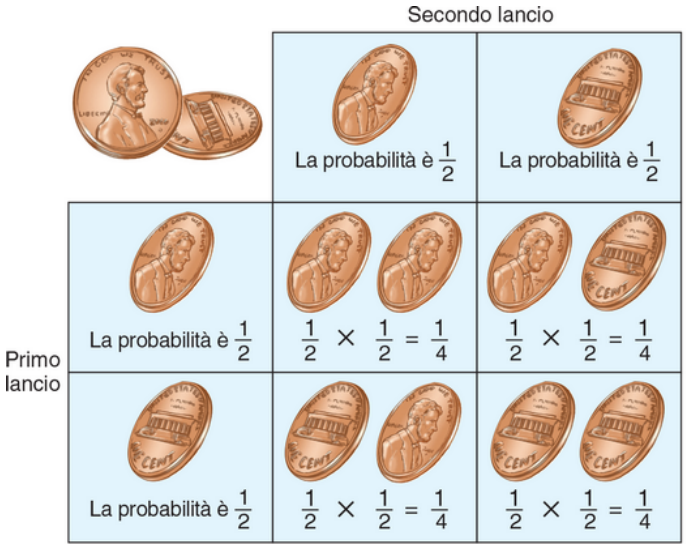
- Che relazione c'è tra loci, geni ed alleli?
- Cosa asserisce il principio della segregazione di Mendel?
- Cosa asserisce il principio dell'assortimento indipendente di Mendel?

# 11.2 LE LEGGI DELLA PROBABILITÀ vengono usate per prevedere…

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Applicare in modo appropriato le regole del prodotto e della somma per prevedere i risultati di incroci genetici.

Tutti i rapporti genetici vengono tipicamente espressi in termini di probabilità. Negli incroci monoibridi, il rapporto atteso tra i fenotipi dominante e recessivo è 3:1. La probabilità di un evento è la sua frequenza attesa. Si può pertanto dire che ci sono 3 probabilità su 4 3 4 che ciascun discendente di due eterozigoti esprima il fenotipo dominante, e 1 probabilità su 4 1 4 che mostri il fenotipo recessivo. Sebbene a volte ci si esprima in termini di percentuali, le probabilità devono sempre essere calcolate come frazioni (ad es., 3 4 ) o come numeri decimali (ad es., 0,75). Se un evento è certo che si verifichi, la sua probabilità è 1; se è certo che non si verifichi, la sua probabilità è 0. Una probabilità può essere 0, 1 oppure un numero compreso fra 0 e 1.




←FIGURA 11-10 *Le regole della probabilità*
Ogni volta che si lancia una moneta, la probabilità di ottenere testa è 1 2 e la probabilità di ottenere croce è ugualmente 1 2 . Il risultato del primo lancio non influenza il risultato del secondo lancio; quindi, tali eventi sono indipendenti e si possono comporre moltiplicando le singole probabilità (secondo la regola del prodotto: 1 2 × 1 2 = 1 4 ). Queste stesse regole della probabilità vengono usate per prevedere eventi genetici.

Il quadrato di Punnett permette anche di combinare le probabilità. Quando utilizziamo il quadrato di Punnett, stiamo intuitivamente applicando due importanti regole, note come regola del prodotto e regola della somma. La regola del prodotto consente di prevedere la probabilità congiunta di eventi indipendenti. Gli eventi sono *indipendenti* quando il verificarsi dell'uno non influenza la probabilità del verificarsi dell'altro. Ad esempio, la probabilità di ottenere testa al primo lancio di una moneta è 1 2 ; la probabilità di ottenere testa in un secondo lancio (evento indipendente) è ancora 1 2 . Se due o più eventi sono indipendenti l'uno dall'altro, la probabilità che si verifichino entrambi è il prodotto delle singole probabilità. Se ciò pare strano, basta ricordare che quando moltiplichiamo due numeri inferiori a 1 il prodotto è un numero più piccolo. La probabilità di ottenere testa al primo e anche al secondo lancio successivo della moneta è il prodotto delle loro singole probabilità ( 1/2 × 1/2 = 1/4 , oppure 1 probabilità su 4) ( FIG. 11-10). Allo stesso modo, è possibile applicare la regola del prodotto a eventi genetici. Se entrambi i genitori sono Bb , qual è la probabilità che essi abbiano un figlio bb ? Perché il figlio sia bb , egli deve ricevere un gamete b da ogni genitore. La probabilità che una cellula uovo porti l'allele b è 1/2 , e la probabilità che anche lo spermatozoo porti lo stesso allele è 1/2 . Queste probabilità sono indipendenti, quindi le possiamo combinare mediante la regola del prodotto ( 1/2 × 1/2 = 1/4 ). Questi risultati si potrebbero controllare utilizzando il quadrato di Punnett.
La regola della somma consente di prevedere la probabilità congiunta di eventi *mutuamente esclusivi*. In alcuni casi, c'è più di un modo per ottenere uno specifico risultato. Questi eventi sono detti mutuamente esclusivi se il verificarsi dell'uno preclude il verificarsi dell'altro. Ad esempio, se entrambi i genitori sono Bb , qual è la probabilità che essi producano un figlio uguale a loro (Bb)? Ci sono due modi di ottenere un figlio Bb : una cellula uovo B può combinarsi con uno spermatozoo b (la probabilità di questo risultato è 1/4) oppure una cellula uovo b può essere fecondata da uno spermatozoo B (anche questa probabilità è 1/4 ).

## Approfondimenti

### COME RISOLVERE I PROBLEMI DI GENETICA

Come risolvere i problemi più semplici della genetica mendeliana? Possono essere divertenti e facili se si seguono certe regole e se si è metodici nell'approccio.

1. Utilizzate sempre designazioni standard per le diverse generazioni. La generazione di partenza per un certo esperimento di genetica viene indicata con P ed è chiamata generazione parentale. La progenie di questa generazione (i "figli") è indicata con F 1 , ovvero prima generazione filiale. La progenie risultante dall'incrocio fra due individui della F 1 costituisce una F 2 o seconda generazione filiale (i "nipoti").
2. Scrivete un codice per i simboli utilizzati per indicare gli alleli di ogni locus genico. Per convenzione si usano le lettere maiuscole per indicare l'allele dominante e le minuscole per

l'allele recessivo. Usate sempre la stessa lettera dell'alfabeto per indicare entrambi gli alleli di uno stesso locus. Se non sapete quale sia il carattere dominante o il recessivo, il fenotipo della generazione F 1 è un buon indizio.

3. Stabilite il genotipo della generazione parentale di un incrocio effettuando le seguenti verifiche:
    - Questi organismi derivano da linee pure? Se sì, essi sono omozigoti.
    - I loro genotipi possono essere dedotti dai loro fenotipi? Questo è vero se essi esprimono un fenotipo recessivo.
    - Il fenotipo della progenie può dare utili informazioni? Questo punto sarà discusso brevemente.
4. Indicate le possibili classi di gameti formati da ogni genitore e tracciate un cerchietto attorno ai simboli scelti per ogni tipo di gamete.
    - Se si tratta di un incrocio di monoibridi, applicate il principio della segregazione, ovvero un eterozigote A a forma due tipi di gameti: A ed a. Chiaramente un omozigote recessivo aa forma un solo tipo di gamete, a.
    - Se si tratta di un incrocio di diibridi, applicate sia il principio della segregazione sia quello dell'assortimento indipendente. Per esempio, un individuo eterozigote per due loci dovrà avere un genotipo AaBb . A si separa da a e B da b . L'assortimento di A e a nei gameti è, inoltre, indipendente da quello di B e b . Perciò A avrà la stessa probabilità di trovarsi, in un gamete, insieme a B o a b . La stessa considerazione vale per a . Perciò, un individuo con genotipo A aBb produce quattro tipi di gameti in egual misura: AB , Ab , aB e ab.
5. Costruite un quadrato di Punnett, ponendo i possibili gameti prodotti da uno dei genitori in verticale sul lato sinistro e quelli prodotti dall'altro genitore in orizzontale sul lato superiore del quadrato.
6. Riempite il quadrato di Punnet. Al fine di evitare confusione, negli eterozigoti scrivete sempre prima l'allele dominante poi il recessivo ( Aa , non aA ). Se si tratta di un incrocio di diibridi, è molto importante scrivere sempre le due forme alleliche di un carattere per prime e quelle dell'altro carattere per seconde. Non è importante quale dei due alleli si sceglie per primo o secondo, ma è fondamentale mantenere lo stesso ordine. Questo significa che se un individuo è eterozigote per entrambi i loci, si dovrà sempre adottare la forma AaBb evitando di scrivere per esempio aBbA , che potrebbe creare confusione.
7. Se non è necessario conoscere le frequenze precise di tutti i genotipi e fenotipi attesi, si può effettuare un calcolo veloce delle probabilità. Per esempio, se entrambi i genitori sono AaBb , che probabilità c'è che compaia una progenie AABB ? Per essere AA , la progenie deve ricevere un gamete A da entrambi i genitori. La probabilità che un dato gamete sia A è di 1 2 e, siccome ogni gamete è la risultanza di un evento indipendente, la combinazione delle probabilità si ottiene dal prodotto ( 1 2 × 1 2 = 1 4 ). Così la probabilità di BB si otterrà con lo stesso procedimento e sarà anche questa di 1 4 . Tenendo presente che la costituzione di un genotipo AA e BB è il risultato di eventi indipendenti, ancora una volta si dovrà applicare la regola del prodotto per ottenere la probabilità combinata ( 1 4 × 1 4 = 1 16 ).
8. Molto spesso i genotipi parentali possono essere dedotti dai fenotipi della progenie. Nei piselli, ad esempio, l'allele per il colore giallo del seme ( Y ) è dominante sull'allele per il colore verde del seme ( y ). Supponiamo che un ibridatore di piante incroci tra loro due piante con semi gialli, ma non sappia se tali piante siano omozigoti o eterozigoti. Potete scrivere l'incrocio in questo modo: Y _ × Y _. Si lascia germinare e crescere la progenie dell'incrocio e poi se ne analizzano i semi: 74 discendenti producono semi gialli e 26 discendenti producono semi verdi. Sapendo che le piante con semi verdi sono recessive, yy , la risposta è ovvia: ciascun genitore ha fornito un allele y alla progenie con semi verdi, per cui i genotipi parentali devono essere Yy × Yy .

A volte è impossibile determinare, in base ai dati che si hanno a disposizione, se un individuo sia omozigote dominante oppure eterozigote. Ad esempio, supponiamo che un incrocio tra una pianta con semi gialli ed una pianta con semi verdi dia origine ad una progenie che produce solo semi gialli. In base alle informazioni sui genitori, potete scrivere l'incrocio in questo modo: Y _ × yy . Dal momento che la progenie ha semi gialli, il suo genotipo deve essere Yy poiché ciascun genitore fornisce un allele. (Avendo semi gialli, la progenie deve possedere almeno un allele Y , ma il genitore con semi verdi può fornire solo un allele y ). Perciò, l'incrocio è molto probabilmente YY × yy , ma non potete essere assolutamente certi del genotipo del genitore con semi gialli; la sua determinazione richiede ulteriori incroci.

Naturalmente, se esiste più di un modo di ottenere un risultato, le probabilità che esso sia raggiunto aumentano; perciò, combiniamo le probabilità di eventi mutuamente esclusivi sommando le loro singole probabilità. La probabilità di ottenere un figlio Bb nel nostro esempio è di conseguenza 1/4 + 1/4 = 1/2 . (Poiché c'è solo un modo in cui questi genitori eterozigoti possono pro- durre un figlio omozigote recessivo, bb , la probabilità è solo di 1 4 . La probabilità di avere un figlio omozigote dominante, BB , è allo stesso

modo 1 4 ).
Le regole della probabilità possono essere applicate ad una varietà di calcoli

Le regole della probabilità hanno ampia applicazione. Per esempio, quali sono le probabilità che una famiglia con due (e solo due) figli sia costituita da due femmine, due maschi, o una femmina e un maschio? Assumendo che la nascita di un maschio o di una femmina abbia la stessa probabilità di avvenire, la probabilità di avere per prima una figlia è 1 2 , e la probabilità di avere un'altra figlia per seconda è pure 1 2 . Questi sono eventi indipendenti, così combiniamo le loro probabilità moltiplicando: 1 2 × 1 2 = 1 4 . Allo stesso modo, la probabilità di avere due maschi è pure di 1 4 .
Nelle famiglie che hanno un maschio e una femmina può es- sere nata prima la femmina o il maschio. La probabilità che sia nata per prima una femmina è di 1 2 , e la probabilità che per secondo sia nato un maschio è pure di 1 2 . Utilizziamo la regola del prodotto per combinare le probabilità di questi due eventi indipendenti: 1 2 × 1 2 = 1 4 . Allo stesso modo, la probabilità che sia natoper primo un maschio e per seconda una femmina è ancora di 1 4 . Questi due risultati rappresentano eventi mutuamente esclusivi, cioè due diversi modi di ottenere famiglie con un maschio e una femmina. Avendo due diversi modi per raggiungere l'obiettivo desiderato, la probabilità aumenta, così che possiamo usare la regola della somma per combinare le probabilità: 1 4 + 1 4 = 1 2 .
Lavorando con le probabilità, è anche importante ricordare un aspetto che molti giocatori d'azzardo dimenticano. Si potrebbe dire che il caso "non ha memoria". Questo significa che, se un evento è davvero casuale, gli eventi passati non hanno nessuna influenza sulla probabilità che si verifichi un evento indipendente futuro. La probabilità ha solo un valore predittivo sul lungo periodo, considerando molte prove. (Ricordate che Mendel valutò centinaia di individui derivanti da ciascun incrocio e questa fu una delle ragioni del suo successo). Quando si svolgono problemi sulla probabilità, utilizzare il buonsenso è più importante che memorizzare ciecamente le regole. È bene analizzare i risultati per vedere se sono ragionevoli; se non lo sono, è bene rivedere le premesse. (Vedi *Approfondimenti : Come risolvere i problemi di genetica* per le procedure usate per risolvere i problemi di genetica, compresi quelli in cui si utilizzano le regole della probabilità).

**Verifica**

- Usate le regole della probabilità per rispondere alle domande seguenti: in un incrocio tra piante di pisello omozigoti con semi gialli e lisci ( YYRR ) e piante di pisello omozigoti con semi verdi e rugosi ( yyrr ), qual è la probabilità di avere una pianta in F 2 con semi gialli e lisci?
- Nel quesito precedente, avete usato la regola del prodotto o della somma? Perché?

## 11.3 EREDITARIETÀ E CROMOSOMI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Definire l'associazione ( linkage ) e metterlo in relazione con specifici eventi che si verificano in meiosi.
7. Mostrare in che modo i dati di un reincrocio che coinvolge alleli di due loci diversi possono essere utilizzati per distinguere tra assortimento indipendente e linkage.
8. Spiegare la determinazione genetica del sesso e l'ereditarietà dei geni associati al cromosoma X nei mammiferi.

Una misura della genialità di Mendel deriva dalla considerazione che egli intuì i principi della segregazione e dell'assortimento indipendente senza avere alcuna conoscenza della meiosi o della teoria cromosomica dell'ereditarietà. La teoria cromosomica dell'ereditarietà aiuta anche a spiegare alcune apparenti eccezioni all'eredità mendeliana, una delle quali riguarda i geni associati.

**I geni associati non assortiscono indipendentemente**

Le ricerche del genetista americano Thomas Morgan e dei suoi studenti, iniziate intorno al 1910, portarono ad estendere il concetto della teoria cromosomica dell'ereditarietà. L'organismo modello utilizzato da Morgan era il moscerino della frutta ( *Drosophila melanogaster* ). Proprio come il pisello da giardino rappresentava un organismo modello eccellente per gli studi di Mendel, il moscerino della frutta era perfetto per estendere le conoscenze generali sull'ereditarietà. I moscerini della frutta hanno cicli vitali brevi (appena 14 giorni) e le loro piccole dimensioni consentono di allevarne migliaia in un laboratorio di ricerca. Il gran numero di individui aumenta la probabilità di identificare mutanti. Inoltre, i moscerini della frutta hanno soltanto quattro coppie di cromosomi, una delle quali è una coppia di cromosomi sessuali. Mediante l'analisi accurata dei risultati ottenuti dagli incroci dei moscerini, Morgan e i suoi studenti

dimostrarono che i geni sono disposti in maniera lineare su ciascun cromosoma. Morgan mostrò anche che l'assortimento indipendente non è applicabile se due loci sono situati non distanti sulla stessa coppia di cromosomi omologhi. In Drosophila c'è un locus che controlla la forma delle ali: l'allele dominante V per le ali normali e l'allele recessivo v per le ali vestigiali. Un altro locus controlla il colore del corpo: l'allele dominante B per il grigio e l'allele recessivo b per il nero. Se un moscerino omozigote BBVV è incrociato con un moscerino omozigote bbvv , i moscerini della F 1 hanno tutti corpo grigio e ali normali e il loro genotipo è BbVv .
Dal momento che questi loci sono localizzati vicini tra loro sulla stessa coppia di cromosomi omologhi, i loro alleli non si combinano indipendentemente ma, al contrario, tendono ad essere ereditati insieme e si dice che sono geni associati . L' associazione ( linkage ) è la tendenza di un gruppo di geni localizzati sullo stesso cromosoma ad essere ereditati insieme nelle generazioni successive. L'associazione si osserva analizzando i risultati di un reincrocio tra moscerini F 1 eterozigoti ( BbVv ) e moscerini omozigoti recessivi ( bbvv ) ( FIG. 11-11 ). Dal momento che individui eterozigoti sono incrociati con individui omozigoti recessivi, questo reincrocio è simile al reincrocio precedentemente descritto. È chiamato reincrocio a due punti perché sono coinvolti gli alleli di due loci.

Se i loci che controllano queste caratteristiche fossero stati su differenti cromosomi (non associati), i genitori eterozigoti nel reincrocio avrebbero prodotto 4 tipi di gameti ( BV , bV , Bv , bv ) in egual numero. Come risultato di questo assortimento indipendente si sarebbero originati dei figli con una nuova combinazione genica non presente nella generazione parentale. Ogni processo che porta a nuove combinazioni alleliche si chiama ricombinazione genetica. Nel nostro esempio, Bv e bV sono detti gameti ricombinanti , mentre gli altri due tipi di gameti, BV e bv , sono chiamati gameti parentali , poiché sono identici ai gameti prodotti dalla generazione P.
Il genitore omozigote recessivo produce soltanto un tipo di gameti: bv . Di conseguenza, se l'assortimento indipendente dovesse avvenire nei moscerini della F 1 , approssimativamente 25% dei figli del reincrocio avrebbe corpo grigio e ali normali ( BbVv ), 25% corpo nero e ali normali ( bbVv ), 25% corpo grigio e ali vestigiali ( Bbvv ) e 25% corpo nero e ali vestigiali ( bbvv ). Bisogna notare che il reincrocio a due punti ci permette di determinare i genotipi dei figli dall'osservazione diretta dei loro fenotipi.

**ESPERIMENTO CHIAVE**
*PORSI DOMANDE CRITICHE*: Come si può riconoscere l'associazione nei moscerini della frutta?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: L'associazione si può riconoscere quando in un reincrocio a due punti sono prodotti discendenti di tipo parentale in eccesso e discendenti di tipo ricombinante in difetto.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Moscerini della frutta grigi con ali normali (BbVv) sono incrociati con moscerini neri con ali vestigiali (bbvv). Se gli alleli per il colore del corpo e per la forma delle ali non sono associati (ovvero assortiscono in modo indipendente), la progenie sarà costituita da un egual numero di ciascuno dei quattro fenotipi (penultima riga).
RISULTATIE CONCLUSIONI: Dei 2300 discendenti ( riga inferiore ) di un incrocio reale, circa 1909 appartengono a ciascuna delle due classi parentali (83% del totale) e 391 a ciascuna delle due classi ricombinanti (17% del totale). Pertanto, i loci per la lunghezza delle ali e per il colore del corpo sono associati su una coppia di cromosomi omologhi.

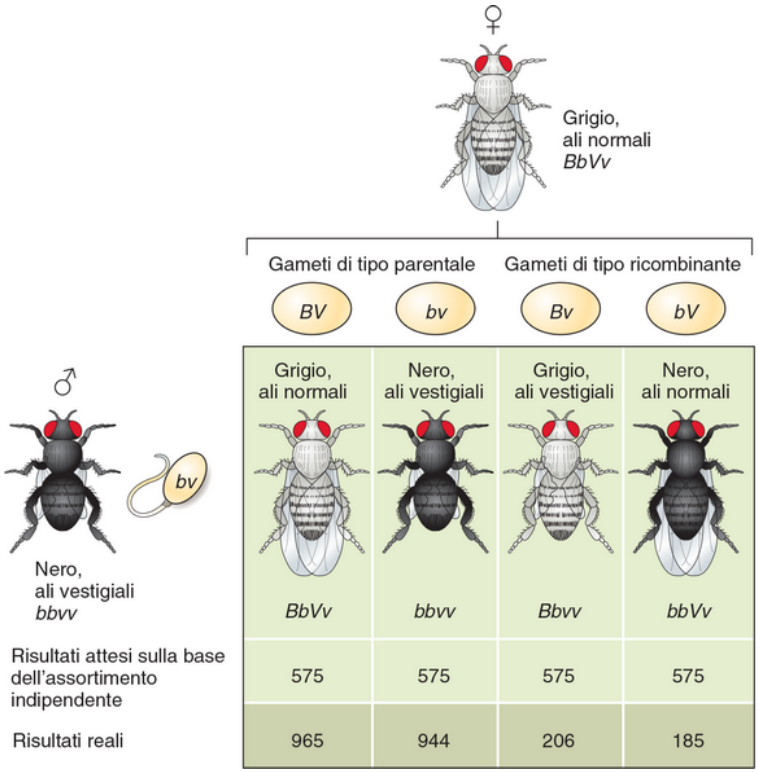
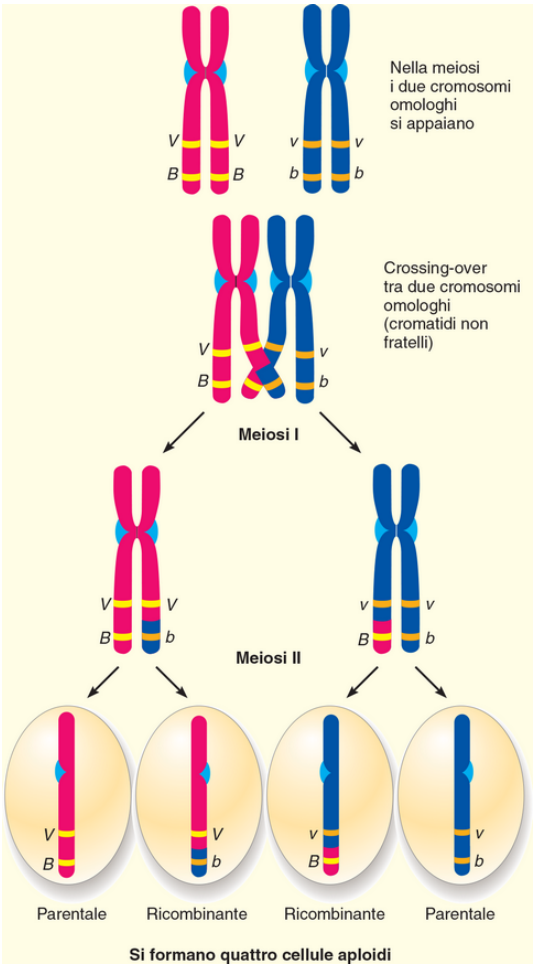



FIGURA 11-11
Un reincrocio a due punti per rivelare l'associazione nei moscerini della frutta

I loci nel nostro esempio, però, si comportano in modo differente perché sono associati. Gli alleli di loci differenti vicini tra loro su un dato cromosoma tendono ad essere ereditati insieme perché durante la meiosi cromosomi si appaiano e si separano come unità e, di conseguenza, gli alleli di loci diversi su un dato cromosoma tendono ad essere ereditati come unità. Se l'associazione fosse completa, verrebbero prodotti

solo moscerini del tipo parentale, 50% con corpo grigio e ali normali ( BbVv ) e 50% con corpo nero e ali vestigiali ( bbvv ).
Invece, nel nostro esempio la progenie comprende anche alcuni moscerini con corpo grigio e ali vestigiali ed altri con corpo nero e ali normali. Questi animali sono ricombinanti avendo ricevuto un gamete ricombinante dal genitore eterozigote della F 1 . Ciascun gamete ricombinante ha origine da un crossing-over tra questi loci nella cellula in meiosi di una femmina eterozigote. (La Drosophila è atipica per il fatto che il crossing-over si verifica solo nelle femmine. Nelle altre specie è molto più comune che il crossing-over avvenga in entrambi i sessi.) Quando i cromosomi si appaiano, il crossingover avviene con lo scambio, tra cromatidi omologhi (non fratelli), di materiale cromosomico, attraverso un processo di rottura e di riunione catalizzato da enzimi ( FIG. 11-12 ). Vedi anche la discussione della profase I al Capitolo 10 , Paragrafo 10.4.

## L'ordine lineare dei geni associati su un cromosoma si determina calcolando la frequenza del crossing-over




Nel nostro esempio (vedi Fig. 11-11 ), 391 figli sono di tipo ricombinante: moscerini grigi con ali vestigiali, Bbvv (206 del totale), e moscerini neri con ali normali, bbVv (185 del totale). I restanti 1909 sono di tipo parentale. Questi dati possono essere usati per calcolare la percentuale di crossing-over tra i loci ( TABELLA 11-3 ). Questa si ottiene addizionando il numero di individui delle due classi di figli ricombinanti (206 + 185), dividendo per il numero totale di figli (965 + 944 + 206 + 185), e moltiplicando per 100: 391 ÷ 2300 = 0,17; 0,17 × 100 = 17%. Di conseguenza, il locus V ed il locus B hanno, tra loro, il 17% di ricombinazione.
Durante una singola divisione meiotica possono verificarsi molti scambi in differenti punti lungo ciascun paio di cromosomi omologhi. In generale, un crossing-over avviene più frequentemente tra due loci se questi sono molto distanti sul cromosoma, mentre è più raro se sono molto vicini. Dal momento che esiste questa relazione grossolana tra la frequenza di ricombinazione tra due loci e la loro distanza lineare, si può costruire una mappa genetica del cromosoma convertendo la percentuale di ricombinazione in unità di mappa . Per convenzione, l'1% di ricombinazione tra due loci equivale alla distanza di una unità di mappa, cosicché i loci nel nostro esempio distano 17 unità di mappa.

**PUNTO CHIAVE** Lo scambio di segmenti tra cromatidi di cromosomi omologhi permette la ricombinazione di geni associati.

FIGURA 11-12 Il crossing-over
I geni che occupano loci distanti su un cromosoma hanno maggiori probabilità di essere separati da un crossing-over rispetto a quelli che si trovano in loci vicini.

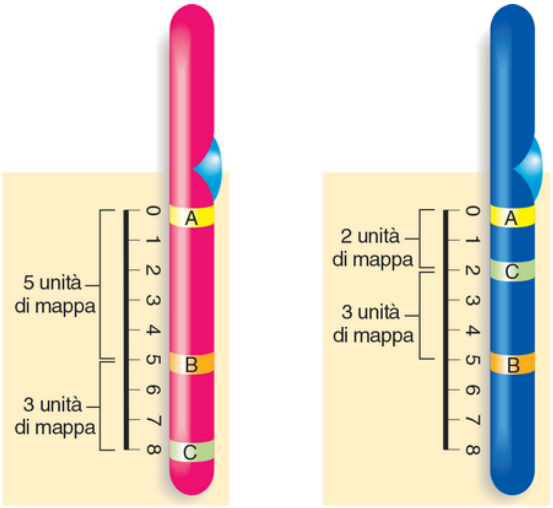
TABELLA 11-3 Come si determina la frequenza di ricombinazione con un reincrocio a due punti

| | Risultati del reincrocio (dalla Fig. 11-11) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Tipo di progenie | Parentale | | Ricombinante | |
| Fenotipo | Grigio, ali normali | Nero, ali vestigiali | Grigio, ali vestigiali | Nero, ali normali |
| Genotipo | *BbVv* | *bbvv* | *Bbvv* | *bbVv* |
| Numero di discendenti | 965 | 944 | 206 | 185 |
| Calcolo della frequenza di ricombinazione | 1. Numero di discendenti di tipo parentale = 1909<br>2. Numero di discendenti di tipo ricombinante = 391<br>3. Numero totale di discendenti = 1909 + 391 = 2300<br>4. Frequenza di ricombinazione = 391/2300 × 100 = 17% | | | |

Le frequenze di ricombinazione tra specifici loci associati sono state determinate in molte specie. Tutti i risultati sperimentali sono in accordo con l'ipotesi che i geni sono presenti in ordine lineare sui cromosomi. La FIGURA 11-13 illustra il metodo tradizionale per determinare l'ordine dei geni su un cromosoma.

Mettendo insieme i risultati di molti incroci, gli scienziati hanno sviluppato mappe di associazione dettagliate per un buon numero di eucarioti, come la *Drosophila*, il topo, il lievito, la *Neurospora* (un

fungo) e molte piante, specialmente quelle da raccolto. In più, particolari metodi genetici hanno reso possibile la costruzione di una mappa dettagliata di *Escherichia coli*, un batterio con una singola molecola circolare di DNA, e per un certo numero di altri procarioti e virus. Mappe cromosomiche molto più sofisticate sono state ottenute attraverso la tecnologia del DNA ricombinante (discusso nel Capitolo 15 ). Questi metodi sono stati particolarmente utili nel produrre mappe dei cromosomi umani attraverso il *Progetto Genoma Umano* (discusso nel Capitolo 16).




**(a)** Se la percentuale di ricombinazione tra *A* e *C* è dell'8% (8 unità di mappa), *B* deve necessariamente essere localizzato tra *A* e *C*.

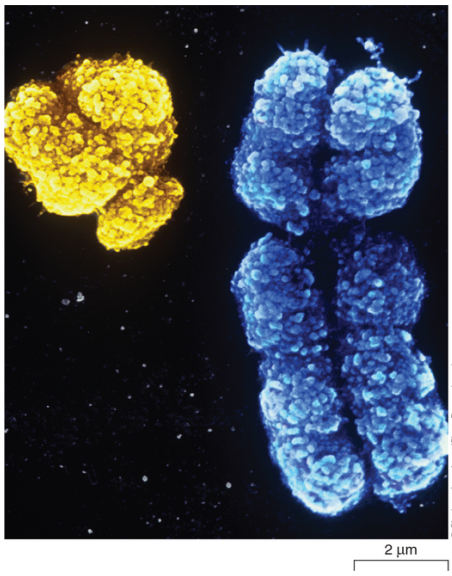
**(b)** Se la percentuale di ricombinazione tra *A* e *C* è del 2%, allora *C* deve essere tra *A* e *B*.

←FIGURA 11-13 *Mappatura genica*
L'ordine dei geni (ovvero quale locus è posizionato tra gli altri due) è dedotto dalla percentuale di ricombinazione tra ogni possibile coppia. In questo ipotetico esempio, la percentuale di ricombinazione tra A e B è del 5% (corrispondente a 5 unità di mappa) e tra B e C è del 3% (3 unità di mappa). Vi sono due alternative per l'ordine lineare di questi alleli.

## Il sesso è di norma determinato dai cromosomi sessuali

Benché in alcune specie il sesso sia maggiormente controllato dall'ambiente, nella maggior parte degli organismi eucarioti i geni rappresentano i principali determinanti del sesso. In mammiferi, uccelli e molti insetti, i geni del sesso sono localizzati sui cromosomi sessuali . In genere, uno dei due sessi possiede due cromosomi sessuali dello stesso tipo e produce gameti tra loro identici per quanto concerne i cromosomi sessuali. L'altro sesso possiede due cromosomi sessuali differenti e produce due classi di gameti, ciascuna delle quali porta un solo tipo di cromosoma sessuale.
Le cellule delle femmine dei mammiferi (compresa la specie umana) hanno due cromosomi sessuali uguali chiamati cromosomi X . I maschi, al contrario, hanno un unico cromosoma X e un cromosoma Y più piccolo che presenta un numero limitato di geni ( FIG. 11-14 ). Ad esempio, nella specie umana, gli individui di sesso femminile hanno 22 paia di autosomi , che sono tutti i cromosomi non sessuali, più un paio di cromosomi X; gli individui di sesso maschile hanno 22 paia di autosomi più un cromosoma X ed un cromosoma Y. I gatti domestici hanno 19 coppie di auto somi, ai quali si aggiunge una coppia di X nelle femmine, e un X e un Y nei maschi. Al contrario, in animali diversi dai mammiferi la determinazione del sesso è basata su diversi sistemi cromosomici ( TABELLA 11-4 ).

FIGURA 11-14 *Immagine al microscopio elettronico a scansione (MES) del cromosoma Y (a sinistra) e del cromosoma X (a destra) umani*
Ciascun cromosoma è nello stato duplicato ed è formato da due cromatidi fratelli.




### Il cromosoma Y determina il sesso maschile nella maggior parte dei mammiferi

Nella specie umana, gli individui di sesso maschile hanno il fenotipo maschile perché possiedono un solo cromosoma X o perché hanno un cromosoma Y? Lo studio di individui che presentano anomalie a carico dei cromosomi sessuali (vedi discussione nel Capitolo 16 ) fornisce molte indicazioni che ci permettono di rispondere a questa domanda. Un soggetto XXY è un individuo con un aspetto esteriore maschile, ma presenta gonadi iposviluppate (sindrome di Klinefelter). Un soggetto con un unico cromosoma X, ma senza cromosoma Y, ha le sembianze di un individuo di sesso femminile scarsamente sviluppato (sindrome di Turner). Un embrione con una Y, ma senza X, non sopravvive. Basandosi su questa ed altre osservazioni, i biologi conclusero che tutti gli individui richiedono almeno un X, mentre l' Y è il cromosoma che determina il sesso maschile.
Infatti, molti geni coinvolti nella determinazione del sesso maschile sono stati identificati sull' Y. Sul cromosoma Y, il maggiore gene deputato alla determinazione del sesso (SRY) funziona come un "interruttore genetico", che causa nel feto lo sviluppo dei testicoli. I testicoli in sviluppo, quindi, secernono testosterone , che a sua volta induce lo sviluppo di altre caratteristiche maschili. Sull' Y, altri geni svolgono un ruolo nella determinazione del sesso, come molti geni sul cromosoma X (il che spiega perché un individuo XXY non possiede un fenotipo maschile normale). Anche alcuni geni localizzati sugli autosomi influenzano lo sviluppo sessuale.
Alcune osservazioni suggeriscono che i cromosomi X e Y si siano originati come una coppia di autosomi omologhi. Nel corso dell'evoluzione di tali cromosomi, quasi tutti i geni funzionali originari sono stati

conservati sul cromosoma X e persi dal cromosoma Y. Oggi, circa il 95% del cromosoma Y è specifico per il sesso maschile. Alternativamente, il cromosoma Y ha conservato certi geni che codificavano proteine coinvolte nella determinazione del sesso maschile, oppure potrebbero essere avvenute mutazioni nei geni esistenti sul cromosoma Y che hanno fatto sì che esso diventasse il cromosoma che determina il sesso maschile.
Perciò, i cromosomi X e Y attualmente non sono veri omologhi, cioè non sono simili in dimensione, forma e costituzione genica; tuttavia, il cromosoma Y presenta brevi regioni di omologia, le "regioni di appaiamento" alle sue estremità che gli permettono di appaiarsi e scambiare materiale genetico con il cromosoma X durante la meiosi.
Metà degli spermatozoi contiene un cromosoma X e metà un cromosoma Y. Tutte le uova normali portano un singolo cromosoma X. La fecondazione di un uovo che porta un X con uno spermatozoo che porta un X produce uno zigote XX (femmina); la fecondazione con uno spermatozoo che porta un Y produce uno zigote XY (maschio).

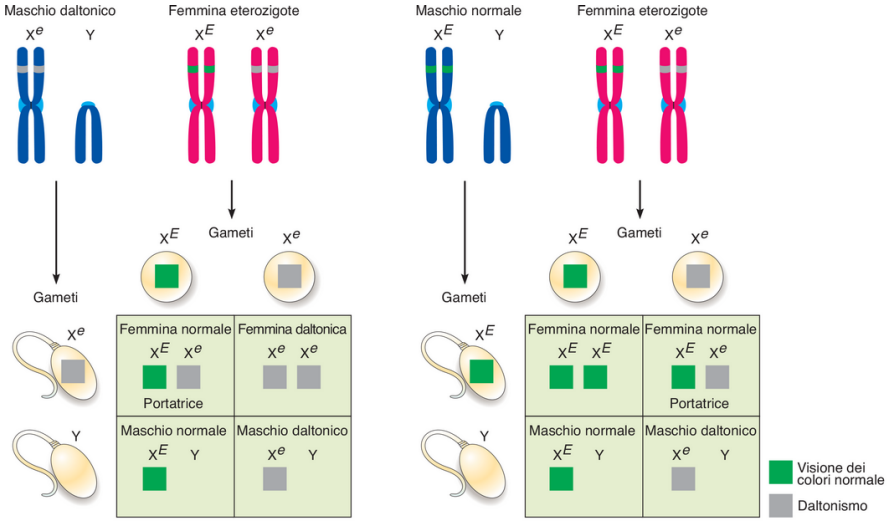
| **Sistema X-Y**<br>Mammiferi, uomo incluso | **Sistema X-O**<br>Alcuni insetti | **Sistema Z-W**<br>Uccelli, pesci e alcuni insetti | **Sistema aplo-diploide**<br>Api e formiche |
|---|---|---|---|
| | | | |
| **Maschio XY**<br>Si verifica quando lo spermatozoo contiene il cromosoma Y | **Maschio XO**<br>Si verifica quando lo spermatozoo non contiene cromosomi del sesso | **Maschio ZW**<br>Si verifica quando la cellula uovo contiene un cromosoma W | **Maschio aploide**<br>Non ci sono cromosomi del sesso; il maschio si sviluppa da cellule non fecondate |
| **Femmina XX**<br>Si verifica quando lo spermatozoo contiene il cromosoma X | **Femmina XX**<br>Si verifica quando lo spermatozoo contiene il cromosoma X | **Femmina ZZ**<br>Si verifica quando lo spermatozoo contiene un cromosoma Z | **Femmina diploide**<br>Non ci sono cromosomi del sesso; la femmina si sviluppa da cellule non fecondate |

TABELLA 11-4 Esempi rappresentativi di meccanismi di determinazione del sesso negli animali

Teoricamente, ci dovremmo attendere un egual numero di spermatozoi X ed Y e di conseguenza un rapporto 1:1 tra maschi e femmine. In effetti, vengono concepiti più maschi che femmine, e un numero maggiore di maschi muore prima della nascita. Anche alla nascita, il rapporto si discosta da quello teorico di 1:1; ogni 100 bambine, infatti, nascono circa 106 bambini. Lo spermatozoo portatore del cromosoma Y sembra avere qualche vantaggio competitivo, forse perché esso è più piccolo e ha una massa minore rispetto allo spermatozoo portatore del cromosoma X; viene ipotizzato che, in media, lo spermatozoo portatore del cromosoma Y possa muoversi un poco più velocemente rispetto allo spermatozoo che porta il cromosoma X per raggiungere la cellula uovo.

### I geni associati al cromosoma X (X-linked) sono ereditati in modo particolare

Nell'uomo, molti loci presenti sul cromosoma X sono richiesti in entrambi i sessi. I geni situati sul cromosoma X, come quelli responsabili della percezione dei colori e della coagulazione del sangue, sono di solito definiti *geni legati al sesso*. È tuttavia più appropriato riferirsi a questi come a geni associati al cromosoma X , o X-linked , perché seguono la linea di trasmissione del cromosoma X, ma non sono di per sé legati al sesso dell'organismo.
Una femmina riceve un cromosoma X dalla madre ed un cromosoma X dal padre. Un maschio riceve il cromosoma Y, che determina la mascolinità, dal padre ed eredita dalla madre un singolo cromosoma X con tutti i geni ad esso legati. Nel maschio, ogni allele presente sul cromosoma X, dominante o recessivo che sia, viene dunque espresso. Un maschio non è né omozigote né eterozigote per i caratteri legati al cromosoma X, si trova invece sempre in condizione di emizigosi – cioè ha solo una copia di ogni gene legato al cromosoma X. Il significato dell'emizigosi nei maschi, compresi gli uomini maschi, è che rari geni legati al cromosoma X recessivi sono comunque espressi, aumentando così nei maschi la probabilità di essere affetti da numerose malattie genetiche associate al cromosoma X. Solo pochi geni sono, invece, localizzati esclusivamente sul cromosoma Y. I cromosomi X e Y presentano anche brevi regioni a livello delle quali portano gli stessi geni, consentendo a questi due cromosomi di appaiarsi durante la meiosi I.
Useremo un sistema semplice di notazione per i problemi che riguardano i geni associati all'X, indicando gli alleli associati all'X come apici della X stessa; per esempio, il simbolo $X^e$ indica un allele recessivo associato all'X per la cecità ai colori (daltonismo) e $X^E$ l'allele dominante associato all'X responsabile della normale visione dei colori. Il cromosoma Y è scritto senza apice perché non porta il locus di interesse. Nella femmina devono essere presenti due alleli recessivi associati all'X perché il fenotipo anomalo venga espresso ($X^e X^e$ ), mentre nel maschio emizigote un singolo allele recessivo ($X^e Y$) determina il fenotipo anomalo. Come conseguenza pratica, questi alleli anormali sono di solito espressi nei figli maschi, mentre una femmina eterozigote può essere una portatrice, cioè un individuo che possiede una sola copia dell'allele recessivo mutato, ma che non lo esprime nel fenotipo (ad esempio, $X^E X^e$ ).




(a) Una femmina, per essere daltonica, deve aver ereditato gli alleli per la cecità ai colori da entrambi i genitori.

(b) Da una coppia formata da maschio normale e una femmina portatrice (eterozigote), ci si aspetta che metà dei figli maschi sia daltonica e metà delle figlie femmine sia portatrice.

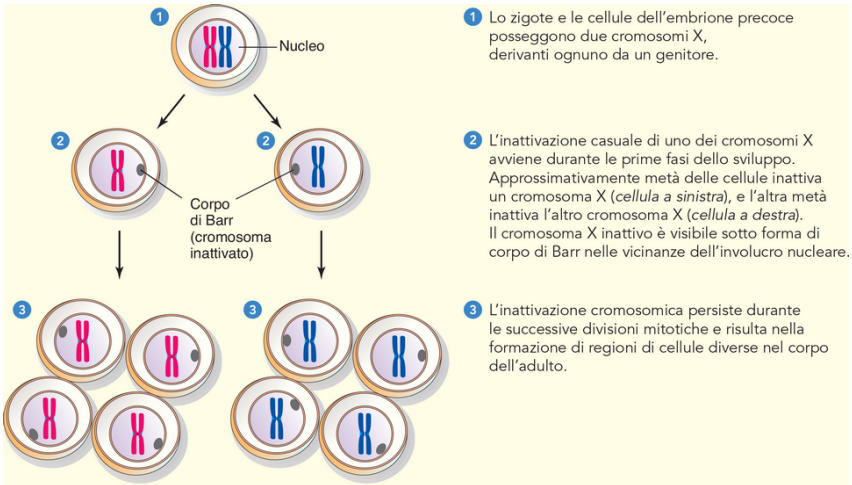
FIGURA 11-15
*Cecità ai colori rosso-verde legata all'X*
È importante notare che il cromosoma Y non porta geni per la visione dei colori.

Per essere espresso in una femmina, un allele recessivo associato all'X deve essere ereditato da entrambi i genitori. Una femmina daltonica, per esempio, deve avere un padre daltonico e una madre che è omozigote od eterozigote per l'allele recessivo associato alla cecità ai colori ( FIG. 11-15 ). La combinazione omozigote è rara, in quanto la frequenza dell'allele per la cecità ai colori è relativamente bassa. Invece, un maschio daltonico deve avere solamente una madre eterozigote per la cecità ai colori, mentre il padre può essere normale. Quindi, i caratteri recessivi legati al cromosoma X si esprimono in genere più frequentemente nei maschi rispetto alle femmine e ciò può parzialmente spiegare la maggiore mortalità prenatale degli embrioni di sesso maschile.

## La compensazione del dosaggio rende equivalente l'espressione dei geni legati al cromosoma X nei maschi e nelle femmine

Il cromosoma X possiede numerosi geni necessari ad entrambi i sessi, ma una femmina normale ne ha due copie ("dosi") per ogni locus, mentre un maschio normale ne possiede una sola. Un meccanismo, detto compensazione del dosaggio , rende equivalenti le due dosi della femmina e la singola del maschio. Grazie alla compensazione del dosaggio, i maschi e le femmine producono la stessa quantità di proteine prodotte dai geni associati al cromosoma X. Nei moscerini della frutta, il maschio realizza tale compensazione incrementando l'attività del suo singolo cromosoma X. Nella maggior parte dei tessuti, quindi, il cromosoma X del maschio è attivo esattamente quanto i due cromosomi nella femmina.

**PUNTO CHIAVE** Nelle femmine di mammifero, uno dei due cromosomi X viene inattivato a caso durante le fasi precoci dello sviluppo, in modo da rendere equivalente il livello di espressione genica dei loci localizzati sul cromosoma X nei maschi e nelle femmine.




(a) Inattivazione di uno dei cromosomi X nelle cellule femminili.

Eunice Percy/Animals Animals

(b) Gatta persiano calico. Una gatta calico presenta geni associati al cromosoma X sia per il pigmento nero che giallo (o arancio) del pelo. Poiché l'inattivazione del cromosoma X si verifica casualmente, il gene per il pigmento nero si esprime in alcuni cloni di cellule, quello per il giallo (o arancio) in altri. (Le chiazze bianche sono dovute alla presenza di altri geni che controllano il colore del pelo).

FIGURA 11-16
*La compensazione del dosaggio nelle femmine dei mammiferi*

La nostra comprensione della compensazione del dosaggio nell'uomo e in altri mammiferi è parziale, ma è noto che il processo implica generalmente l'inattivazione di uno dei due cromosomi X nella femmina ( FIG. 11-16 a). Durante l'interfase, sotto la superficie del nucleo di ogni cellula di mammifero femmina è visibile una macchia scura di cromatina. Questa macchia scura, il corpo di Barr , rappresenta uno dei due cromosomi X condensato e metabolicamente inattivo; durante l'interfase, l'altro cromosoma X è completamente despiralizzato e filamentoso come gli autosomi e non visibile al microscopio ottico. Basandosi su numerose prove sperimentali, nel 1961 la genetista inglese Mary Lyon ha suggerito che in ogni cellula di una femmina di

mammifero solo uno dei due cromosomi X è attivo, mentre l'altro è inattivo e visibile sotto forma di corpo di Barr (in realtà l'inattivazione del cromosoma X non è mai completa; circa il 25% dei geni siti sul cromosoma inattivo presenta un certo grado di espressione).

L'inattivazione dell'X è un evento casuale in ciascuna cellula somatica dell'embrione di sesso femminile. Una femmina di mammifero eterozigote per un locus legato al cromosoma X esprime, quindi, uno solo degli alleli in circa la metà delle cellule e l'altro allele nell'altra metà. L'inattivazione del cromosoma X può risultare evidente nel fenotipo. Topi e gatti hanno parecchi geni associati al cromosoma X che codificano per i colori del mantello. Le femmine eterozigoti per tali geni possono presentare nel mantello chiazze di un colore in mezzo ad aree di colore diverso. Tale fenomeno, chiamato variegazione , è evidente nei gatti calico ( FIG. 11-16 b) e in quelli color tartaruga. Nelle fasi iniziali dello sviluppo, quando sono presenti relativamente poche cellule, in ognuna di esse e in modo casuale avviene l'inattivazione di un cromosoma X. L'inattivazione dell'X è poi mantenuta durante tutte le successive divisioni di quella linea cellulare. Quando esse si dividono per mitosi, il clone (gruppo di cellule geneticamente identiche) che ne risulta presenterà il medesimo cromosoma X attivo, dando luogo ad una popolazione di cellule che esprimeranno tutte lo stesso colore.
Ci si potrebbe chiedere il motivo per cui la variegazione non è sempre evidente nelle femmine eterozigoti per loci associati al cromosoma X. La risposta è che, sebbene la variegazione avvenga sempre, dobbiamo usare tecniche speciali per metterla in evidenza. Per esempio, la cecità ai colori è dovuta ad alterazioni dei pigmenti nei coni che costituiscono la retina. In almeno un tipo di cecità al rosso-verde, la retina di una femmina eterozigote ha realmente delle chiazze di coni anomali, ma le chiazze di coni normali sono sufficienti per consentire una normale visione dei colori. Può essere difficile osservare la variegazione nel caso che i prodotti cellulari si mescolino nei fluidi corporei. Per esempio, nelle femmine eterozigoti per l'emofilia, benché solo la metà delle cellule responsabili della produzione di uno specifico fattore di coagulazione lo sintetizzino, questa quantità è sufficiente per assicurare una normale coagulazione del sangue.

**Verifica**

- Cosa sono i geni associati?
- In che modo i genetisti riescono a rilevare l'associazione mediante un reincrocio a due punti?
- Qual è il cromosoma che determina il sesso maschile nell'uomo e nella maggior parte dei mammiferi?
- Che cos'è la compensazione del dosaggio e che cosa determina generalmente nei mammiferi?

## 11.4 ESTENSIONI DELLA GENETICA MENDELIANA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

9. Illustrare alcuni modi in cui i geni possono interagire tra loro per influenzare il fenotipo; giustificare come sia possibile che un singolo gene influenzi simultaneamente diversi caratteri dell'organismo.
10. Fare una distinzione tra dominanza incompleta, codominanza, allelia multipla, epistasi ed eredità poligenica.
11. Descrivere la norma di reazione e fornire un esempio specifico.

La relazione tra un dato locus e il carattere che esso controlla può essere semplice: una singola coppia di alleli di un locus genico può regolare la manifestazione fenotipica di un singolo carattere dell'organismo (per esempio, stelo lungo o stelo corto nelle piante di pisello). Tale relazione può essere anche più complessa: una singola coppia di alleli può partecipare all'espressione di più caratteri, oppure alleli presenti in più loci possono cooperare nel regolare la comparsa di un singolo carattere. Non deve sorprendere che queste relazioni più complesse siano piuttosto comuni.

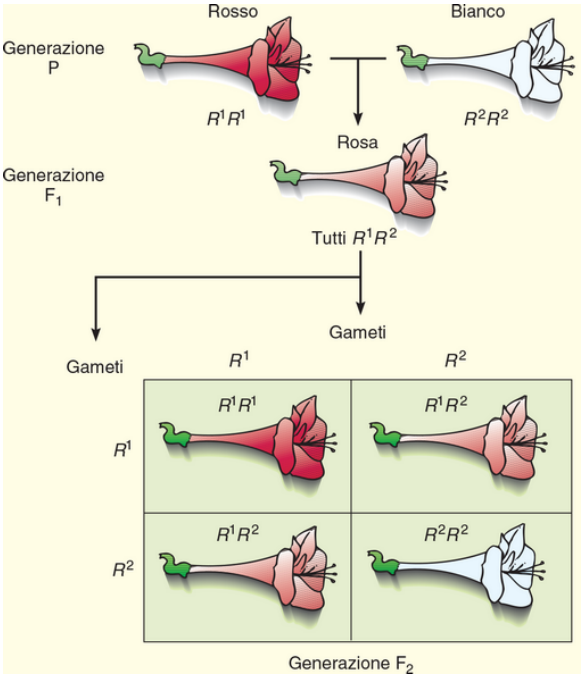
Possiamo valutare il fenotipo a livelli diversi: può essere una caratteristica morfologica, come la forma, la dimensione o il colore, oppure una caratteristica fisiologica o perfino biochimica, come la presenza o l'assenza di un enzima specifico richiesto per il metabolismo di una particolare molecola. L'espressione fenotipica dei geni può, inoltre, essere modificata da variazioni che si verificano nell'ambiente in cui l'organismo si sviluppa.

### La dominanza non sempre è completa

Gli studi sull'ereditarietà di molti caratteri, effettuati in un'ampia varietà di organismi, hanno chiaramente mostrato che uno degli alleli di una coppia può non essere completamente dominante sull'altro: pertanto, in questi casi l'uso dei termini *dominante* e *recessivo* è improprio.

Per esempio, la “bella di notte” ( *Mirabilis jalapa* ) è una pianta che comunemente si presenta con fiori rossi oppure con fiori bianchi; tali piante, autofecondate, si rivelano appartenenti a linee pure. Nella discendenza di un incrocio tra piante a fiori rossi e piante a fiori bianchi, quale colore del fiore possiamo aspettarci? Se non sappiamo quale allele è dominante, possiamo solo presumere che i discendenti siano tutti a fiori rossi oppure tutti a fiori bianchi. Questo tipo di incrocio fu effettuato per la prima volta dal botanico tedesco Karl Correns (uno degli studiosi che riscoprirono le leggi di Mendel), il quale trovò che tutti i discendenti di prima generazione (F 1 ) presentavano fiori di colore rosa!

Questo risultato poteva provare che i principi dell’ereditarietà dedotti da Mendel fossero errati? Le caratteristiche dei genitori si erano mescolate? Proprio il contrario: incrociando due di queste piante a fiori rosa, i discendenti apparivano a fiori rossi, a fiori rosa e a fiori bianchi in un rapporto di 1:2:1 ( FIG. 11-17 ). In questo caso, come spesso accade in campo scientifico, i risultati diversi dalle aspettative portarono i ricercatori a riesaminare e modificare le proprie supposizioni per comprendere il dato sperimentale inaspettato. Le piante a fiori rosa sono chiaramente individui eterozigoti e né l’allele rosso né l’allele bianco sono completamente dominanti l’uno rispetto all’altro. Quando un eterozigote manifesta un fenotipo intermedio rispetto a quelli espressi dai genitori, significa che i geni per quel dato carattere esprimono una dominanza incompleta . In questi incroci, i rapporti tra i genotipi e i fenotipi sono identici.




**PUNTO CHIAVE** Quando c’è dominanza incompleta tra due alleli, un eterozigote F 1 ha un fenotipo intermedio tra i due parentali.

FIGURA 11-17 *Dominanza incompleta nella bella di notte*
I due alleli a dominanza incompleta, R 1 e R 2 , sono responsabili del colore rosso, bianco e rosa dei flori della bella di notte. Le piante a fiori rossi sono R 1 R 1 , quelle a fiori bianchi sono R 2 R 2 , mentre quelle eterozigoti R 1 R 2 hanno fiori rosa. La nota all’apice è utilizzata per entrambe le forme alleliche, in quanto nessuna è recessiva rispetto all’altro.

La dominanza incompleta non si esprime solamente nella bella di notte; molti altri esempi di dominanza incompleta si riscontrano sia nelle piante che negli animali. Ad esempio, polli bianchi e polli neri danno progenie blu-grigia (polli andalusi) quando incrociati.
Nei bovini e nei cavalli, il colore rossiccio del mantello non è completamente dominante sul colore bianco; gli individui eterozigoti hanno il mantello roano, cioè con peli rossicci e peli bianchi. Se una cavalla a pelo bianco partorisse un puledro roano, di che colore potrebbe essere il mantello del padre del puledro? Poiché i colori rossiccio e bianco si esprimono indipendentemente (pelo per pelo) nell’eterozigote roano, si tratta di un caso di codominanza. Riassumendo, quindi, la *dominanza incompleta* si ha nei casi in cui l’eterozigote mostra un fenotipo intermedio, e la *codominanza* in quelli in cui l’eterozigote mostra il fenotipo di entrambi gli omozigoti.

TABELLA 11-5 I gruppi sanguigni ABO

| Fenotipi (gruppo sanguigno) | Genotipo | Antigeni di superficie sui GR | Anticorpi nel siero contro antigeni A o B |
|---|---|---|---|
| A | $I^AI^A$, $I^Ai$ | A | Anti-B |
| B | $I^BI^B$, $I^Bi$ | B | Anti-A |
| AB | $I^AI^B$ | A, B | Nessuno |
| O | $ii$ | Nessuno | Anti-A, anti-B |

La tabella e la discussione del sistema ABO sono stati alquanto semplificate. Notare che gli individui producono anticorpi contro gli antigeni assenti sui loro globuli rossi (GR). Data la specificità per i corrispondenti antigeni, questi anticorpi vengono utilizzati nei saggi per determinare i gruppi.

La specie umana presenta quattro gruppi sanguigni (A, B, AB e O), a cui si fa riferimento come ai gruppi sanguigni ABO . Questo è un tipico esempio di alleli codominanti. I gruppi sanguigni O, A, B e AB sono controllati da tre alleli di un singolo locus ( TABELLA 11-5 ). L’allele $I^A$ codifica per la sintesi di una specifica glicoproteina, l’antigene A, espressa sulla superficie dei globuli rossi (l’immunità verrà discussa nel Capitolo 45 ). Gli antigeni sono sostanze in grado di stimolare la risposta immunitaria. L’allele $I^B$ porta alla produzione di una glicoproteina differente, ma correlata, l’antigene B. L’allele *i* non codifica per nessun antigene.
Gli individui con genotipo $I^A I^A$ o $I^A i$ hanno il gruppo sanguigno A; quelli con genotipo $I^B I^B$ o $I^B i$ il gruppo B; quelli con genotipo $I^A I^B$ il gruppo AB, e quelli con genotipo $ii$ il gruppo O. Questi risultati dimostrano che

gli alleli $I^A$ e $I^B$ non sono dominanti l'uno rispetto all'altro; sono entrambi espressi fenotipicamente nell'eterozigote e di conseguenza sono codominanti, ma entrambi sono dominanti rispetto all'allele i .
La determinazione dei gruppi sanguigni è stata uno dei metodi tradizionali utilizzati per risolvere le dispute nei casi di attribuzione di paternità. Sebbene in alcuni casi questo test permetta l'esclusione di paternità, in nessun modo il test può provare con certezza che una determinata persona sia il padre biologico di un bambino; il risultato può solo indicare che quella persona potrebbe esserlo. Può un uomo con gruppo sanguigno AB essere il padre di un bambino con gruppo O? Una donna con gruppo O può essere la madre di un bambino con gruppo AB? Può un bambino con gruppo B, con una mamma di gruppo A, avere un padre di gruppo A o O?[3] [3 La risposta a tutte queste domande è no.]

## In una popolazione possono essere presenti alleli multipli per un solo locus genico

Molti degli esempi citati si riferiscono a situazioni in cui ciascun gene è rappresentato da un massimo di due varianti alleliche (tre nel caso dei gruppi sanguigni). È vero che un singolo individuo diploide può avere solo due alleli per un particolare locus e che i gameti aploidi portano solo un allele per ogni locus; tuttavia, se osserviamo una popolazione, possiamo trovare più di due alleli per un unico locus genico, come nel caso dei gruppi sanguigni ABO (vedi Tabella 11-5 ). Se nella popolazione esistono tre o più alleli per un dato locus, allora quel locus ha alleli multipli .
Alcuni alleli non producono fenotipi distinguibili e possono essere identificabili solo biochimicamente, altri sono identificabili in base ad un fenotipo definito e i reali rapporti di dominanza e recessività si manifestano solo quando gli alleli si trovano in diverse combinazioni tra loro. In altre serie di alleli multipli, alcuni possono essere codominanti, altri possono presentare dominanza incompleta, cosicché gli eterozigoti mostrano un fenotipo intermedio rispetto a quello dei genitori.

## Un singolo gene può influenzare diversi aspetti del fenotipo

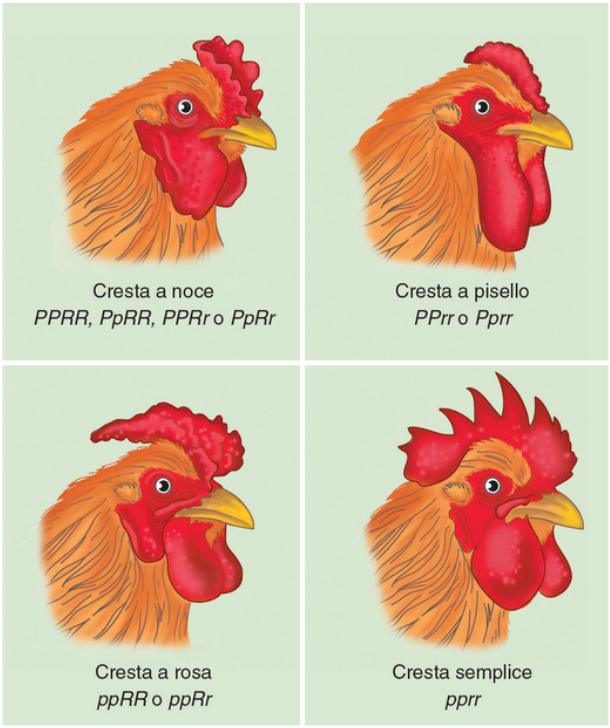
Negli esempi precedenti, la relazione tra un gene e il suo fenotipo era diretta, precisa e rigorosa, e i loci presi in esame controllavano la comparsa di singoli caratteri. Tuttavia, la relazione tra gene e carattere può essere più complessa. La maggior parte dei geni, probabilmente, può avere più di un effetto fenotipico distinto e tale proprietà è definita pleiotropia . La maggior parte dei casi di pleiotropia può essere ricondotta ad una singola causa fondamentale. Ad esempio, un enzima difettivo può influenzare il funzionamento di molti tipi di cellule. La pleiotropia è particolarmente evidente in molte malattie genetiche, in cui sintomi diversi possono essere causati da una singola coppia di alleli. Per esempio, gli individui omozigoti per l'allele recessivo che causa la fibrosi cistica producono enormi quantità di muco viscoso in molte parti del corpo, inclusi il tratto respiratorio e i sistemi digerente e riproduttivo (la fibrosi cistica è discussa nel Capitolo 16 ).

## Alleli di loci differenti possono interagire per produrre un fenotipo

Molte coppie di alleli possono interagire nell'espressione di un dato carattere, oppure una coppia di alleli può inibire o cambiare l'effetto di un'altra. Uno dei più semplici esempi di interazione genica è illustrato dall'ereditarietà delle creste nei polli, in cui due geni possono interagire producendo un nuovo fenotipo (FIG. 11-18 ). L'allele per la cresta "a rosa", R , è dominante su quello per la "cresta semplice", r. Un'altra coppia di alleli non associati regola l'ereditarietà della "cresta a pisello", P , o della "cresta semplice", p. Un pollo con la cresta semplice deve necessariamente avere genotipo pprr ; uno con cresta a pisello può essere o PPrr oppure Pprr; un pollo con cresta a rosa è ppRR o ppRr. Quando gli alleli R e P sono insieme, il fenotipo non è né con la cresta a pisello né con la cresta a rosa, ma è un tipo completamente diverso, chiamato "cresta a noce". Un fenotipo di questo genere si ha quando un pollo riceve uno o due alleli R più uno o due alleli P (cioè PPRR, PpRR, PPRr o PpRr). Quali tipi di creste possiamo pensare di avere nei discendenti di due individui eterozigoti con cresta a noce, PpRr? Come può questa forma di interazione di geni avere effetto sul rapporto fenotipico nella generazione $F_2$? Si mantiene il tipico rapporto mendeliano di 9:3:3:1?[4]

[4 La progenie di due galli eterozigoti con cresta a noce presenterà quattro genotipi tra i quali sembrerà esserci il rapporto mendeliano 9:3:3:1 (9 con cresta a noce, 3 con cresta a pisello, 3 con cresta a rosa e 1 con cresta semplice). Questo esempio non rappresenta un tipico rapporto mendeliano 9:3:3:1 poiché coinvolge un singolo carattere (la forma della cresta) codificato da alleli di due loci differenti. Nell'eredità mendeliana, il rapporto 9:3:3:1 coinvolge due caratteri (come il colore e la forma del seme) codificati da alleli di due loci.]

L' epistasi è una forma di interazione genica in cui la presenza di determinati alleli in un locus può impedire o mascherare l'espressione di alleli in un altro locus. (La parola epistasi significa "che sta sopra"). Diversamente da quanto visto nell'esempio dei polli, l'epistasi non produce un nuovo fenotipo.




←FIGURA 11-18 *Interazione genica nei galli*
Due coppie di geni determinano quattro fenotipi per la cresta del gallo. I galli con cresta a noce hanno il genotipo P_R_ . I galli con cresta a pisello hanno il genotipo P_rr e quelli con cresta a rosa hanno il genotipo ppR_ . I galli omozigoti recessivi per entrambi i geni, pprr , hanno la cresta semplice. (Gli alleli non specificati possono essere dominanti o recessivi).

Il colore del pelo nei cani Labrador è un esempio di epistasi che coinvolge un gene per il pigmento ed un gene per la deposizione del colore nel pelo ( FIG. 11-19 ). I due alleli del gene per il pigmento sono quello dominante B (pelo nero) e quello recessivo b (pelo marrone). Il gene per la deposizione del colore nel pelo ha due alleli, E per l'espressione del nero e del marrone ed e che è epistatico e blocca l'espressione del gene B/b . L'allele epistatico è recessivo, per cui è espresso nella condizione omozigote ( ee ) come colore giallo del pelo, indipendentemente dalla combinazione genotipica degli alleli B e b .

## Nell'eredità poligenica, la progenie mostra una distribuzione continua dei fenotipi

Le componenti ereditarie di molte caratteristiche degli uomini, come la statura, la forma del corpo e il colore della pelle, non si ereditano come alleli presenti in un singolo locus. Lo stesso vale anche nelle piante e negli animali domestici per molti caratteri importanti dal punto di vista commerciale, come la produzione di latte e uova. Alleli di più loci diversi governano l'espressione di ciascun carattere. Il termine eredità poligenica si usa quando più coppie di geni indipendenti hanno effetti simili e additivi sullo stesso carattere.
Nell'ereditarietà del colore della pelle dell'uomo sono coinvolti più di 60 loci diversi. Per semplicità, illustriamo l'eredità poligenica utilizzando coppie di alleli presenti in tre loci genici indipendenti, che possiamo indicare con A e a, B e b, C e c. Le lettere maiuscole rappresentano alleli che manifestano dominanza incompleta nell'espressione dell'intensità del colore della pelle. Più lettere maiuscole sono presenti, più il colore della pelle è scuro, poiché gli alleli per questo carattere agiscono in modo additivo. L'individuo col colore della pelle più scuro avrà genotipo AABBCC, mentre l'individuo con la pelle più chiara avrà genotipo aabbcc. La generazione F 1 che deriva dall'incrocio di individui di questo tipo avrà genotipo AaBbCc e un colore della pelle intermedio tra i genitori. I discendenti $F_2$ di due tripli eterozigoti (AaBbCc × AaBbCc) avranno un colore della pelle che varierà da molto scuro a molto chiaro ( FIG. 11-20 ).

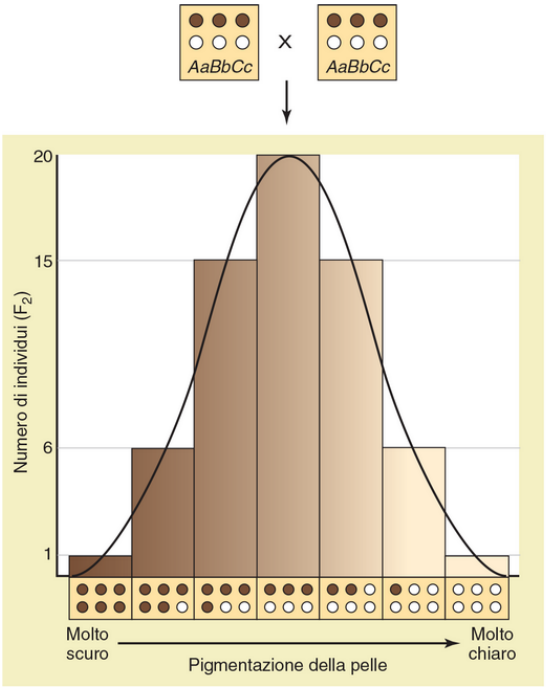
FIGURA 11-19 *Epistasi nei cani Labrador*
Due coppie di geni interagiscono per determinare il colore del pelo nei cani Labrador. I Labrador neri hanno il genotipo B_E_ ; quelli gialli hanno il genotipo B_ee oppure bbee ; quelli color cioccolato hanno il genotipo bbE_ . (Gli alleli non specificati possono essere dominanti o recessivi).

L'eredità poligenica è quindi caratterizzata da una generazione F 1 in cui si verifica la presenza di caratteristiche intermedie a quelle della generazione parentale omozigote, e una generazione F 2 che invece mostra un'ampia variabilità rispetto alla generazione parentale. Quando il numero degli individui di una popolazione che presentano un dato colore della pelle viene riportato in grafico in funzione delle rispettive entità di pigmentazione della pelle e i vari punti che si ottengono vengono uniti tra loro, il risultato è una curva a campana, chiamata curva di distribuzione normale. La maggior parte degli individui della F 2 mostra uno dei fenotipi intermedi; solamente in una piccola percentuale si manifestano i fenotipi estremi della generazione parentale (generazione P). In media, solo 1 su 64 presenterà fenotipo molto scuro e solo 1 su 64 fenotipo molto chiaro. Gli alleli A, B e C producono la stessa quantità di pigmento; quindi, i genotipi AaBbCc, AABbcc, AAbbCc, AaBBcc, aaBBCc, AabbCC e aaBbCC danno tutti origine a fenotipi intermedi simili.

## I geni interagiscono con l'ambiente per produrre il fenotipo

Le ortensie sono arbusti coltivati per i loro fiori attraenti. Il colore di certi fiori di ortensia varia da blu a viola a rosa in base al livello di alluminio presente nel terreno prima che il fiore inizi a svilupparsi. È facile aumentare i livelli di alluminio aggiungendo allume o solfato di alluminio al terreno o abbassandone il pH (l'alluminio è più solubile nei terreni acidi). In queste condizioni, i fiori di ortensia sono blu. Nei terreni alcalini (ottenuti aggiungendo calcare), l'alluminio è meno solubile e i fiori sono rosa ( FIG. 11-21 ).

Un altro esempio dell'effetto ambientale sull'espressione genica riguarda i conigli Himalaiani. Il fenotipo di questi conigli è rappresentato dal pelo bianco, con chiazze scure su orecchie, naso e zampe. La temperatura locale della superficie di orecchie, naso e zampe di un coniglio è più bassa nel suo ambiente naturale ed è tale differenza di temperatura che determina la presenza di peli scuri in queste zone. Se i conigli con genotipo himalaiano vengono fatti crescere ad alte temperature (30°C), essi appaiono completamente bianchi, cioè senza chiazze scure su orecchie, naso e zampe ( FIG. 11-22 a). Se invece tali conigli vengono fatti crescere a temperature un po' più basse (25°C), essi sviluppano le caratteristiche chiazze di pelo scuro ( FIG. 11-22 b). Pertanto, i geni possono funzionare in modo diverso in ambienti differenti.




←FIGURA 11-20
*Eredità poligenica per la pigmentazione della pelle umana*
Questo esempio semplificato assume che la pigmentazione della pelle nell'uomo sia controllata da tre loci non associati. Gli alleli che determinano il colore scuro della pelle ( A, B e C ) sono rappresentati con le lettere maiuscole, ma non sono dominanti; i loro effetti sono invece additivi. La determinazione del fenotipo si effettua mediante il conteggio dei cerchietti scuri, ciascuno dei quali rappresenta un allele che contribuisce al colore scuro della pelle. Un'ampia gamma di fenotipi si riscontra nella progenie di due individui con fenotipo intermedio ( AaBbCc × AaBbCc ). La distribuzione dei fenotipi attesa corrisponde alla curva di distribuzione normale riportata in nero.

FIGURA 11-21→
*Influenza dell'ambiente sulla colorazione dei fiori di ortensia*
I fiori di ortensia hanno colorazione variabile che dipende dalla disponibilità di alluminio, che a sua volta dipende dal pH del suolo. I fiori blu si sviluppano in terreni con pH pari a 5,5 o inferiore, i fiori viola in terreni con pH compreso tra 5,6 e 6,4, i fiori rosa in terreni con pH compreso tra 6,5 e 7,0.

Prendiamo adesso in esame un esempio relativo all'uomo, considerando la statura nel contesto genico ed ambientale. L'ereditarietà della statura nell'uomo è di tipo poligenico e coinvolge alleli di dieci o più loci. Dal momento che sono coinvolti molti geni e poiché la statura è modificata da una varietà di condizioni ambientali, come la dieta e lo stato generale di salute, la statura della maggior parte degli individui adulti varia tra 1,25 m e 2,15 m. I geni che controllano la statura pongono dei limiti per il fenotipo (ad esempio, non esiste un uomo alto 3,75 m), ma l'ambiente modella il fenotipo all'interno dei limiti genetici. La varietà dei possibili fenotipi che possono svilupparsi da un unico genotipo in diverse condizioni ambientali è nota come norma di reazione . Per certi genotipi la norma di reazione è abbastanza limitata; invece, per altri genotipi, come quelli relativi alla statura nell'uomo, la norma di reazione è alquanto ampia.
Sebbene i fenotipi di molti caratteri siano influenzati dalle interazioni tra i geni e l'ambiente, è impossibile determinare con esattezza i contributi dei geni e quelli dell'ambiente per un determinato fenotipo. In alcuni casi, l'ambiente regola l'attività di determinati geni, stimolandola in certe condizioni ambientali e reprimendola in altre. Gli studiosi per anni hanno discusso dell'importanza relativa della natura (genetica/biologia) rispetto all'ambiente ( nurture ) nel determinare alcuni caratteri umani quali l'intelligenza, la depressione, il disturbo bipolare e la schizofrenia. Gli studi effettuati su coppie di gemelli identici separati e cresciuti in ambienti differenti indicano che gli individui possono ereditare un potenziale genetico o vulnerabilità per questo tipo di carattere, ma le condizioni ambientali possono influenzare l'espressione del genotipo. Pertanto, l'espressione fenotipica è molto più complessa di quanto possa suggerire la semplice espressione natura contro ambiente.

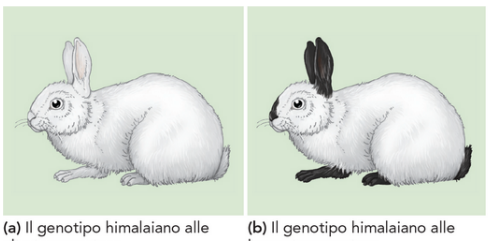

(a) Il genotipo himalaiano alle (b) Il genotipo himalaiano alle

FIGURA 11-22
Influenza dell'ambiente sulla colorazione del pelo nel coniglio
Questi conigli hanno lo stesso genotipo per il colore del pelo, ma sono stati esposti a diverse temperature.

## Verifica

- Cosa è la dominanza incompleta? e la codominanza?
- Che differenza c'è tra allelia multipla e eredità poligenica?
- Cosa è la pleiotropia? E l'epistasi?
- Che cos'è la norma di reazione?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

11.1

1. Definire i termini fenotipo, genotipo, locus, allele, allele dominante, allele recessivo, omozigote ed eterozigote .
    - I geni si trovano sui cromosomi; la posizione che un determinato gene occupa sul cromosoma è definita locus . Le forme alternative di un determinato gene sono gli alleli , che occupano loci corrispondenti su cromosomi omologhi.
    - Un individuo che possiede due alleli uguali per un dato locus è omozigote per quel locus. Se i due alleli sono diversi, l'individuo è eterozigote per quel locus.
    - In un individuo eterozigote, un allele, quello dominante , può mascherare l'espressione dell'altro allele, quello recessivo . Per questa ragione, due individui con lo stesso aspetto, o fenotipo , possono essere diversi nella loro composizione genetica (ovvero la combinazione di alleli), o genotipo .
2. Enunciare i principi di Mendel della segregazione e dell'assortimento indipendente.
    - Secondo il principio della segregazione di Mendel, durante la meiosi gli alleli di ciascun locus si separano l'uno dall'altro, cioè segregano. I gameti aploidi che ne risultano contengono, ciascuno, soltanto un allele per ogni locus.
    - Secondo il principio dell'assortimento indipendente di Mendel, gli alleli di loci diversi sono distribuiti nei gameti in modo del tutto casuale; ciò porta alla ricombinazione genetica , cioè alla produzione di nuove combinazioni di geni che non erano presenti nella generazione parentale (P) .
3. Fare una distinzione tra incroci monoibridi, incroci diibridi e reincroci.
    - Un incrocio tra due individui omozigoti (generazione P) che differiscono l'uno rispetto all'altro per gli alleli di un solo locus si definisce incrocio monoibrido ; se la differenza riguarda due loci, si parla di incrocio diibrido . La prima generazione di discendenti, chiamata generazione F 1 , è costituita interamente da individui eterozigoti; la generazione che deriva dall'incrocio di due individui della F 1 è la generazione F 2 .
    - Un reincrocio , o test cross , ovvero un incrocio tra un individuo di genotipo sconosciuto ed un omozigote recessivo, aiuta nel determinare il genotipo sconosciuto.
4. Spiegare i principi di Mendel della segregazione e dell'assortimento indipendente in base a ciò che oggi si conosce dei geni e dei cromosomi.
    - La segregazione degli alleli è un risultato diretto della separazione dei cromosomi
    - L'assortimento indipendente si verifica in quanto ci sono due modi in cui due coppie di cromosomi omologhi si possono disporre alla metafase I della meiosi. L'orientamento dei cromosomi omologhi sulla piastra metafasica determina il modo in cui i cromosomi si distribuiscono nelle cellule aploidi.

11.2

5. Applicare in modo appropriato le regole del prodotto e della somma per prevedere i risultati di incroci genetici.
    - Secondo la regola del prodotto, la probabilità che due eventi indipendenti si verifichino insieme è data dal prodotto delle probabilità che ha ogni evento di verificarsi.
    - Secondo la regola della somma, la probabilità che si abbia un risultato che può essere ottenuto in più di un modo è data dalla somma delle probabilità dei singoli eventi.

11.3

6. Definire l' associazione (kinkage) e metterla in relazione con specifici eventi che si verificano nella meiosi.
    - L' associazione (linkage) è la tendenza di un gruppo di geni che si trovano sullo stesso cromosoma ad essere ereditati insieme. L'assortimento indipendente non può essere applicato se due loci si trovano vicini sulla stessa coppia di cromosomi omologhi.
    - La ricombinazione di geni associati può essere il risultato del crossing-over (rottura e ricongiunzione di cromatidi omologhi) durante la profase I meiotica. (Ricordate dal Paragrafo 11.1 che la ricombinazione può anche risultare dall'assortimento indipendente di geni non associati).
7. Mostrare in che modo i dati di un reincrocio che coinvolge alleli di due loci diversi possono essere

utilizzati per distinguere tra assortimento indipendente e associazione.

- È possibile distinguere l'assortimento indipendente dall'associazione conducendo un reincrocio a due punti tra un individuo eterozigote per i due geni ed un individuo omozigote recessivo per entrambi i caratteri.
- L'associazione è caratterizzata da un eccesso di tipi parentali ed un difetto di tipi ricombinanti nella progenie di un reincrocio a due punti.

8. Spiegare la determinazione genetica del sesso e l'ereditarietà dei geni associati al cromosoma X nei mammiferi.
    - Il sesso nell'uomo e in altri animali è determinato dai cromosomi X e Y . Nei mammiferi, le femmine normali hanno due cromosomi X e i maschi normali un cromosoma X ed uno Y. La fecondazione di un uovo che porta il cromosoma X da parte di uno spermatozoo che porta il cromosoma X dà origine ad uno zigote femmina (XX). Un uovo X fecondato da uno spermatozoo Y dà origine ad uno zigote maschio (XY).
    - Il cromosoma Y determina il sesso maschile nei mammiferi. Il cromosoma X contiene molti geni non correlati alla determinazione del sesso, che sono importanti sia nel maschio che nella femmina. Un maschio riceve tutti i geni legati all'X dalla madre, mentre una femmina riceve i geni legati all'X da entrambi i genitori.

11.4

9. Illustrare alcuni modi in cui i geni possono interagire tra loro per influenzare il fenotipo; giustificare come sia possibile che un singolo gene influenzi simultaneamente diversi caratteri dell'organismo.
    - La pleiotropia è la capacità di un gene di avere effetti su diversi caratteri. La maggior parte dei casi di pleiotropia può essere ascrivibile ad un'unica causa, come un enzima difettivo. Alternativamente, alleli di diversi loci possono interagire per determinare l'espressione fenotipica di un unico carattere.
10. Fare una distinzione tra dominanza incompleta, codominanza, allelia multipla, epistasi ed eredità poligenica.
    - La dominanza non sempre si verifica; alcuni alleli mostrano dominanza incompleta , per cui l'eterozigote mostra un fenotipo intermedio, oppure codominanza , per cui l'eterozigote esprime i fenotipi degli omozigoti simultaneamente.
    - In una popolazione possono esistere alleli multipli , tre o più alleli che possono potenzialmente occupare lo stesso locus. Un individuo diploide ha due di tali alleli; un individuo aploide o un gamete ne hanno solo uno.
    - Nell' epistasi , un allele di un locus può mascherare l'espressione di alleli di un locus diverso.
    - Nell' eredità poligenica , coppie multiple di geni indipendenti possono esercitare effetti simili ed additivi sul fenotipo.

11. Descrivere la norma di reazione e fornire un esempio specifico.
    - La varietà dei possibili fenotipi che possono svilupparsi da un unico genotipo in diverse condizioni ambientali è nota come norma di reazione .
    - Molti geni sono coinvolti nell'ereditarietà della statura nell'uomo. Nondimeno, la statura è modificata da una varietà di condizioni ambientali, come la dieta e lo stato generale di salute. I geni che determinano la statura stabiliscono la norma di reazione, ovvero i limiti, del fenotipo, mentre l'ambiente forgia il fenotipo all'interno della norma di reazione.

## AUTOVERIFICHE

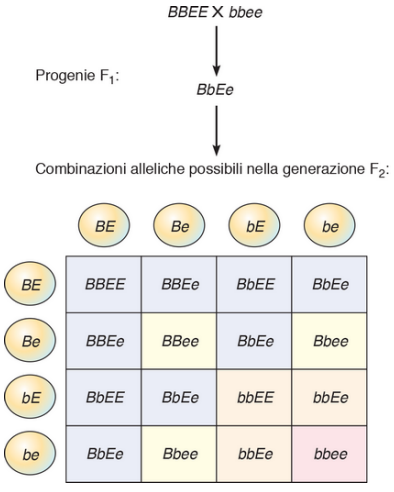
1. Uno dei loci autosomici che controllano il colore degli occhi nella Drosophila ha due alleli, uno per gli occhi marroni ed uno per gli occhi rossi. Moscerini di una linea pura con occhi marroni sono stati incrociati con moscerini di una linea pura con occhi rossi. Gli individui della generazione F 1 hanno occhi rossi. Quale conclusione si può ricavare da questo esperimento? (a) Questi alleli sono andati incontro ad assortimento indipendente; (b) questi alleli sono andati incontro a segregazione; (c) questi geni sono associati all'X; (d) l'allele per gli occhi rossi è dominante sull'allele per gli occhi marroni; (e) tutte le ipotesi riportate sono vere.
2. I moscerini della generazione F 1 descritti nella domanda 1 sono stati incrociati con moscerini con occhi marroni di una linea pura. Quale fenotipo avranno i figli? (a) Tutti con gli occhi rossi; (b) tutti con gli occhi marroni; (c) metà con occhi rossi e metà con occhi marroni; (d) femmine con occhi rossi e maschi con occhi marroni; (e) femmine con occhi marroni e maschi con occhi rossi.
3. Il tipo di incrocio descritto nella domanda 2 è: (a) un incrocio F 2 ; (b) un incrocio diibrido; (c) un test cross; (d) un test cross a due punti; (e) nessuno degli incroci sopra riportati.
4. Individui con genotipo AaBb sono stati incrociati con individui aabb . Si è ottenuto approssimativamente un ugual numero di figli delle seguenti classi: AaBb , Aabb , aaBb e aabb .

Questi risultati illustrano il principio di Mendel: (a) dell'associazione; (b) dell'assortimento indipendente; (c) della segregazione; (d) a e c; (e) b e c.

5. Supponete che il rapporto tra femmine e maschi sia 1:1. Una coppia ha già due figlie e nessun figlio. Se pianificano di avere sei figli, con quale probabilità avranno una famiglia di tutte figlie? (a) 1 4 (b) 1 8 (c) 1 16 (d) 1 32 (e) 1 64 .
6. La cecità al rosso-verde è una patologia recessiva legata all'X nell'uomo. Una vostra amica ha un padre che non vede i colori. Sua madre vede i colori, ma il nonno da parte materna non vedeva i colori. Qual è la probabilità che la vostra amica non veda i colori? (a) 1 (b) 1 2 (c) 1 4 (d) 3 4 (e) 0.
7. Incrociando due moscerini ad ali lunghe, la progenie risulta costituita da 77 moscerini ad ali lunghe e 24 ad ali corte. Le ali corte rappresentano la condizione dominante o recessiva? Quali sono i genotipi dei genitori?
8. Il pelo lungo del gatto persiano è un carattere recessivo rispetto al pelo corto del gatto siamese, ma il colore nero del pelo dei persiani è dominante sul pelo marrone chiaro e scuro del siamese. Attribuite simboli appropriati agli alleli di questi due loci indipendenti. Incrociando un gatto persiano nero a pelo lungo omozigote con un siamese marrone chiaro e scuro a pelo corto anch'esso omozigote, quale sarà il fenotipo degli individui della F 1 ? Se incrociamo due individui della F 1 , quante possibilità ci sono che nella F 2 compaiano individui a pelo marrone chiaro e scuro lungo? (Usate il metodo del calcolo delle probabilità, più veloce, per ottenere la risposta, poi verificatela utilizzando il quadrato di Punnett).
9. Il Signore e la Signora Smith sono preoccupati perché i loro gruppi sanguigni sono rispettivamente A e B, mentre il loro ultimo figlio Richard è di gruppo 0. Richard può essere figlio dei suoi genitori?
10. Un gallo con cresta a noce è fatto accoppiare con tre galline diverse; la progenie della gallina A, che ha la cresta a noce, comprende individui con cresta a noce e cresta a rosa in rapporto di 3:1. La gallina B, con cresta a pisello, ha una discendenza che comprende individui con cresta a noce, a pisello, a rosa e semplice, in rapporto 3:3:1:1. La gallina C, con cresta a noce, ha discendenti tutti con cresta a noce. Quali sono i genotipi del gallo e delle tre galline?
11. Incrociando individui con genotipo AaBb con individui con genotipo aabb, si ottiene un migliaio di discendenti così suddivisi: 474 Aabb ; 480 aaBb ; 20 AaBb ; 26 aabb . Qual è il nome di questo tipo di incrocio? Questi loci sono associati? Quali sono le classi dei discendenti parentali e quelle dei discendenti ricombinanti? Qual è la percentuale di ricombinazione fra i due loci in esame? Quante unità di mappa li separano?
12. I geni A e B distano tra loro 6 unità di mappa, A e C ne distano 4. Quale gene è in mezzo, se tra B e C ci sono 10 unità di mappa? Quale se tra B e C ci sono 2 unità di mappa?

## PENSIERO CRITICO

1. Abbozzate una serie di schemi assicurandovi che ciascuno di essi si concluda con gameti aploidi, che mostrino:
2. come ciascun paio di alleli per un singolo lucus segreghi durante la meiosi;
3. come gli alleli di due loci indipendenti assortiscano indipendentemente durante la meiosi;
4. come gli alleli di due loci associati vadano incontro a ricombinazione genetica.
5. È sempre possibile risalire al genotipo di un organismo, relativamente ad un particolare locus, se si conosce il suo fenotipo? Viceversa, conoscendo il genotipo di un organismo per un determinato locus, è sempre possibile prevedere in modo attendibile il suo fenotipo? Spiegate.
6. Confrontate i meccanismi di ricombinazione genetica per geni associati e geni indipendenti.
7. CONNESSIONE EVOLUTIVA . La teoria di Darwin sull'evoluzione per selezione naturale si basa su quattro osservazioni relative al mondo naturale. Una di esse è che ogni individuo ha una combinazione di caratteri che lo rende unico. Darwin riconobbe che molta di tale variabilità tra gli individui dovesse essere ereditaria, ma non conosceva il meccanismo dell'ereditarietà di Mendel. Sulla base di ciò che avete appreso in questo capitolo, date una breve spiegazione della variabilità tra gli individui osservata da Darwin.
8. ANALISI DEI DATI . Utilizzando il grafico in Figura 11-20 , determinate quanti discendenti sono stati coinvolti nell'ipotetico incrocio per lo studio del colore della pelle. Quale percentuale aveva la pelle più chiara possibile? E la pelle più scura?
9. ANALISI DEI DATI . La figura seguente mostra un incrocio tra un cane Labrador omozigote a pelo nero e uno omozigote a pelo giallo. Qual è il fenotipo alla generazione F 1 ? Quali sono i fenotipi e i rapporti fenotipici alla generazione F 2 ? La trasmissione della colorazione del pelo dei cani Labrador è un esempio di che tipo di modello di ereditarietà?



# Articolo XII. DNA: il depositario dell'informazione genetica 12

Dopo la riscoperta del lavoro di Mendel nel 1900, i genetisti condussero numerosi esperimenti per capire come i geni fossero disposti sui cromosomi e come venissero trasmessi di generazione in generazione. Tuttavia, due quesiti molto importanti rimasero senza risposta per gran parte della prima metà del XX secolo: di che materiale sono costituiti i geni e come si esprimono? Sebbene gli studi dei modelli di ereditarietà descritti nel Capitolo 11 non fornissero risposte a queste domande, essi suggerirono molte ipotesi circa le caratteristiche molecolari dei geni ed il loro funzionamento.

Poiché gli scienziati erano generalmente in accordo nel ritenere che la funzione dei geni dovesse essere quella di contenere le informazioni, ne conseguiva che il materiale che costituiva i geni dovesse avere la capacità di immagazzinare le informazioni in forma tale da poter essere recup erate e utilizzate dalla cellula. Ma i geni possedevano altre caratteristiche di cui bisognava tener conto. Esperimenti genetici su vari organismi avevano dimostrato che i geni sono generalmente stabili, poiché passano mutazioni di generazione in generazione. Tuttavia, si pensò che il materiale genetico non fosse sempre costante, perché si osservava che cambiamenti genetici, chiamati mutazioni, potevano comparire improvvisamente ed essere successivamente tramandati alle generazioni future.

Tanto la genetica quanto la biochimica si stavano sviluppando e ci fu un notevole sforzo per correlare le proprietà note dei geni con la natura delle varie molecole biologiche. Quali molecole potevano immagazzinare le informazioni? Come potevano queste informazioni essere utilizzate per dirigere le funzioni cellulari? Quale tipo di molecola poteva essere relativamente stabile, ma avere la capacità di cambiare in determinate circostanze?

Poiché le proteine erano già note come molecole indispensabili per la struttura ed il metabolismo della cellula, esse furono considerate candidate ideali per essere depositarie dell'informazione genetica. In questo capitolo vedremo invece che l' acido desossiribonucleico ( DNA ), e non una proteina, è la molecola responsabile dell'eredità e prenderemo in esame le caratteristiche peculiari, inclusa la sua struttura e la replicazione (vedi fotografia), che consentono al DNA di svolgere questo ruolo.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

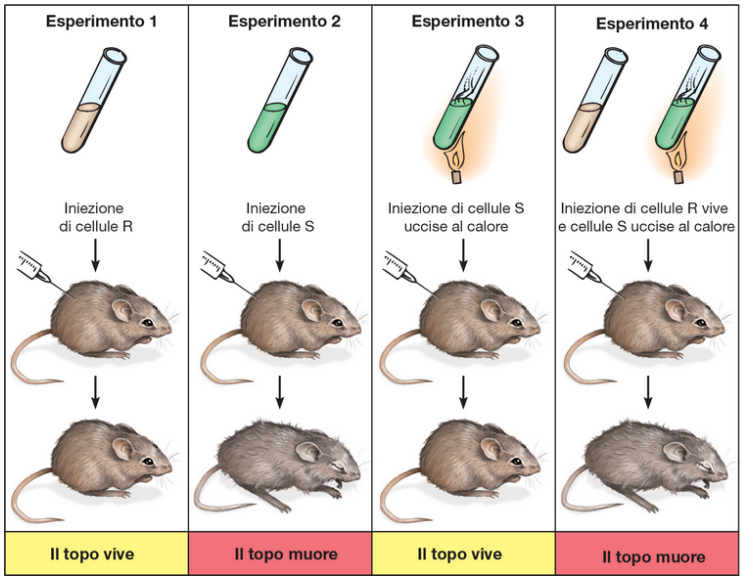



FIGURA 12-1
*Gli esperimenti di trasformazione di Griffith*
Griffith stava cercando di sviluppare un vaccino contro la polmonite, quando scoprì per caso il fenomeno della trasformazione.

*PORSI DOMANDE CRITICHE:* Un tratto genetico può essere trasmesso da un ceppo batterico ad un altro?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: La capacità degli pneumococchi di causare malattia può essere trasmessa dal ceppo virulento (liscio, o cellule S) al ceppo avirulento (rugoso, o cellule R).
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Griffith condusse quattro esperimenti sui topi utilizzando due ceppi di pneumococchi: (1) iniezione di cellule R vive, (2) iniezione di cellule S vive, (3) iniezione di cellule S uccise al calore, (4) iniezione simultanea di cellule R vive e di cellule S uccise al calore.
RISULTATI E CONCLUSIONI: Anche se né il ceppo R né il ceppo S ucciso al calore erano in grado da soli di uccidere un topo, la combinazione di entrambi ci riusciva. L'autopsia dell'animale morto mostrò la presenza di pneumococchi vivi del ceppo S. Questi risultati suggerivano che una qualche sostanza presente nelle cellule S uccise al calore era in grado di trasformare le cellule R vive in virulente.

# 12.1 LA PROVA CHE IL DNA È IL MATERIALE EREDITARIO

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Riassumere le prove accumulate nel periodo tra gli anni ’40 e i primi anni ’50 a dimostrazione che il DNA è il materiale genetico.
2. Enunciare gli interrogativi a cui i seguenti esperimenti classici hanno fornito una risposta: l’esperimento di trasformazione di Griffith, il contributo di Avery al lavoro di Griffith, gli esperimenti di Hershey-Chase.

Durante il periodo 1930-40, la maggior parte dei genetisti non prestava molta attenzione al DNA, ed era convinta che il materiale genetico fosse rappresentato dalle proteine. Alla luce delle continue dimostrazioni che i geni controllavano la sintesi delle proteine (discussa nel Capitolo 13 ), sembrava molto ragionevole pensare che i geni stessi fossero proteine. Era noto che le proteine erano costituite da più di venti tipi di aminoacidi organizzati in molte combinazioni diverse, permettendo così ad ogni singola proteina di possedere caratteristiche uniche. Data la loro complessità e diversità rispetto alle altre molecole, le proteine sembravano essere il materiale di cui erano costituiti i geni.

D’altra parte, era stato stabilito che il DNA e gli altri acidi nucleici erano costituiti da soli quattro nucleotidi e, per quello che era noto circa la loro organizzazione, sembravano alla maggior parte degli scienziati non molto interessanti. Per questa ragione, alcune iniziali osservazioni sul possibile ruolo del DNA non vennero prese in considerazione.

### Il DNA è il principio trasformante nei batteri

Una di queste osservazioni risale al 1928, quando Frederick Griffith, osservando due ceppi di batteri pneumococchi, fece una curiosa scoperta ( FIG. 12-1 ). Un ceppo liscio (S), detto così per l’aspetto liscio delle colonie cresciute su un mezzo di coltura solido, era virulento , cioè capace di provocare la malattia e spesso la morte dell’ospite. Infatti, iniettato nel topo, ne provocava la morte per polmonite. Gli animali in cui invece venivano iniettate cellule uccise al calore sopravvivevano. Un ceppo correlato (R), detto rugoso per l’aspetto delle colonie, era avirulento , ovvero incapace di produrre effetti patologici. I topi iniettati con cellule di questo ceppo, sia vive che uccise al calore, sopravvivevano. Tuttavia, quando Griffith iniettò i topi con una miscela di cellule S *uccise al calore* e cellule R *vive*, un’alta percentuale di topi morì. Griffith fu in grado di isolare cellule S vive dal topo morto.

Dal momento che né le cellule del ceppo S uccise al calore né le cellule vive del ceppo R erano in grado di trasformarsi nella forma virulenta se iniettate da sole, doveva esserci qualcosa, nelle cellule uccise al calore, in grado di convertire cellule di per sé non virulente nella forma letale. Questo tipo di cambiamento genetico permanente, in cui le proprietà di cellule morte di un ceppo venivano conferite a cellule vive di un altro ceppo, è chiamato trasformazione . Gli scienziati ipotizzarono che una certa sostanza chimica ( il *principio trasformante*, o *fattore trasformante* ) veniva trasferita dai batteri morti a quelli vivi e ne determinava la trasformazione.

Nel 1944, Oswald T. Avery e i suoi colleghi Colin M. MacLeod e Maclyn McCarty identificarono chimicamente il fattore trasformante di Griffith nel DNA. Essi condussero una serie di accurati esperimenti in cui lisarono (ruppero) cellule del ceppo S ed effettuarono una separazione del contenuto cellulare in diverse frazioni: lipidi, proteine, polisaccaridi e acidi nucleici (DNA e RNA). Provarono quindi le singole frazioni per capire se fossero capaci di trasformare cellule vive del ceppo R in cellule del ceppo S. Negli esperimenti condotti su lipidi, polisaccaridi e proteine non si ottenne trasformazione. Invece, quando Avery trattò le cellule R vive con gli acidi nucleici estratti dalle cellule S, osservò la trasformazione delle cellule R in cellule S.

Anche se oggi consideriamo questi risultati come la prima dimostrazione del fatto che il DNA è il materiale genetico, non tutti gli scienziati del tempo li accettarono. Molti scienziati pensavano che queste osservazioni, anche se vere, potessero essere applicate solo ai batteri e non avessero alcuna rilevanza per la genetica degli eucarioti. Negli anni successivi, nuove prove dimostrarono che i nuclei aploidi dei granuli pollinici e dei gameti, come per esempio gli spermatozoi, contengono solamente la metà del DNA presente nelle cellule somatiche diploidi della stessa specie. (Le *cellule somatiche* sono cellule del corpo che non danno mai origine a gameti). Poiché l’idea che i geni fossero sui cromosomi era generalmente accettata, queste scoperte, che mettevano in relazione il contenuto di DNA con il numero dei cromosomi, fornirono nuove prove circa l’importanza del DNA nell’ereditarietà degli eucarioti.

## Il DNA è il materiale genetico di alcuni virus

Nel 1952, Alfred Hershey e Marta Chase effettuarono una serie di eleganti esperimenti sulla replicazione dei virus che infettano i batteri, noti come batteriofagi o fagi (vedi Capitolo "Virus e agenti subvirali"). Quando pianificarono i loro esperimenti, i due ricercatori sapevano che i fagi si riproducono all'interno delle cellule batteriche, provocando la lisi cellulare e la liberazione di molte particelle virali neosintetizzate. Inoltre, gli studi di microscopia elettronica indicavano che solo una parte del fago entrava nelle cellule batteriche, inducendo a pensare che il materiale genetico dovesse essere incluso in quella porzione ( FIG. 12-2 ).

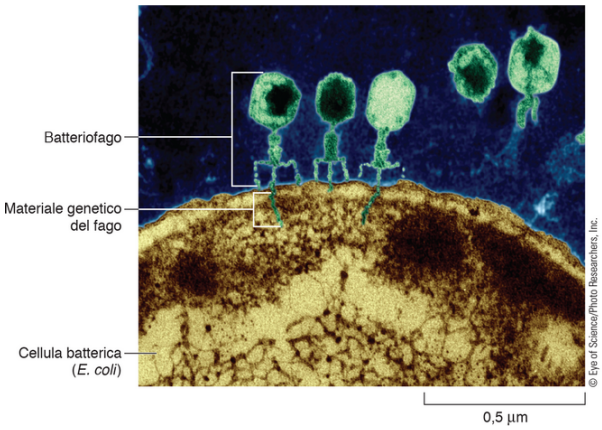



FIGURA 12-2
*Batteriofagi sulla superficie di una cellula batterica*
Questa immagine al microscopio elettronico a trasmissione (MET) mostra diversi fagi attaccati alla superficie del batterio Escherichia coli. Si noti il materiale genetico del virus che viene iniettato nel batterio.

Come mostrato in FIGURA 12-3 , Hershey e Chase marcarono le proteine di un campione di fagi con un isotopo radioattivo dello zolfo ( 35 S), e il DNA virale di un secondo campione di virus con un isotopo radioattivo del fosforo ( 32 P). Ricorda dal Capitolo 3 che le proteine contengono lo zolfo negli aminoacidi cisteina e metionina, mentre gli acidi nucleici contengono i gruppi fosfato. I fagi di ognuno dei due campioni furono messi a contatto con i batteri, permettendone l'adesione, e successivamente staccati mediante agitazione in un omogeneizzatore. I campioni furono quindi centrifugati.

Nel campione contenente i batteri infettati con i fagi con le proteine marcate con 35 S, tutta la radioattività fu ritrovata nel sopranatante, ad indicare che le proteine dei fagi non erano entrate nelle cellule. Nel campione contenente i batteri infettati con i fagi con il DNA marcato con 32 P, la radioattività era associata alle cellule batteriche (nel pellet), ad indicare che il DNA fagico effettivamente era entrato nelle cellule. Hershey e Chase conclusero che i fagi iniettavano il loro DNA nelle cellule batteriche, lasciando fuori la maggior parte delle proteine. Questa scoperta enfatizzò il significato del DNA nella riproduzione virale, e fu considerata un'ulteriore prova del ruolo del DNA come materiale ereditario.

## Verifica

- In che modo gli esperimenti di Avery e colleghi indicarono il DNA come materiale genetico essenziale?
- In che modo l'esperimento di Hershey-Chase stabilì che il DNA è il materiale genetico dei batteriofagi?

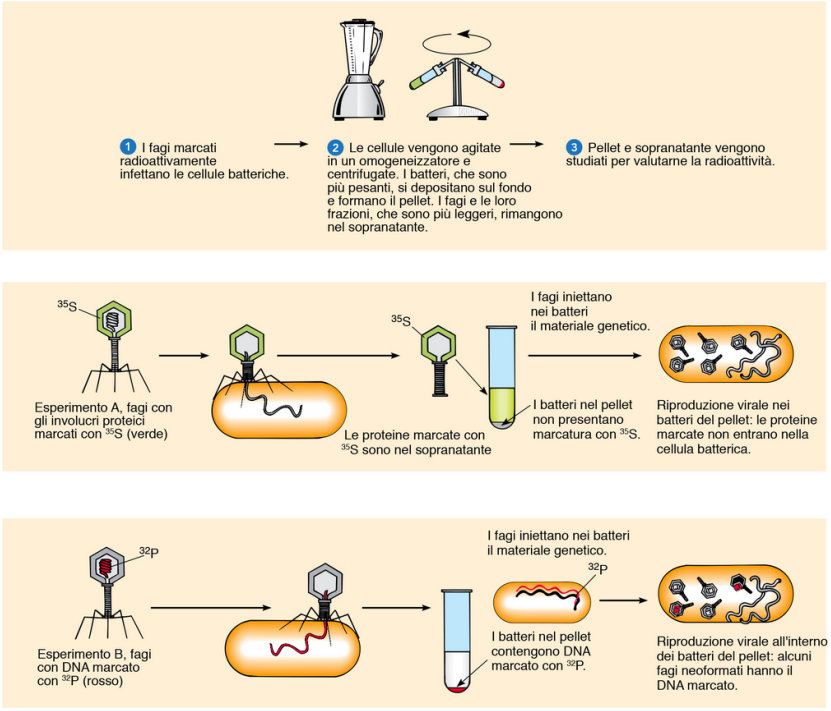
# 12.2 LA STRUTTURA DEL DNA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Para Schematizzare come i nucleotidi si legano tra loro per formare un singolo filamento di DNA.
4. Illustrare come i due filamenti di DNA sono orientati l'uno rispetto all'altro.
5. Esporre le regole dell'appaiamento delle basi nel DNA e descrivere come si legano tra loro le basi complementari.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

FIGURA 12-3
Gli esperimenti di Hershey–Chase




*PORSI DOMANDE CRITICHE:* Il materiale genetico dei virus batterici (fagi) è costituito dal DNA o dalle proteine?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: Il DNA è il materiale genetico dei virus batterici.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Hershey e Chase produssero popolazioni fagiche che avevano o il DNA o le proteine marcati radioattivamente. In entrambi i casi, infettarono i batteri con i fagi e determinarono se il DNA o le proteine venivano iniettati nelle cellule batteriche per dirigere la formazione di nuove particelle virali.
RISULTATI E CONCLUSIONI: I ricercatori riuscirono a separare gli involucri proteici dei fagi marcati con l'isotopo radioattivo 35 S (a sinistra) dalle cellule batteriche infettate senza interferire con la riproduzione del virus. Invece, non riuscirono a separare il DNA virale marcato con il radioisotopo 32 P (a destra) dalle cellule batteriche infettate. Questo dimostrò che il DNA virale entra nelle cellule batteriche ed è richiesto per la sintesi di nuove particelle virali. Pertanto, il DNA è il materiale genetico dei fagi.

L'ipotesi che il DNA fosse il materiale genetico non fu accettata da tutti gli scienziati fino al 1953, quando il ricercatore americano James Watson e il ricercatore britannico Francis Crick, che lavoravano entrambi in Inghilterra, ne proposero un modello strutturale che aveva una straordinaria capacità esplicativa. La storia di come si è arrivati a determinare la struttura del DNA rappresenta uno dei capitoli più straordinari della biologia moderna ( TABELLA 12-1 ).

Come vedremo più avanti, quando Watson e Crick si interessarono al problema, le informazioni circa le proprietà fisiche e chimiche del DNA erano moltissime; il contributo fondamentale dei due scienziati fu di integrare tutte queste conoscenze in un modello che dimostrava come la molecola potesse sia portare l'informazione genetica sia servire da stampo per la sua duplicazione.

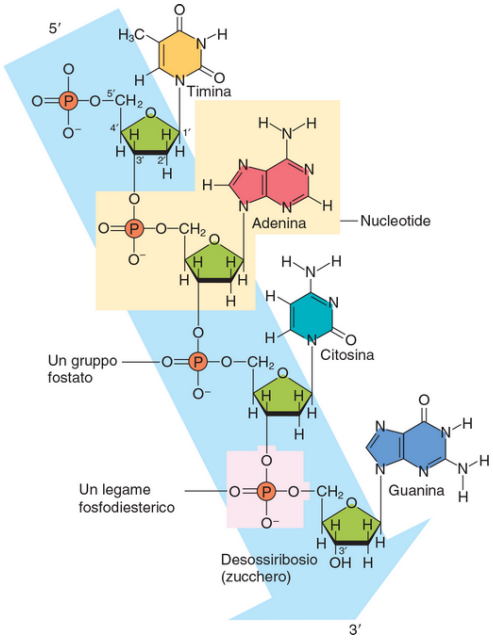
| | Percentuali delle basi nel DNA | | | | Rapporti | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Fonte del DNA | A | T | G | C | A/T | G/C |
| *E. coli* | 26,1 | 23,9 | 24,9 | 25,1 | 1,09 | 0,99 |
| Lievito | 31,3 | 32,9 | 18,7 | 17,1 | 0,95 | 1,09 |
| Spermatozoo di riccio di mare | 32,5 | 31,8 | 17,5 | 18,2 | 1,02 | 0,96 |
| Spermatozoo di aringa | 27,8 | 27,5 | 22,2 | 22,6 | 1,01 | 0,98 |
| Fegato umano | 30,3 | 30,3 | 19,5 | 19,9 | 1,00 | 0,98 |
| Granoturco (*Zea mais*) | 25,6 | 25,3 | 24,5 | 24,6 | 1,01 | 1,00 |

TABELLA 12-1
**Cronologia di scoperte storiche relative al DNA**

### I nucleotidi si legano covalentemente in sequenze variabili per formare lunghi polimeri

Nel Capitolo 3 abbiamo detto che i mattoni che costituiscono il DNA sono i nucleotidi , formati da uno zucchero pentoso ( desossiribosio ), un fosfato e una base azotata ( FIG. 12-4 ). Per convenzione, gli atomi di carbonio in una molecola si numerano secondo le regole stabilite dalla chimica organica. Nella chimica degli acidi nucleici, gli atomi di carbonio dello zucchero e della base azotata sono numerati, distinguendo quelli dello zucchero col simbolo "primo".

Così, la base azotata è unita al carbonio 1 dello zucchero ed il fosfato è unito al carbonio in posizione 5. Le basi azotate comprendono le purine , adenina ( A ) e guanina ( G ), e le pirimidine , timina ( T ) e citosina ( C ).
I nucleotidi sono legati fra loro con legami covalenti per formare uno scheletro zucchero-fosfato. Il carbonio 3' di uno zucchero è legato al gruppo fosfato in posizione 5' dello zucchero adiacente costituendo un legame 3',5' fosfodiesterico . In questo modo è quindi possibile formare polimeri di lunghezza indefinita. Noi ora sappiamo che la maggior parte delle molecole di DNA trovate nelle cellule è costituita da milioni di basi e che i nucleotidi possono essere legati insieme in successioni estremamente variabili. La Figura 12-4 mostra che una singola catena polinucleotidica ha una precisa direzione. Qualunque sia la lunghezza della catena, un'estremità ( estremità 5' ) ha un carbonio 5 legato ad un fosfato e l'altra ( estremità 3' ) ha un carbonio 3' legato ad un gruppo ossidrilico.
Nel 1949, Erwin Chargaffe collaboratori presso la Columbia University determinarono la composizione in basi del DNA estratto da organismi e tessuti diversi. Essi trovarono tra le basi una semplice relazione che si rivelò importante per chiarire la struttura del DNA. Indipendentemente dalla fonte di estrazione del DNA, dalle stesse parole di Chargaffrisultava che "il rapporto tra purine e pirimidine, e anche quello tra adenina e timina e quello tra guanina e citosina, è quasi uguale a 1" ( TABELLA 12-2 ).




←FIGURA 12-4 *Le subunità nucleotidiche del DNA*
Un singolo filamento di DNA consiste di uno scheletro ( sovraimpresso sullo sfondo blu ) di gruppi fosfato che si alternano allo zucchero desossiribosio ( in verde ). Gli zuccheri di nucleotidi adiacenti sono uniti con legami fosfodiesterici ( in rosa ). Al carbonio 1' di ogni zucchero è legata una delle quattro basi azotate ( dall'alto verso il basso ): timina, adenina, citosina e guanina. ( Il nucleotide che contiene la base adenina è evidenziato in giallo ). Si noti la polarità della catena polinucleotidica, con l'estremità 5' in alto e l'estremità 3' in basso.

TABELLA 12-2→ *Composizione in basi del DNA estratto da diversi organismi*

| | Percentuali delle basi nel DNA | | | | Rapporti | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Fonte del DNA | A | T | G | C | A/T | G/C |
| *E. coli* | 26,1 | 23,9 | 24,9 | 25,1 | 1,09 | 0,99 |
| Lievito | 31,3 | 32,9 | 18,7 | 17,1 | 0,95 | 1,09 |
| Spermatozoo di riccio di mare | 32,5 | 31,8 | 17,5 | 18,2 | 1,02 | 0,96 |
| Spermatozoo di aringa | 27,8 | 27,5 | 22,2 | 22,6 | 1,01 | 0,98 |
| Fegato umano | 30,3 | 30,3 | 19,5 | 19,9 | 1,00 | 0,98 |
| Granoturco (*Zea mais*) | 25,6 | 25,3 | 24,5 | 24,6 | 1,01 | 1,00 |

In altre parole, nelle molecole di DNA a doppio filamento il numero di purine è uguale al numero di pirimidine, il numero di adenine è uguale al numero di timine (A = T), e il numero di guanine è uguale al numero di citosine (G = C). Queste eguaglianze sono chiamate regole di Chargaff .

## Il DNA è costituito da due catene polinucleotidiche avvolte tra loro a formare una doppia elica

L'informazione chiave circa la struttura del DNA venne da studi di diffrazione dei raggi X su cristalli di DNA purificato, eseguiti dalla ricercatrice britannica Rosalind Franklin presso il King's College negli anni 1951-1953 ( FIG. 12-5 ).
La diffrazione dei raggi X , una potente metodica per lo studio della struttura tridimensionale delle molecole, può determinare le distanze tra gli atomi di molecole che presentano una struttura cristallina regolare e ripetitiva ( FIG. 12-6 ). I raggi X hanno una lunghezza d'onda estremamente corta, per cui possono essere deviati dagli elettroni che circondano gli atomi in una molecola. Gli atomi circondati da dense nubi di elettroni (come, per esempio, il fosforo o l'ossigeno) tendono a deflettere i raggi maggiormente rispetto agli atomi con numeri atomici inferiori. Quando un cristallo è esposto ad un intenso fascio di raggi X, la disposizione regolare degli atomi nel cristallo provoca la diffrazione o deviazione dei raggi X in direzioni specifiche. Tale diffrazione può essere registrata su una lastra fotografica in forma di macchie scure. Analisi matematiche della disposizione e delle distanze fra le macchie possono essere utilizzate per determinare le distanze precise tra gli atomi e i loro rapporti spaziali all'interno delle molecole.

FIGURA 12-5 *Rosalind Franklin*
La Franklin fu una scienziata dotata il cui contributo aiutò a chiarire la struttura a doppia elica del DNA.

## METODO DI RICERCA

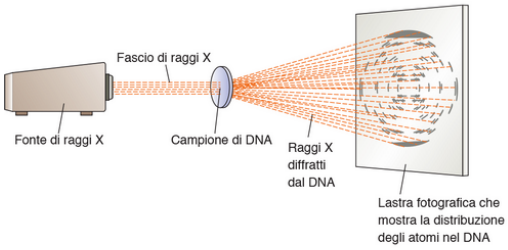
*Perché si usa?*

La diffrazione di raggi X può essere utilizzata per determinare la matrice regolare di atomi in un campione cristallino, per esempio, il DNA. Poiché ogni tipo di cristallo ha una sua configurazione caratteristica, la struttura tridimensionale della molecola in studio può essere dedotta.

*Come funziona?*

1. I ricercatori indirizzano un fascio ristretto di raggi X su di un singolo cristallo di DNA. I raggi X vengono diffratti (curvati) ad angoli specifici sulla base della densità di elettroni dei diversi atomi. Importanti informazioni relative alla struttura del DNA sono fornite da una dettagliata analisi matematica delle distanze tra i punti formati dai raggi X che colpiscono una lastra fotografica.
2. L'immagine di diffrazione dei raggi X del DNA. L'andamento diagonale delle macchie nere che si allungano dalle 11 alle 5 e dall'1 alle 7, se paragonate alle lancette dell'orologio, suggerisce la struttura elicoidale del DNA. I riflessi allungati orizzontali al margine superiore ed inferiore della fotografia indicano che le basi puriniche e pirimidiniche si impilano l'una sull'altra ogni 0,34 nm e sono disposte perpendicolarmente rispetto all'asse dell'elica.

1 I ricercatori indirizzano un fascio ristretto di raggi X su di un singolo cristallo di DNA. I raggi X vengono diffratti (curvati) ad angoli specifici sulla base della densità di elettroni dei diversi atomi. Importanti informazioni relative alla struttura del DNA sono fornite da una dettagliata analisi matematica delle distanze tra i punti formati dai raggi X che colpiscono una lastra fotografica.




2 L'immagine di diffrazione dei raggi X del DNA. L'andamento diagonale delle macchie nere che si allungano dalle 11 alle 5 e dall'1 alle 7, se paragonate alle lancette dell'orologio, suggerisce la struttura elicoidale del DNA. I riflessi allungati orizzontali al margine superiore ed inferiore della fotografia indicano che le basi puriniche e pirimidiniche si impilano l'una sull'altra ogni 0,34 nm e sono disposte perpendicolarmente rispetto all'asse dell'elica.

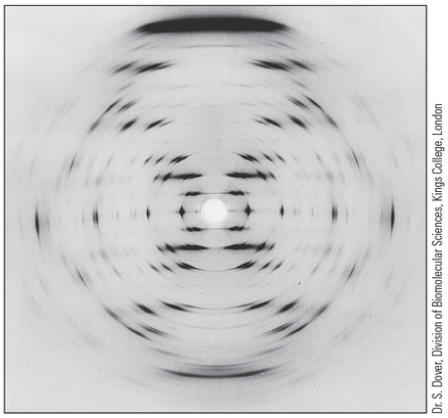
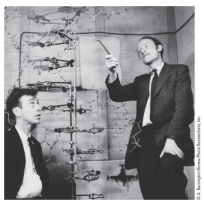



FIGURA 12-6
Come funziona la diffrazione dei raggi X

Franklin aveva già effettuato cristallografie ai raggi X di campioni di DNA quando Watson e Crick iniziarono ad affrontare il problema della struttura del DNA. Le immagini mostravano chiaramente che il DNA ha una struttura elicoidale e presenta tre importanti misure periodiche, 0,34 nm, 3,4 nm e 2 nm, che si ripetono nella molecola con regolarità. Franklin e il collega Maurice Wilkins dedussero che le basi nucleotidiche (che sono molecole piane) sono impilate come i pioli di una scala. Utilizzando queste informazioni, Watson e Crick poterono costruire modelli in scala dei componenti del DNA, che poi collegarono fra loro per adattarli ai dati sperimentali ( FIG. 12-7 ). Dopo molte prove, i due ricercatori elaborarono un modello conforme ai dati esistenti ( FIG. 12-8 ). Le catene nucleotidiche potevano uniformarsi ai dati ottenuti con la diffrattografia solamente ipotizzando che ciascuna molecola di DNA fosse costituita da due catene polinucleotidiche avvolte fra loro a costituire una doppia elica . Nel modello strutturale proposto da Watson e Crick, lo scheletro zucchero-fosfato delle due catene forma l'impalcatura esterna dell'elica, mentre le basi azotate di ciascuna catena si appaiano all'interno. I due periodi di 0,34 nm e 3,4 nm sono giustificati dal fatto che ciascuna coppia di basi dista esattamente 0,34 nm dalla coppia di basi precedente e da quella successiva lungo la molecola e che ciascun giro dell'elica misura 3,4 nm e comprende esattamente dieci paia di basi. Le due catene, per essere conformi ai dati sperimentali, devono avere direzioni opposte; pertanto, ciascuna estremità della doppia elica mostra un gruppo 5' fosfato libero su un filamento e un gruppo ossidrilico libero in posizione 3' sull'altro filamento. Poiché le due eliche hanno andamento opposto, vengono definite antiparallele ( FIG. 12-9a ).



←FIGURA 12-7 James Watson e Francis Crick
Watson (a sinistra) e Crick (a destra) sono mostrati di fianco al loro modello della doppia elica di DNA.

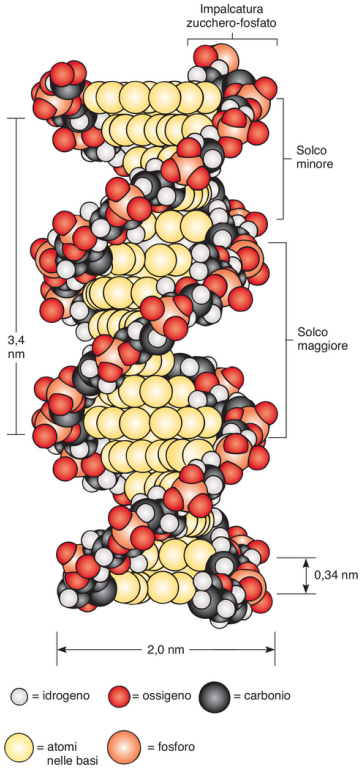
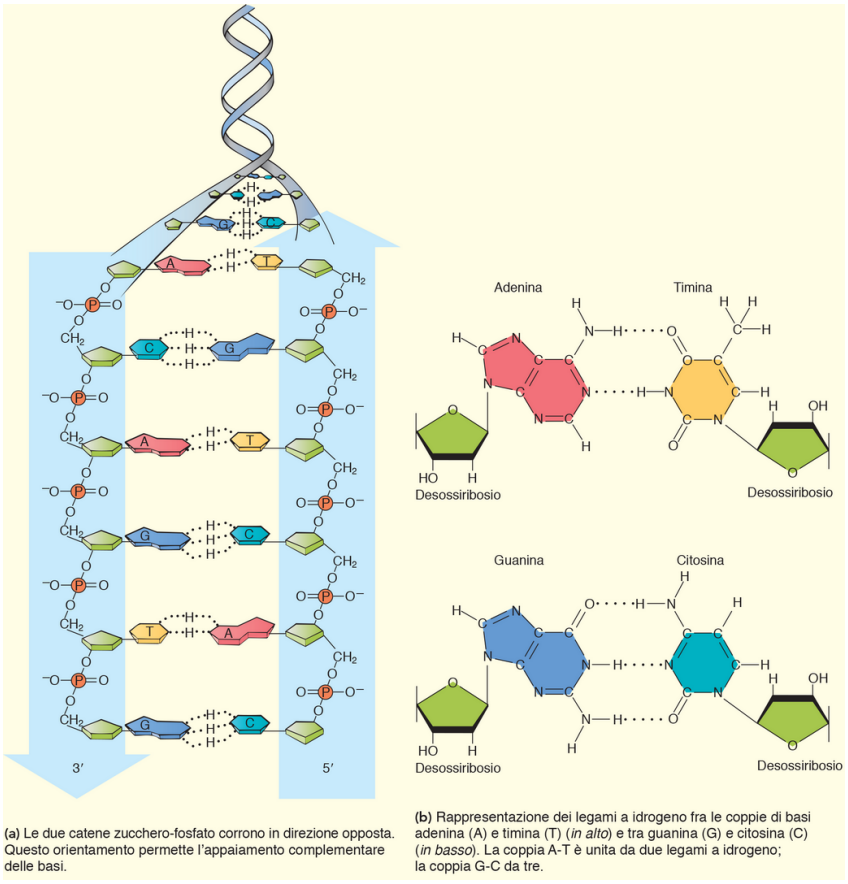



FIGURA 12-8 Modello tridimensionale della doppia elica del DNA→
Le misure corrispondono a quelle derivate dalle immagini di diffrazione dei raggi X.

## Nel DNA a doppia elica si formano legami a idrogeno fra adenina e timina e fra guanina e citosina

Altre caratteristiche del modello di Watson e Crick erano in grado di integrare le informazioni sulla composizione chimica del DNA con i dati di diffrazione dei raggi X. Gli studi di diffrazione dei raggi X indicavano che la doppia elica del DNA ha una larghezza precisa e costante di 2,0 nm. Ciò era in accordo con le osservazioni di Chargaff. Nella Figura 12-4 abbiamo visto che le pirimidine (citosina e timina) sono costituite da un unico anello di atomi e sono quindi più piccole delle purine (guanina e adenina) che invece possiedono un secondo anello a cinque atomi. Lo studio di modelli molecolari rese chiaro a Watson e Crick che solamente con l'accoppiamento di una purina con una pirimidina ad ogni piolo della scala l'ampiezza dell'elica poteva essere esattamente 2,0 nm. Infatti, la combinazione di due purine (1,2 nm ciascuna) avrebbe dato una larghezza maggiore, mentre, combinando due pirimidine, l'ampiezza sarebbe stata inferiore cosicché il diametro della doppia elica non sarebbe stato costante. Studi ulteriori del modello dimostrarono che l'adenina può appaiarsi con la timina (e la guanina con la citosina) mediante legami a idrogeno, mentre le combinazioni opposte, citosina con adenina e guanina con timina, non permettono la formazione di legami a idrogeno favorevoli.




(a) Le due catene zucchero-fosfato corrono in direzione opposta. Questo orientamento permette l'appaiamento complementare delle basi.

(b) Rappresentazione dei legami a idrogeno fra le coppie di basi adenina (A) e timina (T) (*in alto*) e tra guanina (G) e citosina (C) (*in basso*). La coppia A-T è unita da due legami a idrogeno; la coppia G-C da tre.

**PUNTO CHIAVE** L'appaiamento delle basi e la loro sequenza nel DNA forniscono le basi per la comprensione sia della replicazione del DNA sia dell'ereditarietà del materiale genetico.

FIGURA 12-9
*Appaiamento delle basi e legami a idrogeno*
I due filamenti di una doppia elica di DNA sono tenuti insieme da legami a idrogeno tra le basi.

La costituzione di legami a idrogeno tra adenina e timina e tra guanina e citosina è mostrata nella FIGURA 12-9b . Fra adenina e timina si formano due legami a idrogeno e tra guanina e citosina se ne formano tre. Questo concetto di appaiamento specifico delle basi si accorda pienamente con i dati di Chargaff; la quantità di citosina risulta uguale alla quantità di guanina perché ciascuna citosina di una catena si appaia necessariamente alla guanina della catena opposta, e lo stesso avviene per ogni adenina presente su un'elica che deve appaiarsi alla timina dell'altra elica. Perciò, la sequenza delle basi nelle due catene di DNA mostra un appaiamento di basi complementari – in altre parole, la sequenza di nucleotidi in un'elica impone una sequenza complementare di nucleotidi nell'altra. Per esempio, se in un filamento troviamo questa sequenza: 5′—TCGATG—3′
nell'altro avremo la sequenza complementare: 3′—AGCTAC—5′

Il modello a doppia elica ci suggerisce che la sequenza delle basi nel DNA rappresenti il sistema di archiviazione delle informazioni genetiche e che tale sequenza sia in ultima analisi correlata alla sequenza di aminoacidi nelle proteine. Sebbene ci siano dei vincoli nelle modalità di appaiamento delle basi dei filamenti complementari, il numero delle sequenze lineari possibili lungo un filamento è virtualmente illimitato. Poiché le molecole di DNA presenti in una cellula possono contenere milioni di nucleotidi, esse sono in grado di immagazzinare una quantità enorme di informazioni, che consistono in centinaia di geni.

### Verifica

- Quali tipi di subunità costituiscono un singolo filamento di DNA? In che modo tali subunità sono legate tra loro?
- Qual è la struttura del DNA a doppia elica, così come è stata determinata da Watson e Crick?
- In che modo le regole di Chargaff si correlano alla struttura del DNA?

# 12.2 LA REPLICAZIONE DEL DNA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Citare le prove prodotte dall'esperimento di Meselson e Stahl che hanno portato gli studiosi a distinguere tra la replicazione semiconservativa del DNA e i modelli alternativi.
7. Riassumere come si replica il DNA ed identificare alcuni aspetti peculiari del processo.
8. Spiegare le complessità della replicazione del DNA che la rendono (a) bidirezionale e (b) continua su un filamento e discontinua sull'altro.
9. Spiegare in che modo gli enzimi effettuano la correzione delle bozze e la riparazione degli errori nel DNA.
10. Definire il termine telomero ; descrivere le possibili correlazioni tra telomerasi e invecchiamento cellulare e tra telomerasi e cancro.

Due aspetti del modello di Watson e Crick sono in accordo in maniera chiara ed evidente con il ruolo del DNA come materiale ereditario. Abbiamo detto in precedenza che il DNA codifica le informazioni attraverso la sua sequenza di basi. Il modello proposto suggerisce anche le modalità con cui le informazioni del DNA possono essere fedelmente copiate, un processo noto come replicazione del DNA.

A Watson e Crick era ovvia la connessione con il comportamento dei cromosomi in mitosi; quando un cromosoma si duplica risulta costituito da due cromatidi fratelli identici, che più tardi all'anafase si separeranno: per questa ragione il materiale genetico deve essere duplicato fedelmente e distribuito equamente alle cellule figlie. Infatti, nella loro prima pubblicazione si legge una classica e ormai famosa affermazione: "Non è sfuggito alla nostra attenzione che la specificità dell'appaiamento tra le basi da noi proposto suggerisce immediatamente un possibile meccanismo di fedele copiatura del materiale genetico".

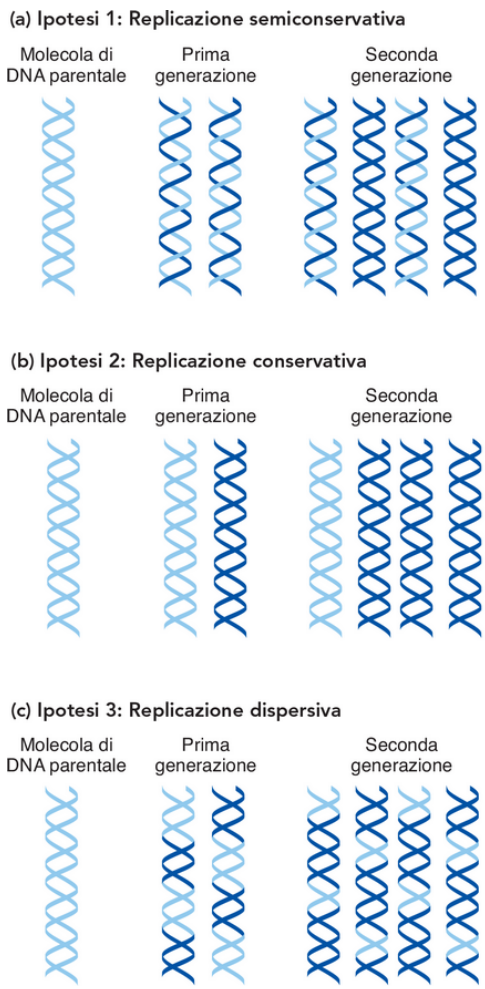
Il modello suggerisce che, poiché le coppie di nucleotidi si appaiano in modo complementare, ciascun filamento di DNA possa servire da stampo per la sintesi del filamento opposto. Infatti, è sufficiente rompere i legami a idrogeno (ricordate dal Capitolo 2 che i legami a idrogeno sono relativamente deboli) per separare le due emieliche; successivamente, ciascuna emielica potrebbe appaiarsi per complementarietà con nuovi nucleotidi e così ricostruire due nuove molecole a doppia elica, ciascuna identica alla molecola originaria, costituite da un filamento parentale e da uno complementare di nuova sintesi. Questo sistema di ricopiatura è chiamato meccanismo di replicazione semiconservativa ( FIG. 12-10a ).

### Meselson e Stahl verificarono il meccanismo della replicazione semiconservativa

Il meccanismo di replicazione semiconservativa proposto da Watson e Crick è certamente semplice e molto suggestivo; tuttavia, erano indispensabili prove sperimentali per affermare che effettivamente il DNA si replicasse in questo modo e, per prima cosa, era necessario escludere altre possibilità. Per esempio, con un meccanismo di replicazione conservativa , entrambi i filamenti parentali (o vecchi) potrebbero rimanere insieme e le due catene neosintetizzate potrebbero formare una seconda molecola a doppia elica completamente nuova ( FIG. 12-10b ). Con una replicazione dispersiva , una volta avvenuta la replicazione, la nuova molecola di DNA dovrebbe contenere dei tratti di molecola parentale alternati casualmente a tratti neosintetizzati ( FIG. 12-10c ). Per stabilire quale delle ipotesi fosse attendibile, era necessario poter distinguere i filamenti vecchi di DNA da quelli di nuova sintesi.

A tale scopo si può usare azoto pesante, 15 N (l'azoto normale è 14 N) per marcare le catene di DNA, rendendole più dense. Grosse molecole come il DNA possono essere separate in base alla diversa densità ottenuta con la marcatura, utilizzando una tecnica nota come centrifugazione in gradiente di densità (vedi Fig. 4-5 ). Quando il DNA viene messo in una soluzione di cloruro di cesio (CsCl) e centrifugato ad alta velocità, la soluzione forma un gradiente di densità che va da una zona a bassa densità nella parte superiore della provetta ad una ad alta densità sul fondo. Durante la centrifugazione, le molecole di DNA migrano nella regione del gradiente corrispondente alla loro densità.

Nel 1958, Matthew Meselson e Franklin Stahl fecero crescere delle cellule del batterio Escherichia coli in un terreno di coltura contenente 15 N sotto forma di cloruro di ammonio ($NH_4Cl$). Le cellule utilizzavano 15 N per sintetizzare le basi azotate, che poi venivano incorporate nel DNA ( FIG. 12-11 ). Da alcune di queste cellule vennero estratte molecole di DNA contenenti azoto pesante che, poste su gradiente di densità, si accumularono nella regione ad alta densità. Le rimanenti cellule batteriche (che contenevano anch'esse molecole di DNA marcate con 15 N) vennero trasferite in un terreno di coltura in cui il cloruro di ammonio conteneva atomi di 14 N, e lasciate replicare per alcuni cicli.




←FIGURA 12-10 *Modelli alternativi per la replicazione del DNA*

L'organizzazione attesa dei filamenti di DNA vecchi ( in azzurro ) e neosintetizzati ( in blu ) dopo una e due generazioni, secondo ( a ) il modello semiconservativo, ( b ) il modello conservativo e ( c ) il modello dispersivo.

Ci si aspettava che le molecole di DNA neosintetizzate fossero meno dense, in quanto le basi azotate incorporate durante la fase di sintesi contenevano l'isotopo 14 N. Infatti, le molecole di DNA isolate dalle cellule dopo una sola generazione mostravano tutte una densità intermedia, cioè contenevano metà degli atomi di azoto pesante rispetto al DNA "parentale". Questo risultato sosteneva il modello semiconservativo, per il quale ogni doppia elica avrebbe dovuto contenere un filamento preesistente (pesante in questo caso) ed uno neosintetizzato (leggero). Il risultato era anche in accordo con il modello dispersivo, che prevedeva anch'esso la presenza di un'unica classe di molecole, tutte di densità intermedia. Allo stesso tempo, era in disaccordo con il modello conservativo, secondo il quale dovevano essere ritrovate due classi di molecole a doppio filamento, quelle con due filamenti pesanti e quelle con due filamenti leggeri.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

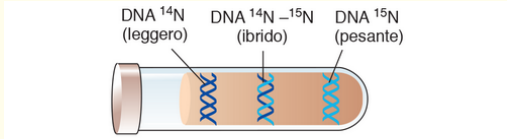
*PORSI DOMANDE CRITICHE:* Qual è il meccanismo di replicazione del DNA?

SVILUPPARE UN'IPOTESI: La Figura 12-10 illustra tre ipotesi relative alla replicazione del DNA e prevede la disposizione dei filamenti di DNA vecchi e neosintetizzati dopo una e due generazioni in base alle corrispondenti ipotesi.

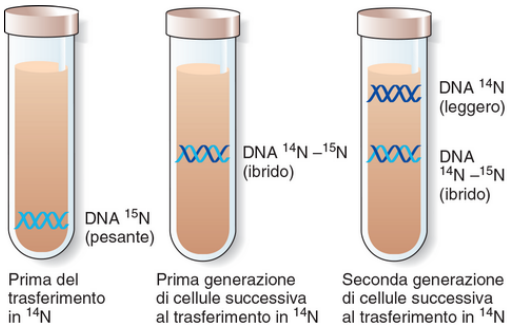
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Meselson e Stahl fecero crescere per molte generazioni il batterio Escherichia coli in un mezzo contenente azoto pesante ( 15 N), in modo che tutti i filamenti di DNA diventassero "pesanti". Quindi, trasferirono alcune cellule in un mezzo contenente azoto leggero ( 14 N), in modo che i filamenti neosintetizzati fossero "leggeri". Isolarono il DNA dalle cellule batteriche dopo 20 minuti (una generazione) e 40 minuti (due generazioni) e lo centrifugarono per separare le bande di DNA di diversa densità.

RISULTATI E CONCLUSIONI: Sulla base delle densità delle molecole di DNA osservate in ciascuna generazione, Meselson e Stahl conclusero che il modello di replicazione semiconservativa rispecchiava accuratamente il meccanismo di replicazione del DNA.

La posizione delle molecole di DNA all'interno della provetta da centrifuga può essere determinata mediante un sistema ottico a raggi UV. Infatti, le soluzioni di DNA assorbono fortemente la lunghezza d'onda di 260 nm.




Nel gradiente di densità in centrifugazione, la concentrazione di CsCl è massima nella parte inferiore del tubo e minima in alto. Le molecole di DNA si posizionano dove la loro densità è uguale a quella della soluzione in CsCl nella quale sono state centrifugate.




La posizione delle molecole di DNA all'interno della provetta da centrifuga può essere determinata mediante un sistema ottico a raggi UV. Infatti, le soluzioni di DNA assorbono fortemente la lunghezza d'onda di 260 nm.

FIGURA 12-11 *L'esperimento di Meselson-Stahl*

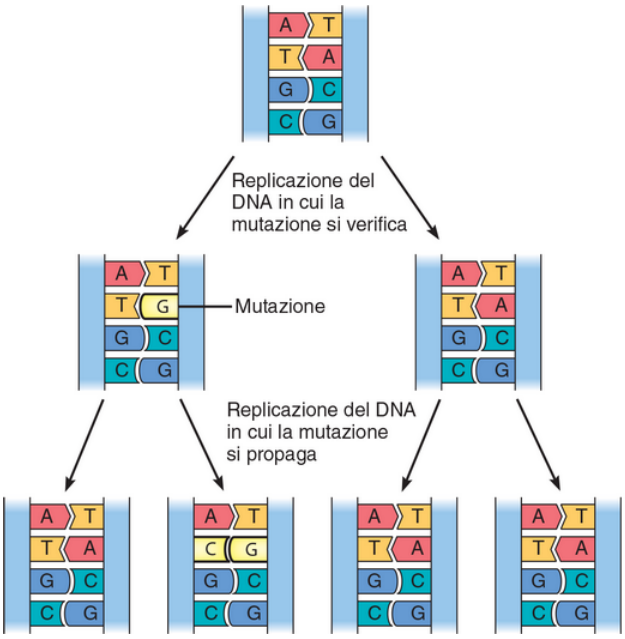
Dopo un altro ciclo di replicazione in terreno di coltura con 14 N, erano presenti due tipi di DNA nel gradiente, corrispondenti a due diversi livelli di densità: uno indicava l'esistenza di eliche di DNA "ibride" (DNA marcato in egual misura con 14 N e 15 N) e l'altro di DNA costituito interamente dall'isotopo leggero. Questo risultato era in accordo col modello di replicazione semiconservativa ed escludeva il modello dispersivo, per il quale tutti i filamenti avrebbero dovuto avere una densità intermedia.

## La replicazione semiconservativa spiega la trasmissione delle mutazioni

La scoperta che il DNA poteva essere replicato con un meccanismo semiconservativo suggerì come la molecola potesse soddisfare la terza caratteristica del materiale genetico: la capacità di mutare. Era noto da

molto tempo che le mutazioni , o cambiamenti genetici, potevano insorgere nei geni e quindi essere trasmesse fedelmente alle generazioni successive. Ad esempio, una particolare mutazione nel moscerino della frutta ( *Drosophila melanogaster* ) determina la formazione di ali vestigiali.

Quando fu proposto il modello della doppia elica, sembrò plausibile che le mutazioni potessero rappresentare un cambiamento nella sequenza delle basi del DNA. Se il DNA viene copiato secondo le regole della complementarietà, ogni cambiamento nella sequenza delle basi di un filamento ha come conseguenza una nuova sequenza di basi complementari nel successivo ciclo di replicazione. La nuova sequenza viene tramandata alle molecole figlie con lo stesso meccanismo utilizzato per copiare il materiale genetico originale, come se nessun cambiamento fosse avvenuto.




Nell'esempio riportato nella FIGURA 12-12 , una adenina presente su un filamento di DNA è stata sostituita con una guanina; ciò può avvenire per un errore raro di replicazione del DNA oppure attraverso altri meccanismi oggi noti. Esistono sistemi enzimatici che riparano gli errori, ma non tutte le mutazioni sono corrette opportunamente. La frequenza degli errori non corretti che avvengono nel corso della replicazione del DNA è di circa un nucleotide su un miliardo. Quando il DNA che contiene un errore si duplica di nuovo ( Fig. 12-12 , sinistra), uno dei filamenti dà origine ad una molecola uguale al DNA parentale; l'altro filamento, mutato, dà origine ad una molecola di DNA con una nuova combinazione di basi che si manterrà di generazione in generazione.

FIGURA 12-12 *Perpetuazione di una mutazione*
La replicazione del DNA può stabilizzare una mutazione (giallo brillante), che sarà così trasmessa alle generazioni successive.

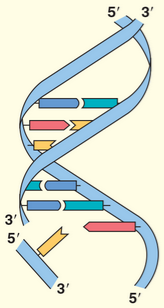
## La replicazione del DNA richiede un "macchinario" proteico

I princìpi generali della replicazione del DNA sono semplici e strettamente correlati al modello proposto da Watson e Crick, ma il processo richiede l'impiego di un complesso molecolare costituito da proteine ed enzimi, che lavorino insieme come una vera e propria "macchina replicativa". Molti degli aspetti essenziali della replicazione sono universali, tuttavia esistono numerose differenze tra i procarioti e gli eucarioti a causa della diversa organizzazione del DNA in queste cellule. Infatti, nelle cellule batteriche, come per esempio *E. coli*, il DNA si trova come un'unica molecola a doppia elica *circolare*, mentre ogni cromosoma eucariotico non duplicato è costituito da una singola molecola a doppia elica *lineare* associata con proteine. Presentiamo adesso la replicazione del DNA, basata sulla comprensione attuale del processo. Benché si sappia molto della replicazione del DNA, molti aspetti del processo sono ancora oscuri. Ad esempio, nel lievito unicellulare Saccharomyces cerevisiae, che è considerato un eucariote relativamente "semplice", 88 geni sono implicati nella replicazione del DNA! La determinazione dei ruoli di tutti questi geni e delle loro interazioni nel processo di replicazione richiederà gli sforzi protratti nel tempo di numerosi ricercatori.

### I due filamenti del DNA devono essere separati durante la replicazione

La replicazione del DNA inizia a livello di siti specifici sulla molecola di DNA, detti origini di replicazione , dove piccoli segmenti della doppia elica si svolgono. Le DNA elicasi sono enzimi che destabilizzano l'elica (ne sono state identificate varie) che si legano al DNA in corrispondenza dell'origine di replicazione e rompono i legami a idrogeno, separando in tal modo i due filamenti ( TABELLA 12-3 ). I due filamenti di DNA si replicano contemporaneamente a livello della giunzione tra i filamenti separati, che è una struttura a forma di Y detta forca di replicazione (vedi fotografia in apertura del capitolo). L'elicasi si muove lungo l'elica aprendo la doppia elica come una chiusura lampo durante il movimento della forca di replicazione. Una volta che i due filamenti sono stati separati, le proteine che legano il singolo filamento (SSB) si legano ai singoli filamenti di DNA e li stabilizzano, evitando in tal modo che si riformi la doppia elica finché non è avvenuta la copiatura. Le proteine SSB impediscono anche l'idrolisi delle regioni a singolo filamento ad opera di altri enzimi (le nucleasi ; come sarà discusso più avanti, le *nucleasi* sono coinvolte nella riparazione del DNA).
Watson e Crick affermano che nel loro modello a doppia elica le due catene di DNA sono avvolte fra loro come i fili di una corda e quindi, se si tenta di separare i due fili, la corda potrebbe anch'essa ruotare oppure avvolgersi in spire più strette. Possiamo pensare che eventi simili accadano anche quando i due filamenti

complementari del DNA si separano per la replicazione. Nel momento in cui i filamenti di DNA si separano per la replicazione, in un'altra regione della molecola di DNA si genera un superavvolgimento. Speciali enzimi, chiamati topoisomerasi , operano dei tagli nel DNA e poi saldano i filamenti in modo che siano liberi da superavvolgimenti e da "nodi" che impedirebbero la replicazione. Esistono due modalità con cui le topoisomerasi riducono i superavvolgimenti. Alcune topoisomerasi producono una rottura temporanea nello scheletro polinucleotidico di un singolo filamento di DNA, fanno passare quel filamento attraverso la regione eccessivamente avvolta e quindi risaldano la rottura. Altre topoisomerasi tagliano entrambi i filamenti del DNA, fanno passare una parte dell'elica tra le estremità recise e quindi risaldano la rottura. Indipendentemente dalle loro modalità di azione, le topoisomerasi conferiscono al DNA in replicazione una configurazione più rilassata.




| Enzima | Funzione |
|---|---|
| Elicasi | Svolge la doppia elica in corrispondenza delle forche di replicazione rompendo i legami a idrogeno che tengono insieme i due filamenti |
| Proteina che lega il singolo filamento (SSB) | Si lega ai singoli filamenti di DNA ed impedisce la riformazione della doppia elica prima che i singoli filamenti siano stati utilizzati come stampo per la replicazione |
| Topoisomerasi | Taglia uno o entrambi i filamenti di DNA, evitando l'eccessivo avvolgimento durante la replicazione, e li risalda in una configurazione più rilassata |
| DNA polimerasi | Lega le subunità nucleotidiche tra loro per formare un nuovo filamento di DNA a partire da un filamento di DNA stampo |
| DNA primasi | Sintetizza tratti di RNA (primer) sul filamento in ritardo. Avvia la replicazione del filamento guida |
| DNA ligasi | Lega tra loro i frammenti di Okazaki unendo l'estremità 3' del nuovo frammento di DNA all'estremità 5' del tratto di DNA adiacente |

TABELLA 12-3 **Le proteine coinvolte nella replicazione del DNA**

## La sintesi del DNA procede sempre in direzione 5' → 3'

Gli enzimi che catalizzano il legame fra i vari nucleotidi sono chiamati DNA polimerasi ; essi sono in grado di aggiungere nucleotidi solamente al terminale 3' di una catena polinucleotidica in corso di sintesi, che deve essere perfettamente appaiata al filamento che viene copiato ( FIG. 12-13 ). Come substrato per la reazione di polimerizzazione vengono utilizzati nucleotidi, o meglio nucleosidi trifosfato. Quando i nucleotidi vengono legati assieme, due gruppi fosfato vengono eliminati; queste reazioni sono fortemente esoergoniche e quindi non richiedono ulteriore energia. Poiché la nuova catena polinucleotidica si allunga attraverso il legame tra il gruppo fosfato in posizione 5' dello zucchero del nucleotide aggiunto e il gruppo ossidrilico in posizione 3' dello zucchero presente all'estremità della catena, il nuovo filamento di DNA cresce sempre in direzione 5' → 3'. Alcune DNA polimerasi sono altamente efficienti nell'aggiunta di nucleotidi alla catena polinucleotidica in crescita. La DNA Pol III , una delle cinque DNA polimerasi che sono state identificate nel batterio E. coli , può aggiungere 1.200 nucleotidi al minuto.

## La sintesi del DNA necessita di un innesco di RNA

Le DNA polimerasi possono aggiungere nucleotidi solamente all'estremità 3 di una catena polinucleotidica preesistente . Come può allora iniziare la sintesi del DNA una volta che sono stati separati i due filamenti? La risposta è che viene inizialmente sintetizzato, a livello del punto di inizio della replicazione, un piccolo tratto di RNA (in genere costituito da 5-14 nucleotidi) che funziona da innesco ( RNA primer ) ( FIG. 12-14). L' RNA , o acido ribonucleico (vedi Capitoli 3 e 13 ), è un polimero formato da subunità nucleotidiche che possono appaiarsi per complementarietà con il DNA stampo a singolo filamento. L'RNA primer è sintetizzato ad opera di un enzima che prende il nome di DNA primasi , capace di iniziare un nuovo filamento di RNA su un filamento di DNA. Dopo pochi nucleotidi aggiunti, la primasi è spiazzata dalla DNA polimerasi, che può quindi aggiungere le subunità all'estremità 3' del primer di RNA. Successivamente, il primer verrà degradato da enzimi specifici e sostituito da DNA.

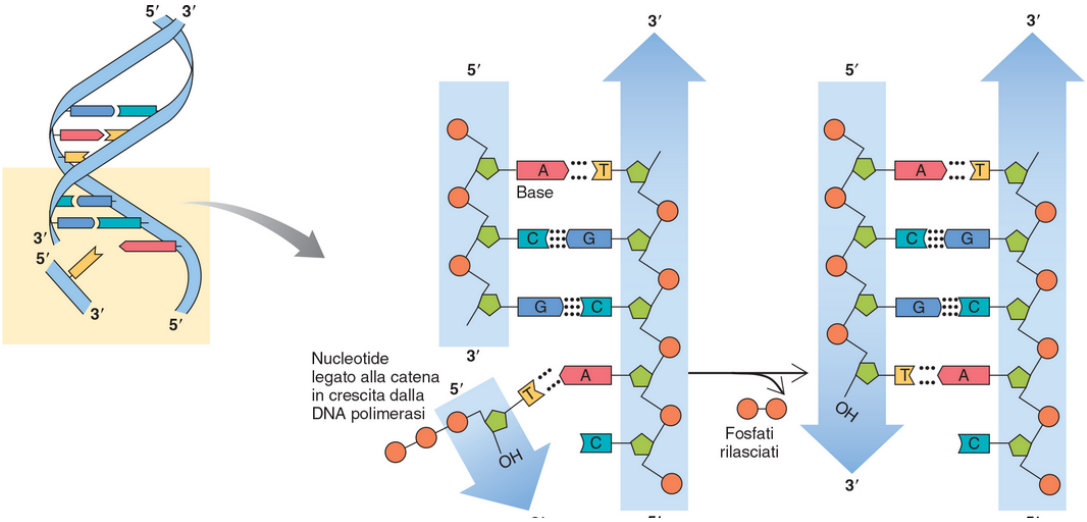
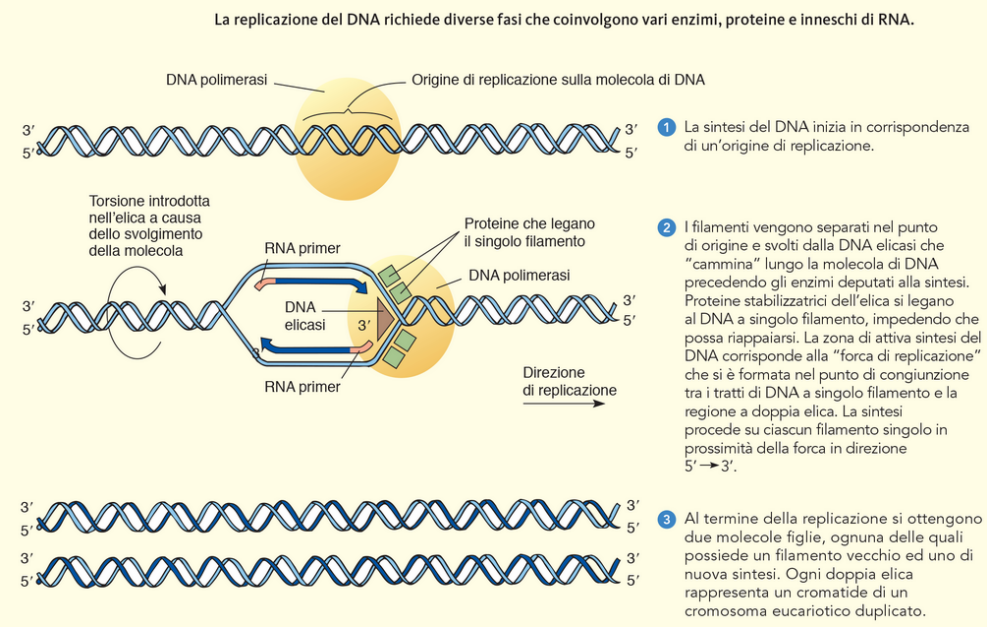



FIGURA 12-13
*Una visione semplificata della replicazione del DNA*
Un nucleotide alla volta viene aggiunto all'estremità 3' della catena nascente.

**PUNTO CHIAVE**
La replicazione del DNA richiede diverse fasi che coinvolgono vari enzimi, proteine e inneschi di RNA.

FIGURA 12.14
*Due modelli della struttura della membrana*




### La replicazione del DNA avviene in modo discontinuo su un lamento e continuo sull'altro

L'ostacolo maggiore nel comprendere la duplicazione del DNA sta nel fatto che i due filamenti sono antiparalleli. La sintesi del DNA può procedere solamente in direzione 5' → 3' (il filamento che viene copiato deve perciò essere letto in direzione 3' → 5'). Si potrebbe quindi pensare che un filamento venga copiato partendo da un'estremità della doppia elica e l'altro partendo dall'estremità opposta. Alcuni virus replicano il loro DNA in questo modo, ma un tale sistema di replicazione risulta essere poco efficiente per le lunghissime molecole di DNA che costituiscono i cromosomi eucariotici.

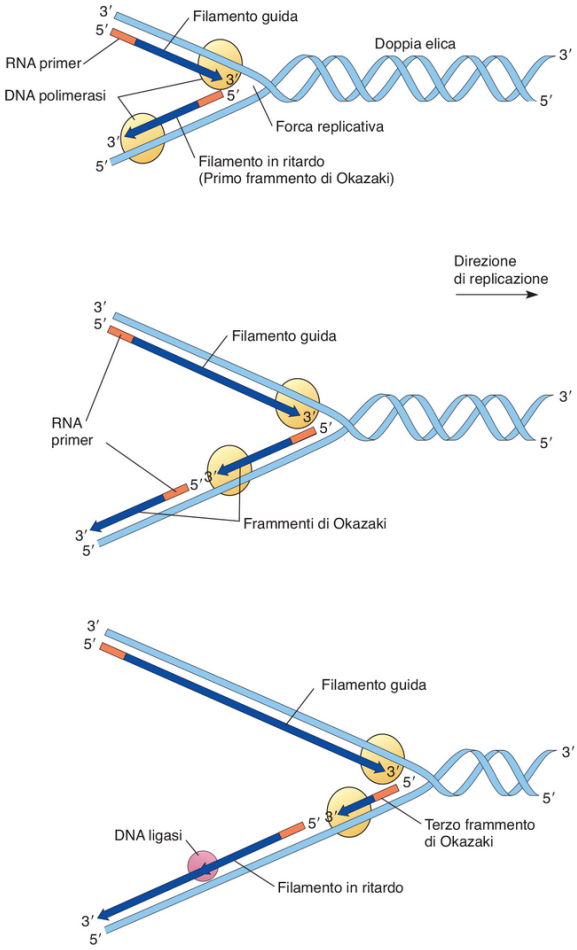
La replicazione inizia a livello delle origini di replicazione, ed entrambi i filamenti vengono replicati contemporaneamente alla forca di replicazione ( FIG. 12-15 ). La posizione della forca di replicazione cambia costantemente al procedere della replicazione. Due molecole identiche di DNA polimerasi sono responsabili della replicazione. L'estremità 3' di uno dei nuovi filamenti si allunga sempre verso la forca di replicazione e la sua sintesi procede in maniera continua e senza interruzioni, per cui esso viene chiamato filamento guida o "leading".

Un'altra molecola di DNA polimerasi (identica alla prima) aggiunge nucleotidi all'estremità 3' dell'altro filamento di nuova sintesi, chiamato filamento in ritardo o " lagging ", il quale si allunga sempre nella direzione opposta all'avanzamento della forca di replicazione. Possono così essere sintetizzati soltanto dei corti frammenti perché, se la DNA polimerasi aggiungesse continuamente nucleotidi all'estremità 3' di tale filamento, dovrebbe allontanarsi di molto dalla forca di replicazione. Questi frammenti di 100-2000 nucleotidi sono chiamati frammenti di Okazaki , dal nome del loro scopritore, il biologo molecolare giapponese Reiji Okazaki.

La DNA primasi catalizza periodicamente la sintesi di un RNA primer sul filamento in ritardo. La sintesi di ogni frammento di Okazaki viene iniziata da un RNA primer e procede verso l'estremità 5' del frammento sintetizzato precedentemente dalla DNA polimerasi. Nel momento in cui un frammento di Okazaki neosintetizzato raggiunge quello sintetizzato precedentemente, il primer di quest'ultimo è degradato e rimpiazzato con DNA da parte della DNA polimerasi. Infine, una DNA ligasi riunisce i vari frammenti ricostruendo il legame fosfodiesterico tra l'estremità 3' di uno e l'estremità 5' dell'altro. (Come si vedrà più avanti, la DNA ligasi risalda anche i legami fosfodiesterici rotti durante la riparazione del DNA).

### La sintesi del DNA è bidirezionale

Quando i due filamenti del DNA si separano, si formano due strutture a forcella, per cui la molecola, dal punto di origine, viene replicata in entrambe le direzioni. Le cellule procariotiche, in genere, mostrano nel loro cromosoma circolare un'unica origine di replicazione, così che le due forche di replicazione procedono lungo il cerchio e si incontrano dalla parte opposta, completando la sintesi delle due nuove molecole di DNA. La FIGURA 12-16a mostra un plasmide batterico che si sta replicando. I plasmidi sono piccole molecole di DNA circolare che contengono geni separati da quelli che si trovano sul cromosoma batterico. Poiché i plasmidi sono così più piccoli rispetto al cromosoma batterico, essi possono essere chiaramente fotografati durante la replicazione.



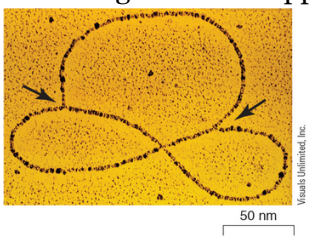

←FIGURA 12-15
*I filamenti guida e in ritardo del DNA*

Un cromosoma eucariotico è costituito da una molecola di DNA lineare molto lunga, ma il processo di replicazione è reso più veloce dalla presenza di più origini ( FIG. 12-16b ). Le due forche che si formano da ciascuna origine di replicazione si muovono in direzione opposta fino ad incontrare le forche originate da siti di replicazione contigui; si ottiene così un cromosoma costituito da due molecole di DNA a doppia elica, ognuna corrispondente ad un cromatidio.

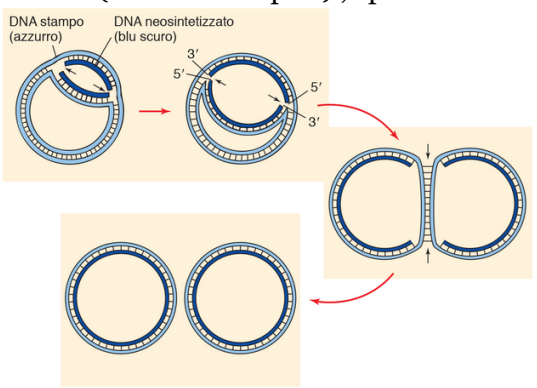
## Alcuni enzimi effettuano la correzione di bozze e la riparazione degli errori nel DNA

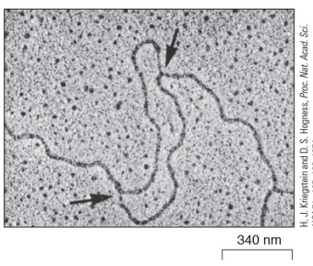
La replicazione del DNA si verifica soltanto una volta in ogni generazione cellulare, ed è importante che tale processo sia il più preciso possibile per evitare la comparsa di mutazioni dannose, o addirittura letali. Benché l'appaiamento delle basi durante la replicazione del DNA sia molto preciso, si verificano comunque degli errori. Per fortuna, si sono evoluti dei meccanismi che assicurano la correzione degli errori di replicazione. Nel corso della replicazione, le DNA polimerasi effettuano una correzione di bozze per ogni nucleotide aggiunto rispetto al suo nucleotide stampo. Se trova un errore di appaiamento tra le basi, la DNA polimerasi rimuove immediatamente il nucleotide errato ed inserisce quello corretto. Alcune mutazioni restano non corrette, ma sono molto infrequenti, nell'ordine di un errore ogni 10 9 -10 10 coppie di basi.

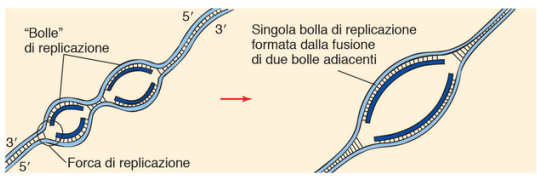
Quando restano degli errori non corretti dalle normali attività di riparazione della DNA polimerasi durante la replicazione, le cellule fanno uso di altri meccanismi di riparazione (sebbene non sia chiaro come gli enzimi di riparazione del DNA riescano ad identificare questi rari e spesso subdoli errori nella enorme quantità di DNA normale). Nella riparazione degli errori di appaiamento (mismatch repair) , speciali enzimi riconoscono i nucleotidi appaiati in modo errato e li rimuovono; quindi, le DNA polimerasi inseriscono i nucleotidi mancanti. L'osservazione che gli individui con un difetto ereditario in un enzima del mismatch repair sono suscettibili allo sviluppo di un tipo di cancro del colon dimostra il ruolo cruciale di tali enzimi nell'assicurare la fedeltà della replicazione del DNA da una generazione all'altra.




**(a)** A sinistra, immagine al microscopio elettronico a trasmissione di un plasmide batterico in corso di replicazione. La maggior parte dei plasmidi e dei cromsomi batterici ha una sola origine di replicazione. La sintesi del DNA inizia in quel punto e procede in entrambe le direzioni, con la formazione di due forche di replicazione *(frecce nere)* che percorrono il cerchio ed infine si incontrano.



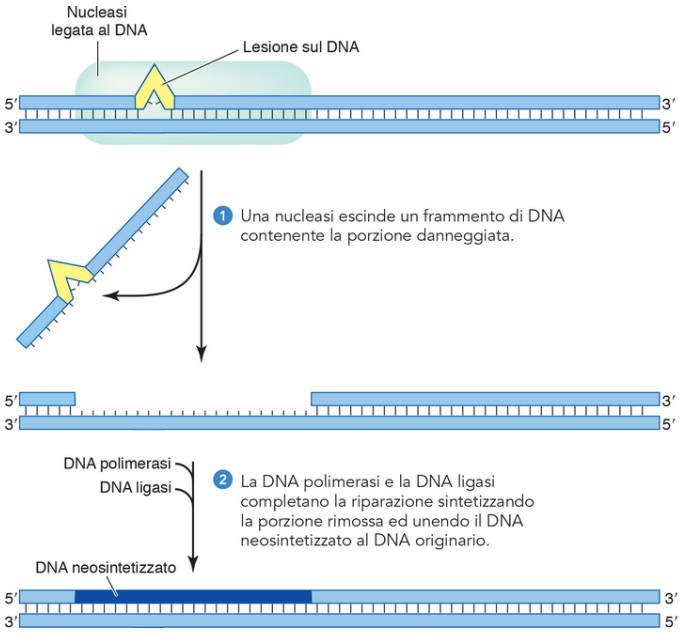

**(b)** Questa fotografia al microscopio elettronico a trasmissione (MET) mostra due forche di replicazione *(frecce nere)* in un segmento di un cromosoma eucariotico che è stato parzialmente replicato. I cromosomi eucariotici presentano origini di replicazione multiple. La sintesi del DNA procede in entrambe le direzioni a partire da ciascuna

FIGURA 12-16
*La replicazione del DNA è bidirezionale nei procarioti e negli eucarioti*
I filamenti guida e i filamenti in ritardo non sono rappresentati in figura.

Nel Capitolo 13 , scoprirete che alcuni tipi di radiazioni e sostanze chimiche, presenti sia nell'ambiente che all'interno delle cellule stesse, causano mutazioni nel DNA. Tali mutazioni sono quasi sempre deleterie e le cellule solitamente le correggono utilizzando uno o più enzimi di riparazione. Sono stati scoperti circa 100 tipi diversi di enzimi di riparazione nel batterio E. coli e circa 130 nelle cellule umane.
Un tipo di riparazione del DNA, "la riparazione per escissione nucleotidica ", è comunemente utilizzato per riparare le lesioni nel DNA (DNA deformato) causate dalle radiazioni ultraviolette del sole o da sostanze chimiche dannose ( FIG. 12-17 ). Tre enzimi sono coinvolti nella riparazione per escissione nucleotidica: una nucleasi che escinde il DNA danneggiato, una DNA polimerasi che aggiunge i nucleotidi corretti ed una DNA ligasi che salda le rotture nello scheletro zucchero-fosfato. Gli individui affetti da xeroderma pigmentosum hanno un difetto ereditario in un enzima del sistema di riparazione per escissione nucleotidica. Questi individui sviluppano numerosi tumori della pelle in età precoce, perché le lesioni al DNA causate dalle radiazioni ultraviolette non vengono riparate.

## I telomeri "incappucciano" le estremità dei cromosomi eucariotici

A differenza del DNA procariotico, che è circolare, i cromosomi eucariotici hanno estremità libere. Dato il modo discontinuo in cui le DNA polimerasi lavorano sul filamento in ritardo, esse sono incapaci di completare la replicazione accuratamente quando raggiungono l'estremità del DNA e quindi lasciano una piccola porzione non replicata, provocando la perdita di un piccolo segmento di DNA ad ogni ciclo cellulare ( FIG. 12-18a ).
La situazione è meno pericolosa di quanto si possa pensare, perché i cromosomi hanno "cappucci" terminali, o telomeri, che non contengono geni che codificano per proteine. I telomeri consistono di brevi e semplici sequenze di DNA non codificante, ricche in guanina, ripetute per molte volte ( FIG. 12-18b ). Ad esempio, negli spermatozoi e nelle cellule uovo umane, la sequenza 5'-TTAGGG-3' è ripetuta più di 1000 volte alle estremità di ogni cromosoma. Per cui, sebbene una piccola quantità di DNA telomerico non si replichi ad ogni divisione cellulare, una cellula può dividersi molte volte prima che cominci a perdere informazioni genetiche essenziali.




←FIGURA 12-17
*Riparazione per escissione nucleotidica del DNA danneggiato*

Il DNA telomerico può essere allungato da uno speciale enzima d ella replicazione del DNA, noto come telomerasi . Questo enzima, che è stato scoperto nel 1984 da Carol W. Greider ed Elizabeth H. Blackburn, è in grado di allungare i cromosomi eucariotici aggiungendo sequenze nucleotidiche alle estremità. La telomerasi è tipicamente presente nelle cellule che possono dividersi un numero illimitato di volte, inclusi i protozoi ed altri eucarioti unicellulari e molti tipi di cellule cancerose . Nell'uomo e negli altri mammiferi, la telomerasi attiva è di solito presente nelle cellule della linea germinale (le cellule da cui originano le cellule uovo e gli spermatozoi) e nelle cellule che si dividono rapidamente (come le cellule del sangue, le cellule del rivestimento interno dell'intestino e le cellule della pelle), ma non nella maggior parte delle cellule somatiche dei tessuti adulti.
Quando la maggior parte delle cellule si divide per attività di riparazione o sostituzione, le estremità dei loro cromosomi si accorciano. È stato dimostrato che nelle cellule cancerose della prostata e del pancreas i telomeri sono insolitamente corti: essi si accorciano fino ad un punto critico, e quindi la telomerasi viene riattivata, e ciò potrebbe spiegare la capacità delle cellule cancerose di proliferare in modo rapido ed incontrollato. L'accorciamento dei telomeri è stato mostrato anche nelle lesioni precancerose di vescica urinaria, mammella, colon, esofago, cavo orale e cervice uterina.
È stato suggerito che la progressiva perdita di DNA ai telomeri possa contribuire all' invecchiamento cellulare e all' apoptosi , cioè la morte programmata della cellula. L'invecchiamento cellulare è stato analizzato fin dagli anni '60, seguendo gli studi pionieristici del biologo americano Leonard Hayflick, il quale mostrò che le normali cellule somatiche umane, cresciute in coltura, perdono la loro capacità di dividersi dopo un certo numero di divisioni cellulari. Inoltre, il numero di divisioni cellulari è determinato dall'età dell'individuo da cui provengono le cellule. Le cellule di un uomo di 70 anni possono dividersi solo da 20 a 30 volte, mentre quelle di un neonato, da 80 a 90 volte.
Le correlazioni tra la capacità delle cellule di andare incontro a divisioni illimitate senza mostrare segni di

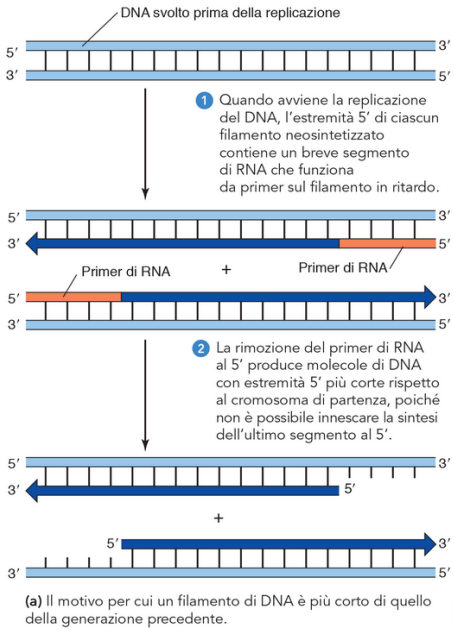
invecchiamento e la presenza dell'attività telomerasica erano state ripetutamente osservate. La prova di una relazione causale, però, non si è resa disponibile finché, nel 2000, Andrea G. Bodnar e i suoi collaboratori alla Geron Corporation si associarono con i ricercatori del Southwestern Medical Center dell'Università del Texas per condurre un test diretto. Utilizzando la tecnologia del DNA ricombinante (vedi Capitolo 15 ), essi infettarono cellule umane normali con un virus che portava l'informazione genetica codificante per la subunità catalitica della telomerasi. Non solo le cellule produssero la telomerasi attiva che allungò significativamente i telomeri, ma le cellule continuarono a dividersi anche dopo il momento in cui le divisioni cellulari sarebbero dovute necessariamente cessare.

Questi risultati hanno ravvivato l'interesse per i telomeri e la telomerasi per ragioni teoriche e pratiche. La possibilità di fornire alle cellule la capacità di dividersi molte più volte di quanto non farebbero normalmente presenta molteplici applicazioni terapeutiche, particolarmente nel caso in cui si debbano rimpiazzare cellule perse o danneggiate. Tuttavia, dare alle cellule la possibilità di dividersi in maniera illimitata potrebbe avere anche delle serie conseguenze. Ad esempio, se trapiantate in un organismo umano, le cellule contenenti una telomerasi attiva potrebbero comportarsi come cellule tumorali.

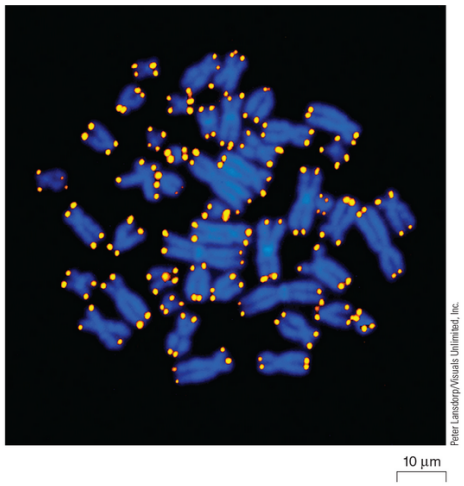
Le cellule tumorali hanno la capacità di dividersi centinaia di volte in coltura; infatti, esse sono virtualmente immortali. La maggior parte delle cellule tumorali, incluse quelle umane del cancro alla mammella, al polmone, al colon, alla prostata e al pancreas, possiede telomerasi per mantenere invariata la lunghezza dei telomeri e probabilmente per resistere all'apoptosi. I ricercatori stanno cercando di sviluppare dei farmaci antitumorali che inibiscano l'attività della telomerasi. Si sta studiando anche un trattamento alternativo per il cancro, che consiste nel riuscire a fare in modo che il sistema immunitario riconosca ed attacchi le cellule tumorali in base al fatto che contengono le telomerasi.

**Verifica**

- In che modo Meselson e Stahl verificarono che la replicazione del DNA è semiconservativa?
- Perché la replicazione del DNA è continua su un ?lamento e discontinua sull'altro?
- Fate un confronto tra la riparazione degli errori di appaiamento (mismatch repair) e la riparazione per escissione nucleotidica.




**(a)** Il motivo per cui un filamento di DNA è più corto di quello della generazione precedente.




**(b)** Immagine al microscopio ottico di cromosomi umani con i telomeri marcati con tracciati fluorescenti (*giallo*).

FIGURA 12-*18 I telomeri*

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

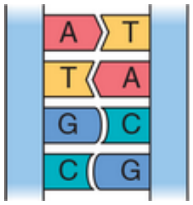
12.1

1. Riassumere le prove accumulate nel periodo tra gli anni '40 e i primi anni '50 a dimostrazione che il DNA è il materiale genetico.
    - Molti tra i primi genetisti pensavano che i geni fossero costituiti da proteine; se da un lato era noto che le proteine erano molecole complesse e molto variabili, si riteneva dall'altro che gli acidi nucleici fossero molecole semplici e con una scarsa capacità di immagazzinare le informazioni.
    - Molte prove sperimentali sostennero l'idea che il DNA (acido desossiribonucleico) fosse il materiale genetico. Negli esperimenti di trasformazione, il DNA di un ceppo batterico può conferire ad un ceppo batterico correlato nuove caratteristiche genetiche.
    - Quando una cellula batterica viene infettata da un batteriofago (virus), solamente il DNA del virus entra nella cellula; questo DNA è sufficiente per consentire al virus di riprodursi e dare origine a nuove particelle virali.
2. Enunciare gli interrogativi a cui i seguenti esperimenti classici hanno fornito una risposta: l'esperimento di trasformazione di Griffith, il contributo di Avery al lavoro di Griffith, gli esperimenti di Hershey-Chase.
    - L'esperimento di trasformazione di Griffith ha fornito una risposta al seguente interrogativo:

può un tratto genetico essere trasmesso da un ceppo batterico ad un altro? (La risposta è sì).
- Gli esperimenti di Avery hanno fornito una risposta al seguente interrogativo: quale molecola è responsabile della trasformazione batterica? (La risposta è il DNA).
- Gli esperimenti di Hershey-Chase hanno fornito una risposta al seguente interrogativo: il materiale genetico dei batteriofagi (fagi) è costituito da DNA o da proteine? (La risposta è DNA).

12.2

3. Schematizzare come i nucleotidi si legano tra loro per formare un singolo filamento di DNA.
   - Il modello di Watson e Crick della struttura del DNA dimostrò come le informazioni possono essere immagazzinate nella struttura stessa della molecola di DNA e come i filamenti di DNA possono essere utilizzati come stampo per la loro stessa replicazione.
   - Il DNA è un polimero di nucleotidi . Ciascuna subunità nucleotidica contiene una base azotata, che può essere una purina ( adenina o guanina ) oppure una pirimidina ( timina o citosina ). Ciascuna base è legata covalentemente ad uno zucchero pentoso, il desossiribosio , che a sua volta è legato covalentemente ad un gruppo fosfato.
   - Lo scheletro di ogni singola catena di DNA è formato dall'alternanza di zuccheri e gruppi fosfato legati mediante legami fosfodiesterici covalenti. Ciascun gruppo fosfato è legato al carbonio 5' di un desossiribosio e al carbonio 3' del desossiribosio contiguo.
4. Illustrare come i due filamenti di DNA sono orientati l'uno rispetto all'altro.
   - Ciascuna molecola di DNA è composta da due catene polinucleotidiche che si associano a costituire una doppia elica . Le due catene sono antiparallele (cioè hanno orientamento opposto); a ciascuna estremità della molecola di DNA, un filamento presenta un gruppo fosfato legato al carbonio 5' del desossiribosio ( estremità 5' ) e l'altro filamento presenta un gruppo ossidrilico legato al carbonio 3' del desossiribosio ( estremità 3' ).
5. Esporre le regole dell'appaiamento delle basi nel DNA e descrivere come si legano tra loro le basi complementari.
   - Le due catene dell'elica sono tenute insieme da legami a idrogeno che si formano tra specifiche coppie di basi. L'adenina (A) forma due legami a idrogeno con la timina (T), mentre la guanina (G) forma tre legami a idrogeno con la citosina (C).
   - L' appaiamento complementare tra le basi A e T e tra le basi C e G è alla base delle regole di Chargaff, che stabiliscono che A = T e C = G.
   - Dal momento che i due filamenti di DNA sono tenuti insieme dall'appaiamento complementare tra le basi, è possibile prevedere la sequenza di basi di un filamento se si conosce la sequenza dell'altro.




12.3

6. Citare le prove prodotte dall'esperimento di Meselson e Stahl che hanno portato gli studiosi a distinguere tra la replicazione semiconservativa del DNA e i modelli alternativi.
   - Quando cellule di E. coli sono fatte crescere per molte generazioni in un mezzo contenente azoto pesante ( 15 N), esse lo incorporano nel proprio DNA. Quando le cellule sono trasferite dal mezzo 15 N ad un mezzo 14 N ed isolate dopo una o due generazioni, la densità del DNA di ciascun gruppo è quella che ci si aspetta nel caso in cui la replicazione sia semiconservativa. Nella replicazione semiconservativa , ciascuna doppia elica figlia contiene un filamento che deriva dalla molecola parentale ed uno di nuova sintesi.
7. Riassumere come si replica il DNA ed identificare alcuni aspetti peculiari del processo.
   - Durante la replicazione del DNA , i due filamenti della doppia elica si svolgono e ciascun filamento serve da stampo per la sintesi del nuovo filamento complementare. La replicazione ha inizio quando la DNA primasi sintetizza un corto RNA primer . Quindi, la DNA polimerasi aggiunge nuove subunità nucleotidiche alla catena di DNA in allungamento.
   - Altri enzimi e proteine sono necessari per svolgere l'elica e stabilizzare i due filamenti separati. Le DNA elicasi svolgono la doppia elica e le topoisomerasi impediscono la formazione di grovigli e nodi.
8. Spiegare le complessità della replicazione del DNA che la rendono (a) bidirezionale e (b) continua su un filamento e discontinua sull'altro.
   - La replicazione del DNA è bidirezionale; inizia in un punto che prende il nome di origine di replicazione e da lì procede nelle due direzioni opposte. Un cromosoma eucariotico può avere più origini di replicazione; quindi, la sintesi del DNA può avvenire in più punti contemporaneamente.
   - La sintesi del DNA procede sempre in direzione 5' → 3'. Ciò richiede che un filamento (filamento in ritardo) sia sintetizzato in modo discontinuo, cioè in piccoli tratti chiamati frammenti di Okazaki . La DNA primasi sintetizza corti RNA primer sul filamento in ritardo

e la DNA ligasi lega insieme i frammenti di Okazaki del DNA neosintetizzato. Il filamento antiparallelo (filamento guida ) viene invece sintetizzato in maniera continua.

9. Spiegare in che modo gli enzimi effettuano la correzione delle bozze e la riparazione degli errori nel DNA.
    - Durante la replicazione, le DNA polimerasi effettuano una correzione di bozze ad ogni nucleotide aggiunto rispetto al suo nucleotide stampo. Quando trova un errore nell'appaiamento delle basi, la DNA polimerasi rimuove immediatamente il nucleotide errato ed inserisce quello corretto.
    - Nella riparazione degli errori di appaiamento (mismatch repair), degli enzimi riconoscono i nucleotidi appaiati in modo errato e li rimuovono; le DNA polimerasi quindi inseriscono i nucleotidi mancanti.
    - La riparazione per escissione nucleotidica è comunemente utilizzata per riparare le lesioni al DNA causate dalle radiazioni ultraviolette del sole o da sostanze chimiche dannose. Tre sono gli enzimi coinvolti: una nucleasi che escinde il DNA danneggiato, una DNA polimerasi che aggiunge i nucleotidi corretti ed una DNA ligasi che salda le rotture nello scheletro zucchero-fosfato.
10. Definire il termine telomero ; descrivere le possibili correlazioni tra telomerasi e invecchiamento cellulare e tra telomerasi e cancro.
    - Le estremità dei cromosomi eucariotici, chiamate telomeri , sono brevi sequenze ripetute di DNA non codificante. I telomeri si accorciano un po' ad ogni divisione cellulare, ma possono essere allungati dall'enzima telomerasi .
    - In alcune cellule, la mancanza di attività telomerasica può essere la causa dell' invecchiamento cellulare , per cui le cellule perdono la capacità di dividersi dopo un certo numero di divisioni.
    - La maggior parte delle cellule tumorali , incluse quelle umane del cancro alla mammella, al polmone, al colon, alla prostata e al pancreas, posseggono telomerasi per mantenere intatta la lunghezza dei telomeri e probabilmente per resistere all' apoptosi .

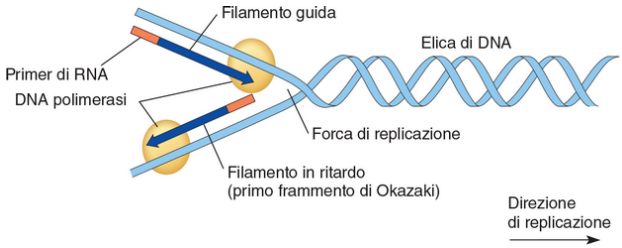
## AUTOVERIFICHE

1. Quando Griffith iniettò in un topo una miscela di pneumococchi vivi di un ceppo rugoso e di pneumococchi uccisi al calore di un ceppo liscio, scoprì che: (a) il topo non subiva alcun danno; (b) il topo morto conteneva batteri vivi del ceppo rugoso; (c) il topo morto conteneva batteri vivi del ceppo liscio; (d) i batteri del ceppo liscio avevano trasferito il loro DNA al topo; (e) i batteri del ceppo rugoso avevano trasferito il loro DNA ai batteri del ceppo liscio.
2. Quale delle seguenti considerazioni hanno spinto Avery e i suoi collaboratori a fare gli esperimenti che hanno dimostrato che il fattore trasformante nei batteri è il DNA? (a) Il fatto che A = T e G = C; (b) il modello della struttura del DNA di Watson e Crick; (c) gli studi di Meselson e Stahl sulla replicazione del DNA in E. coli ; (d) gli esperimenti di Griffith sui ceppi di pneumococchi lisci e rugosi; (e) gli esperimenti di Hershey e Chase sulla riproduzione dei batteriofagi.
3. Nell'esperimento di Hershey e Chase con i batteriofagi: (a) i batteri si trasformano in cellule virulente; (b) si dimostra che il DNA è il fattore trasformante visto in precedenti esperimenti di trasformazione batterica; (c) si dimostra che la replicazione è semiconservativa; (d) si dimostra che il DNA virale entra nelle cellule batteriche ed è responsabile della produzione di nuove particelle virali; (e) i virus iniettano, nelle cellule batteriche, le proteine ma non il DNA.
4. I due filamenti complementari della doppia elica di DNA sono tenuti insieme da: (a) legami ionici tra le molecole di desossiribosio; (b) legami ionici tra i gruppi fosfato; (c) legami covalenti tra le basi dei nucleotidi; (d) legami covalenti tra le molecole di desossiribosio; (e) legami a idrogeno tra le basi dei nucleotidi.
5. Se un segmento di DNA ha la sequenza , il segmento complementare di DNA ha la sequenza:
6. Ciascun filamento di DNA ha uno scheletro che consiste in un'alternanza di: (a) purine e pirimidine; (b) basi nucleotidiche; (c) legami a idrogeno e legami fosfodiesterici; (d) desossiribosio e fosfato; (e) fosfato e legami fosfodiesterici.
7. Gli esperimenti in cui Meselson e Stahl hanno fatto crescere i batteri in presenza di azoto pesante hanno definitivamente dimostrato che il DNA: (a) è una doppia elica; (b) si replica in modo semiconservativo; (c) è costituito da subunità nucleotidiche; (d) presenta un appaiamento complementare delle basi; (e) è sempre sintetizzato in direzione 5' → 3'.
8. L'affermazione "il DNA si replica con un meccanismo semiconservativo" significa che: (a) solo un filamento di DNA è copiato; (b) prima è copiato un filamento e poi è copiato l'altro filamento; (c) i due filamenti di una doppia elica hanno un'identica sequenza di basi; (d) alcune parti di un singolo filamento di DNA sono vecchie mentre altre parti sono di nuova sintesi; (e) ciascuna doppia elica è costituita da un filamento vecchio e da uno di nuova sintesi.

9. Le topoisomerasi: (a) sintetizzano il DNA; (b) sintetizzano i primer di RNA; (c) uniscono i frammenti di Okazaki; (d) tagliano e riuniscono il DNA per ridurre la tensione torsionale; (e) impediscono che i singoli filamenti di DNA si riassocino per formare una doppia elica.
10. Un filamento in ritardo è formato: (a) unendo i primer; (b) unendo i frammenti di Okazaki; (c) unendo i filamenti guida; (d) rompendo un filamento guida; (e) unendo i primer, i frammenti di Okazaki e i filamenti guida.
11. La fonte immediata di energia per la replicazione del DNA è: (a) l'idrolisi dei nucleotidi con tre gruppi fosfato; (b) l'ossidazione del NADPH; (c) l'idrolisi di ATP; (d) il trasporto di elettroni; (e) la rottura di legami a idrogeno.
12. Quale delle seguenti affermazioni relative ai cromosomi eucariotici è falsa ? (a) I cromosomi eucariotici hanno estremità libere; (b) i telomeri contengono geni codificanti per proteine; (c) la telomerasi allunga il DNA telomerico; (d) l'accorciamento dei telomeri può contribuire all'invecchiamento cellulare; (e) le cellule con telomerasi attive possono andare incontro a numerose divisioni cellulari. 5′ — CATTAC — 3′

**PENSIERO CRITICO**

1. Quali caratteristiche deve avere una molecola per poter essere depositaria dell'informazione genetica?
2. Quali importanti caratteristiche della struttura del DNA sono congrue con il suo ruolo di base chimica dell'ereditarietà?
3. Da che cosa i telomeri proteggono le estremità dei cromosomi?
4. ANALISI DEI DATI . Nell'esperimento di Hershey-Chase, l'isotopo radioattivo 32 P era presente nelle cellule batteriche (nel pellet), mentre l'isotopo radioattivo 35 S veniva ritrovato all'esterno delle cellule batteriche (nel sopranatante). Cosa avrebbero dovuto concludere i ricercatori nel caso fosse stato vero il contrario — ovvero se l'isotopo radioattivo 35 S fosse stato all'interno delle cellule e l'isotopo radioattivo 32 P fosse rimasto all'esterno?
5. ANALISI DEI DATI . Nello schema seguente della replicazione del DNA, evidenziate le estremità 3' e 5' del filamento guida, del filamento in ritardo e dei due filamenti della doppia elica di DNA.
6. CONNESSIONE EVOLUTIVA . In che modo il fatto che il DNA è la molecola universale dell'ereditarietà in tutte le cellule supporta la teoria evoluzionistica?




DNA: il depositario dell'informazione genetica

# Articolo I. Espressione genica 13

Nel capitolo precedente, abbiamo detto che le informazioni sono immagazzinate nelle molecole di DNA ed abbiamo anche visto come le cellule replichino in modo accurato le sequenze nucleotidiche così che possano essere accuratamente trasmesse alle generazioni successive. È noto ormai che le caratteristiche fondamentali della doppia elica del DNA, descritte in origine da Watson e Crick, sono praticamente le stesse in tutte le cellule, dai batteri all'uomo.

Alla metà degli anni '50, divenne evidente che le informazioni genetiche contenute nella sequenza di basi del DNA rappresentano il punto di partenza per la sintesi di tutte le proteine necessarie alla cellula; tuttavia, trascorse più di un decennio dalla pubblicazione del famoso articolo di Watson e Crick prima che i ricercatori capissero come le cellule fossero capaci di convertire l'informazione del DNA nella sequenza di aminoacidi delle proteine. Molte scoperte derivarono da studi sul funzionamento dei geni batterici. Dopo la scoperta della struttura del DNA, le cellule procariotiche furono considerate le più adatte per effettuare queste ricerche, in quanto era possibile farle crescere velocemente e facilmente, nonché per la loro caratteristica di contenere minime quantità di DNA necessarie per la crescita e la riproduzione cellulare. La validità e l'utilità di questo approccio sono state ripetutamente confermate, dal momento che i ricercatori hanno compreso che tutti gli organismi condividono somiglianze genetiche fondamentali.
In questo capitolo esamineremo inizialmente le prove sperimentali, accumulate nella prima metà del

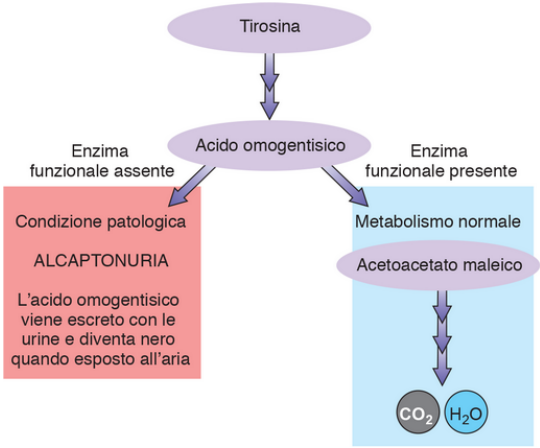
ventesimo secolo, che la maggior parte dei geni specifica la struttura delle proteine. Poi considereremo come il DNA a livello molecolare sia in grado di influenzare il fenotipo degli organismi, con un processo noto come espressione genica. L' espressione genica è una complessa serie di eventi attraverso cui l'informazione contenuta nella sequenza di basi del DNA è decodificata ed utilizzata per specificare la costruzione delle proteine di una cellula. Le proteine prodotte influiscono sul fenotipo in modi differsi; questi effetti possono andare da un tratto fisico prontamente visibile, al più fine cambiamento rilevabile soltanto a livello biochimico. La prima tappa dell'espressione genica è la trascrizionE, ovvero la sintesi delle molecole di RNA complementari al DNA (vedi fotografia). La seconda tappa importante dell'espressione genica è la traduzione, durante la quale l'RNA è utilizzato come stampo per la sintesi del polipeptide.

## 13.1 LA SCOPERTA DELLA RELAZIONE GENE-PROTEINA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Riassumere le prove iniziali riguardo al fatto che la maggior parte dei geni specifica la struttura delle proteine.
2. Descrivere gli esperimenti di Beadle e Tatum su Neurospora .

L'idea che esistesse un legame fra proteine e geni nasce agli inizi del ventesimo secolo, subito dopo la riscoperta delle leggi di Mendel da parte di nuovi ricercatori. Nella prima edizione del suo libro *Errori congeniti del metabolismo* (1908), il fisico e biochimico Archibald Garrod descrisse una malattia genetica chiamata alcaptonuria , che presentava un modello differeditarietà autosomica recessiva semplice. Tale condizione coinvolge la via metabolica che degrada l'aminoacido tirosina, convertendolo alla fine in anidride carbonica ed acqua. Le urine degli individui affetti accumulano un intermedio di questa via, l'acido omogentfisico, che le rende scure quando esposte all'aria ( FIG. 13-1 ). Altri sintomi dell'alcaptonuria sono lo sviluppo di artrite e, negli uomini, calcoli alla prostata.
In quel periodo gli enzimi erano noti ma la loro natura proteica non era ancora stata stabilita. Garrod ipotizzò che le persone affette da alcaptonuria fossero prive dell'enzima in grado di ossidare l'acido omogentfisico. Prima che fosse pubblicata la seconda edizione del suo libro, nel 1923, si scoprì in effetti che le persone affette da questa patologia erano davvero prive dell'enzima che ossida l'acido omogentfisico.




L'ipotesi di Garrod era corretta: la mutazione di un gene poteva essere associata all'assenza di uno specifico enzima. Poco dopo, nel 1926, il biochimico statunitense James Sumner purificò un enzima differso, l'ureasi, e dimostrò che era una proteina; questa scoperta fu la prima chiara dimostrazione che gli enzimi sono proteine. Nel 1946 Sumner fu insignito del premio Nobel per la Chimica, essendo stato il primo a cristallizzare un enzima.

FIGURA 13-1 *Un "errore congenito del metabolismo"*
Garrod ipotizzò che l'alcaptonuria fosse una malattia genetica causata dall'assenza dell'enzima acido omogentfisico ossidasi, che normalmente converte l'acido omogentfisico in acetoacetato maleico. L'acido omogentfisico si accumula così nel sangue e successivamente viene escreto attraverso le urine, che diventano nere a contatto con l'aria.

### Beadle e Tatum proposero l'ipotesi un gene-un enzima

Un ulteriore progresso nella comprensione delle relazioni fra geni ed enzimi si ebbe nei primi anni '40, quando i genetisti americani George Beadle ed Edward Tatum affrontarono il problema da un altro punto di vista. Fino ad allora la maggior parte degli sforzi si era concentrata sullo studio di loci correlati a fenotipi conosciuti nel tentativo di determinare quali reazioni biochimiche essi governassero. I ricercatori studiavano geni già identificati, come quelli che determinano il colore degli occhi in *Drosophila* oppure i pigmenti nelle piante, scoprendo così che tali caratteri sono controllati da una serie di reazioni biosintetiche. Quello che i ricercatori non erano ancora riusciti a chiarire era se i geni stessi agivano da enzimi o se, tramite un meccanismo più complesso, erano in grado di controllarne il funzionamento in via indiretta.
Beadle e Tatum capovolsero il problema. Anziché tentare di identificare gli enzimi controllati da singoli geni, decisero di cercare mutazioni che interferivano con reazioni metaboliche note per la sintesi di componenti essenziali, come aminoacidi e vitamine. Essi utilizzarono per i loro studi la muffa del pane *Neurospora*, sulla base di alcune importanti caratteristiche di questo organismo. Prima di tutto, il ceppo selvatico (wild-type) di *Neurospora* è facilmente coltivato in laboratorio in coltura cellulare; l'aggettivo wild-type (selvatico) si riferisce ad un individuo con fenotipo normale. Neurospora, quando viene fatta

crescere in un mezzo di coltura minimo contenente zucchero, sali e la vitamina biotina, è in grado di fabbricare tutte le molecole biologiche fondamentali per la sua sopravvivenza. Un ceppo mutante che non sia in grado di sintetizzare una sostanza, come per esempio un aminoacido, può ugualmente crescere se tale sostanza viene aggiunta semplicemente al terreno minimo.

In secondo luogo, Neurospora è un organismo ideale a livello sperimentale in quanto cresce principalmente come organismo aploide; perciò, una mutazione recessiva in un gene può essere immediatamente identificata in quanto la sua espressione non viene mascherata dall'allele normale presente nel cromosoma omologo.
Beadle e Tatum iniziarono esponendo migliaia di spore aploidi asessuate di Neurospora selvatica (wild-type) ai raggi X o alle radiazioni ultraviolette per ottenere ceppi mutanti. Ogni ceppo irradiato venne inizialmente cresciuto in terreno completo, che conteneva tutti gli aminoacidi e le vitamine che la Neurospora normalmente produce. Successivamente ogni ceppo venne coltivato sul terreno minimo descritto in precedenza. Circa l'1-2% dei ceppi che crescevano sul terreno completo non crescevano se trasferiti sul terreno minimo. Beadle e Tatum ipotizzarono che questi ceppi portassero una mutazione che li rendeva incapaci di produrre uno dei componenti necessari per la crescita. Un'ulteriore analisi dei ceppi mutanti fatti crescere su terreni contenenti varie combinazioni di aminoacidi, vitamine e altri nutrienti permise ai ricercatori di determinare quale composto fosse richiesto per la crescita ( FIG. 13-2 ).

Il lavoro su *Neurospora* rivelò che ciascun ceppo mutante presentava una mutazione in un solo locus genico e che ciascun gene influenzava solo un enzima. Questa corrispondenza univoca fra geni ed enzimi fu schematizzata nell'ipotesi: *un gene un enzima*. Nel 1958 Beadle e Tatum furono insigniti del premio Nobel per la Medicina grazie alla scoperta che i geni regolano specifici eventi chimici. Le scoperte di Beadle e Tatum e di altri scienziati aumentarono le conoscenze sulle caratteristiche dei geni e la loro natura chimica. L'idea che un gene codificasse l'informazione richiesta per produrre un singolo enzima rimase in voga circa un decennio, fino a quando ulteriori scoperte scientifiche costrinsero a modificare la definizione appena descritta.

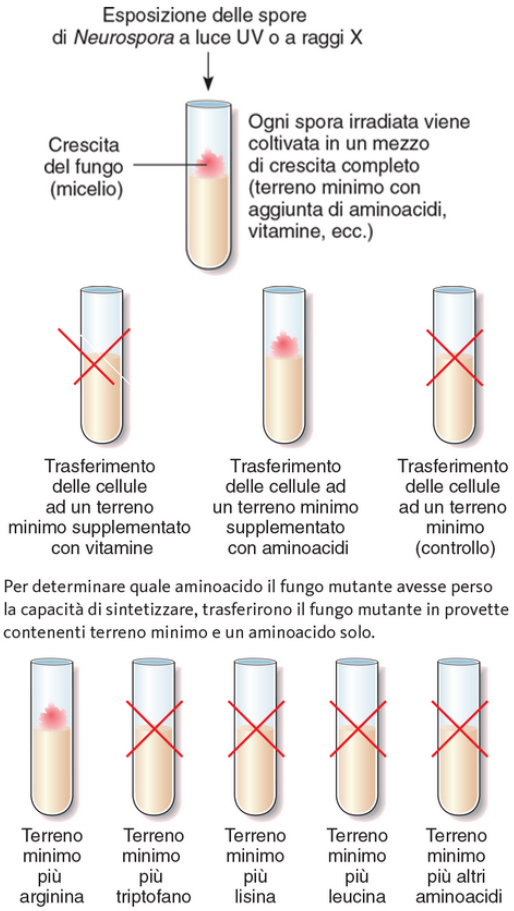
Alla fine degli anni '40, era divenuto evidente che i geni controllavano non solo gli enzimi, ma anche altre proteine. Nel 1949 il chimico statunitense Linus Pauling e i suoi collaboratori riuscirono a dimostrare che la struttura dell'emoglobina può essere alterata da una mutazione in un singolo gene. Questa particolare forma mutante di emoglobina è associata ad una malattia genetica, l'anemia falciforme (discussa nel Capitolo 16 ). Nel 1957, il biochimico britannico Vernon Ingram estese la ricerca di Pauling dimostrando che le differenze tra emoglobina normale ed emoglobina falcemica erano dovute alla sostituzione di un singolo aminoacido.

Inoltre, vari studi mostrarono che molte proteine sono costituite da 2 o più catene polipeptidiche, ognuna delle quali può essere controllata da un locus differso. Per esempio, l'emoglobina contiene 2 tipi di catene polipeptidiche, le subunità alfa e le beta (vedi la struttura dell'emoglobina in Fig. 3-22a ). L'anemia falciforme è dovuta ad una mutazione che altera le subunità beta.

La definizione di gene è stata quindi estesa per affermare che un gene codifica una catena polipeptidica; anche questa definizione è solo parzialmente corretta, benché ancora oggi, come vedremo meglio nel prosieguo del capitolo, continuiamo a definire un gene in termini del suo prodotto.
Sebbene l'elegante lavoro di Beadle, Tatum ed altri avesse dimostrato che i geni sono espressi in forma di proteine, il meccanismo dell'espressione genica restava completamente sconosciuto. In seguito alla scoperta da parte di Watson e Crick della struttura del DNA, numerosi ricercatori cominciarono a dedicarsi alla comprensione dell'esatta modalità con cui si verifica l'espressione genica. Cominceremo con una visione generale dell'espressione genica e in seguito ne considereremo in dettaglio i vari passaggi.

**Verifica**

- In cosa consiste l'ipotesi un gene-un enzima?
- Quali sono stati i contributi di ciascuno degli scienziati A. Garrod, G. Beadle ed E. Tatum, L. Pauling, alla comprensione della relazione tra geni e proteine?




**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE*

I geni possono codificare per enzimi?

SVILUPPARE UN'IPOTESI:

Le mutazioni indotte nella muffa del pane corrispondono all'assenza di enzimi funzionali.

EFFETTUARE ESPERIMENTI: Beadle e Tatum irradiarono spore di Neurospora per ottenere mutazioni. Le singole spore furono poste in coltura in un mezzo completo contenente tutti gli aminoacidi, le vitamine e gli altri nutrienti che sono in genere sintetizzate da Neurospora. Essi identificarono le esigenze nutrizionali dei ceppi mutanti in base alla loro capacità di crescita in terreno minimo a cui venivano aggiunti singoli aminoacidi o vitamine.

FIGURA 13-2

*Gli esperimenti di Beadle-Tatum*

## 13.2 L'INFORMAZIONE FLUISCE DAL DNA ALLE PROTEINE: una visione d'insieme

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Descrivere il flusso dell'informazione genetica nelle cellule, dal DNA all'RNA ai polipeptidi.
4. Confrontare le strutture del DNA e dell'RNA.
5. Spiegare perché il codice genetico viene definito ridondante e praticamente universale e discutere come queste caratteristiche possano rifletterne la storia evolutiva.

Anche se la sequenza di basi del DNA determina la sequenza degli aminoacidi nelle proteine, l'informazione contenuta nel DNA non è usata direttamente dalla cellula; infatti, un altro acido nucleico, l' RNA o acido ribonucleico , funge da intermediario tra il DNA e le proteine. Quando un gene codificante una proteina è espresso, si forma prima RNA come copia dell'informazione contenuta nel DNA. È questo RNA che fornisce l'informazione per dirigere la sintesi proteica.

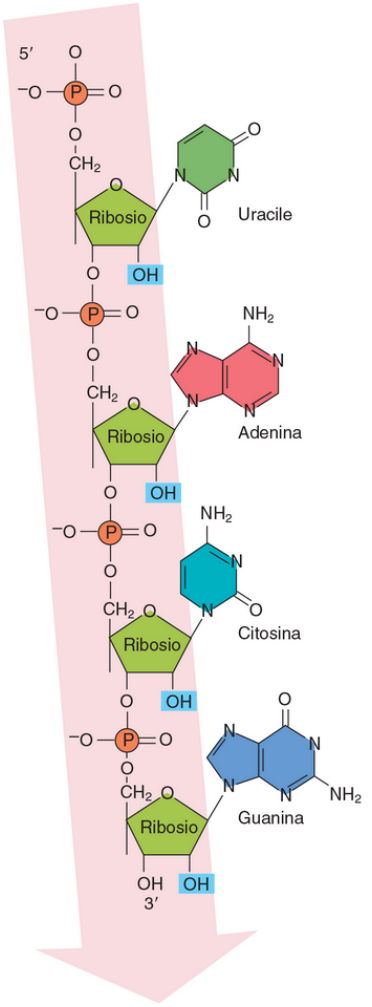
Come il DNA, anche l'RNA è un polimero di nucleotidi, ma presenta alcune importanti differenze ( FIG. 13-3 ). L'RNA è di solito a singolo filamento, anche se a volte regioni interne di alcuni RNA possono contenere sequenze complementari che si ripiegano e si appaiano dando origine a brevi tratti a doppio filamento. Come mostra la Figura 13-3 , nell'RNA lo zucchero è il ribosio , che è simile al desossiribosio del DNA ma con un gruppo ossidrilico in più in posizione 2'. (Si paragoni il ribosio con il desossiribosio del DNA, mostrato in Fig. 12-3 ; quest'ultimo in posizione 2' presenta soltanto un atomo di idrogeno). La base uracile sostituisce la timina. L'uracile, come la timina, è una pirimidina e può formare due legami a idrogeno con l'adenina; quindi, uracile e adenina sono una coppia di basi complementari.

### Il DNA è trascritto per sintetizzare l'RNA

Il processo con il quale avviene la sintesi dell'RNA assomiglia alla replicazione del DNA, in quanto la sequenza delle basi nel filamento di RNA è determinata dall'appaiamento di basi complementari con uno

dei due filamenti del DNA, definito filamento stampo o filamento trascritto (FIG. 13-4). Poiché la sintesi di RNA consiste nel copiare l'informazione contenuta in un tipo di acido nucleico (DNA) in un altro acido nucleico (RNA), definiamo questo processo trascrizione.

Sono trascritti tre tipi specifici di molecole di RNA: RNA messaggero, RNA di trasferimento ed RNA ribosomale. L' RNA messaggero (mRNA) consiste in un singolo filamento che porta l'informazione per la sintesi di una proteina. Ciascuno dei circa 45 RNA di trasferimento (tRNA), anche detti RNA transfer , consiste in un singolo filamento che si ripiega su se stesso per assumere una forma specifica. Ogni tRNA si lega esclusivamente ad uno specifico aminoacido e lo trasporta al *ribosoma*. (Dal momento che esistono più tipi di molecole di tRNA di quanti siano gli aminoacidi, molti aminoacidi sono trasportati da due o più tipi di tRNA). L' RNA ribosomale ( rRNA ), che si trova in forma globulare, rappresenta una porzione importante della struttura dei ribosomi e presenta funzioni catalitiche essenziali nel corso della sintesi proteica.




←FIGURA 13-3 *La struttura nucleotidica dell'RNA*
Le subunità nucleotidiche dell'RNA sono unite da legami fosfodiesterici 5' → 3', come nel DNA. Sono presenti l'adenina, la guanina e la citosina, come nel DNA, mentre l'uracile rimpiazza la timina. Tutti e quattro i nucleotidi contengono lo zucchero ribosio a cinque atomi di carbonio, che ha un gruppo ossidrilico ( in blu ) sul carbonio in posizione 2'.

## L'RNA è tradotto per sintetizzare un polipeptide

La Figura 13-4 mostra anche il secondo passaggio dell'espressione genica, con cui l'informazione trascritta nell'mRNA è utilizzata per specificare la sequenza degli aminoacidi di un polipeptide. Questo processo è chiamato traduzione in quanto è la trasformazione del "linguaggio a nucleotidi" presente nell'mRNA nel "linguaggio ad aminoacidi" della proteina.

Una sequenza di tre basi consecutive nell'mRNA, chiamata codone , specifica per un aminoacido. Per esempio, un codone che corrisponde all'aminoacido fenilalanina è 5'—UUC—3'. Dal momento che ciascun codone richiede tre nucleotidi, il codice è chiamato codice a triplette . L'insieme dei codoni per gli aminoacidi e per i segnali di inizio e di terminazione della sintesi costituisce il codice genetico ( FIG. 13-5 ).

**PUNTO CHIAVE** La sintesi proteica richiede due passaggi fondamentali:
DNA —trascrizione→ RNA —trascrizione→ proteina

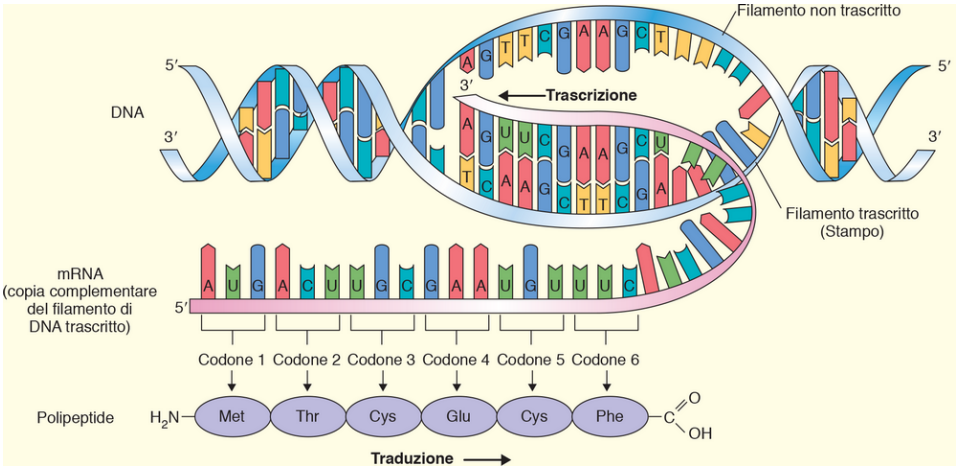
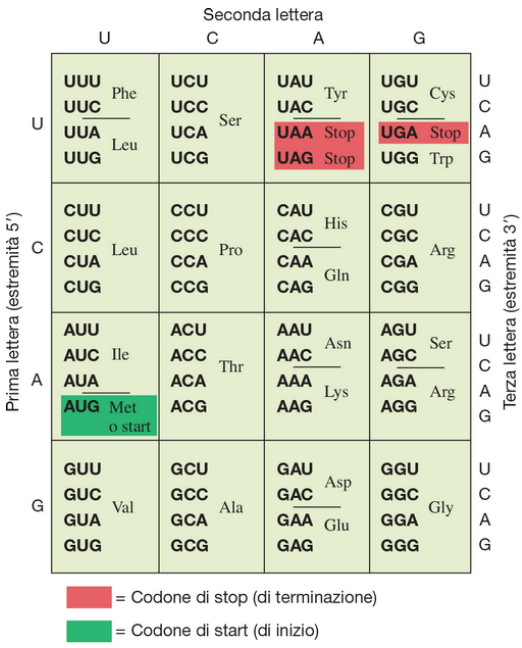



FIGURA 13-4 *Una visione d'insieme della trascrizione e della traduzione*
Nella trascrizione, viene sintetizzato un RNA messaggero che è la specificare la sequenza lineare degli aminoacidi nella catena polipepticopia complementare di uno dei due filamenti del DNA, il filamento dica. La traduzione richiede tRNA e ribosomi (non mostrati). La figura stampo. L'mRNA porta l'informazione genetica sotto forma di gruppi rappresenta la trascrizione e la traduzione nei batteri. Negli eucarioti, di tre basi, chiamati codoni, ognuno dei quali specifica un aminoacido. La trascrizione avviene nel nucleo, mentre la traduzione si verifica nel I codoni dell'RNA messaggero sono tradotti uno dopo l'altro, così da citoplasma.

Gli RNA di trasferimento (tRNA) sono componenti critici del macchinario decodificante; ciascun tRNA è un "adattatore" molecolare che connette gli aminoacidi e gli acidi nucleici, in quanto può: (1) legarsi con un aminoacido specifico e (2) riconoscere sull'mRNA il codone corrispondente a quel determinato aminoacido

( FIG. 13-6 ). Il riconoscimento del codone è possibile perché ciascun tRNA ha una sequenza di tre basi, chiamata anticodone , che si associa mediante legami a idrogeno al codone corrispondente sull'mRNA con un meccanismo di complementarietà. Nel nostro esempio, l'esatto anticodone per la fenilalanina è 3'—AAG—5'.

La traduzione richiede che: (1) gli anticodoni del tRNA siano legati mediante legami a idrogeno al codone complementare presente sull'mRNA e (2) gli aminoacidi portati dai tRNA siano uniti insieme nell'ordine specificato dall'mRNA. A ciò provvedono i ribosomi , organuli complessi costituiti da due differenti subunità, contenenti ciascuna varie proteine ed rRNA (vedi Capitolo 4 per la descrizione della struttura e funzione dei ribosomi). I ribosomi si attaccano all'estremità 5' dell'mRNA e, scorrendo lungo il messaggero, permettono ai tRNA di legarsi in sequenza ai codoni dell'mRNA. In tal modo, gli aminoacidi vengono posizionati correttamente e legati tra loro nella giusta sequenza, tramite *legami peptidici*, per formare un polipeptide.




←FIGURA 13-5 *Il codice genetico*
Il codice genetico specifica tutte le possibili combinazioni di tre basi che costituiscono i codoni dell'mRNA. Dei 64 codoni possibili, 61 specificano aminoacidi (vedi Fig. 3-17 per la spiegazione delle abbreviazioni). Il codone AUG specifica l'aminoacido metionina, ma è anche un segnale di inizio della traduzione per il ribosoma ("start"). Tre codoni (UAA, UGA e UAG) non specificano alcun aminoacido, ma sono invece dei segnali per la terminazione della sintesi proteica ("stop").

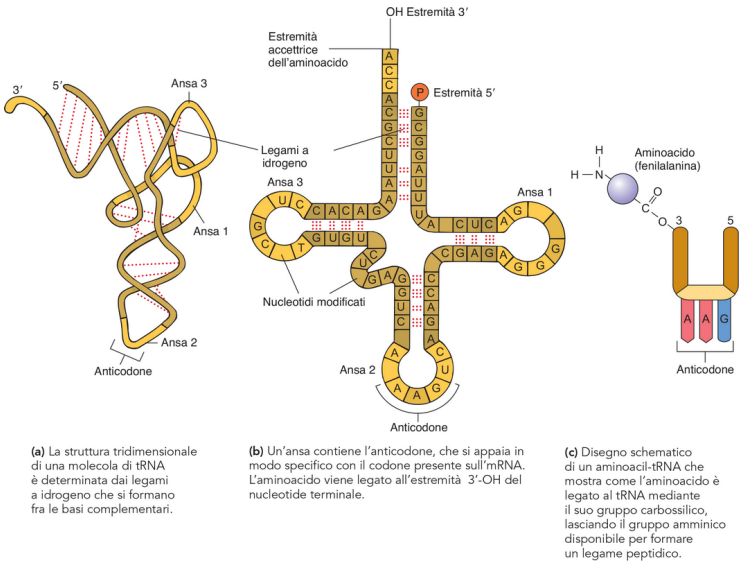


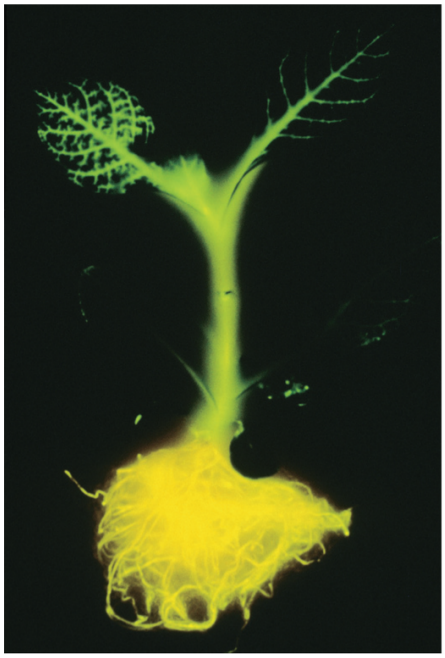

FIGURA 13-6→
*Tre rappresentazioni di una molecola di tRNA*
La struttura tridimensionale della molecola di tRNA è determinata dai legami idrogeno che si formano tra basi complementari. Un'ansa del tRNA contiene l'anticodone in grado di appaiarsi con il codone complementare presente sull'mRNA. L'aminoacido è legato al gruppo idrossile presente in posizione 3' del nucleotide terminale. Il diagramma stilizzato dell'aminoacil-tRNA mostra l'aminoacido legato al trasportatore attraverso il suo gruppo carbossilico, con esposizione dell'aminogruppo per la formazione del legame peptidico.

## Negli anni 1960 i biologi decifrarono il codice genetico

Prima che il codice genetico fosse decifrato, i ricercatori erano interessati a comprendere come potesse funzionare. Il modello del DNA di Watson e Crick considerava la molecola come una sequenza lineare di quattro nucleotidi. Se ogni nucleotide avesse codificato per un singolo aminoacido, sarebbe stato possibile specificare solo quattro aminoacidi, e non tutti i 20 ritrovati nella maggior parte delle proteine.

I ricercatori ipotizzarono che le quattro basi funzionassero come un alfabeto a quattro lettere, e che la combinazione a tre lettere delle quattro basi ($4^3$) permettesse la formazione di 64 "parole", più che sufficienti per specificare tutti gli aminoacidi. Nel 1961, Crick e lo scienziato britannico S. Brenner dedussero, da osservazioni sperimentali, che il codice era basato su triplette di basi non sovrapposte. Ipotizzarono, quindi, che il codice genetico venisse letto una tripletta alla volta, partendo da un preciso punto d'inizio che imposta la sequenza di lettura, il cosiddetto " reading frame " del messaggio genetico. Come sarà discusso più avanti, un'alterazione specifica nella sequenza di lettura dovuta ad una mutazione per delezione o inserzione porterebbe all'incorporazione di aminoacidi sbagliati nella catena polipeptidica. La prova sperimentale che triplette specifiche codificano determinati aminoacidi venne fornita dal biochimico statunitense Marshall Nirenberg e dal suo collaboratore Heinrich Matthaei; sintetizzando artificialmente molecole di mRNA con sequenze di basi note, riuscirono a determinare, in *sistemi acellulari* derivati da Escherichia coli, quali aminoacidi sarebbero stati incorporati nella proteina. Ad esempio, quando l'mRNA sintetico di acido poliuridilico (UUUUUUUUU...) era aggiunto ad una miscela contenente ribosomi purificati, aminoacil-tRNA (aminoacidi legati ai rispettivi tRNA) e cofattori essenziali alla sintesi

proteica, solo l'aminoacido fenilalanina veniva incorporato nella catena polipeptidica; quindi, è ovvio che UUU è la tripletta che codifica la fenilalanina. Esperimenti simili dimostrarono che l'acido poliadenilico (AAAAAAAAA ) codifica un polipeptide di lisina e l'acido policitidilico (CCCCCCCCC ) un polipeptide di prolina.
Utilizzando polimeri di nucleotidi misti (come un polimero casuale di adenine e citosine) quali messaggeri artificiali, alcuni ricercatori, tra cui H. Gobind Khorana dell'Università del Wisconsin, riuscirono ad assegnare ad altre triplette i rispettivi aminoacidi. Tuttavia, si vide che tre codoni — UAA, UGA, UAG — non codificavano alcun aminoacido; questi codoni sono ora noti come segnali che determinano la fine della sequenza codificante la catena polipeptidica (codoni di stop o di terminazione). Questi esperimenti permisero entro il 1967 di decifrare tutti i 64 possibili codoni elencati nella Figura 13-5 . Nel 1968, Nirenberg e Khorana furono insigniti del premio Nobel per la Medicina per il loro lavoro di decrifazione del codice genetico.
È importante ricordare che il codice genetico è un codice riferito all'mRNA; le sequenze degli anticodoni sui tRNA, come pure la sequenza di DNA da cui viene trascritto il messaggio, sono complementari alle sequenze mostrate nella Figura 13-5 . Ad esempio, il codone sull'mRNA per l'aminoacido metionina è 5'—AUG— 3'; esso è trascritto dalla sequenza di basi del DNA 3'—TAC—5' e l'anticodone corrispondente sul tRNA è 3'—UAC—5'.




## Il codice genetico è virtualmente universale

La caratteristica più sorprendente del codice genetico è che esso è praticamente universale. In tutti questi anni, il codice genetico è stato studiato in una miriade di specie ed è risultato lo stesso in organismi tanto differsi tra loro come batteri, piante, invertebrati ed uomo ( FIG. 13-7 ). Queste scoperte dimostrano che il codice si è evoluto molto precocemente nella storia della vita (vedi Capitolo 21 ).

←FIGURA 13-7
*Pianta di tabacco modificata geneticamente.*
Questa pianta diventa luminescente in quanto esprime il gene luciferasi delle lucciole. La luciferasi è un enzima che catalizza una reazione chimica in grado di generare un'emissione di luce. Questo esperimento dimostra che geni animali possono esprimere i loro prodotti una volta inseriti all'interno di piante.

Recentemente, sono state scoperte alcune piccole eccezioni all'universalità del codice genetico; in alcuni protozoi unicellulari, due dei codoni di stop, UAA e UGA, codificano l'aminoacido glutammina invece di segnali di terminazione. Altre eccezioni sono state identificate nei mitocondri, che hanno un DNA proprio e un proprio apparato per la sintesi proteica utilizzato per un piccolo numero di geni. Queste piccole differenze variano con gli organismi, ma è comunque importante ricordare che in ogni caso tutte le altre caratteristiche del codice sono identiche al codice genetico standard.

## Il codice genetico è ridondante

Considerato che ci sono 64 possibili codoni e solo 20 aminoacidi comuni, non è sorprendente che alcuni aminoacidi siano specificati da più di un codone. Questa ridondanza, o degenerazione del codice, presenta alcuni aspetti particolari. I codoni CCU, CCC, CCA e CCG sono "sinonimi", codificano cioè tutti l'aminoacido prolina. L'unica differenza fra i quattro codoni riguarda il nucleotide posto all'estremità 3' della tripletta. Anche se il codice si legge tre nucleotidi per volta, solamente i primi due sembrano avere l'informazione per la prolina. Lo stesso modello di degenerazione si può osservare per molti altri aminoacidi. Solo la metionina e il triptofano sono codificati da una singola tripletta; tutti gli altri sono codificati da un minimo di due a un massimo di sei differenti codoni.
Questo apparente contrasto con la regola dell'appaiamento complementare fu giustificato, per la prima volta, da Francis Crick con l' ipotesi del vacillamento ( wobble hypothesis ). Crick pensò che il terzo nucleotide dell'anticodone del tRNA (posto all'estremità 5' della sequenza dell'anticodone) potesse talvolta formare legami a idrogeno con più di un tipo di base azotata nella terza posizione della tripletta sull'mRNA (in posizione 3' del codone). Successivamente, i ricercatori verificarono sperimentalmente questa insolita possibilità di appaiamento e riuscirono a determinare la specificità delle varie sequenze degli anticodoni sui tRNA, dimostrando che alcune molecole di tRNA si legano esclusivamente ad un unico codone mentre altre possono riconoscere fino a tre differsi codoni che codificano lo stesso aminoacido pur differendo per il terzo nucleotide. Pertanto, l'ipotesi del vacillamento rende conto della potenziale variabilità di appaiamento tra la terza base di un codone e la base corrispondente dell'anticodone. Il vacillamento fa sì che vi siano varie

possibilità di appaiamento di basi tra l'mRNA e il tRNA.

**Verifica**

- Schematizzate un semplice diagramma di flusso che mostri le relazioni tra: RNA, traduzione, DNA, trascrizione e polipeptide.
- Quali sono le analogie strutturali tra DNA ed RNA? E le differenze?

## 13.3 LA TRASCRIZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Confrontare i processi di trascrizione e di replicazione del DNA, identificando somiglianze e differenze.
7. Confrontare gli RNA messaggeri batterico ed eucariotico, nonché comprendere il significato funzionale delle loro differenze strutturali.

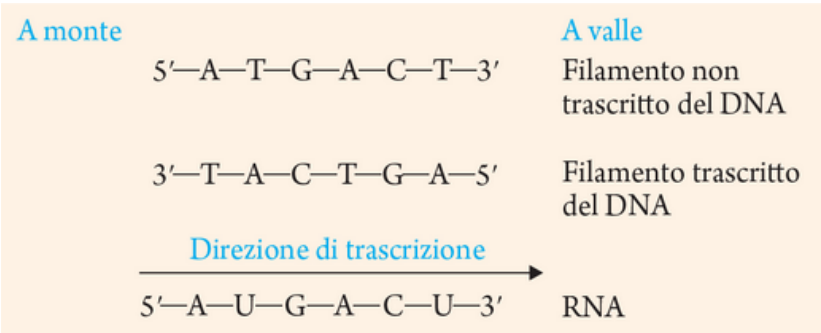
Dopo aver presentato una visione generale del flusso d'informazione dal DNA all'RNA al polipeptide, esaminiamo ora l'intero processo in maniera più dettagliata. Il primo passaggio del flusso di informazione dal DNA al polipeptide è la trascrizione di una sequenza nucleotidica di DNA in una sequenza nucleotidica di RNA. Il biologo molecolare Roger Kornberg ci ha chiarito i dettagli del processo di trascrizione genica attraverso approfondite ricerche, svolte presso la Stanford University, che gli hanno permesso di vincere il premio Nobel per la Chimica nel 2006.

Nella trascrizione eucariotica, la maggior parte degli RNA è sintetizzata da una delle tre RNA polimerasi , enzimi presenti in tutte le cellule. Le tre RNA polimerasi differiscono per i tipi di RNA che sintetizzano. La *RNA polimerasi I* catalizza la sintesi di vari tipi di molecole di rRNA, che sono componenti dei ribosomi; la RNA polimerasi II catalizza la produzione degli mRNA che codificano le proteine; la *RNA polimerasi III* catalizza la sintesi dei tRNA e di una delle molecole di rRNA.

Le RNA polimerasi richiedono il DNA come stampo e presentano molte somiglianze con le DNA polimerasi, discusse nel Capitolo 12 . Come le DNA polimerasi, le RNA polimerasi effettuano la sintesi in direzione 5' → 3', cioè partono dall'estremità 5' della molecola di RNA da sintetizzare e proseguono aggiungendo nucleotidi all'estremità 3' finché la molecola non è completa ( FIG. 13-8 ). Le RNA polimerasi usano, come substrati, nucleotidi con tre gruppi fosfato (come ATP e GTP) e, rimuovendo due dei fosfati, legano covalentemente le subunità nucleotidiche all'estremità 3' dell'RNA. Tali reazioni sono fortemente esoergoniche e non richiedono un apporto energetico aggiuntivo.

Si ricordi dal Capitolo 12 che ogniqualvolta molecole di acido nucleico si associano appaiando le basi complementari, i due filamenti sono antiparalleli . Proprio come i due filamenti appaiati del DNA, anche il filamento del DNA trascritto e il filamento dell'RNA complementare sono antiparalleli. Quindi, durante la trascrizione l'RNA è sintetizzato in direzione 5'→ 3' e lo stampo di DNA è letto in direzione 3' → 5'.

Generalmente, noi ci riferiamo ad una sequenza di basi in un gene o alla sequenza trascritta sull'mRNA utilizzando i termini "a monte" (upstream) e "a valle" (downstream) di uno specifico punto di riferimento. *A monte* significa "verso l'estremità 5' della sequenza di mRNA" oppure "verso l'estremità 3' del filamento stampo del DNA". *A valle* significa "verso l'estremità 3' dell'RNA" oppure "verso l'estremità 5' del filamento stampo del DNA".



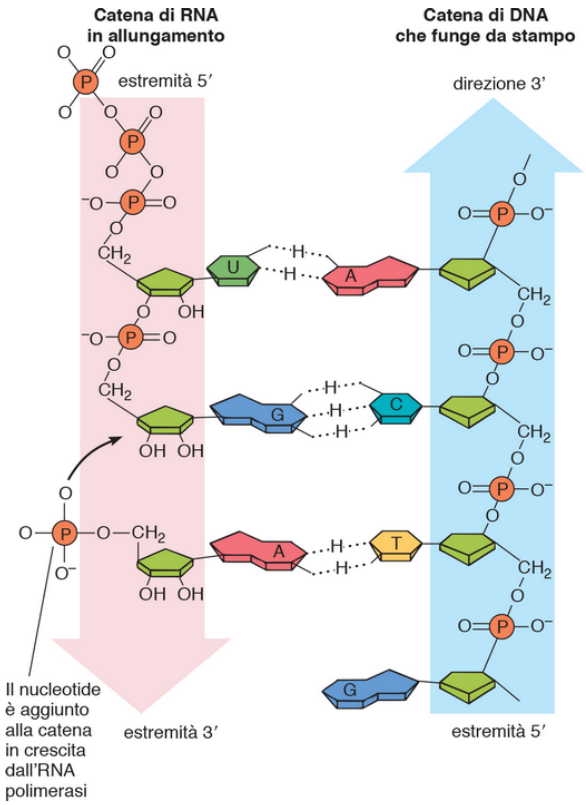



FIGURA 13-8 *Una visione molecolare della trascrizione*
I nucleosidi trifosfati entranti si appaiano per complementarietà con le basi del filamento di DNA che funge da stampo (a destra). L'RNA polimerasi taglia due gruppi fosfato (non mostrato) da ciascun nucleotide e lega il gruppo fosfato rimasto all'estremità 3' della catena di RNA in allungamento mediante un legame covalente. Così l'RNA, come il DNA, viene sintetizzato in direzione 5' → 3'.

## La sintesi dell'RNA messaggero include inizio, allungamento e terminazione

Sia nei procarioti che negli eucarioti, la sequenza di DNA alla quale l'RNA polimerasi, e le proteine ad essa associate, inizialmente si lega è definita promotore . Poiché il promotore non è trascritto, l'RNA polimerasi per iniziare la trascrizione della regione codificante per la proteina si deve spostare oltre il promotore. Geni differenti tra loro possono avere promotori leggermente differsi, permettendo così alla cellula di decidere quali geni in un determinato momento devono essere trascritti. Normalmente, i promotori batterici sono lunghi circa 40 basi e sono localizzati sul DNA appena a monte del punto di inizio della trascrizione. Quando la RNA polimerasi ha riconosciuto il corretto promotore, srotola la doppia elica ed *inizia* la trascrizione (FIG. 13-9). Al contrario della sintesi del DNA, la sintesi dell'RNA non richiede un primer. Lareazione richiede però, oltre all'RNA polimerasi, alcune proteine che verranno discusse nel Capitolo 14 .
Come mostrato nella Figura 13-8 , il primo nucleotide all'estremità 5' della molecola di mRNA in corso di sintesi trattiene il gruppo trifosfato, mentre nella fase di *allungamento* ( FIG. 13-8 ) due fosfati vengono rimossi con una reazione esoergonica da ogni nucleotide successivamente incorporato all'estremità 3'; il fosfato rimasto entra a far parte dello scheletro zucchero-fosfato (come nella replicazione del DNA). L'ultimo nucleotide incorporato mostra un ossidrile 3' libero.

L'allungamento dell'RNA prosegue fino a che l'RNA polimerasi riconosce un segnale di *terminazione*, che consiste in una serie di specifiche sequenze di basi sul DNA stampo. Questo segnale determina il distacco dell'enzima sia dal DNA stampo che dall'RNA neosintetizzato. La terminazione della trascrizione avviene con meccanismi differsi nei procarioti e negli eucarioti. Nei procarioti, la trascrizione termina alla fine della sequenza di terminazione. Quando la RNA polimerasi arriva su tale segnale, rilascia sia il DNA stampo che il nuovo filamento di RNA. Nelle cellule eucariotiche, l'RNA polimerasi aggiunge nucleotidi alla molecola di mRNA anche dopo aver oltrepassato il segnale di terminazione. Infatti l'estremità 3' dell'mRNA si separa dalla RNA polimerasi circa 10-35 nucleotidi a valle della sequenza di terminazione.

**PUNTO CHIAVE** L'mRNA è sintetizzato in direzione 5' → 3' via via che il filamento stampo della molecola di DNA viene letto in direzione. 3' 5'

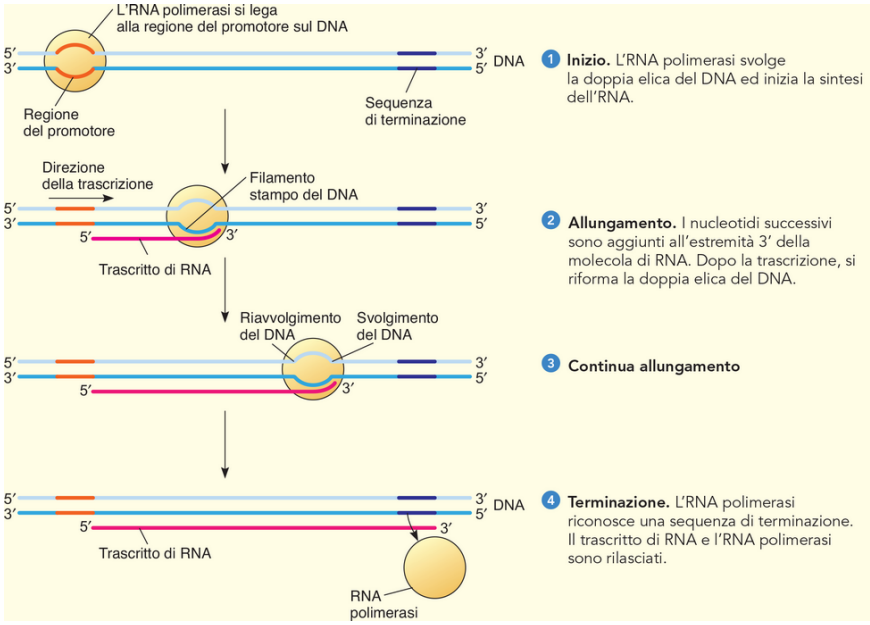



FIGURA 13-9
*Una visione d'insieme della trascrizione: inizio, allungamento e terminazione*

Solo uno dei due filamenti di una regione codificante del DNA viene trascritto. Ad esempio, consideriamo un segmento di DNA che contiene la seguente sequenza di basi nel filamento stampo:

3′ — TAACGGTCT — 5′

Se il filamento complementare di DNA

5′ — ATTGCCAGA — 3′

venisse trascritto, sarebbe prodotto un messaggio specificante per una proteina completamente differsa (e

in genere non funzionale). Tuttavia, il fatto che solo un filamento venga trascritto non significa che lo stesso filamento funga da stampo per tutta la lunghezza della molecola di DNA di un cromosoma. Un determinato filamento può fungere da filamento trascritto per alcuni geni e da filamento non trascritto per altri ( FIG. 13-10 ).

## L'RNA messaggero contiene sequenze di basi che non codificano direttamente la proteina

L'RNA messaggero completo contiene più sequenze nucleotidiche di quelle che codificano la proteina in questione. Un tipico mRNA batterico è mostrato in FIGURA 13-11 . (Le caratteristiche peculiari dell'mRNA e della trascrizione negli eucarioti sono discusse più avanti nel capitolo). Sia nei procarioti che negli eucarioti, l'RNA polimerasi inizia la trascrizione di un gene a monte della sequenza codificante. Come risultato, l'RNA messaggero possiede, alla sua estremità 5', una sequenza leader non codificante. Tale sequenza contiene segnali di riconoscimento per il legame con il ribosoma che consentono al ribosoma di posizionarsi correttamente per iniziare la traduzione del messaggio. La sequenza leader è seguita dal codone di inizio , che indica l'inizio della sequenza codificante che contiene gli effettivi messaggi per il polipeptide. A differenza delle cellule eucariotiche, nelle cellule batteriche uno o più polipeptidi possono essere codificati da una singola molecola di mRNA (vedi Capitolo 14 ). Alla fine di ciascuna sequenza codificante, vi è uno speciale codone di stop o di terminazione. I codoni di stop – UAA, UGA e UAG – sono presenti sia nei procarioti che negli eucarioti. Questi sono seguiti da sequenze non codificanti dette sequenze trailing al 3', che possono variare in lunghezza.

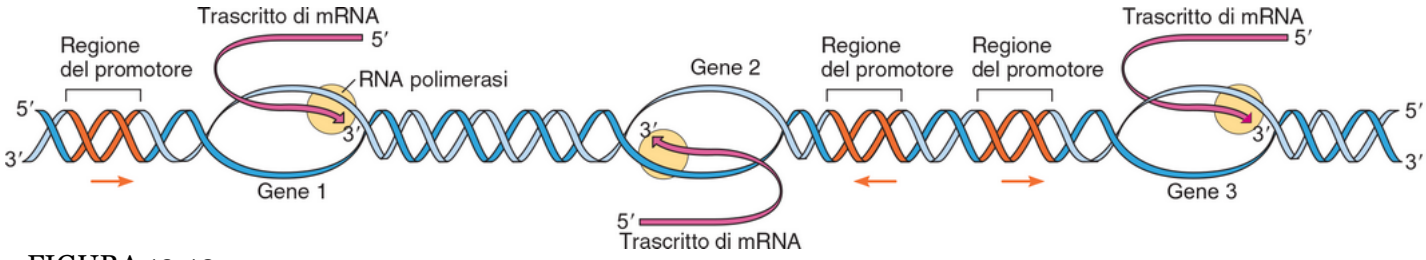



FIGURA 13-10

*Il filamento stampo per un gene può essere il filamento non stampo per un altro gene*

Solo uno dei due filamenti è trascritto per un dato gene, ma il filamento opposto può essere trascritto per un gene vicino. Ciascun trascritto inizia dal suo promotore (in arancione). La freccia arancione associata a ciascun promotore indica la direzione della trascrizione.

## Gli mRNA eucariotici sono modificati dopo la trascrizione e prima della traduzione

Ci sono molte altre differenze tra l'mRNA eucariotico e procariotico. Gli mRNA batterici sono utilizzati immediatamente dopo la trascrizione senza ulteriori modificazioni. Negli eucarioti, invece, il trascritto originale, detto mRNA precursore o pre-mRNA , deve essere modificato mentre è ancora nel nucleo. Questa attività di *maturazione e modificazione post-trascrizionale* è necessaria per produrre un mRNA maturo idoneo ad essere trasportato nel citoplasma e tradotto.

Negli eucarioti il processo di modificazione del messaggio inizia durante la trascrizione, quando l'mRNA è lungo circa 20-30 nucleotidi. Innanzitutto, enzimi specifici aggiungono un cappuccio ( 5 ' cap ) all'estremità 5' della catena di mRNA ( FIG. 13-12 ). Il cap è costituito da un nucleotide insolito, la 7-metilguanosina, che è legato al trascritto di mRNA attraverso tre gruppi fosfato. I ribosomi eucariotici non possono legarsi ad un RNA messaggero privo del cappuccio.
Si ritiene che l'aggiunta del cap protegga l'mRNA dalla degradazione da parte di alcuni enzimi e che ciò possa essere parzialmente responsabile del fatto che gli mRNA eucariotici sono molto più stabili di quelli procariotici. Infatti, negli eucarioti, gli mRNA hanno una vita media che varia fra i 30 minuti e le 24 ore; in genere, la vita media di una molecola di mRNA in cellule di mammifero è di circa 10 ore, ben più lunga rispetto ai 2 minuti di quella in cellule batteriche.

Una seconda modifica al messaggero eucariotico, nota come poliadenilazione, si verifica all'estremità 3' della molecola ( FIG. 13-12 ); vicino all'estremità 3' di ciascun RNA messaggero completo si trova una sequenza di basi che serve da segnale per l'aggiunta di una "coda" di molte adenine, nota col termine di coda di poli-A (poliadenilata). Entro un minuto dalla sintesi del trascritto, enzimi specifici riconoscono nel nucleo questo segnale di poliadenilazione e tagliano la molecola di mRNA nel sito corrispondente. A ciò segue l'aggiunta, grazie ad ulteriori enzimi, di un filamento di 100-250 nucleotidi di adenina all'estremità 3'. Sembra che la poliadenilazione abbia differse funzioni: aiuta ad esportare l'mRNA dal nucleo, protegge alcuni mRNA dalla degradazione nel citoplasma (più lunga è la coda di poli-A, più a lungo la molecola resta nel citosol) e favorisce un efficiente inizio della traduzione aiutando i ribosomi a riconoscere l'mRNA

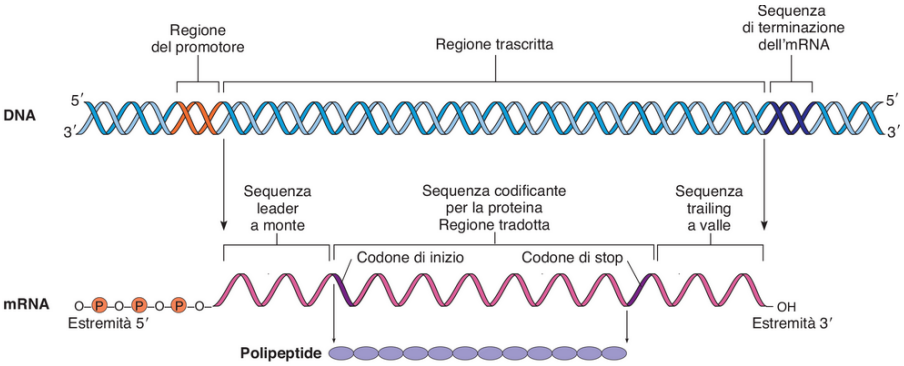



FIGURA 13-11 *L'mRNA batterico*
La figura confronta un mRNA batterico con la regione del DNA da cui è stato trascritto. L'RNA polimerasi riconosce, ma non trascrive, le sequenze che sul DNA costituiscono il promotore. L'inizio della sintesi dell'RNA avviene 5-8 basi a valle del promotore. I siti di riconoscimento del ribosoma sono situati sulla sequenza leader al 5' dell'mRNA. La sequenza che codifica per la proteina comincia con il codone di inizio, che segue la sequenza leader, e finisce con un codone di terminazione vicino al 3' della molecola. Sequenze "trailing" a valle, che variano in lunghezza, seguono le sequenze che codificano per la proteina.

**PUNTO CHIAVE** Negli eucarioti, dopo la trascrizione, il pre-mRNA subisce estese modificazioni per produrre l'mRNA maturo funzionale.

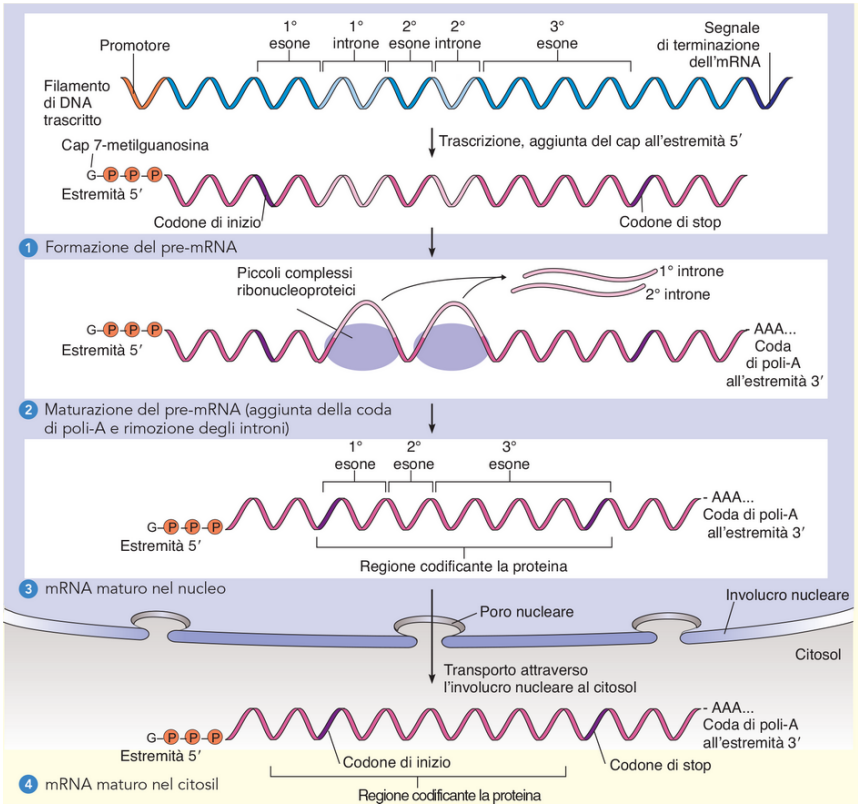



FIGURA 13-12
Modificazioni post-trascrizionali dell'RNA messaggero eucariotico

## Dai geni eucariotici vengono trascritte sequenze non codificanti e codificanti

Una delle maggiori sorprese nella storia della biologia molecolare è stata la scoperta che la maggior parte dei geni eucariotici ha sequenze codificanti interrotte . In altre parole, troviamo lunghe sequenze di basi all'interno delle regioni codificanti del gene, che non codificano per aminoacidi della proteina finale. Tali regioni non codificanti all'interno del gene sono chiamate introni (sequenze in terposte), per contrapporle agli esoni (sequenze es presse) che sono parti della sequenza codificante la proteina.
Un gene eucariotico tipico può avere molti esoni ed introni, anche se il numero è abbastanza variabile. Il gene della β -globina umana, per esempio, che dà origine ad un componente dell'emoglobina, contiene 2 introni e 3 esoni; il gene dell'albumina umana contiene 14 introni e 15 esoni; il gene della titina umana, la più grande proteina conosciuta, presente nelle cellule muscolari, contiene 233 introni e 234 esoni. In molti casi, la lunghezza di tutti gli introni insieme è maggiore di quella delle sequenze degli esoni; il gene dell'ovoalbumina, per esempio, contiene circa 7700 paia di basi, mentre le sequenze degli esoni, riunite insieme, sono lunghe solamente 1859 paia di basi. Quando un gene contenente introni è trascritto, l'intero gene viene copiato in una lunga molecola di RNA chiamata mRNA precursore o pre-mRNA, che contiene sia gli esoni che gli introni. (Nota che i termini esoni e introni si riferiscono alle sequenze di nucleotidi corrispondenti sia nel DNA che nell'RNA). Perché il pre-mRNA diventi un RNA messaggero funzionale, è necessario non solo che venga munito del cappuccio e della coda di poli-A, ma anche che siano rimossi gli introni e chesiano uniti insieme gli esoni (splicing) per formare un messaggio continuo che codifica la proteina.
Lo splicing può avvenire con modalità differse, a seconda del tipo di RNA. In molti casi, esso prevede l'associazione di piccoli complessi di ribonucleoproteine nucleari ( snRNP , si pronuncia "snurp") a formare una grossa particella ribonucleoproteica detta spliceosoma . Lo spliceosoma, le cui dimensioni sono simili a quelle dei ribosomi, catalizza le reazioni che portano alla rimozione degli introni dal pre-mRNA. In altri casi, l'RNA all'interno dell'introne si comporta come un ribozima (RNA catalitico), tagliando se stesso senza l'intervento di uno spliceosoma o di enzimi proteici.Le modificazioni post-trascrizionali negli eucarioti possono essere riassunte come segue:

pre-mRNA contenente introni ed esoni ⟶ inserimento di un cappuccio all'estremità 5′ del pre-mRNA ⟶ aggiunta di una coda di poli-A all'estremità 3′ ⟶ rimozione degli introni e unione degli esoni (splicing) ⟶ mRNA maturo trasportato nel citosol

In seguito alla maturazione del pre-mRNA, l'mRNA maturo è trasportato attraverso un poro nucleare nel citosol per essere tradotto dai ribosomi.

**Verifica**

- Quali sono le analogie tra DNA polimerasi ed RNA polimerasi? E le differenze?
- Un dato filamento di DNA stampo possiede la seguente sequenza nucleotidica: 3'—TACTGCATAATGATT—5'
- Qual è la sequenza di codoni nell'mRNA trascritto da tale filamento? Qual è la sequenza nucleotidica del filamento complementare di DNA non trascritto?

## 13.4 LA TRADUZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Identificare le caratteristiche dei tRNA importanti per decodificare l'informazione genetica e convertirla nel "linguaggio delle proteine".
9. Spiegare il funzionamento dei ribosomi nella sintesi dei polipepti.
10. Schematizzare i processi di inizio, allungamento e terminazione nella sintesi polipeptidica.

La traduzione rappresenta un ulteriore livello di complessità nel processo di trasferimento dell'informazione genetica, perché comporta la conversione del codice a quattro basi azotate dell'acido nucleico nell'alfabeto a 20 aminoacidi dei polipeptidi. La traduzione implica il lavoro coordinato di più di 100 differsi tipi di macromolecole, quali le proteine e gli RNA dei ribosomi, l'mRNA e gli aminoacidi legati ai tRNA.
Le proteine sono costituite da aminoacidi legati insieme da *legami peptidici* (la formazione del legame peptidico è illustrata in Fig. 3-18); questo legame avviene tra il gruppo amminico e il gruppo carbossilico di due aminoacidi adiacenti. La formazione del legame peptidico è soltanto un aspetto del processo di traduzione, poiché gli aminoacidi devono essere legati insieme nella corretta successione stabilita dalla sequenza dei codoni presenti nell'mRNA.

### Un aminoacido deve essere legato al suo specifico tRNA prima di essere incorporato in un polipeptide

Come è possibile allineare gli aminoacidi nella corretta sequenza per poterli poi unire? Francis Crick si accorse del problema e suggerì la necessità dell'intervento di una molecola che fungesse da "adattatore" nella sintesi proteica e quindi da ponte tra l'mRNA e la proteina. Gli adattatori di Crick risultarono essere le molecole di RNA transfer (tRNA). Il DNA contiene particolari geni per gli RNA transfer che, una volta trascritti, danno origine ai tRNA. Ciascun tipo di molecola di tRNA si lega ad uno specifico aminoacido. Particolari enzimi, chiamati aminoacil-tRNA sintetasi , legano, con un legame covalente, gli aminoacidi alle rispettive molecole di tRNA utilizzando l'ATP come fonte di energia ( FIG. 13-13 ). I complessi che ne risultano, chiamati aminoacil-tRNA , sono in grado di legarsi alle sequenze codificanti dell'RNA messaggero così da allineare gli aminoacidi nel giusto ordine e formare la catena polipeptidica.
I tRNA sono catene polinucleotidiche di circa 70-80 nucleotidi. Ciascuno di essi possiede un certo numero di sequenze di basi uniche, insieme a sequenze comuni a tutti. Sebbene le molecole di tRNA siano notevolmente più piccole dell'mRNA o dell'RNA ribosomale, presentano una struttura molto complessa. Ogni molecola di tRNA deve avere differse proprietà specifiche: (1) deve possedere un anticodone, cioè una specifica sequenza che possa legarsi al codone complementare presente sull'mRNA; (2) deve essere riconosciuta da una specifica aminoacil-tRNA sintetasi che leghi il corretto aminoacido; (3) deve possedere una regione che funga da sito di attacco per l'aminoacido specificato dall'anticodone (il sito è ruotato di 180° rispetto all'anticodone); (4) deve essere riconosciuta dai ribosomi.

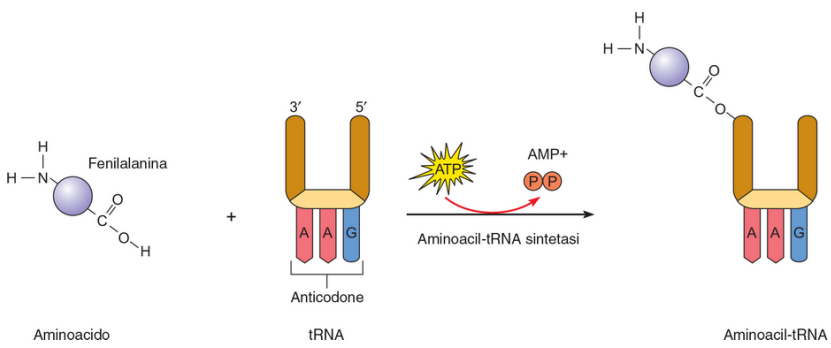



FIGURA 13-13 *Legame di uno specifico aminoacido al tRNA appropriato*
Gli aminoacidi sono legati covalentemente alle loro rispettive molecole di tRNA dalle aminoacil-tRNA sintetasi, che utilizzano ATP come fonte di energia.

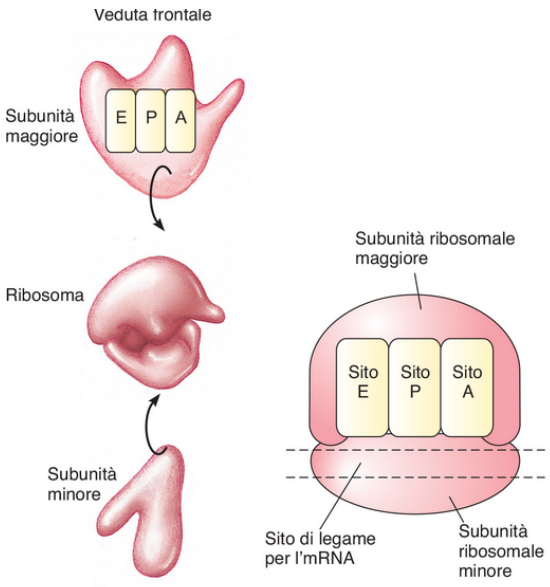
All'interno di ciascuna molecola di tRNA, l'appaiamento fra basi complementari causa la formazione di tratti a doppio filamento con formazione di tre o più anse di nucleotidi non appaiati, una delle quali contiene la tripletta dell'anticodone. Il sito di legame con l'aminoacido è all'estremità 3' della molecola. Il gruppo carbossilico dell'aminoacido si lega covalentemente al gruppo ossidrilico presente in posizione 3' del nucleotide terminale, lasciando il gruppo amminico libero di partecipare alla formazione di un legame peptidico. Il modo di ripiegarsi del filamento comporta che la distanza tra l'anticodone e l'aminoacido in tutti i tRNA esaminati sia costante, portando ad un preciso posizionamento degli aminoacidi durante la traduzione.

## I ribosomi mettono in contatto tra loro tutti i componenti dell'apparato di traduzione

L'importanza dei ribosomi e della sintesi proteica nel metabolismo cellulare è ben evidente in una cellula di E. coli a rapido accrescimento, la quale contiene circa 15.000 ribosomi, equivalenti ad un terzo della massa totale della cellula. Sebbene i ribosomi non siano identici nei procarioti e negli eucarioti, essi funzionano essenzialmente allo stesso modo e sono costituiti da due subunità composte da proteine (circa il 40% in peso) ed RNA ribosomale (circa 60% in peso). differsamente da mRNA e tRNA, l'rRNA non trasferisce informazioni specifiche, ma ha funzioni catalitiche. Al contrario, le proteine ribosomali non sembrano mostrare attività catalitica, ma contribuiscono alla strutturazione complessiva del ribosoma.

Ciascuna subunità ribosomale può essere isolata integra in laboratorio e successivamente separata nei suoi costituenti: proteine ed RNA. Per esempio, si è trovato che nei batteri la subunità minore contiene 21 proteine ed una molecola di RNA ribosomale, mentre la subunità maggiore contiene 34 proteine e due molecole di RNA ribosomale. In certe condizioni sperimentali, è poi possibile riassemblare le singole subunità nella loro forma funzionale aggiungendo ogni componente nel corretto ordine. In questo modo, e con sofisticati studi di microscopia elettronica, è stato possibile determinare la struttura tridimensionale del ribosoma ( FIG. 13-14a ) e come esso si assembli nella cellula. La subunità maggiore contiene una depressione sulla sua superficie sulla quale si adatta la subunità minore. Le molecole di RNA messaggero si inseriscono in una scanalatura che si forma fra le superfici di contatto delle due subunità.

Il ribosoma presenta quattro siti di legame, uno per l'mRNA e tre per i tRNA. Così, la struttura del ribosoma permette di mantenere nel corretto orientamento non solo lo stampo di mRNA, ma anche le molecole di aminoacil-tRNA e la catena polipeptidica in corso di sintesi. In questo modo, il codice genetico può essere letto correttamente, permettendo la formazione del successivo legame peptidico. Le molecole di RNA di trasferimento si attaccano a tre depressioni presenti sul ribosoma: i siti di legame A, P ed E ( FIG. 13-14b ). Il sito P , o sito peptidilico, è così chiamato perché è occupato dal tRNA che porta la catena polipeptidica crescente. Il sito A è detto anche sito aminoacilico perché ad esso si lega l'aminoacil-tRNA che porta l'aminoacido successivo da inserire nella sequenza. Il sito E , o sito di uscita, è il punto in cui i tRNA che hanno fornito i loro aminoacidi alla catena polipeptidica in crescita lasciano il ribosoma.




**(a)** Un ribosoma è formato da due subunità, una maggiore ed una minore. Questo modello di ribosoma è basato su ricostruzioni tridimensionali di immagini al microscopio elettronico

**(b)** L'mRNA passa attraverso un solco presente tra le due subunità ribosomali. Ciascun ribosoma contiene tre siti di legame per le molecole di tRNA.

←FIGURA 13-14 *Struttura del ribosoma*

## La traduzione comincia con la formazione di un complesso di inizio

Il processo di sintesi proteica presenta tre fasi distinte: inizio, cicli ripetuti di allungamento e terminazione. L'inizio della sintesi proteica è essenzialmente uguale in tutti gli organismi. Descriveremo prima il processo di inizio nei procarioti e poi discuteremo brevemente alcune differenze tra il processo procariotico e quello eucariotico.
L' inizio della traduzione richiede l'intervento di proteine chiamate fattori di inizio , che si attaccano alla subunità ribosomale minore. Nei procarioti, tre differsi fattori di inizio si attaccano alla subunità minore, che in seguito lega la molecola di mRNA in corrispondenza della regione del codone di inizio AUG ( FIG. 13-15 ). Una sequenza leader a monte (verso l'estremità 5') dell'AUG aiuta il ribosoma ad identificare la sequenza AUG che indica l'inizio della regione codificante dell'mRNA.
Il tRNA che porta il primo aminoacido del polipeptide è il tRNA iniziatore , che lega l'aminoacido metionina; di conseguenza, il primo aminoacido di una nuova catena polipeptidica è la metionina. (Abbastanza spesso, la metionina viene in seguito

rimossa). Nei procarioti, la metionina di inizio è modificata mediante l'aggiunta di un gruppo ad un atomo di carbonio derivato dall'acido formico, ed è chiamata *N* -formilmetionina ( fMet ). L' *fMet* -tRNA iniziatore, che presenta l'anticodone 3' — UAC — 5', si lega al codone di inizio AUG, rilasciando uno dei fattori di inizio nel corso del processo. Il complesso di inizio è completo quando la subunità ribosomale maggiore si lega alla subunità minore e vengono rilasciati i rimanenti fattori di inizio.
Negli eucarioti, l'inizio della traduzione differisce per tre aspetti. Primo, la metionina legata al tRNA iniziatore non è modificata. Secondo, il codone di inizio sull'mRNA non viene identificato grazie ad una sequenza leader, ma esso si trova all'interno di una breve sequenza (del tipo ACC AUG G) che indica il sito di inizio della traduzione (la tripletta AUG sottolineata). Terzo, il complesso di inizio negli eucarioti, che contiene presumibilmente dieci fattori proteici, è più complesso di quello procariotico.

**PUNTO CHIAVE**
La fase di inizio nei batteri coinvolge un ribosoma, un mRNA, un tRNA iniziatore, a cui è legata una formilmetionina (fMet), e differsi fattori di inizio proteici.

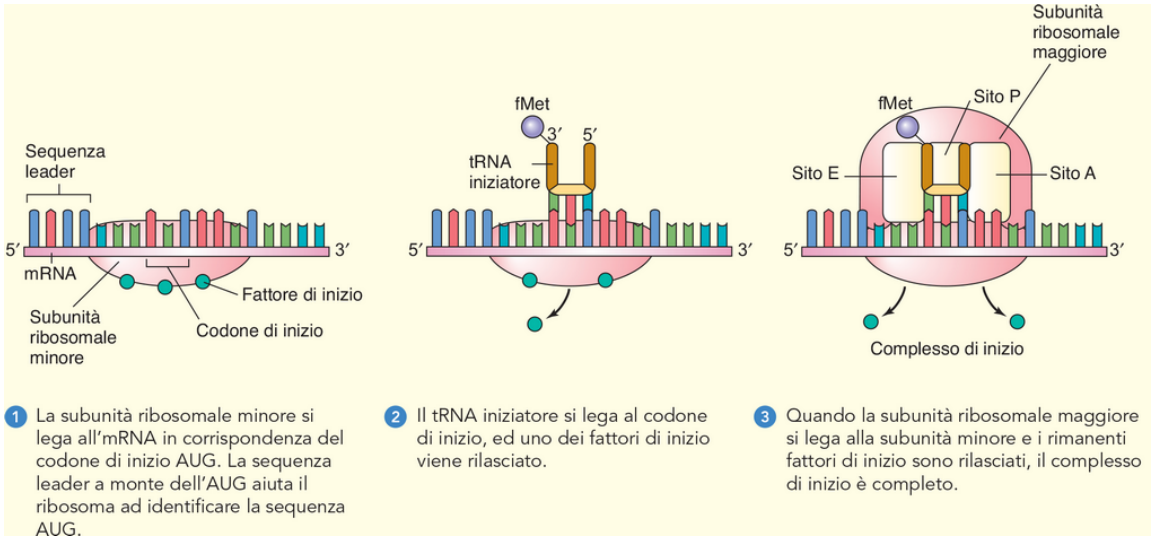


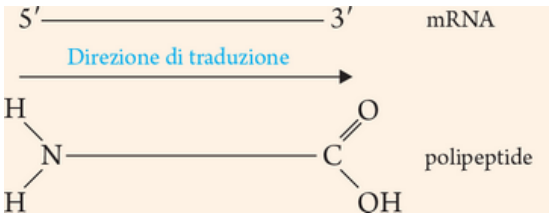

FIGURA 13-15 *L'inizio della traduzione nei batteri*

## Durante l'allungamento, gli aminoacidi vengono aggiunti alla catena polipeptidica in crescita

La FIGURA 13-16 mostra i quattro passaggi di un ciclo di allungamento , ossia la fase della traduzione in cui gli aminoacidi sono aggiunti uno ad uno al polipeptide in crescita. L'allungamento è essenzialmente uguale nei procarioti e negli eucarioti. L'aminoacil- tRNA specifico riconosce il codone nel sito A e vi si lega tramite uno specifico appaiamento di basi tra il suo anticodone e il codone complementare sull'mRNA. La fase di legame richiede differse proteine chiamate fattori di allungamento . È richiesta anche energia, che in questo caso è fornita dalla guanosina trifosfato (GTP) , una molecola di trasferimento dell'energia simile all'ATP.

Il gruppo amminico dell'aminoacido posto sul sito A è ora allineato con il gruppo carbossilico dell'aminoacido precedente che si trova sul sito P. Si forma quindi un legame peptidico tra il gruppo amminico del nuovo aminoacido e il gruppo carbossilico dell'aminoacido precedente. Durante questo processo, l'aminoacido sul sito P viene rilasciato dal suo tRNA e viene legato all'aminoacil-tRNA posto sul sito A. Questa reazione è spontanea (cioè non richiede energia addizionale) perché l'energia le è stata trasferita dall'ATP durante la formazione dell'aminoacil-tRNA. Richiede però un enzima chiamato peptidil transferasi . È da notare che questo enzima non è una proteina bensì un ribozima, cioè un RNA dotato di attività catalitica componente la subunità ribosomale maggiore. Nel 1989 due biochimici, l'americano Thomas Cech (Università del Colorado) e il canadese Sidney Altman (Università di Yale), sono stati insigniti del premio Nobel per la Chimica per aver scoperto indipendentemente i ribozimi.

Si ricordi dal Capitolo 3 che le catene polipeptidiche hanno una precisa polarità; l'aminoacido ad una estremità del polipeptide ha il gruppo amminico libero (estremità amminica) e l'aminoacido all'altra estremità presenta il gruppo carbossilico libero (estremità carbossilica). La sintesi proteica procede sempre dall'estremità amminica all'estremità carbossilica della catena polipeptidica in crescita:



**PUNTO CHIAVE** Ad ogni ripetizione del ciclo di allungamento viene aggiunto un aminoacido alla catena polipeptidica in crescita.

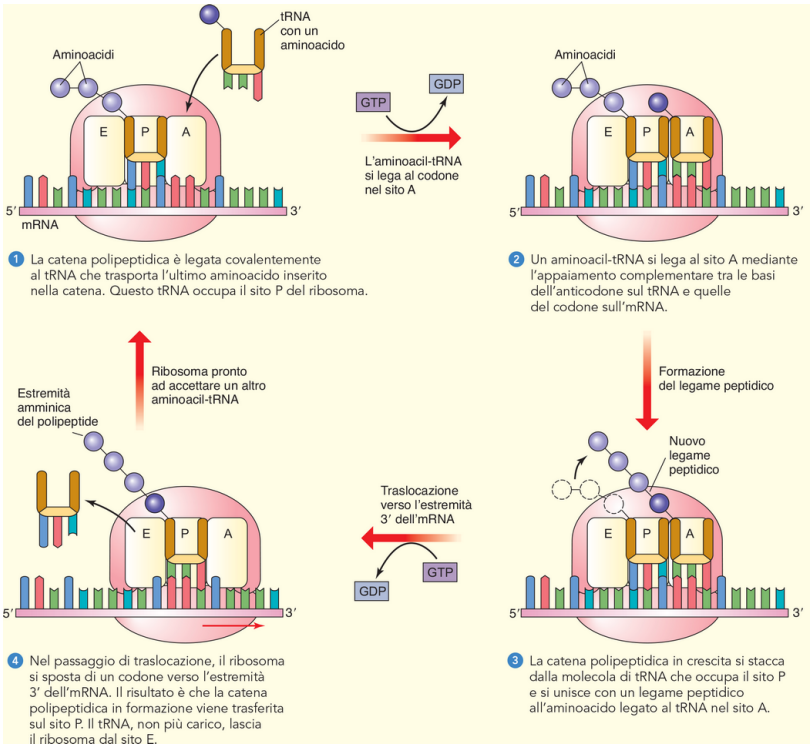
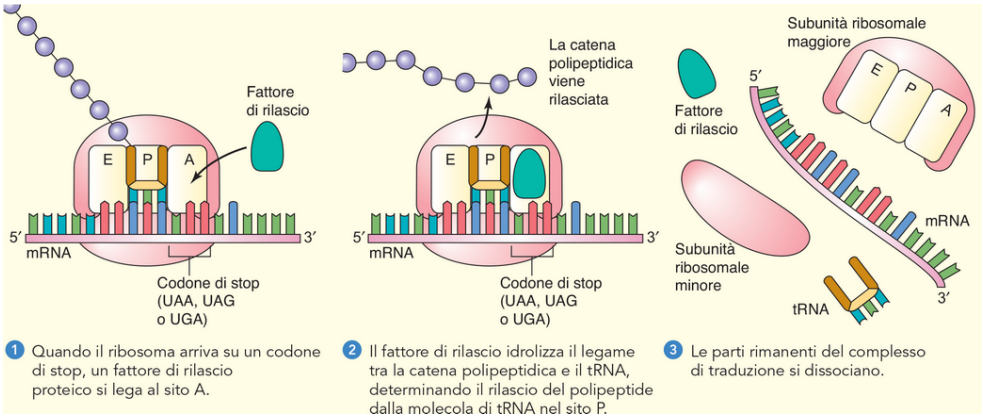



FIGURA 13-16
*Un ciclo di allungamento nella traduzione*
Il processo illustrato in figura inizia dopo che si è già formata una corta catena di aminoacidi.

Nella fase di allungamento, nota anche come traslocazione , il ribosoma scorre sull'mRNA avanzando di un singolo codone. Di conseguenza, il codone dell'mRNA che specifica per l'aminoacido successivo si trova posizionato nel sito A, non più occupato in seguito all'avanzamento del ribosoma. Il processo di traslocazione richiede energia, che è di nuovo fornita dal GTP. Il tRNA non carico, ovvero il tRNA privo dell'aminoacido, si sposta dal sito P al sito E; da qui lascia il ribosoma ed entra a far parte del pool citosolico dei tRNA.
Poiché la traslocazione comporta il movimento del ribosoma lungo la molecola di mRNA in direzione 3', la traduzione procede sempre in direzione 5' → 3'. La formazione di ciascun legame peptidico richiede solamente una frazione di secondo; quindi, attraverso cicli di allungamento ripetuti, una proteina della lunghezza media di circa 360 aminoacidi è sintetizzata in 18 secondi in un batterio e in poco più di un minuto in una cellula eucariotica.

## Uno dei tre codoni di stop segnala la terminazione della traduzione

Nella terminazione , la fase finale della traduzione, la sintesi della catena polipeptidica è terminata da un fattore di rilascio , una proteina che riconosce il codone di stop alla fine della sequenza codificante. (Nessuna molecola di tRNA si lega ad un codone di stop, cosicché esso è disponibile per il legame con il fattore di rilascio). Quando il sito A si lega al fattore di rilascio, il legame tra il tRNA nel sito P e l'ultimo aminoacido della catena polipeptidica si rompe ( FIG. 13-17 ). Questa reazione di idrolisi libera il polipeptide neosintetizzato ed inoltre separa i componenti del complesso di traduzione: la molecola di mRNA, il fattore di rilascio, la molecola di tRNA presente nel sito P e le subunità ribosomali maggiore e minore. Le due subunità ribosomali possono essere utilizzate per costituire un nuovo complesso di inizio con un'altra molecola di mRNA. Ogni mRNA è tradotto un numero limitato di volte prima di essere distrutto.




**PUNTO CHIAVE** Un segnale di stop determina la terminazione della sintesi del polipeptide, poiché non esiste alcuna molecola di tRNA con un anticodone complementare ad un codone di stop.

FIGURA 13-17
*La terminazione della traduzione*

Proteine specializzate associate ai ribosomi, dette chaperoni molecolari , assistono le catene polipeptidiche appena sintetizzate nel processo di ripiegamento nella loro conformazione tridimensionale attiva (vedi Capitolo 3 ). La conformazione finale della catena polipeptidica è dettata dalla sua sequenza aminoacidica. Tuttavia, senza l'aiuto degli chaperoni molecolari, le interazioni tra le varie regioni della catena aminoacidica potrebbero impedire la realizzazione del corretto processo di ripiegamento.

**Verifica**

- Da cosa sono costituiti i ribosomi? I ribosomi portano l'informazione per specificare la sequenza aminoacidica delle proteine?
- Come descrivereste le fasi di inizio, di allungamento e di terminazione della sintesi proteica?
- Un dato filamento di mRNA presenta la seguente sequenza nucleotidica: 5'—AUG—ACG—UAU—AAC—UUU-3'
- Qual è l'anticodone per ciascun codone? Qual è la sequenza aminoacidica del polipeptide? (Servitevi della Fig. 13-5 per rispondere alla domanda).

# 13.5 LE VARIAZIONI DELL'ESPRESSIONE GENICA

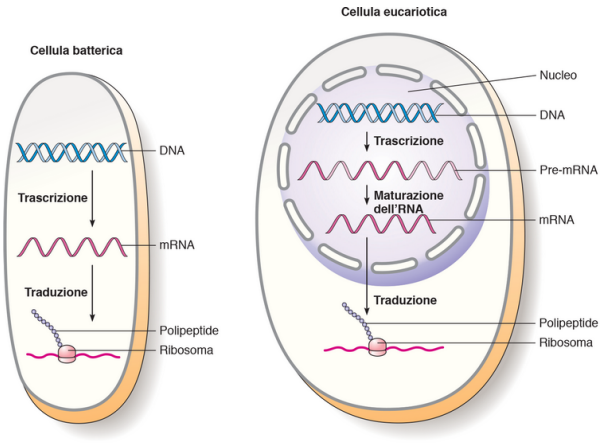
## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

11. Descrivere un poliribosoma nella cellula batterica
12. Illustrare brevemente cosa si intende per "RNA interference".
13. Descrivere i retrovirus e l'enzima trascrittasi inversa.

Anche se i meccanismi di base della trascrizione e della traduzione sono simili in tutti gli organismi, esistono alcune differenze significative tra i procarioti e gli eucarioti ( FIG. 13-18 ). Alcune di queste sono la conseguenza di differenze nella struttura delle cellule. Mentre gli mRNA batterici sono tradotti appena trascritti dal DNA (in quanto i batteri sono privi di nucleo), lo stesso non vale per gli RNA eucariotici. Infatti, i cromosomi eucariotici sono confinati nel nucleo della cellula e la sintesi proteica avviene nel citosol, quindi l'mRNA deve essere trasportato attraverso l'involucro nucleare nel citoplasma prima di poter essere tradotto.

### La trascrizione e la traduzione sono accoppiate nei procarioti

In E. coli e in altri batteri, la traduzione inizia subito dopo la trascrizione ed allo stesso mRNA si attaccano differsi ribosomi ( FIG. 13-19 ). L'estremità della molecola di mRNA che viene sintetizzata per prima durante la trascrizione è anche la prima ad essere tradotta in proteina. I ribosomi possono legarsi all'estemità 5' di un mRNA in fase di sintesi e iniziare la traduzione molto prima che il messaggio sia completato. Fino a 15 ribosomi possono essere legati a una singola molecola di mRNA. Le molecole di RNA messaggero legate ad aggregati di ribosomi sono definite poliribosomi o *polisomi*. Ci possono essere poliribosomi anche nelle cellule eucariotiche, ma non mentre la trascrizione è ancora in corso.




**(a)** Nella cellula batterica l'RNA messaggero è immediatamente disponibile per la traduzione da parte del ribosoma.

**(b)** Nella cellula eucariotica è necessaria una fase di maturazione all'interno del nucleo prima di procedere con la traduzione.

FIGURA 13-18
*Il flusso dell'informazione genetica nei procarioti e negli eucarioti*

Anche se un discreto numero di catene polipeptidiche può essere attivamente sintetizzato da un singolo RNA messaggero, la vita media (cioè il tempo necessario affinché sia degradata circa la metà delle molecole) delle molecole di mRNA nelle cellule batteriche è solamente di due minuti. Di norma, la degradazione della molecola di mRNA inizia all'estremità 5' prima che sia completata la sintesi del primo polipeptide. Una volta che le sequenze per il riconoscimento del ribosoma sono degradate, nessun altro ribosoma può attaccarsi all'mRNA per iniziare una nuova sintesi proteica.

### L'evoluzione della struttura dei geni eucariotici è dibattuta

La ragione della complessità strutturale dei geni eucariotici è materia di acceso dibattito tra i biologi molecolari. Per quale motivo nella maggior parte dei geni nucleari degli eucarioti si trovano gli introni, mentre essi non sono presenti nei geni dei procarioti, dei mitocondri e dei cloroplasti? Come si è evoluto questo importante meccanismo genetico che comporta l'esistenza di sequenze codificanti interrotte ("split genes")? Per quale motivo, infine, è sopravvissuto? Sembra incredibile che il 75% del trascritto originale di un gene nucleare eucariotico debba essere *rimosso* per dare origine ad un messaggio operativo.

Nei primi anni '80 Walter Gilbert, dell'Università di Harvard, ipotizzò che gli esoni fossero sequenze nucleotidiche codificanti differenti domini proteici , regioni di struttura terziaria di una proteina che possono avere specifiche funzioni. Ad esempio, il sito attivo di un enzima può comprendere un dominio, mentre un altro dominio può permettere all'enzima di legarsi ad una particolare struttura cellulare, ed un

altro dominio ancora può essere un sito implicato nella regolazione allosterica (vedi Capitolo 7 ). L'analisi delle sequenze del DNA dei geni eucariotici e quella delle sequenze degli aminoacidi delle proteine corrispondenti ha messo in evidenza che molti esoni sono troppo corti per codificare un intero dominio proteico; tuttavia, un insieme di esoni può codificare un dominio.

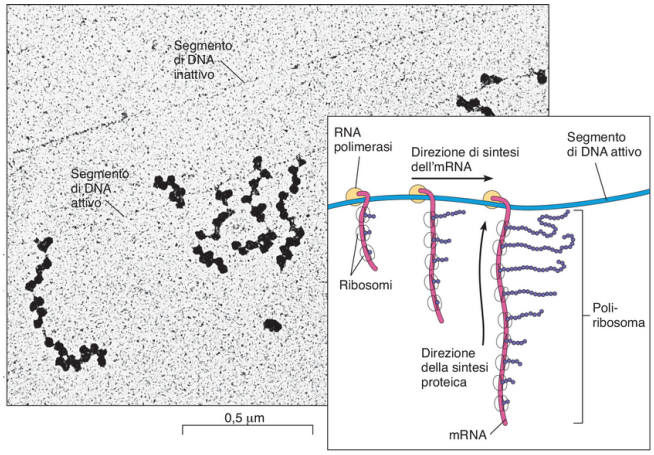
Gilbert ipotizzò, inoltre, che nuove proteine con differenti funzioni potessero comparire rapidamente allorquando, attraverso la ricombinazione genetica, si venivano a produrre nuove combinazioni di esoni. Questa ipotesi è nota come evoluzione per rimescolamento degli esoni (*evolution by exon shuffling*). Per esempio, il recettore proteico delle lipoproteine a bassa densità (LDL), una proteina che si trova sulla superficie delle cellule umane e che permette il trasporto del colesterolo dentro le cellule (vedi Capitolo 5), possiede un certo numero di domini che sono paragonabili a quelli di molte altre proteine aventi funzioni totalmente differenti. Però, molti altri geni e le proteine corrispondenti non presentano il fenomeno del rimescolamento degli esoni.

In seguito alla scoperta degli introni in alcuni geni di archeobatteri e batteri, alcuni biologi hanno ipotizzato che gli introni siano vestigia dell'antico antenato di tutti gli organismi attuali. Nel corso di miliardi di anni di evoluzione, gli organismi procariotici, che sono unicellulari, sarebbero stati sottoposti ad una pressione seffettiva volta allo snellimento dei loro gruppi di geni, che avrebbe portato alla perdita della maggior parte dei loro introni.

Indipendentemente da come abbiano avuto origine i geni interrotti, l'escissione degli introni costituisce una delle numerose vie attraverso le quali gli eucarioti attuali controllano l'espressione dei loro geni (vedi Capitolo 14 ). Questa opportunità di controllo, insieme alla maggiore stabilità degli RNA degli eucarioti rispetto a quelli dei procarioti, può bilanciare il costo energetico del mantenimento di una grande quantità di DNA non codificante.

## Vari tipi di RNA eucariotici hanno un ruolo nell'espressione genica

Oltre ad mRNA, rRNA e tRNA, le cellule eucariotiche contengono vari altri tipi di RNA, che costituiscono una parte essenziale del macchinario di sintesi proteica ( TABELLA 13-1 ). Piccoli RNA nucleari (snRNA) si legano a specifiche proteine per formare un complesso di piccole ribonucleoproteine nucleari (snRNP), che a sua volta si combina con altre snRNP per formare uno spliceosoma. Si ricordi dal paragrafo precedente che lo spliceosoma catalizza la rimozione degli introni.




**(a)** Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione di due filamenti di DNA di *E. coli*, uno inattivo e l'altro in fase di attiva trascrizione. La sintesi proteica comincia prima che sia completata la sintesi dell'mRNA.

**(b)** Una sequenza (*da sinistra a destra*) di trascrizione e traduzione accoppiate. Si noti che ogni molecola di mRNA è tradotta contemporaneamente da diversi ribosomi.

FIGURA 13-19
Trascrizione e traduzione accoppiate nei batteri

Alcuni polipeptidi entrano nel reticolo endoplasmatico (RE) nel corso della loro sintesi. Un RNA della particella di riconoscimento del segnale (SRP RNA) , in combinazione con alcune proteine, dirige il complesso ribosoma-mRNA-polipeptide al RE rugoso poco dopo l'inizio della traduzione. La traduzione continua in seguito al legame del complesso ad una proteina integrale della membrana del RE, e la proteina neosintetizzata è quindi indirizzata verso la sua destinazione all'interno della cellula o all'esterno (ad esempio, in forma di secreto).

Uno speciale gruppo di molecole di RNA, note come piccoli RNA nucleolari (snoRNA) , processa le molecole di pre-rRNA all'interno del nucleolo durante la formazione delle subunità ribosomali. I piccoli RNA nucleolari si legano a regioni complementari presenti sul pre-rRNA ed individuano siti di taglio o di metilazione. Una molecola di pre-rRNA è più grande dell'insieme delle tre molecole di rRNA da essa prodotte. Nelle cellule di mammifero, circa il 48% della molecola di pre-rRNA è rimossa durante le fasi di taglio. Alle regioni del pre-rRNA che devono essere preservate nel corso della maturazione potrebbero essere aggiunti dei gruppi metilici.

La scoperta che l'RNA ha la capacità di regolare l'espressione genica ha portato grosse novità nel campo della biologia, sia perché tale fenomeno, noto come RNA interference (RNAi) , è stato riscontrato in numerosi organismi, sia perché rappresenta uno strumento medico e di ricerca con grandi potenzialità (vedi Capitoli 15 e 17 ). Nell'RNAi, alcune piccole molecole di RNA interferiscono con l'espressione dei geni o con i loro trascritti. L'RNA interference coinvolge i piccoli RNA interferenti (siRNA), i microRNA ed alcuni altri tipi di corte sequenze di RNA. I piccoli RNA interferenti (siRNA) sono molecole a doppio

filamento della lunghezza di 20-25 nucleotidi che giocano un ruolo importante nel controllo del danno derivato da trasposoni (illustrati più avanti nel capitolo) e da infezioni virali; essi inoltre regolano l'espressione genica di sequenze codificanti proteine.

**TABELLA 13-1 Alcuni tipi di RNA presenti nelle cellule eucariotiche**

| Tipo di RNA | Funzione |
|---|---|
| RNA messaggero (mRNA) | Specifica la sequenza aminoacidica di una proteina |
| RNA transfer (tRNA) | Si lega ad uno specifico aminoacido e funge da adattatore molecolare quando gli aminoacidi vengono incorporati nella catena polipeptidica in crescita |
| RNA ribosomale (rRNA) | Ha un ruolo sia strutturale che catalitico (ribozima) nel ribosoma |
| Piccolo RNA nucleare (snRNA) | È coinvolto nella rimozione degli introni e nella regolazione della trascrizione; fa parte delle particelle che compongono lo spliceosoma |
| RNA della particella di riconoscimento del segnale (SRP RNA) | Aiuta a dirigere il complesso ribosoma-mRNA-polipeptide verso il RE rugoso poco dopo l'inizio della traduzione |
| Piccolo RNA nucleolare (snoRNA) | Processa il pre-rRNA nel nucleolo durante la formazione delle subunità ribosomali |
| Piccolo RNA interferente (siRNA) | Controlla l'espressione genica mediante la soppressione selettiva dei geni |
| MicroRNA (miRNA) | Controlla l'espressione dei geni coinvolti nella crescita e nello sviluppo attraverso l'inibizione della traduzione di determinati mRNA |

I microRNA (miRNA) sono molecole di RNA a singolo filamento lunghe circa 20-25 nucleotidi che inibiscono la traduzione di mRNA coinvolti nella crescita e nello sviluppo ( FIG. 13-20 ). I microRNA sono trascritti da geni e poi accorciati, prima della loro combinazione con proteine per formare un complesso che inibisce l'espressione delle molecole di mRNA. Nel genoma umano sono stati identificati più di 200 differsi geni per miRNA, ma non si conoscono ancora i meccanismi attraverso i quali essi sarebbero in grado di regolare l'espressione genica mediante degradazione dell'mRNA o inibizione della traduzione. I biologi ritengono che i miRNA possano giocare un ruolo fondamentale nella prevenzione del cancro: cellule neoplastiche presentano infatti livelli di miRNA inferiori rispetto a cellule sane. Alterazioni nella funzione dei miRNA sono state inoltre ipotizzate in patologie cardiache e nel Parkinson.

## La definizione di gene si è evoluta con l'acquisizione di sempre maggiori conoscenze sui geni

All'inizio di questo capitolo, abbiamo visto le ipotesi e le prove sperimentali che hanno portato a comprendere la natura del gene. Per un po' di tempo, è stato utile definire il gene come una "sequenza di nucleotidi che codifica una catena polipeptidica". Tuttavia, col procedere delle ricerche sul genoma umano, i biologi hanno chiarito che solo circa il 2% del nostro genoma codifica per polipeptidi nonostante l'80% di esso sia in grado di dare prodotti di espressione; numerosi sono infatti i geni la cui trascrizione porta alla produzione di vari tipi di molecole di RNA (vedi Tabella 13-1 ). Ulteriori studi hanno inoltre dimostrato che nelle cellule eucariotiche un singolo gene può essere in grado di produrre più di una catena polipeptidica attraverso processi differsi di maturazione del messaggio (vedi Capitolo 14 ).
Forse è quindi più utile definire un gene in base al suo prodotto. Un gene può essere definito come una sequenza di nucleotidi che porta l'informazione necessaria per produrre uno specifico RNA o un polipeptide.

## Eccezioni alla normale direzione del flusso di informazione

Per molti decenni uno dei presupposti fondamentali della biologia molecolare è stato che l'informazione genetica si trasferisce dal DNA all'RNA e infine alle proteine. Un'importante eccezione a tale regola fu scoperta dal biologo statunitense Howard Temin nel 1964 studiando alcuni virus. Sebbene i virus non siano cellule, essi contengono un solo tipo di acido nucleico e sono in grado di riprodursi all'interno di una cellula ospite. Temin stava studiando alcuni virus oncogeni che possedevano come materiale genetico l'RNA, anziché il DNA. Egli scoprì che la possibilità, da parte di questi virus, di infettare la cellula ospite veniva impedita da inibitori sia della replicazione del DNA che della trascrizione. Ciò suggerì che le sintesi del DNA e dell'RNA fossero indispensabili per la replicazione di questi virus oncogeni a RNA e che doveva esistere un sistema per far passare l'informazione genetica in senso "inverso", cioè dall'RNA al DNA.
Temin propose che, nella replicazione del genoma a RNA di un virus oncogeno, si producesse come intermedio un provirus a DNA . Tale ipotesi richiedeva però la presenza di un nuovo tipo di enzima in grado di sintetizzare DNA utilizzando, come stampo, una molecola di RNA. Nel 1970, Temin e David Baltimore provarono l'esistenza di un enzima con queste caratteristiche e, nel 1975, proprio grazie a questa scoperta, furono insigniti del premio Nobel per la Medicina. Questa DNA polimerasi RNA-dipendente, che divenne nota come trascrittasi inversa , fu ritrovata in tutti i virus oncogeni a RNA (alcuni virus non oncogeni a RNA, tuttavia, si riproducono senza utilizzare un intermedio a DNA). I passaggi della riproduzione di un virus oncogeno a RNA sono presentati in FIGURA 13-21 . A causa dell'inversione del normale flusso dell'informazione genetica, i virus che richiedono la trascrittasi inversa sono noti come retrovirus . Il virus HIV-1, che causa l'AIDS, è il retrovirus più noto. Come vedremo nel Capitolo 15, la trascrittasi inversa è diventata per i biologi molecolari uno strumento di ricerca molto importante.

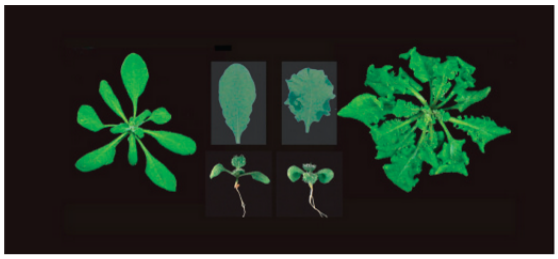



FIGURA 13-20
*Gli effetti di una molecola di miRNA sulla crescita di una pianta*
Un esemplare di Arabidopsis normale ( veduta dall'alto, foglia e veduta laterale della plantula ) è mostrato a sinistra e funge da controllo. I biologi hanno modificato una molecola di miRNA nella pianta mostrata a destra; il risultato è che essa presenta gravi anomalie di sviluppo, dimostrate dalle foglie raggrinzite.

**Verifica**

- Che cosa è la RNA interference?
- Che cos'è un gene?
- In che modo i retrovirus utilizzano l'enzima trascrittasi inversa?

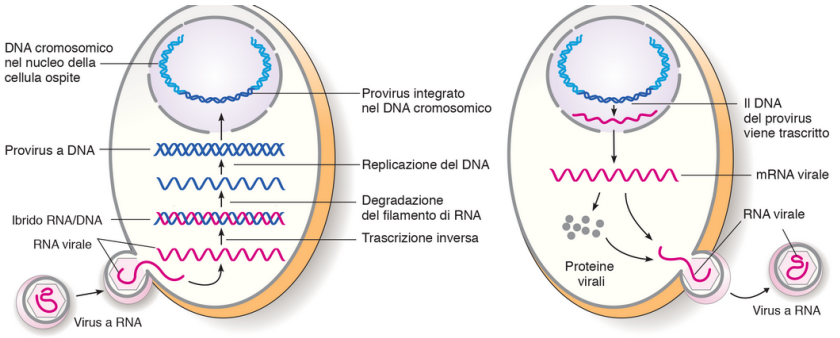
## 13.6 LE MUTAZIONI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

14. Fornire esempi dei differenti tipi di mutazioni che colpiscono la sequenza delle basi del DNA e spiegare gli effetti che ciascuna mutazione può avere sulla proteina prodotta.

Una delle più importanti scoperte sui geni è stata quella che ha rivelato che possono andare incontro a cambiamenti detti mutazioni . È oggi noto che le mutazioni sono causate da cambiamenti nella sequenza nucleotidica del DNA. Tuttavia, la frequenza con cui il DNA è danneggiato è molto più bassa rispetto al numero totale delle mutazioni che avvengono in una cellula, in quanto tutti gli organismi hanno speciali sistemi enzimatici che sono in grado di riparare certi tipi di alterazioni del DNA.

Una volta che la sequenza del DNA è mutata e non sottoposta a correzione, con il processo della replicazione le sequenze alterate vengono copiate come quelle normali, consentendo alla mutazione di fissarsi nelle generazioni successive. Nella maggior parte dei casi, l'allele mutato non acquisisce maggiore tendenza a mutare nuovamente rispetto a quello originale.




**(a)** Dopo l'ingresso in una cellula ospite di un virus oncogeno a RNA, la trascrittasi inversa virale sintetizza un filamento di DNA complementare all'RNA virale. Quindi, il filamento di RNA è degradato e viene sintetizzato un filamento di DNA complementare al primo, completando la doppia elica, che si integra nel DNA della cellula ospite.

**(b)** Il DNA del provirus è trascritto e il risultante mRNA è tradotto per sintetizzare le proteine virali. Vengono poi prodotte altre molecole di RNA virale che, racchiuse in un involucro proteico, costituiscono nuove particelle virali mature.

FIGURA 13-21
*Il ciclo di infezione di un virus oncogeno ad RNA*

Sebbene quasi tutte le mutazioni non corrette siano *silenti* (prive di effetti rilevabili) o dannose (come quelle che causano malattie ereditarie e cancro), alcune risultano utili. Dal momento che possono essere trasmesse alle generazioni cellulari successive e di conseguenza talvolta anche alle linee cellulari germinali che danno origine ai gameti, le mutazioni sono di importanza vitale nell'evoluzione. Le mutazioni forniscono la variabilità tra gli individui su cui agiscono le forze evolutive. Inoltre, le mutazioni sono molto utili nella ricerca (si ricordi il lavoro di Beadle e Tatum), in quanto forniscono la differsità del materiale genetico che ci permette di studiare sia l'ereditarietà sia gli aspetti molecolari dei geni.

I ricercatori sono oggi in grado di determinare dove avvengono le specifiche mutazioni in un gene, isolando il gene stesso e determinandone la sequenza mediante l'utilizzo delle metodiche del DNA ricombinante (vedi Capitolo 15 ).

### Le mutazioni per sostituzione di base originano dal cambiamento di una singola coppia di basi in un'altra

Le mutazioni possono modificare i geni in modi differsi. La mutazione più semplice è la mutazione per sostituzione di base , perché comporta la modificazione di una singola coppia di nucleotidi. Spesso, queste mutazioni derivano da errori nell'appaiamento delle basi durante il processo di replicazione, quando per esempio la coppia AT può essere sostituita da GC, CG o TA. Una simile mutazione può portare un DNA

alterato ad essere trascritto in un mRNA modificato, che a sua volta sarà tradotto in una catena polipeptidica con un aminoacido differso rispetto alla sequenza normale.

Le mutazioni silenti sono sostituzioni nucleotidiche che non portano ad una conseguenza funzionale, come nel caso di una mutazione in un gene codificante una proteina che non comporta variazioni nella sequenza aminoacidica della catena polipeptidica ( FIG. 13-22a , b ). Le mutazioni che provocano la sostituzione di un aminoacido con un altro sono definite mutazioni di senso (o missenso o missense mutation ) ( FIG. 13-22c ). La sostituzione di un aminoacido all'interno di una catena polipeptidica può avere un vasto numero di effetti; infatti, se la sostituzione di un aminoacido avviene all'interno o in prossimità di un sito attivo di un enzima, l'attività della proteina alterata può risultare minore oppure essere addirittura assente. Se una mutazione missenso provoca un cambiamento a carico di un aminoacido che non fa parte del sito attivo di un enzima oppure comporta la sostituzione di un aminoacido con un altro con caratteristiche chimiche del tutto simili, la mutazione può risultare irrilevante a livello funzionale e, talvolta, non rilevabile a livello strumentale. Poiché le mutazioni silenti sono relativamente frequenti, il reale numero di mutazioni all'interno di un organismo o di una specie è maggiore di quello che si riesce ad osservare.

Le mutazioni non senso ( nonsense mutation ) sono mutazioni puntiformi che possono modificare un codone che normalmente codifica un aminoacido trasformandolo in un codone di terminazione ( FIG. 13-22d ). Una mutazione non senso generalmente provoca l'alterazione della funzione del prodotto di quel gene; nel caso di un gene che codifichi una proteina, la porzione della catena polipeptidica a valle del codone di terminazione viene persa.

## Le mutazioni frameshift originano dall'inserzione o dalla delezione di coppie di basi

Nelle mutazioni "frameshift " (anche dette mutazioni per slittamento), una o due coppie di nucleotidi sono inseriti o eliminati (deleti) all'interno della molecola del DNA, causando un'alterazione della griglia di lettura ("reading frame"). Come risultato di questo scivolamento, i codoni a valle dell'inserzione o della delezione specificheranno una sequenza di aminoacidi completamente nuova. A seconda della posizione in cui avviene l'inserzione o la delezione, si possono avere effetti differsi. Spesso una mutazione frameshift dà origine ad un codone di stop a breve distanza dal punto in cui è avvenuta la mutazione ( FIG. 13-22e ), così da terminare precocemente la catena polipeptidica. Altre volte si origina un prodotto genico aberrante, costituito da una nuova catena polipeptidica avente alterata sequenza aminoacidica immediatamente a valle della mutazione ( FIG. 13-22f ). Lo spostamento della griglia di lettura in un gene che specifica un enzima ha quasi sempre come conseguenza la perdita dell'attività biologica dell'enzima stesso.

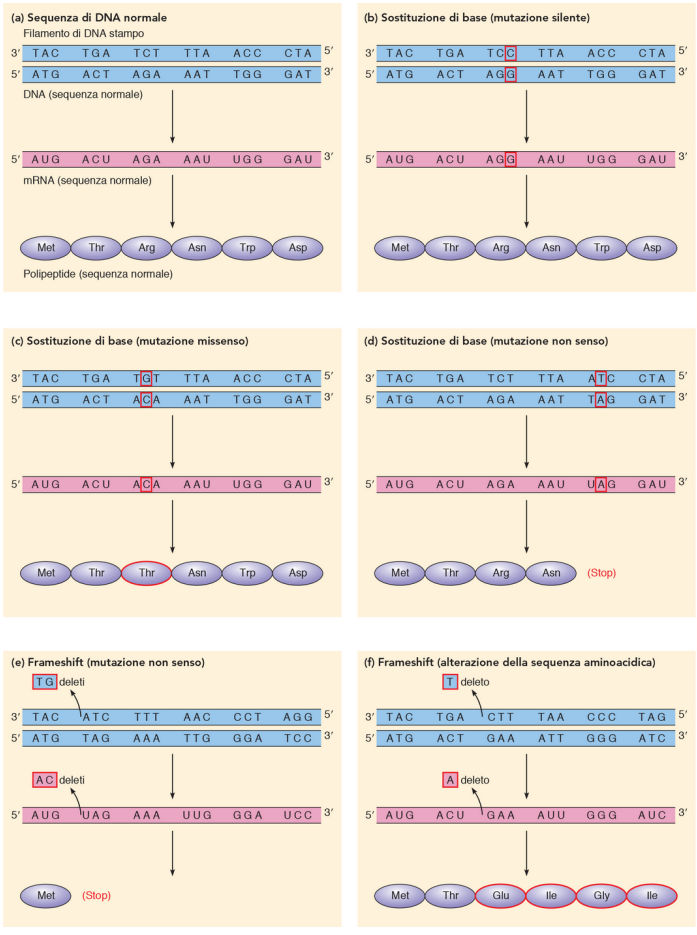



FIGURA 13-22 *Tipi di mutazioni*
Confrontare Ia sequenza normale del DNA (parte a) con le sequenze mutate (illustrate nelle parti dab ed e).

## Alcune mutazioni coinvolgono segmenti mobili di DNA

Alcuni tipi di mutazioni sono causate da sequenze di DNA che "saltano" all'interno di un gene. Questi elementi mobili di DNA non solo alterano la funzione di alcuni geni, ma in alcune condizioni sono anche in grado di attivare geni altrimenti inattivi. Gli elementi genetici mobili, anche noti come elementi trasponibili o trasposoni , sono stati scoperti attorno al 1950 nel granoturco dalla genetista americana Barbara McClintock ( FIG. 13-23 ). Ella osservò che alcuni geni sembravano "accendersi"o "spegnersi" spontaneamente, e ne dedusse che il meccanismo coinvolgeva un segmento di DNA in grado di spostarsi da una regione cromosomica ad un'altra, attivando o inattivando i geni vicini. A riconoscimento delle sorprendenti scoperte, nel 1983 Barbara McClintock ricevette il premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina.
Fu solamente con lo sviluppo della tecnologia del DNA ricombinante e con la scoperta dei trasposoni in una varietà di organismi che il fenomeno iniziò ad essere compreso. Ora sappiamo che i trasposoni sono

segmenti di DNA lunghi da centinaia a migliaia di coppie di basi. Nell'uomo quasi metà del genoma è costituito da trasposoni.
Sono stati identificati differsi tipi di elementi genetici mobili. Alcuni, detti trasposoni a DNA , spostano materiale genetico da un sito ad un altro con un meccanismo "taglia e incolla". I trasposoni a DNA sono comuni nei batteri e negli animali, incluso l'uomo.

Molti elementi mobili sono retrotrasposoni , i quali si replicano mediante la formazione di un intermedio a RNA. La trascrittasi inversa li converte nella loro sequenza di DNA di origine, prima che si spostino all'interno di un gene. Molti retrotrasposoni utilizzano il macchinario di espressione genica della cellula ospite per produrre la trascrittasi inversa. Dal momento che i retrotrasposoni utilizzano la trascrittasi inversa, si ipotizza che alcuni di essi si siano evoluti dai retrovirus, o viceversa. Gli scienziati stimano che le cellule umane contengano poco meno di 100 retrotrasposoni mobili. Nondimeno, i retrotrasposoni sono una causa di mutazione estremamente importante, aumentando l'abilità dell'organismo ad evolvere. Si stima, infatti, che essi causino circa il 10% delle mutazioni spontanee che determinano cambiamenti fenotipici evidenti.

## Le mutazioni hanno cause diverse

La maggior parte delle mutazioni sono poco frequenti ed avvengono spontaneamente come conseguenza di errori nella replicazione del DNA oppure per difetti nella segregazione dei cromosomi durante la mitosi o la meiosi. Alcune regioni del DNA, dette *punti caldi*, sono soggette a mutazioni più di altre. A volte possono essere brevi sequenze di nucleotidi ripetuti che fanno sì che la DNA polimerasi "scivoli" mentre legge lo stampo nel corso della replicazione.

Mutazioni in certi geni possono aumentare il tasso di mutazione totale. Per esempio, una mutazione in un gene che codifica per la DNA polimerasi potrebbe rendere meno preciso il meccanismo di replicazione o la mutazione in un gene che codifica per un enzima di riparazione potrebbe far sì che siano più le mutazioni che rimangono di quelle che sono riparate.

Non tutte le mutazioni avvengono spontaneamente; molte fra quelle sopra descritte possono essere causate anche da agenti noti come mutageni , fra cui i raggi X, i raggi gamma, i raggi cosmici, i raggi ultravioletti e agenti chimici. Alcuni mutageni chimici reagiscono con specifiche basi del DNA modificandole, con conseguenti errori nell'appaiamento delle basi durante la replicazione. Altri mutageni causano inserzioni o delezioni di nucleotidi all'interno della molecola del DNA e cambiano la normale griglia di lettura durante la replicazione.
Malgrado l'esistenza di enzimi che le riparano, alcune nuove mutazioni permangono. Molto probabilmente ciascuno di noi possiede qualche allele mutato che non è presente nei propri genitori; sebbene alcune di queste mutazioni possano produrre un fenotipo alterato, la maggior parte di esse passa inosservata perché recessiva.

FIGURA 13-23 *Trasposoni nel granoturco*
Le striature presenti nei chicci sono causate da trasposoni che si sono mossi all'interno del genoma sopprimendo la produzione di pigmento in alcune cellule. Il numero di divisioni cellulari che avvengono durante lo sviluppo del chicco, successivamente all'entrata in azione del trasposone, determina quanto pigmento viene prodotto. Alcuni chicchi sono infatti incolore (non pigmentati) in quanto la soppressione genica è avvenuta molto precocemente nel corso dello sviluppo.

Le mutazioni che avvengono nelle cellule somatiche non vengono trasmesse ai discendenti; tuttavia, esse sono di grande interesse, in quanto esiste una stretta correlazione tra mutazioni somatiche e cancro. Molti mutageni sono anche carcinogeni , cioè agenti responsabili dell'insorgenza del cancro.

## Verifica

- Quali sono i principali tipi di mutazioni?
- Quali sono gli effetti di ciascun tipo di mutazione sulla proteina prodotta?

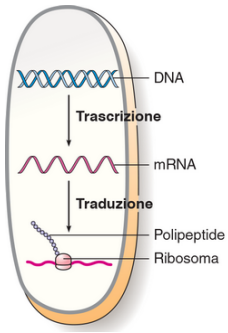
## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

13.1

1. Riassumere le prove iniziali che la maggior parte dei geni specifica la struttura delle proteine.
   - Il lavoro di Garrod sugli errori congeniti del metabolismo ha fornito dimostrazioni che i geni specificano le proteine. Garrod studiava una rara malattia genetica detta alcaptonuria . Egli ipotizzò che gli individui affetti da alcaptonuria fossero privi dell'enzima che normalmente ossida l'acido omogentfisico. L'ipotesi di Garrod si rivelò corretta: una mutazione in tale gene è associata all'assenza di uno specifico enzima.
2. Descrivere gli esperimenti di Beadle e Tatum su Neurospora .
   - Beadle e Tatum cercavano mutazioni che interferissero con le reazioni metaboliche che portano alla produzione di molecole essenziali nella muffa Neurospora . Essi esposero spore di Neurospora ai raggi X o alle radiazioni ultraviolette per indurre la formazione di ceppi mutanti; quindi, identificarono ceppi che portavano una mutazione che impediva alla muffa di produrre un composto chimico essenziale per la crescita. Il loro lavoro rivelò che ogni ceppo mutante portava una mutazione in un solo gene e che ogni gene influenzava un solo enzima.

13.2

3. Descrivere il flusso dell'informazione genetica nelle cellule, dal DNA all'RNA ai polipeptidi.
   - Il processo attraverso il quale l'informazione codificata nel DNA specifica le sequenze di aminoacidi nelle proteine comprende due passaggi: la trascrizione e la traduzione.
   - Durante la trascrizione , viene sintetizzata una molecola di RNA complementare al filamento di DNA che funge da stampo. Le molecole di RNA messaggero ( mRNA ) contengono le informazioni che stabiliscono la corretta sequenza degli aminoacidi nelle catene polipeptidiche.
   - Con la traduzione , avviene la sintesi della catena polipeptidica specificata dall'mRNA. Ciascuna tripletta (sequenza di tre basi) nell'mRNA costituisce un codone, che codifica per uno specifico aminoacido nella catena polipeptidica, oppure per un segnale di inizio o di terminazione. La traduzione richiede i tRNA ed un apparato cellulare che comprende i ribosomi.




4. Confrontare le strutture del DNA e dell'RNA.
   - L'RNA è costituito da subunità nucleotidiche, ciascuna delle quali contiene lo zucchero ribosio , una base azotata ( uracile , adenina, guanina o citosina) e tre gruppi fosfato. Come nel DNA, anche le subunità dell'RNA si legano con un legame covalente 5' — 3' in modo da formare uno scheletro zucchero-fosfato.
5. Spiegare perché il codice genetico viene detto ridondante e praticamente universale e discutere come queste caratteristiche possano rifletterne la storia evolutiva.
   - Il codice genetico viene letto sull'mRNA come una serie di codoni che specificano una singola sequenza di aminoacidi. Il codice genetico è ridondante in quanto alcuni aminoacidi sono specificati da più di un codone. Il codice genetico è praticamente universale e ciò suggerisce che tutti gli organismi discendono da un comune progenitore ancestrale. Le uniche eccezioni al codice standard sono variazioni minime.

13.3

6. Confrontare i processi di trascrizione e replicazione del DNA, identificando somiglianze e differenze.
   - Le RNA polimerasi , coinvolte nella sintesi dell'RNA, presentano molte similarità con le DNA polimerasi coinvolte nella replicazione del DNA. Entrambi gli enzimi effettuano la sintesi in direzione 5' → 3'. Entrambi utilizzano come substrato nucleotidi con tre gruppi fosfato, rimuovendo due di tali gruppi quando i nucleotidi vengono legati covalentemente all'estremità 3' del filamento neosintetizzato.
   - Proprio come i due filamenti appaiati di DNA sono antiparalleli, così il filamento di DNA stampo e il filamento complementare di RNA sono anch'essi antiparalleli. Di conseguenza, nel corso della sintesi dell'RNA in direzione 3' → 5', il filamento di DNA stampo viene letto in direzione 5' → 3'.
   - Vengono seguite le stesse regole dell'appaiamento complementare della replicazione del DNA, tranne che la timina è sostituita dall'uracile.
7. Confrontare gli mRNA procariotici ed eucariotici e spiegare il significato funzionale delle loro differenze strutturali.
   - I geni eucariotici e i loro mRNA sono più complessi di quelli batterici. Dopo la

trascrizione, alle molecole di mRNA eucariotico viene aggiunto, all'estremità 5', un cappuccio o cap (una guanosina trifosfato modificata). Molti messaggeri vengono modificati dall'aggiunta all'estremità 3' di una coda di poli-A (una serie di nucleotidi adenilici). Queste modifiche sembrano proteggere le molecole di mRNA eucariotiche dalla degradazione, aumentandone la vita media rispetto a quelle batteriche.

- In molti geni eucariotici, le regioni codificanti, chiamate esoni , sono interrotte da regioni non codificanti, chiamate introni . Sia gli introni che gli esoni sono trascritti, ma gli introni vengono successivamente rimossi dal trascritto primario, o pre-mRNA , e gli esoni vengono riuniti insieme per costituire una sequenza codificante continua.

13.4

8. Identificare le caratteristiche del tRNA importanti per decodificare l'informazione genetica e convertirla nel "linguaggio delle proteine".
    - Gli RNA transfer (tRNA) sono le molecole "decodificanti" nel processo di traduzione. Ciascuna molecola di tRNA è specifica per un solo aminoacido. Una porzione della molecola contiene un anticodone complementare ad un codone dell'mRNA. L'aminoacido specificato dal codone dell'mRNA è legato ad un'estremità della molecola di tRNA.
9. Spiegare il funzionamento dei ribosomi nella sintesi proteica.
    - Ciascun ribosoma è costituito da una subunità maggiore ed una minore; ciascuna subunità contiene RNA ribosomale (rRNA) e numerose proteine. I ribosomi permettono l'appaiamento tra i tRNA e i codoni sull'mRNA, catalizzano la formazione dei legami peptidici tra gli aminoacidi e traslocano l'mRNA in modo che il codone successivo possa essere letto.
10. Schematizzare i processi di inizio, allungamento e terminazione nella sintesi proteica.
    - L' inizio rappresenta la prima fase della traduzione. I fattori di inizio si legano alla subunità ribosomale minore, che in seguito lega l'mRNA in corrispondenza della regione del codone di inizio AUG. Il tRNA iniziatore si lega al codone di inizio e successivamente avviene il legame della subunità ribosomale maggiore.
    - L' allungamento è un processo ciclico in cui gli aminoacidi vengono aggiunti uno ad uno alla catena polipeptidica in crescita. L'allungamento procede sempre in direzione 5' → 3' lungo l'mRNA. La catena polipeptidica si allunga dall'estremità amminica all'estremità carbossilica.
    - La terminazione , la fase finale della traduzione, si verifica quando il ribosoma incontra uno dei tre codoni di stop . Il sito A lega un fattore di rilascio , che determina il rilascio della catena polipeptidica completa e la dissociazione del complesso di traduzione.

13.5

11. Descrivere i poliribosomi della cellula batterica
    - In modo simile a ciò che avviene nella cellula eucariotica, trascrizione e traduzione procedono affiancate anche nella cellula batterica. I ribosomi procariotici si legano all'estremità 5' della sequenza di mRNA ed iniziano la traduzione prima che il processo di trascrizione sia completato. Sino a 15 ribosomi si legano all'mRNA formando un poliribosoma .
12. Illustrare brevemente l'RNA interference
    - L' RNA interference (RNAi) avviene quando piccole molecole di RNA, quali per esempio i piccoli RNA interferenti (siRNA) e i microRNA (miRNA) interferiscono con l'espressione di un gene o con il suo trascritto.
13. Descrivere i retrovirus e l'enzima trascrittasi inversa.
    - I retrovirus sono virus che sintetizzano il DNA da uno stampo di RNA. In essi, il flusso dell'informazione genetica è invertito dall'attività dell'enzima trascrittasi inversa . L'HIV-1, il virus che causa l'AIDS, è un esempio di retrovirus.

13.6

14. Fornire esempi dei differenti tipi di mutazioni che colpiscono la sequenza delle basi del DNA e spiegare gli effetti che ciascuna mutazione può avere sulla proteina prodotta.
    - Una sostituzione di base è una mutazione in grado di compromettere la funzione di una proteina se altera un codone che quindi o specficherà un aminoacido differso ( mutazione di senso o missense mutation ) o darà origine ad un codone di stop ( mutazione non senso o nonsense mutation ). La sostituzione di una base può avere effetti minimi se l'aminoacido non è cambiato oppure se viene sostituito con un altro chimicamente simile.
    - L'inserzione o la delezione di una o due coppie di basi in un gene altera invariabilmente la

funzione della proteina, poiché porta ad una mutazione frameshift (mutazione per slittamento) , che cambia completamente la sequenza dei codoni a valle della mutazione.

- Le mutazioni possono anche verificarsi a causa di sequenze di DNA mobili, note come trasposoni , che possono "saltare" all'interno di un gene. Molti di essi sono retrotrasposoni , che si replicano mediante la formazione di un intermedio a RNA; la trascrittasi inversa poi li converte nella loro sequenza di DNA di origine prima che possano inserirsi in un gene.

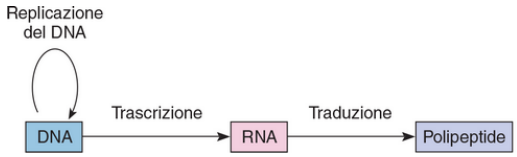
## AUTOVERIFICHE

1. Beadle e Tatum hanno: (a) ipotizzato che il tRNA possiede un anticodone; (b) scoperto la malattia genetica alcaptonuria; (c) dimostrato che l'anemia falciforme è dovuta al cambiamento di un singolo aminoacido nella catena dell'emoglobina; (d) definito il codice genetico; (e) studiato la correlazione tra geni ed enzimi in Neurospora .
2. Qual è l'ordine corretto per il flusso di informazione nelle cellule procariotiche ed eucariotiche? (a) DNA → mRNA → proteina; (b) proteina → mRNA → DNA; (c) DNA → proteina → mRNA; (d) proteina → DNA → mRNA; (e) mRNA → proteina → DNA.
3. Nel corso della trascrizione, da quanti nucleotidi sarebbe composto l'RNA codificato da una sequenza di DNA di 99 coppie di nucleotidi? (a) 297; (b) 99; (c) 33; (d) 11; (e) è impossibile stabilirlo in base alle informazioni date.
4. Il codice genetico è definito come una serie di _____ nel _____ . (a) Anticodoni, tRNA; (b) codoni, DNA; (c) anticodoni, mRNA; (d) codoni, mRNA; (e) codoni e anticodoni, rRNA.
5. L'RNA differisce dal DNA per il fatto che la base _____ è sostituita da _____ . (a) Adenina, uracile; (b) uracile, timina; (c) guanina, uracile; (d) citosina, guanina; (e) guanina, adenina.
6. L'RNA cresce nella direzione _____ quando l'RNA polimerasi si muove lungo il filamento stampo di DNA nella direzione _____ . (a) 5' → 3'; 3' → 5'; (b) 3' → 5'; 3' → 5'; (c) 5' → 3'; 5' → 3'; (d) 3' → 3', 5' → 5'; (e) 5' → 5'; 3' → 3'.
7. Quale/i delle seguenti non si trova/trovano nelle molecole di mRNA procariotico? (a) Codone di stop; (b) sequenze leader a monte; (c) sequenze trailing a valle; (d) codone di inizio; (e) sequenze promotrici.
8. Negli eucarioti, durante il processamento nucleare, cosa è rimosso dal pre-mRNA? (a) Sequenze leader a monte; (b) coda di poli-A; (c) introni; (d) esoni; (e) tutte le precedenti.
9. Il ruolo del tRNA è quello di trasportare: (a) gli aminoacidi al ribosoma; (b) gli aminoacidi al nucleo; (c) i fattori di inizio al ribosoma; (d) l'mRNA al ribosoma; (e) i fattori di rilascio al ribosoma.
10. Supponete di miscelare i seguenti componenti della sintesi proteica in una provetta: gli aminoacidi di un coniglio, i ribosomi di un cane, i tRNA di un topo, gli mRNA di uno scimpanzé, gli enzimi necessari ed una fonte di energia di una giraffa. Se ha luogo la sintesi proteica, sarà prodotta la proteina di quale animale? (a) Coniglio; (b) cane; (c) topo; (d) scimpanzé; (e) giraffa.
11. _____ catalizza l'escissione degli introni dal premRNA. (a) Il ribosoma; (b) lo spliceosoma; (c) l'enzima RNA polimerasi; (d) l'enzima aminoacil-tRNA sintetasi; (e) l'enzima trascrittasi inversa.
12. Una mutazione non senso: (a) causa la sostituzione di un aminoacido con un altro in una catena polipeptidica; (b) deriva dalla delezione di una o due basi, portando ad uno scivolamento della griglia di lettura; (c) deriva dall'inserzione di una o due basi, portando ad uno scivolamento della griglia di lettura; (d) deriva dall'inserzione di un trasposone; (e) di solito porta alla formazione di una catena polipeptidica anormalmente breve.

## PENSIERO CRITICO

1. Confrontate la formazione dell'mRNA nei procarioti e negli eucarioti. In che modo le differenze influenzano le modalità di traduzione di ciascun tipo di RNA? Esiste, in uno dei due sistemi, un evidente vantaggio in termini di costo energetico? Quale dei due sistemi offre maggiori vantaggi dal punto di vista del controllo dell'espressione genica?
2. I biologi ipotizzano che ad un certo punto i trasposoni perdano la capacità di replicarsi e quindi restino inseriti nel DNA senza più spostarsi. In base a quanto appreso in questo capitolo, suggerite una plausibile spiegazione di tale perdita di mobilità.
3. Come è stato decifrato il codice genetico?
4. Inserite una freccia nella figura seguente che mostri il punto in cui si verifica la trascrizione inversa catalizzata dall'enzima trascrittasi inversa. Mostrate anche i punti in cui sono coinvolti gli enzimi DNA polimerasi, RNA polimerasi e peptidil transferasi.

5. ANALISI DEI DATI . State ripetendo il clafisico esperimento di Beadle e Tatum in un laboratorio di biologia. Inizialmente esponete spore di Neurospora ai raggi X, successivamente preparate una coltura partendo da una spora irradiata e la aliquotate in un terreno contenente (1) medium minimo con vitamine, (2) medium minimo con aminoacidi, (3) medium minimo semplicemente. Interpretate i risultati della crescita fungina nei tre terreni di coltura, in relazione alla capacità di crescita nei differsi terreni.
6. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Dal momento che gli introni sono presenti in tutti gli eucarioti e solo in alcuni procarioti, i biologi ipotizzano che essi si siano evoluti molto presto nella storia della vita. Se questo è vero, suggerite perché quasi tutti i procarioti attuali hanno perso la maggior parte dei loro introni nel corso dell'evoluzione.




# Articolo II. Regolazione genica 14

In un organismo pluricellulare, ogni tipo di cellula ha una forma caratteristica, svolge attività specifiche e produce un insieme distinto di proteine. Tuttavia, a parte poche eccezioni, tutte le cellule di un organismo contengono la stessa informazione genetica. Perché, allora, esse non sono identiche nella struttura, nella composizione molecolare e nella funzione? Le cellule differiscono perché l'espressione dei geni è regolata e in ogni cellula solo parte dell'informazione genetica totale viene espressa (vedi fotografia).

Quali sono allora i meccanismi che controllano l'espressione genica? Consideriamo un gene che codifica una proteina ad attività enzimatica. Esso è completamente espresso solo quando il gene è trascritto in RNA messaggero (mRNA), l'mRNA è tradotto in una proteina e la proteina è attivata per catalizzare una specifica reazione cellulare. L'espressione genica è dunque il risultato di una serie di processi, ognuno dei quali può essere controllato in molti modi diversi. I meccanismi di controllo necessitano di informazioni sotto forma di segnali diversi, alcuni dei quali hanno origine intracellulare, mentre altri provengono dall'ambiente esterno. Questi segnali interagiscono con il DNA, l'RNA o la proteina.

Alcune delle principali strategie usate per regolare l'espressione di un gene includono il controllo della quantità di mRNA trascritto, la velocità di traduzione dell'mRNA e l'attività della proteina prodotta. Tutto ciò può essere ottenuto in modi diversi. Per esempio, la quantità di mRNA disponibile può essere controllata regolando la velocità di degradazione o quella di sintesi.

Benché i batteri non siano multicellulari, anch'essi hanno la necessità di regolare l'espressione dei loro geni. Nei procarioti la regolazione genica spesso riguarda il controllo della trascrizione dei geni i cui prodotti sono coinvolti nell'utilizzazione delle risorse. Negli eucarioti, invece, per la maggiore complessità di queste cellule e per la necessità di controllare lo sviluppo in organismi pluricellulari, è di importanza primaria la fine sintonia dei sistemi di controllo. Di conseguenza, la regolazione dei geni eucariotici avviene a tutti i livelli.

## 14.1 LA REGOLAZIONE GENICA NEI BATTERI E NEGLI EUCARIOTI: una visione d'insieme

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Spiegare perché le cellule procariotiche ed eucariotiche presentano differenti meccanismi di regolazione genica.

Le cellule procariotiche ed eucariotiche utilizzano meccanismi di regolazione genica differenti, sulla base delle necessità dell'organismo. Poiché i batteri sono organismi unicellulari, ogni cellula deve essere in grado di assolvere a tutte le proprie funzioni essenziali; inoltre, i procarioti crescono rapidamente e hanno un periodo di vita relativamente breve, per cui sono dotati di una minore quantità di componenti chimici.

Il requisito primario per la regolazione genica nei batteri è la produzione di enzimi ed altre proteine nel momento in cui sono richiesti, per cui il meccanismo più efficiente è il controllo a livello trascrizionale

L'organizzazione di geni correlati in gruppi, che possono essere accesi o spenti rapidamente come singole unità, permette a queste cellule di sintetizzare esclusivamente i prodotti genici utili in un particolare momento. Questo tipo di regolazione richiede un rapido ricambio di molecole di mRNA, in modo che queste non si accumulino e non continuino ad essere tradotte quando non è necessario farlo. Raramente i batteri regolano i livelli enzimatici mediante la degradazione delle proteine. Quando la sintesi di una proteina termina, le molecole proteiche precedentemente sintetizzate si diluiscono così rapidamente nei successivi cicli di divisione cellulare che in genere non è necessario degradarle. Solo quando le cellule non hanno nutrimento nell'ambiente e sono private degli aminoacidi essenziali, le proteasi sono utilizzate per degradare le proteine che non servono più, per poter così riciclare e riutilizzare gli aminoacidi.

Le cellule eucariotiche hanno esigenze di regolazione diverse. Sebbene il controllo a livello della trascrizione predomini, divengono importanti i controlli anche ad altri livelli dell'espressione genica, soprattutto negli organismi pluricellulari, dove i gruppi di cellule cooperano gli uni con gli altri nella suddivisione del lavoro. Poiché un singolo gene può essere regolato in modo differente in diversi tipi cellulari, la regolazione genica negli eucarioti è estremamente più complessa.

Di norma, le cellule eucariotiche hanno una vita media più lunga, durante la quale possono avere bisogno di rispondere ripetutamente a molti stimoli diversi; perciò, piuttosto che sintetizzare nuovi enzimi ogni volta che devono rispondere ad uno stimolo, esse utilizzano enzimi preformati e altre proteine che possono essere rapidamente convertite da uno stato inattivo ad uno attivo. Alcune cellule hanno una scorta di mRNA inattivi; ad esempio, gli mRNA di una cellula uovo vengono attivati quando essa è fecondata.

Gran parte della regolazione genica negli organismi pluricellulari è basata sull'espressione differenziale dei geni nelle cellule dei vari tessuti. Ogni tipo di cellula ha infatti geni che sono attivi ed altri che possono non essere mai usati. Per esempio, i globuli rossi in corso di differenziamento sintetizzano la proteina emoglobina, necessaria al trasporto dell'ossigeno; al contrario, le cellule muscolari non sintetizzano emoglobina, ma una proteina correlata, la mioglobina, che immagazzina ossigeno in quello specifico tipo di tessuto. Evidentemente, i vantaggi adattativi della cooperazione fra le cellule, negli organismi pluricellulari, superano lo svantaggio del trasporto di un "carico" di geni inattivi attraverso molti cicli di divisione cellulare.

Il maiale domestico rappresenta un altro esempio di come la regolazione genica influenzi l'espressione nei diversi tessuti. Nel 2003, sono stati riportati i dettagli di una mutazione genetica che fa sì che i maiali sviluppino una maggiore massa di tessuto muscolare ( FIG. 14-1 ). Tale mutazione è portata da un gene, detto gene del fattore di crescita insulino-simile 2 ( IGF2 ), che codifica una proteina prodotta sia nei muscoli che nel fegato. I biologi hanno scoperto che una mutazione per sostituzione di base (vedi Capitolo 13 ) nel gene IGF2 lo rende tre volte più attivo nei muscoli del maiale, rendendone più magra la carne. Tuttavia, la mutazione non altera l'espressione del gene nelle cellule epatiche. È interessante notare che tale mutazione non cade nella porzione del gene codificante la proteina, ma in una regione non codificante, presumibilmente responsabile della regolazione genica.

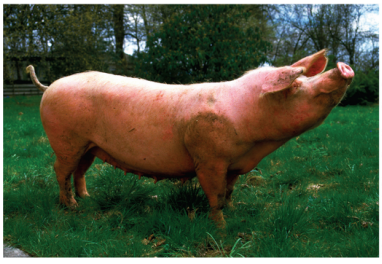

H. Schwind/Okapia/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.

FIGURA 14-1
*Maiale magro caratterizzato da una mutazione nel gene IGF*
Anni fa, gli allevatori scoprirono un maiale che aveva più muscoli e meno grasso del normale e lo sottoposero ad accoppiamenti selettivi. Oggi, la maggior parte delle popolazioni commerciali di maiali possiede la mutazione che conferisce tale carattere. La mutazione, che è stata recentemente identificata in una sostituzione di una guanina con un'adenina, è localizzata in una regione non codificante del gene IGF2 .

**Verifica**

- Qual è il meccanismo di regolazione genica più efficiente nei batteri?
- Fate un confronto tra la regolazione genica dei procarioti e quella degli eucarioti.

# 14.2 LA REGOLAZIONE GENICA NEI BATTERI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Definire il termine operone e spiegare le funzioni dei siti promotore ed operatore.
3. Fare una distinzione tra geni inducibili, reprimibili e costitutivi.
4. Evidenziare le differenze tra il controllo positivo e il controllo negativo, mostrando come entrambi i sistemi regolino l'operone del lattosio.
5. Descrivere i diversi tipi di controllo post-trascrizionale nei procarioti.

Una cellula di *Escherichia coli*, un batterio che vive nell'intestino dell'uomo e di altri mammiferi, ha 4288 geni che codificano per proteine di cui approssimativamente il 60% ha funzione nota. Alcune delle proteine codificate da questi geni sono sempre necessarie alla cellula (ad es., gli enzimi coinvolti nella glicolisi). Questi geni costantemente trascritti sono chiamati geni costitutivi e i biologi li descrivono come *espressi costitutivamente*. Altri prodotti genici sono invece necessari solo quando il batterio si trova in particolari condizioni ambientali.

Per esempio, i batteri che vivono nel colon di un bovino adulto non sono normalmente esposti al lattosio, un disaccaride presente nel latte. Tuttavia, se le stesse cellule si trovassero a vivere nel colon del vitello, allora avrebbero a disposizione del lattosio come fonte energetica. Questo pone un interrogativo. Può una cellula batterica investire energia e materiali per produrre enzimi che metabolizzano il lattosio solo per l'eventualità di trovarsi nel sistema differente di un vitello? D'altra parte, se le cellule di E. coli non avessero la capacità di produrre questi enzimi potrebbero morire di fame pur in presenza di abbondanza di cibo. E. coli affronta il problema regolando la produzione di molti dei suoi enzimi in modo da poter utilizzare in modo estremamente efficiente le molecole organiche disponibili.

Le cellule hanno principalmente due possibilità per controllare la propria *attività* metabolica: possono regolare l'attività dei loro enzimi (ovvero quanto efficacemente l'enzima lavora) oppure possono regolare il *numero* di molecole enzimatiche presenti in ogni cellula. Per regolare alcuni enzimi, possono essere utilizzate entrambe le strategie.
Si stima che una cellula di E. coli che cresca in presenza di glucosio necessiti di circa 800 enzimi diversi. Alcuni di questi devono essere presenti in notevoli quantità, altri in modeste quantità. La quantità di ogni enzima, perciò, deve essere efficientemente controllata affinché sia garantito il corretto funzionamento della cellula.

I procarioti sono in grado di rispondere ai cambiamenti delle condizioni ambientali. Se viene aggiunto lattosio ad una coltura di cellule di E. coli , queste sintetizzano rapidamente gli enzimi necessari per metabolizzare questo zucchero. I batteri rispondono in maniera così efficiente, in quanto i geni funzionalmente correlati (come i tre geni coinvolti nel metabolismo del lattosio) sono regolati in modo coordinato all'interno di complessi genici chiamati *operoni*.

### Gli operoni nei procarioti consentono il controllo coordinato di geni funzionalmente correlati

Nel 1961, i ricercatori francesi François Jacob e Jacques Monod dimostrarono come alcuni geni sono regolati a livello biochimico; essi studiarono i geni che codificano gli enzimi per il catabolismo del disaccaride lattosio. Nel 1965, Jacob e Monod furono insigniti del premio Nobel per la Medicina grazie alle loro scoperte relative al controllo genetico degli enzimi.

Affinché E. coli possa utilizzare il lattosio come fonte di energia, lo zucchero deve essere scisso nei monosaccaridi glucosio e galattosio dall'enzima beta-galattosidasi. Successivamente, il galattosio è convertito in glucosio da un altro enzima e le risultanti due molecole di glucosio sono a loro volta utilizzate nella via della glicolisi (vedi Capitolo 8 ).

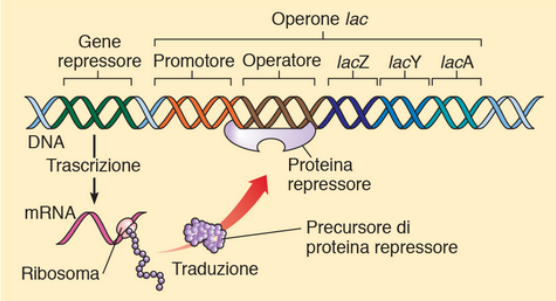
Mentre le cellule di E. coli cresciute in presenza di glucosio contengono modeste quantità dell'enzima β - galattosidasi, quelle cresciute in presenza di lattosio, come unica fonte di carbonio, hanno diverse migliaia di molecole dell'enzima per ogni cellula, pari a circa il 3% delle proteine cellulari totali. In presenza di lattosio aumentano anche i livelli di altri due enzimi: lattosio permeasi e galattoside transacetilasi. L'enzima permeasi è necessario per il trasporto del lattosio attraverso la membrana plasmatica; in sua assenza, solo una piccola quantità di lattosio può penetrare nella cellula. Anche l'enzima transacetilasi è coinvolto nel metabolismo del lattosio, sebbene la sua funzione sia meno chiara.

Jacob e Monod riuscirono ad identificare ceppi mutanti di E. coli nei quali un singolo difetto genetico

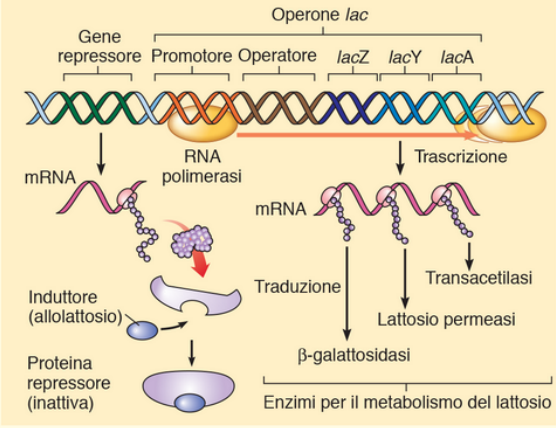
portava alla perdita di tutti e tre gli enzimi. Questa scoperta, insieme ad altre informazioni, li portò a concludere che le sequenze di DNA codificanti tutti e tre gli enzimi fossero organizzate, nel cromosoma del batterio, a costituire una singola unità, e fossero soggette ad un meccanismo di controllo comune. Ciascuna sequenza che codifica una proteina ad attività enzimatica è detta gene strutturale . Jacob e Monod hanno coniato il termine operone per riferirsi ad un complesso genico che comprende geni strutturali con funzioni correlate e sequenze di DNA vicine responsabili del loro controllo. I geni strutturali dell'operone lac (operone lattosio) – lacZ, lacY e lacA – codificano rispettivamente per la β -galattosidasi, la lattosio permeasi e la galattoside transacetilasi ( FIG. 14-2 ).

La trascrizione dell'operone lattosio inizia quando l'RNA polimerasi si lega ad un singolo sito promotore a monte delle sequenze codificanti. Procede poi alla trascrizione del DNA, formando una singola molecola di mRNA che contiene le informazioni che codificano per i tre enzimi. Ciascuna sequenza codificante un enzima su questo mRNA contiene i propri codoni di inizio e di terminazione della traduzione, così che vengono sintetizzate tre molecole proteiche separate. Poiché tutti e tre gli enzimi sono tradotti dalla stessa molecola di mRNA, per regolare la loro sintesi è sufficiente attivare o disattivare la trascrizione.

L'interruttore che controlla la sintesi dell'mRNA è chiamato operatore . Si tratta di una sequenza di basi a monte del primo gene strutturale nell'operone lattosio. In assenza di lattosio, una proteina repressore , chiamata repressore del lattosio , si lega strettamente alla regione dell'operatore. L'RNA polimerasi si lega al promotore, ma non può trascrivere i geni strutturali dell'operone.




**(a) Lattosio assente.** In assenza di lattosio, una proteina repressore, codificata da un gene adiacente, si lega ad una regione conosciuta come operatore, bloccando la trascrizione dei geni strutturali.




**(b) Lattosio presente.** Quando il lattosio è presente, viene trasformato in allolattosio, che si lega al repressore in un sito allosterico, alterando la struttura della proteina, che così non si può più legare all'operatore. Questo permette all'RNA polimerasi di trascrivere i geni strutturali.

**PUNTO CHIAVE** I geni strutturali dell'operone lac sono controllati in modo coordinato e trascritti in una singola molecola di mRNA.

FIGURA 14-2
*L'operone lac*

Il repressore del lattosio è codificato da un gene repressore che in questo caso è un gene strutturale adiacente, situato a monte del sito promotore. A differenza dei geni dell'operone lattosio, il gene che codifica il repressore è costitutivo, ovvero è sempre attivo, e piccole quantità della proteina repressore sono prodotte di continuo.

Questa proteina è capace di legarsi specificamente alla sequenza dell'operatore del lattosio. Quando le cellule sono coltivate in assenza di lattosio, il sito operatore è quasi sempre occupato da una molecola di repressore. Solo quando il sito operatore è libero, per un breve lasso di tempo, l'RNA polimerasi può legarsi ed iniziare la trascrizione dei geni strutturali; tuttavia, la cellula sintetizza poche molecole di enzima in quanto l'mRNA di E. coli viene degradato rapidamente (ha un'emivita fra i 2 e i 4 minuti).

Il lattosio è capace di attivare, o meglio indurre, la trascrizione dell'intero operone, in quanto la proteina repressore del lattosio contiene una seconda regione funzionale oltre a quella di legame per il DNA. Questo è un sito di legame allosterico (vedi Capitolo 7 ) per l'allolattosio, un isomero strutturale prodotto dal lattosio. Se il lattosio è presente nel mezzo di crescita, alcune molecole entrano nella cellula e vengono trasformate in allolattosio dalle poche molecole di β -galattosidasi presenti. Quando una molecola di allolattosio si lega al repressore nel sito allosterico, altera la conformazione della proteina cosicché il sito di legame del DNA non può più riconoscere l'operatore. Quando tutte le molecole di repressore hanno legato l'allolattosio e pertanto sono inattivate, l'RNA polimerasi trascrive attivamente i geni strutturali dell'operone.

La cellula di E. coli continua a produrre β -galattosidasi e le altre proteine dell'operone fino a quando il lattosio non è virtualmente esaurito. Quando i livelli intracellulari di lattosio diminuiscono, la proteina repressore non ha più allolattosio a cui legarsi e quindi assume nuovamente una conformazione compatibile con il legame alla regione dell'operatore, così che la trascrizione dell'operone lattosio ha termine.

### Per studiare l'operone lattosio, Jacob e Monod isolarono mutanti genetici

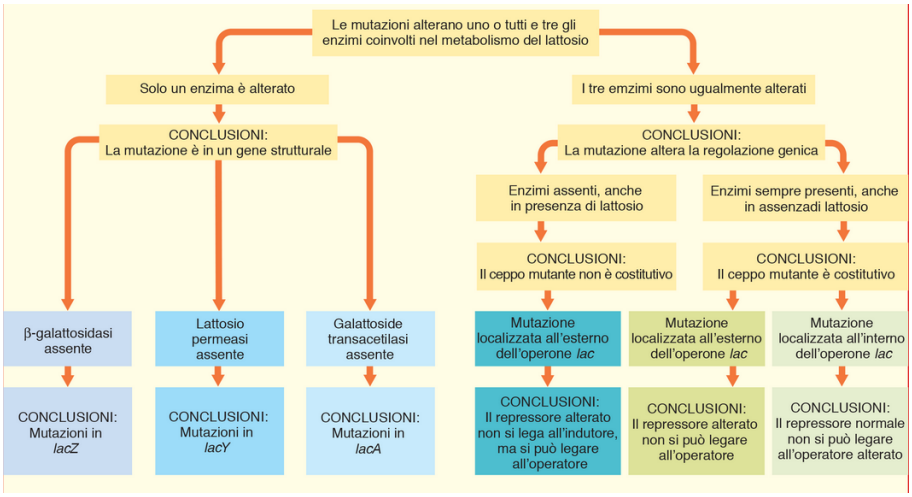
In che modo Jacob e Monod hanno studiato l'operone lattosio? Il loro approccio era basato sull'uso di ceppi mutanti che anche oggi hanno un ruolo essenziale per identificare i componenti dei sistemi di regolazione. Incroci genetici di ceppi mutanti permettono infatti ai ricercatori di determinare le *posizioni di mappa* (cioè l'ordine lineare) dei geni sul DNA e di capirne le normali funzioni studiando cosa accade quando non ci sono o sono alterati. Queste informazioni sono di solito associate dai ricercatori a quelle derivate direttamente da studi biochimici.

I due ricercatori furono in grado di suddividere i ceppi mutanti in due gruppi, sulla base del fatto che una particolare mutazione avesse effetto su un solo enzima o su tutti e tre ( FIG. 14-3 ). In un gruppo, solo un enzima, tra β -galattosidasi, lattosio permeasi o galattoside transacetilasi, era influenzato dalla mutazione. I successivi studi di mappatura genica dimostrarono che queste erano mutazioni in geni strutturali, localizzate una vicina all'altra, in una sequenza lineare.

Jacob e Monod studiarono anche ceppi che classificarono come mutanti di regolazione, perché una singola mutazione era in grado di alterare in modo coordinato l'espressione di tutti e tre gli enzimi. Alcuni mutanti di regolazione erano in grado di trascrivere i geni strutturali dell'operone lac ad un tasso significativo anche quando il lattosio era assente, comportando un dispendio energetico ingiustificato per la cellula dovuto alla produzione di enzimi non necessari. Un gruppo di queste mutazioni geniche mappava al di fuori dell'operone lac . Jacob e Monod ipotizzarono quindi l'esistenza di un gene repressore che codifica per una molecola repressore (successivamente identificata in una proteina). Sebbene il difetto specifico potesse essere di tipo diverso, i membri di questo gruppo di mutanti producono repressori difettivi non in grado di legarsi all'operone lac e quindi incapaci di inattivarne il promotore; in questo modo l'operone lattosio è espresso costitutivamente.

Al contrario, alcuni mutanti di regolazione erano incapaci di trascrivere l'operone lac anche in presenza di lattosio. I ricercatori scoprirono che ognuno di questi geni anomali codificava un repressore caratterizzato da un alterato sito di legame per l'allolattosio. Una volta legata all'operatore, questa forma mutata di repressore manteneva quindi l'operone inattivo.

I geni responsabili del comportamento di un altro gruppo di mutanti regolatori erano situati all'interno dell'operone lattosio, ma non interessavano direttamente nessuno dei tre geni strutturali. Jacob e Monod ipotizzarono che i membri di questo gruppo di mutanti producessero molecole di repressore normali, ma avessero sequenze alterate nell'operatore incapaci di legare il repressore.




**PUNTO CHIAVE** Jacob e Monod hanno analizzato le caratteristiche di diversi ceppi mutanti di E. coli per comprendere la struttura e la funzione dell'operone lac.

FIGURA 14-3 *Caratterizzazione genetica e biochimica dell'operone lac* Il diagramma mostra come Jacob e Monod formularono le loro conclusioni basate su osservazioni sperimentali.

### Un gene inducibile non è trascritto fino a che uno specifico induttore inattiva il suo repressore

I genetisti definiscono l'operone lattosio un operone inducibile . Un gene o un operone inducibile è di solito controllato da un repressore che lo mantiene inattivo. La presenza di un induttore (in questo caso l'allolattosio) inattiva il repressore e così il gene o l'operone viene trascritto. Di norma, i geni o gli operoni inducibili codificano enzimi che fanno parte di una via catabolica, la cui funzione è quella di degradare molecole organiche per fornire l'energia e i substrati utili alle reazioni anaboliche. Questo tipo di sistema di regolazione consente alle cellule di risparmiare l'energia necessaria per sintetizzare gli enzimi, quando non sono disponibili i loro substrati.

### Un gene reprimibile è trascritto fino a che uno specifico complesso repressore/corepressore si lega al DNA

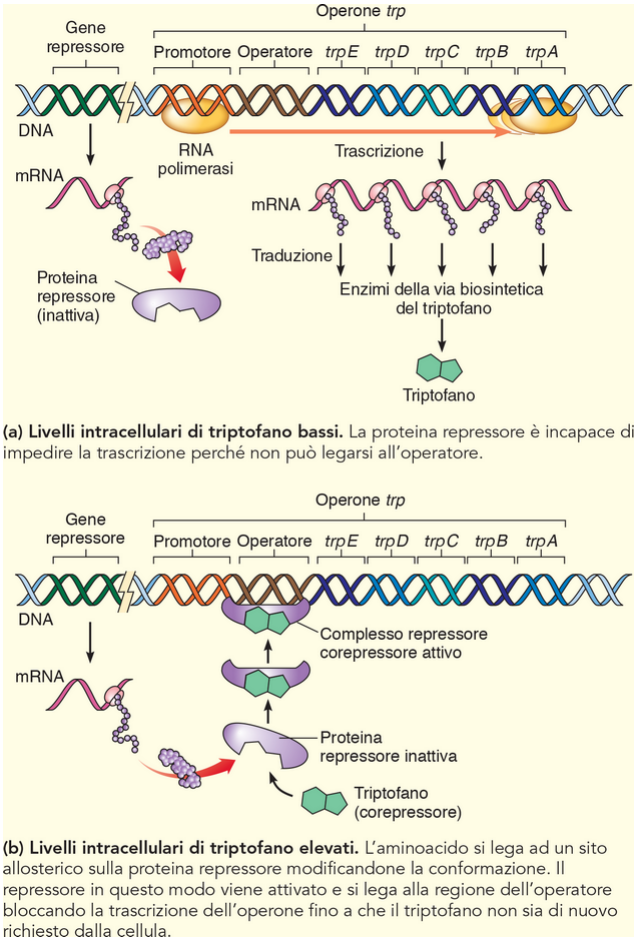
Un altro tipo di sistema di regolazione genica nei batteri è associato principalmente con le vie anaboliche,

nelle quali aminoacidi, nucleotidi ed altre molecole essenziali sono sintetizzati a partire da precursori più semplici. La regolazione di questi percorsi coinvolge normalmente enzimi che sono codificati da geni reprimibili.
Geni ed operoni reprimibili sono di solito attivi e vengono inattivati solo in particolari condizioni. Nella maggior parte dei casi, il segnale molecolare usato per regolare questi geni è il prodotto finale della via metabolica. Quando la concentrazione del prodotto (ad esempio, un aminoacido) è bassa, tutti gli enzimi della via metabolica sono attivamente sintetizzati. Viceversa, quando il livello intracellulare del prodotto finale è alto, la sintesi enzimatica viene repressa. Poiché composti come gli aminoacidi sono continuamente necessari per la crescita cellulare, la strategia più efficace è mantenere attivi i geni che controllano la loro produzione, eccetto quando sia disponibile una grossa scorta degli stessi aminoacidi. La capacità di disattivare opportunamente i geni permette alle cellule di evitare una sovrapproduzione di aminoacidi e di altre molecole che sono essenziali, ma la cui sintesi è al tempo stesso dispendiosa.

L'operone triptofano ( trp ) è un chiaro esempio di sistema reprimibile. Sia in E. coli che in altri batteri ad esso correlati quali la *Salmonella*, l'operone *trp* è costituito da cinque geni strutturali che codificano gli enzimi necessari alla sintesi dell'aminoacido triptofano. Questi sono raggruppati insieme in un'unità trascrizionale con un singolo promotore ed un singolo operatore ( FIG. 14-4a ). Un gene regolatore, posto a distanza, codifica una proteina repressore diffusibile che presenta un meccanismo d'azione differente rispetto a quello del repressore del lattosio. Questa proteina è infatti sintetizzata in forma inattiva ed è incapace di legarsi alla regione dell'operatore dell'operone trp.

Il sito di legame del repressore al DNA diventa attivo solo quando il triptofano, suo corepressore , si lega ad un sito allosterico sulla molecola del repressore ( FIG. 14-4b ). Quando i livelli intracellulari di triptofano sono bassi, la proteina repressore è inattiva ed è quindi incapace di legarsi alla regione dell'operatore sul DNA. In questo caso, gli enzimi richiesti per la sintesi del triptofano sono sintetizzati e la concentrazione dell'aminoacido aumenta. Al crescere della concentrazione di triptofano, alcune molecole dell'aminoacido si legano al sito allosterico del repressore alterandone la conformazione, così da rendere possibile il suo legame con la sequenza operatore sul DNA. Questo meccanismo ha l'effetto di disattivare l'operone, bloccando di conseguenza la trascrizione.

**PUNTO CHIAVE** I geni strutturali che codificano gli enzimi per la sintesi dell'aminoacido triptofano sono organizzati in un operone reprimibile.




**(a) Livelli intracellulari di triptofano bassi.** La proteina repressore è incapace di impedire la trascrizione perché non può legarsi all'operatore.

**(b) Livelli intracellulari di triptofano elevati.** L'aminoacido si lega ad un sito allosterico sulla proteina repressore modificandone la conformazione. Il repressore in questo modo viene attivato e si lega alla regione dell'operatore bloccando la trascrizione dell'operone fino a che il triptofano non sia di nuovo richiesto dalla cellula.

FIGURA 14-4
*L'operone trp*

## I meccanismi di regolazione negativi inibiscono la trascrizione, quelli positivi la stimolano

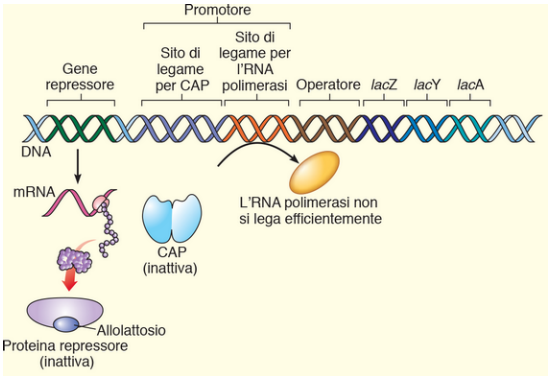
Le caratteristiche degli operoni lattosio e triptofano, appena descritte, sono esempi di controllo negativo . Infatti, i sistemi sotto controllo negativo sono quelli in cui la proteina regolatrice, che si lega al DNA, è un repressore che inattiva la trascrizione di un gene. Alcuni sistemi regolatori implicano, viceversa, un controllo positivo , ossia mediante proteine con funzione di attivatori che legano il DNA e stimolano la trascrizione del gene. L'operone lattosio presenta sia elementi di controllo negativi (repressore del lattosio) sia positivi.
Il controllo positivo dell'operone lac necessita che la cellula avverta l'assenza del glucosio, substrato iniziale nella via della glicolisi. Il lattosio, come anche il glucosio, viene degradato mediante tappe enzimatiche successive per produrre energia. Tuttavia, poiché il lattosio deve essere prima convertito in glucosio, è più conveniente, per le cellule di E. coli , usare prima la scorta disponibile di glucosio. Utilizzando il glucosio come substrato preferenziale per produrre energia, la cellula evita il considerevole dispendio energetico della sintesi di enzimi addizionali quali la β -galattosidasi ( FIG. 14-5a ).
In effetti, l'operone lattosio ha una sequenza promotore relativamente inefficiente, ossia con una scarsa affinità per l'RNA polimerasi anche quando la proteina repressore è inattivata. Tuttavia, esiste una

sequenza adiacente al sito promotore che può effettuare un legame con un'altra proteina regolatrice, chiamata proteina CAP ( Catabolite Activator Protein o proteina attivatrice del catabolita ). Una volta attivata, la CAP stimola la trascrizione dell'operone lattosio e di altri operoni batterici.

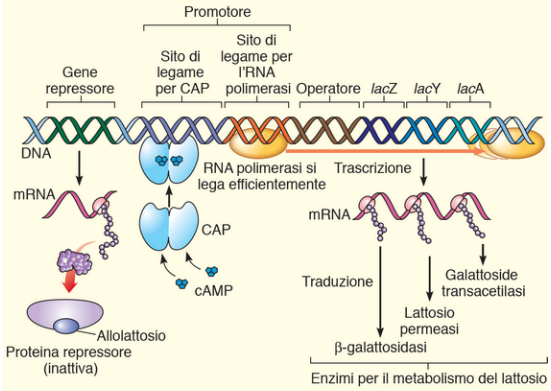
Nella sua forma attiva, la CAP lega, in un suo sito allosterico, l' AMP ciclico o cAMP , derivato ciclico dell'adenosina monofosfato (vedi Fig. 3-25 ). Quando le cellule si impoveriscono di glucosio, aumentano i livelli di cAMP ( FIG. 14-5b ). Il cAMP si lega alla proteina CAP e il complesso che ne risulta è in grado di riconoscere una specifica sequenza del DNA vicina al promotore dell'operone lattosio. Questo legame della CAP attiva provoca la curvatura della doppia elica del DNA ( FIG. 14-6 ) ed aumenta l'affinità della regione del promotore per l'RNA polimerasi, permettendo un aumento della velocità di inizio della trascrizione in presenza di lattosio. Perciò, l'operone è completamente attivo solo se è presente il lattosio e i livelli di glucosio intracellulari sono bassi. Le caratteristiche dei sistemi di controllo negativi e positivi sono riassunte nella TABELLA 14-1.

## I geni costitutivi sono trascritti a diversa velocità

Molti dei prodotti genici codificati dal cromosoma di E. coli sono necessari solo in particolari condizioni ambientali e nutrizionali. Come si è visto, questi geni sono generalmente regolati a livello della trascrizione e vengono attivati o disattivati qualora si modifichino le condizioni ambientali e metaboliche. Al contrario, i geni costitutivi sono continuamente trascritti, ma non sono necessariamente trascritti (o i loro mRNA tradotti) alla stessa velocità. Alcuni enzimi lavorano più efficientemente o sono più stabili di altri e, di conseguenza, è sufficiente che siano presenti in piccole quantità. I geni costitutivi che codificano proteine richieste in grandi quantità devono essere trascritti più rapidamente di quelli che codificano proteine richieste in minore quantità. La velocità di trascrizione dei geni costitutivi, comunque, è controllata dalle sequenze dei propri promotori. Geni costitutivi con promotori efficienti ("forti") legano la RNA polimerasi più spesso e, di conseguenza, trascrivono più molecole di mRNA di quelli che hanno promotori inefficienti ("deboli").




**(a) Alti livelli di lattosio, alti livelli di glucosio, bassi livelli di cAMP.** Quando i livelli di glucosio sono alti, il cAMP è basso; la proteina CAP è in forma inattiva e non può promuovere la trascrizione che avviene quindi solo a livelli bassi o non avviene per niente.




**(b) Alti livelli di lattosio, bassi livelli di glucosio, alti livelli di cAMP.** Quando i livelli di glucosio sono bassi,il cAMP si lega alla proteina CAP che può così attivare la trascrizione dell'operone legandosi al DNA.

**PUNTO CHIAVE** Il promotore del lattosio è di per sé debole e lega in maniera inefficiente la RNA polimerasi anche quando il repressore lattosio è inattivo.

FIGURA 14-5
*Il controllo positivo dell'operone lac*

I geni che codificano proteine repressore o attivatore, che regolano operoni per la sintesi di enzimi metabolici, sono di solito costitutivi e producono i propri prodotti proteici in modo continuo. Dato che ogni cellula di solito necessita di scarse quantità di molecole di repressore o di attivatore, i promotori di questi geni sono relativamente deboli.

## Nei procarioti esiste anche una regolazione post-trascrizionale

Come abbiamo visto in E. coli , la maggior parte della variabilità dei livelli di proteine è dovuta a meccanismi di regolazione trascrizionale. Ci sono, comunque, anche meccanismi di regolazione che operano dopo la trascrizione, conosciuti come controlli post-trascrizionali , che agiscono a vari livelli dell'espressione genica.

I controlli traduzionali sono controlli posttrascrizionali che regolano la velocità di traduzione di una specifica molecola di mRNA; infatti, poiché la vita media degli mRNA in una cellula batterica è molto breve, un messaggero che viene tradotto rapidamente può produrre molte proteine rispetto ad uno che viene tradotto più lentamente. In E. coli , alcune molecole di mRNA vengono tradotte ad una velocità 1000 volte superiore ad altre; la maggior parte delle differenze sembra imputabile alla velocità con cui si realizza il legame dei ribosomi all'mRNA, e quindi all'inizio della traduzione.

In linea generale, i controlli post-traduzionali agiscono come interruttori che determinano l'attivazione o l'inattivazione di uno o più enzimi già presenti nella cellula. Questi sistemi di controllo consentono una

risposta rapida a cambiamenti nella concentrazione intracellulare di molecole essenziali, quali gli aminoacidi, modificando l'attività dei propri enzimi. Un comune meccanismo di controllo post-traduzionale, che agisce sulla velocità di sintesi di una via metabolica, è l' inibizione retroattiva (o inibizione da feedback o da prodotto finale) (vedi Fig. 7-15 ). Il prodotto finale di una via metabolica lega il primo enzima di tale via in un suo sito allosterico, determinando temporaneamente la sua inibizione. Se il primo enzima di una catena di reazioni metaboliche non funziona, tutti gli enzimi seguenti nella stessa via saranno privati dei propri substrati. È importante notare che ciò differisce dalla repressione da prodotto finale dell'operone triptofano sopra discussa. In questo caso, infatti, il prodotto finale (triptofano) previene la sintesi di nuovi enzimi, mentre l'inibizione da feedback agisce come meccanismo di regolazione fine sull'attività di enzimi *già presenti* in una via metabolica.

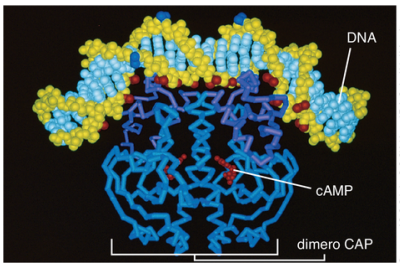



FIGURA 14-6 Il legame della proteina CAP al DNA
Questa immagine generata al computer illustra la curvatura nella doppia elica del DNA quando lega la proteina CAP. CAP è un dimero costituito da due catene polipeptidiche identiche, ognuna delle quali si lega ad una molecola di cAMP.

**TABELLA 14-1**
**Il controllo trascrizionale nei batteri***

* La descrizione generale di ciascun tipo di regolazione è seguita da un esempio specifico.

| Controllo negativo | Risultati |
|---|---|
| **Geni inducibili** | |
| Solo proteina repressore<br>Repressore lattosio da solo | Il repressore attivo disattiva i geni regolati<br>L'operone lattosio non è trascritto |
| Proteina repressore + induttore<br>Repressore lattosio + allolattosio | Il complesso repressore inattivo–induttore non riesce a disattivare i geni regolati<br>L'operone lattosio è trascritto |
| **Geni reprimibili** | |
| Solo proteina repressore<br>Repressore triptofano da solo | Il repressore inattivo non riesce a disattivare i geni regolati<br>L'operone triptofano è trascritto |
| Proteina repressore + corepressore<br>Repressore triptofano + triptofano | Il complesso repressore attivo–corepressore disattiva i geni regolati<br>L'operone triptofano non è trascritto |
| **Controllo positivo** | **Resultati** |
| Solo proteina attivatore<br>CAP da sola | Il solo attivatore non può promuovere la trascrizione dei geni regolati<br>La trascrizione dell'operone lattosio non viene attivata |
| Complesso attivatore<br>CAP + cAMP | Il complesso attivatore funzionale stimola la trascrizione dei geni regolati<br>La trascrizione dell'operone lattosio viene attivata |

* La descrizione generale di ciascun tipo di regolazione è seguita da un esempio specifico.

**Verifica**

- Qual è la funzione di ciascun componente dell'operone lattosio (promotore, operatore e geni strutturali)?
- Quali sono le caratteristiche strutturali comuni agli operoni lattosio e triptofano?
- Perché gli scienziati definiscono l'operone trp reprimibile e l'operone lac inducibile?
- In che modo il glucosio è coinvolto nel controllo positivo dell'operone lattosio?

## 14.3 LA REGOLAZIONE GENICA NELLE CELLULE EUCARIOTE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Par Tracciare la struttura di un tipico gene eucariotico e le sequenze di DNA coinvolte nella sua regolazione.
7. Fornire qualche esempio delle modalità con cui alcune proteine eucariotiche si legano al DNA.
8. Illustrare come un cambiamento della struttura cromosomica possa modificare l'attività di un gene.
9. Spiegare in che modo, in un organismo pluricellulare, uno stesso gene può dare origine a prodotti diversi in tipi cellulari diversi.
10. Identificare i principali tipi di regolazione che possono essere utilizzati negli eucarioti dopo la formazione dell'mRNA maturo.

Come le cellule batteriche, anche le cellule eucariotiche devono rispondere ai cambiamenti dell'ambiente. Inoltre, gli eucarioti pluricellulari richiedono sistemi di regolazione addizionali che permettano alle singole cellule di differenziarsi nei propri ruoli specifici e a gruppi di cellule di organizzarsi in tessuti ed organi. Ciò è realizzato principalmente mediante la regolazione trascrizionale, ma anche i controlli post-trascrizionali (traduzionale e post-traduzionale) sono importanti. Nei Capitoli 12 e 13 , si è detto che tutti gli aspetti del trasferimento di informazioni — incluse la replicazione, la trascrizione e la traduzione — sono più complessi

nelle cellule eucariotiche e, come atteso, questa maggiore complessità offre ulteriori opportunità per il controllo dell'espressione genica.
A differenza di molti geni procariotici, i geni eucariotici non costituiscono solitamente sistemi del tipo degli operoni. (Un'eccezione degna di considerazione è rappresentata dai nematodi, o vermi cilindrici, nei quali alcuni geni sono organizzati in operoni). Tuttavia, ciascun gene eucariotico presenta specifiche sequenze di regolazione essenziali al controllo della sua trascrizione.
Molti degli enzimi necessari a tutte le cellule, detti "housekeeping" o di mantenimento, sono codificati da geni costitutivi che vengono sempre espressi. Altri, che sono codificati da geni inducibili, vengono espressi solo in risposta ad alterazioni ambientali quali, per esempio, l'ingestione di metalli pesanti, l'infezione virale o lo shock termico. Per esempio, quando una cellula è esposta ad alte temperature, molte proteine hanno difficoltà ad assumere la corretta conformazione (folding). La presenza di proteine con conformazione non corretta induce una risposta di sopravvivenza, costituita dall'induzione della trascrizione di geni noti come heat-shock e dalla conseguente produzione delle corrispondenti proteine. Benché la funzione della maggior parte delle proteine heat-shock non sia nota, alcune di esse funzionano da chaperoni molecolari , aiutando altre proteine a mantenere, o ad assumere, la corretta conformazione molecolare (vedi Capitoli 3 e 13).

Alcuni geni, inoltre, sono inducibili solo in determinati periodi della vita dell'organismo e sembrano perciò controllati da meccanismi di regolazione temporali . Infine, un certo numero di geni è sotto il controllo di meccanismi di regolazione tessutospecifici . Per esempio, un gene coinvolto nella produzione di un enzima particolare può essere regolato da un certo stimolo (ad es., un ormone) nel tessuto muscolare, da uno stimolo completamente diverso nelle cellule pancreatiche e da un terzo tipo di stimolo nelle cellule epatiche. Questi tipi di regolazione saranno considerati in maggior dettaglio nei Capitoli 17 e 49 .
La FIGURA 14-7 riassume i meccanismi di regolazione dell'espressione genica negli eucarioti. Sarà utile farvi riferimento durante la lettura dei paragrafi seguenti.

## Il controllo della trascrizione negli eucarioti avviene a molti livelli e da parte di molecole regolatrici differenti

In modo simile a ciò che avviene per i geni batterici, la maggior parte dei geni degli eucarioti pluricellulari è controllata a livello trascrizionale. Come verrà analizzato di seguito, nel controllo trascrizionale rivestono un importante ruolo differenti sequenze di basi del DNA. Inoltre, la velocità di trascrizione è influenzata da proteine regolatrici e dal modo nel quale il DNA è organizzato nei cromosomi.

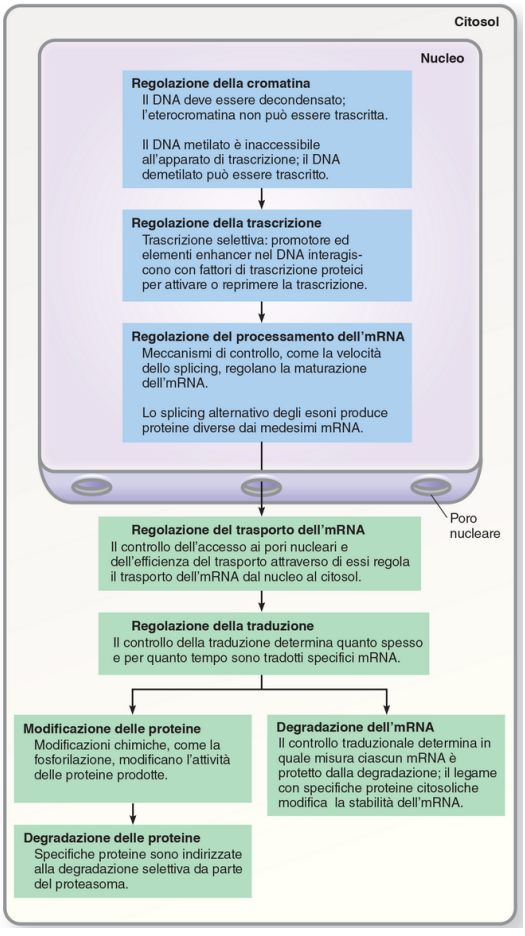



FIGURA 14-7
*Regolazione genica nelle cellule eucariotiche*

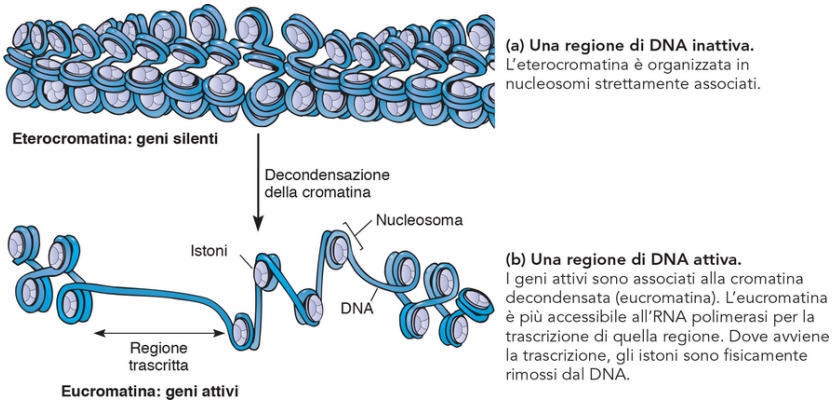
### L'organizzazione del cromosoma influenza l'espressione di alcuni geni

Un cromosoma non è un semplice contenitore di geni. Vari riarrangiamenti nell'ordine dei suoi componenti possono portare ad un aumento o ad una diminuzione della velocità di espressione dei geni in esso contenuti. La Figura 10-4 mostra l'organizzazione di un cromosoma eucaristico. Negli eucarioti pluricellulari, solo un piccolo sottoinsieme dei geni presenti in una cellula è attivo in ogni momento. I geni inattivi differiscono fra i vari tipi cellulari e in molti casi sembrano essere irreversibilmente quiescenti.

Alcuni dei geni inattivi sono associati alla cromatina altamente condensata, che corrisponde alle regioni densamente colorate dei cromosomi durante la divisione cellulare. Queste regioni di cromatina rimangono estremamente condensate e legate a proteine cromosomiche in ogni momento del ciclo cellulare; anche durante l'interfase, sono visibili come fibre di colore scuro chiamate eterocromatina ( FIG. 14-8a ). Esistono numerose prove che suggeriscono che la maggior parte del DNA dell'eterocromatina non venga trascritto; per esempio, quando uno dei due cromosomi X viene inattivato nelle cellule delle femmine di mammifero, la maggior parte del cromosoma X inattivo diventa eterocromatico ed è visibile come *corpo di Barr* (vedi Fig. 11-16).
I geni attivi, invece, sono associati alla cromatina più lassamente organizzata, chiamata eucromatina (FIG. 14-8b). Il DNA dell'eucromatina, essendo esposto, è in grado di

interagire con i *fattori di trascrizione* (discussi più avanti nel capitolo) e con altre proteine di regolazione.

Le cellule mostrano diverse modalità di conversione della struttura della cromatina da eterocromatina ad eucromatina. Una di esse consiste nella modificazione chimica degli istoni , le proteine che si associano al DNA per formare i nucleosomi . Ogni molecola di istone possiede una cosiddetta "coda", una sequenza di aminoacidi che si estende dal nucleosoma avvolto dal DNA (vedi Fig. 10-2 ). Alle code degli istoni vengono attaccati chimicamente gruppi metilici, gruppi acetilici, zuccheri e perfino proteine, che possono esporre o nascondere i geni, attivandoli o reprimendoli, rispettivamente. Tali modificazioni chimiche degli istoni sono oggetto di attiva ricerca, dal momento che sembrano influenzare l'espressione genica e quindi lasciano sperare in nuovi approcci per la cura del cancro e di altre patologie che hanno una componente genetica. I biologi hanno scoperto una correlazione generale tra l'attività genica e la presenza o l'assenza di determinati gruppi legati alle code degli istoni. Ad esempio, i geni presenti all'interno di nucleosomi le cui code istoniche sono legate a gruppi acetilici, generalmente tendono ad essere espressi. Attualmente, i biologi stanno cercando di determinare se ci sia un'associazione tra specifiche modificazioni degli istoni e l'attività o l'inattività di specifici geni all'interno di una cellula.




**(a) Una regione di DNA inattiva.** L'eterocromatina è organizzata in nucleosomi strettamente associati.

**(b) Una regione di DNA attiva.** I geni attivi sono associati alla cromatina decondensata (eucromatina). L'eucromatina è più accessibile all'RNA polimerasi per la trascrizione di quella regione. Dove avviene la trascrizione, gli istoni sono fisicamente rimossi dal DNA.

FIGURA 14-8
*La struttura della cromatina regola la trascrizione genica*

### L'inattivazione genica mediante metilazione del DNA è un esempio differedità epigenetica

I geni inattivi dei vertebrati e di alcuni altri organismi mostrano tipicamente un quadro di metilazione del DNA , in cui l'acido nucleico è stato chimicamente modificato da enzimi che aggiungono gruppi metilici a determinate citosine. (La 5-metilcitosina che ne deriva è ancora capace di appaiarsi con la guanina senza nessuna limitazione). Ci sono prove che certe proteine si legano selettivamente al DNA metilato, rendendolo inaccessibile all'RNA polimerasi e ad altre proteine coinvolte nella trascrizione.
Si pensa che la metilazione del DNA renda più forte l'inattivazione genica piuttosto che esserne il meccanismo iniziale di silenziamento genico. Sembra che, una volta che un gene sia stato spento in qualche altro modo, la metilazione del DNA faccia sì che esso rimanga inattivo. Per esempio, il DNA del cromosoma X inattivo di una femmina di mammifero viene metilato dopo che il cromosoma è stato condensato nel corpo di Barr (vedi Capitolo 11). Quando il DNA si replica in una cellula che procede verso la divisione mitotica, ogni doppia elica di DNA presenta un filamento metilato e l'altro non metilato. Gli enzimi responsabili della metilazione aggiungono gruppi metilici al filamento neosintetizzato, ripristinando il quadro di metilazione preesistente; di conseguenza, il DNA continua ad essere trascrizionalmente inattivo nelle cellule figlie, spesso per più generazioni.
Nei mammiferi, questo tipo di mantenimento della metilazione del DNA è alla base dell'imprinting genomico (detto anche *imprinting parentale*), in cui l'espressione fenotipica di certi geni è determinata dal fatto che un certo allele sia stato ereditato dalla madre o dal padre. L'imprinting genomico è associato ad alcune malattie genetiche umane, come la *sindrome di Prader-Willi* e la *sindrome di Angelman* (discusse entrambe nel Capitolo 16).
L'imprinting genomico è un esempio di fenomeno epigenetico. L' eredità epigenetica coinvolge cambiamenti nelle modalità di espressione di un gene. Al contrario, l' *eredità genetica* coinvolge cambiamenti nella sequenza nucleotidica di un gene. Dal momento che gli schemi di metilazione del DNA tendono ad essere trasmessi alle generazioni cellulari successive, la metilazione fornisce un meccanismo differedità epigenetica. Si stanno accumulando sempre più osservazioni a sostegno dell'idea che l'eredità epigenetica sia un importante meccanismo di regolazione genica durante la vita dell'individuo. Per esempio, la metilazione genica tende ad aumentare in alcuni individui col procedere dell'età, mentre diminuisce in altri, presumibilmente in risposta a stimoli ambientali. L'eredità epigenetica può generare nuovi tratti fenotipici nonostante la sequenza nucleotidica del gene resti invariata (FIG. 14-9). Modificazioni epigenetiche sono state associate ad alcune malattie dell'uomo, quali per esempio il cancro.
*Geni soppressori dei tumori* (*tumor suppressor genes),* in grado di inibire la divisione dellulare (e quindi anche il cancro), sono talvolta inattivati epigeneticamente, comportando come conseguenza lo sviluppo di malattie neoplastiche. Nel Capitolo 17 sono discusse le interazioni tra cancro e geni soppressori dei tumori. Pertanto, alcune caratteristiche ereditarie non dipendono esclusivamente dalla sequenza nucleotidica del DNA.

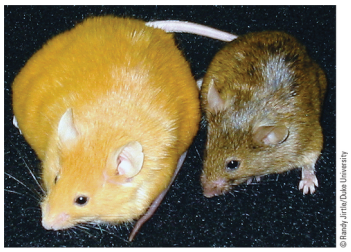



FIG. 14-9
*Variabilità epigenetica nel gene agouti del topo*
Il DNA di questi topolini da laboratorio è quasi identico, tuttavia il colore del mantello e la dimensione corporea variano in modo significativo. I due topi diferiscono per la presenza o assenza di un marcatore epigenetico, corrispondente alla metilazione di una regione del DNA nel gene denominato agouti.

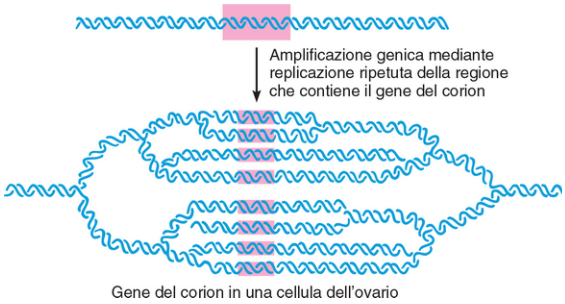



FIG. 14-10 *Amplificazione genica*
In Drosophila, replicazioni multiple di una piccola regione del cromosoma portano all'amplificazione dei geni che codificano la proteina del corion (guscio dell'uovo). La replicazione ha inizio a livello di un'origine di replicazione discreta sul cromosoma ( riquadro rosa in alto ) per ogni copia del gene prodotta. La replicazione termina a caso, determinando la formazione di una serie di strutture a forchetta nel cromosoma.

### L'amplificazione genica aumenta il numero di copie di un gene

È possibile che un singolo gene non fornisca sufficienti copie del suo mRNA per soddisfare le esigenze della cellula. In questi casi, la richiesta di alti livelli di alcuni prodotti genici può essere facilmente soddisfatta se nel cromosoma sono presenti più copie dei geni che li codificano. Geni di questo tipo, i cui prodotti sono essenziali per la vita di tutte le cellule, possono essere presenti in copie multiple, organizzate l'una dopo l'altra all'interno del cromosoma in sequenze geniche ripetute in tandem . I geni degli istoni sono solitamente presenti in forma di copie multiple di 50-500 geni nelle cellule degli organismi pluricellulari. Analogamente, nelle cellule sono presenti copie multiple (da 150 a 450) dei geni degli rRNA e dei tRNA. Altri geni, i cui prodotti sono richiesti solo in poche cellule, possono venire replicati selettivamente attraverso un processo chiamato amplificazione genica. Per esempio, il prodotto genico costituente il corion (guscio dell'uovo) di *Drosophila* è una proteina sintetizzata specificamente dalle cellule del tratto riproduttivo femminile di questo insetto. Tali cellule producono grosse quantità della proteina che avvolge e protegge lo zigote. L'amplificazione del gene della proteina del corion mediante la replicazione del DNA soddisfa la richiesta degli mRNA corrispondenti. In altre parole, il DNA di quella piccola regione del cromosoma viene copiato numerose volte ( FIG. 14-10 ). Nelle altre cellule del corpo dell'insetto, invece, il gene sembra essere presente in singola copia nel cromosoma.

### Negli eucarioti, l'effcienza dei promotori varia in funzione degli elementi funzionali presenti a monte del promotore

Sia nelle cellule dei procarioti che in quelle degli eucarioti, la trascrizione di un qualsiasi gene necessita di una coppia di basi nel punto in cui inizia la trascrizione, nota come sito di inizio della trascrizione, e di un *promotore* al quale si leghi l'RNA polimerasi.
Il promotore è una sequenza di DNA relativamente breve adiacente al gene. In quasi tutti gli eucarioti pluricellulari, il promotore contiene un elemento, chiamato TATA box, caratterizzato dalla sequenza nucleotidica TATAAA e localizzato circa 25-30 paia di basi a monte del sito di inizio della trascrizione ( FIG. 14-11 ). Mutazioni nel TATA box riducono l'efficienza di trascrizione nella cellula.
Altri elementi dei promotori eucariotici hanno funzioni di regolazione e controllano l'espressione dei geni. Molti promotori eucariotici contengono una o più sequenze di nucleotidi posizionate a breve distanza (circa 80 coppie di basi), a monte del sito di legame dell'RNA polimerasi. Mutazioni in questi elementi, così come mutazioni nel TATA box, riducono i livelli trascrizionali.

### Gli enhancer aumentano l'efficienza di trascrizione mentre i silencer la diminuiscono

I geni eucariotici sottoposti a regolazione hanno comunemente sequenze di DNA, chiamate enhancer (intensificatori), che contribuiscono alla formazione di un complesso di inizio della trascrizione attivo. In tal modo, essi aumentano la velocità di sintesi degli RNA, spesso di parecchi ordini di grandezza.
Gli enhancer hanno caratteristiche peculiari; infatti, sebbene siano presenti in tutte le cellule, un determinato enhancer funziona solo in alcuni tipi cellulari. Inoltre, un enhancer può regolare un gene che si trova sulla stessa molecola di DNA ad una distanza notevole (fino a migliaia di coppie di basi di distanza dal promotore) e può essere situato sia a monte che a valle del promotore che controlla. Inoltre, se sperimentalmente un enhancer viene invertito nella sequenza, esso è ancora in grado di regolare il gene che controlla normalmente.

Molti geni eucariotici sono associati a silencer (silenziatori), sequenze di DNA che possono ridurre la trascrizione. In modo simile agli enhancer, anche i silencer sono posizionati ad una certa distanza dai geni che devono regolare. Enhancer e silencer collaborano quindi nel regolare l'efficienza trascrizionale della cellula.

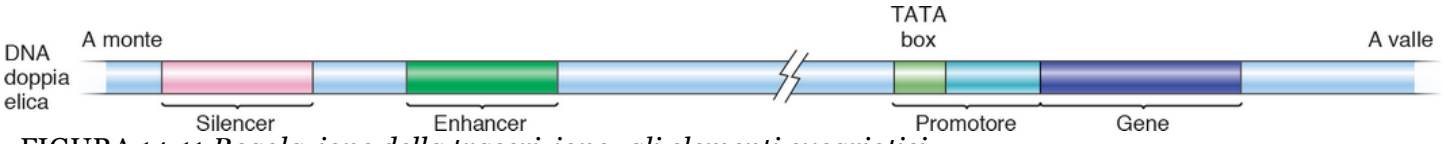
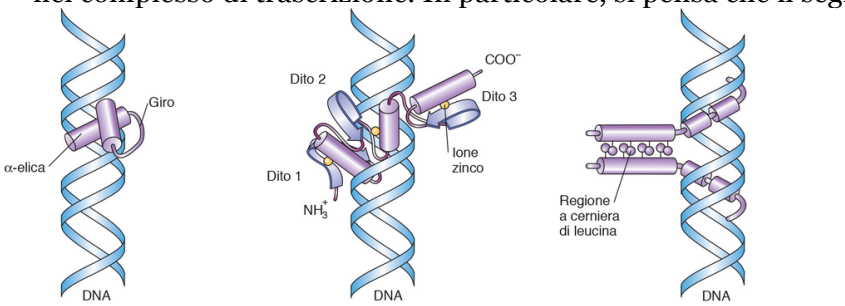



FIGURA 14-11 *Regolazione della trascrizione: gli elementi eucariotici*
Gli elementi regolatori eucariotici comprendono il promotore e vari enhancer (intensificatori) e silencer (silenziatori). Il promotore determina i livelli basali di trascrizione mentre enhancer (e silencer) hanno la capacità di incrementare notevolmente (o diminuire) l'efficienza di trascrizione. (Per semplicità, la doppia elica del DNA è rappresentata a bastoncello e gli elementi non sono disegnati in scala).

## I fattori di trascrizione sono proteine regolatrici che hanno diversi domini funzionali

Abbiamo già parlato di alcune proteine che si legano al DNA e che regolano la trascrizione nei procarioti. Queste comprendono il repressore del lattosio, il repressore del triptofano e la proteina CAP. Negli eucarioti, sono stati identificati molti più regolatori della trascrizione che nei batteri; queste proteine eucariotiche sono conosciute come fattori di trascrizione . Nell'uomo, ad esempio, sono stati identificati più di 2000 fattori di trascrizione.
È utile fare un confronto fra i regolatori della trascrizione dei procarioti e quelli degli eucarioti. Molti sono molecole modulari, cioè hanno più di un dominio (regioni con una loro propria struttura terziaria e funzione). Ogni fattore di trascrizione eucariotico, come le proteine di regolazione procariotiche, possiede un dominio di legame al DNA, oltre ad almeno un altro dominio, che può essere un attivatore o un repressore della trascrizione per un dato gene.
Molti fattori di trascrizione eucariotici (e proteine di regolazione batteriche) presentano domini di legame al DNA simili. Un esempio è rappresentato dal motivo *helix-turn-helix* (elica-giroelica), costituito da due regioni ad α -elica. Una di queste, nota come elica di riconoscimento, si inserisce nel solco maggiore del DNA, senza svolgere la doppia elica. La seconda aiuta la prima a posizionarsi correttamente (FIG. 14-12a). Il "turn" è una sequenza di aminoacidi che permette una ripiegatura della molecola. Altri fattori di trascrizione hanno domini di attacco al DNA con motivi multipli a "dita di zinco" (zinc finger), anse di aminoacidi tenute insieme da ioni zinco. Ogni ansa contiene un'α-elica che interagisce con un solco del DNA ( FIG. 14-12b ). Alcuni gruppi funzionali degli aminoacidi presenti in ogni dito sono in grado di riconoscere specifiche sequenze del DNA.
Molti fattori trascrizionali hanno domini di legame al DNA che funzionano soltanto a coppie, o *dimeri*. Molti di essi sono conosciuti come proteine a cerniera di leucina (leucine zipper) perché sono tenuti insieme da catene laterali di leucina e altri aminoacidi idrofobici (FIG. 14-12 ). In alcuni casi, i due polipeptidi che formano il dimero sono uguali e perciò si parla di *omodimero*; in altri sono differenti e l'*eterodimero* che ne risulta può presentare anche notevoli differenze nelle proprietà regolative. Per fare un semplice esempio, assumiamo per ipotesi che ci siano tre differenti proteine di regolazione — A, B e C — coinvolte nel controllo di un particolare gruppo di geni. Queste proteine possono associarsi in dimeri secondo sei diverse combinazioni: tre tipi di omodimeri (AA, BB e CC) e tre differenti eterodimeri (AB, AC e BC). Il fatto che alcune proteine di regolazione possano legarsi insieme in diverse possibili combinazioni così da assumere caratteristiche differenti nella regolazione, aumenta enormemente le possibili vie di controllo della trascrizione.
La trascrizione negli eucarioti richiede che molte proteine di regolazione si leghino a parti differenti del promotore. L'*apparato generale di trascrizione* è un complesso proteico che si lega al TATA box del promotore vicino al sito di inizio della trascrizione. Il complesso è richiesto affinché l'RNA polimerasi si leghi ed inizi la trascrizione.
Enhancer e silencer diventano funzionali quando vengono legati da specifici fattori di trascrizione. La FIGURA 14-13 illustra l'interazione fra un enhancer e un fattore di trascrizione che funziona da attivatore . Ciascun attivatore deve avere almeno due domini funzionali: un sito di riconoscimento del DNA, che di solito si lega ad un enhancer, ed un sito di attivazione del gene, che prende contatto con uno o più bersagli

nel complesso di trascrizione. In particolare, si pensa che il segmento di DNA che si trova tra la sequenza promotore e l'enhancer formi un'ansa che permette all'attivatore, legato all'enhancer, di entrare in contatto con uno o più proteine bersaglio associate con il complesso di trascrizione. Quando questo avviene, la velocità di trascrizione aumenta.

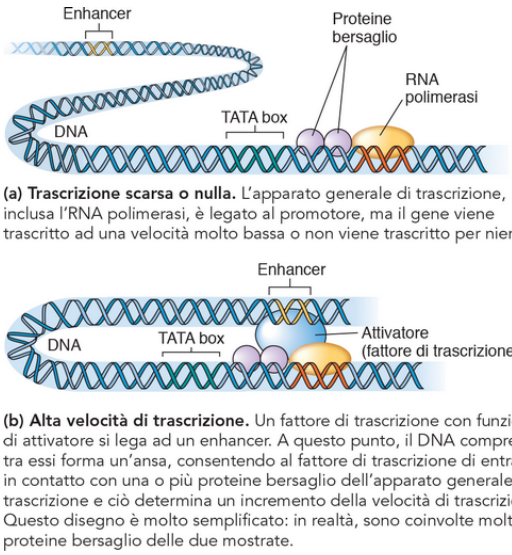



**(a) Elica-giro-elica.** Questa porzione di fattore di trascrizione (*in viola*) contiene l'arrangiamento helix-turn-helix (elica-giro-elica). L'elica preposta al riconoscimento si inserisce nel solco del DNA ed è connessa, attraverso una sequenza di aminoacidi, ad una seconda elica che contribuisce a mantenere la corretta posizione di legame al DNA.

**(b) Dita di zinco.** Regioni di alcuni fattori di trascrizione formano protrusioni conosciute come "zinc fingers" (dita di zinco), le quali si inseriscono nei solchi del DNA legandosi a specifiche sequenze di basi.

**(c) Cerniera di leucina.** Questa proteina, contenente il dominio denominato leucine zipper (cerniera di leucina), è un dimero i cui monomeri sono legati tra loro da interazioni idrofobiche tra catene laterali di leucina e altri aminoacidi.

FIGURA 14-12
*Regolazione della trascrizione: proteine di regolazione*
In queste illustrazioni, le regioni ad α -elica sono rappresentate come cilindri, mentre quelle a foglietto β come nastri.




**(a) Trascrizione scarsa o nulla.** L'apparato generale di trascrizione, inclusa l'RNA polimerasi, è legato al promotore, ma il gene viene trascritto ad una velocità molto bassa o non viene trascritto per niente.

**(b) Alta velocità di trascrizione.** Un fattore di trascrizione con funzioni di attivatore si lega ad un enhancer. A questo punto, il DNA compreso tra essi forma un'ansa, consentendo al fattore di trascrizione di entrare in contatto con una o più proteine bersaglio dell'apparato generale di trascrizione e ciò determina un incremento della velocità di trascrizione. Questo disegno è molto semplificato: in realtà, sono coinvolte molte più proteine bersaglio delle due mostrate.

FIGURA 14-13
*Regolazione della trascrizione: stimolazione della trascrizione da parte di un enhancer*

## Gli mRNA eucariotici forniscono molte opportunità per il controllo post-trascrizionale

L'mRNA dei procarioti ha di norma un'emivita di alcuni minuti; l'mRNA degli eucarioti, invece, è molto più stabile. L'mRNA dei procarioti viene trascritto in una forma immediatamente traducibile; viceversa, le molecole di mRNA eucariotico richiedono ulteriori modifiche e maturazioni prima di potere essere utilizzate nella sintesi proteica. Il messaggio, infatti, viene modificato dall'aggiunta di un cappuccio, dalla poliadenilazione, da tagli, e quindi trasportato dal nucleo al citoplasma per iniziare la traduzione (vedi Fig. 13-12 ). Tutti questi eventi rappresentano potenziali punti di controllo tramite i quali la traduzione del messaggio e la produzione della proteina codificata possono essere regolate.
Per esempio, l'aggiunta di una coda di poli-A agli mRNA eucariotici sembra essere necessaria per l'inizio della traduzione. È stato mostrato come gli mRNA dotati di una lunga coda di poli-A vengano tradotti efficientemente, mentre quelli con una coda di poli-A più corta siano essenzialmente quiescenti.
La *poliadenilazione*, che ha luogo normalmente nel nucleo, può avvenire anche nel citosol. Nel momento in cui la breve coda di poli-A di un mRNA viene allungata, la molecola viene attivata e può essere tradotta.

### Alcuni pre-mRNA possono andare incontro a processi di maturazione diversi

Sono state scoperte diverse forme di regolazione che coinvolgono il processo di maturazione dell'mRNA. In alcuni casi, per esempio, lo stesso gene può produrre un tipo di proteina in un certo tessuto ed un differente tipo di proteina, seppur correlata, in un altro tessuto. Questo è possibile perché alcuni geni producono molecole di pre-mRNA che hanno schemi multipli di splicing, i cosiddetti splicing alternativi : in altre parole, le molecole di premRNA possono essere tagliate e ricomposte in combinazioni diverse che variano in funzione del tessuto.
Di solito, un gene di questo tipo contiene almeno un segmento che può comportarsi sia da introne che da esone (vedi Capitolo 13 ). Come introne la sequenza viene rimossa; come esone, viene invece mantenuta. Attraverso lo splicing alternativo, le cellule di ciascun tessuto producono la loro versione dell'mRNA corrispondente ad un particolare gene ( FIG. 14-14 ). Per esempio, questo meccanismo permette la produzione di differenti forme di troponina, una proteina che regola la contrazione muscolare, in differenti tessuti muscolari.

### La stabilità delle molecole di mRNA può variare

Controllando la vita media di una determinata molecola di mRNA, è possibile controllare il numero di molecole proteiche prodotte dalla sua traduzione. La stabilità dell'mRNA è, in alcuni casi, sotto controllo ormonale; è il caso, per esempio, dell'mRNA per la vitellogenina, proteina prodotta nel fegato delle femmine di alcuni animali, come le rane e le galline. Dopo essere stata sintetizzata, la vitellogenina viene trasportata nell'ovidotto, dove è utilizzata per la formazione di proteine del tuorlo dell'uovo.
La sintesi della vitellogenina è regolata dall'ormone estradiolo. Infatti, quando i livelli di questo ormone sono alti, l'emivita dell'mRNA per la vitellogenina nel fegato della rana è di circa 500 ore, mentre, quando il

tasso di estradiolo diminuisce, l'emivita del messaggero scende rapidamente a meno di 165 ore e, di conseguenza, si ha un rapido calo della sintesi della proteina. L'ormone, oltre ad interferire con la stabilità dell'mRNA, sembra controllare anche la velocità della trascrizione dell'mRNA.

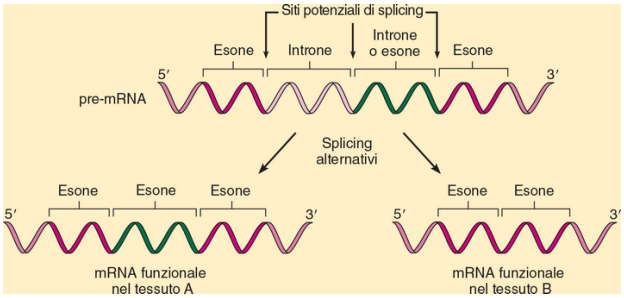
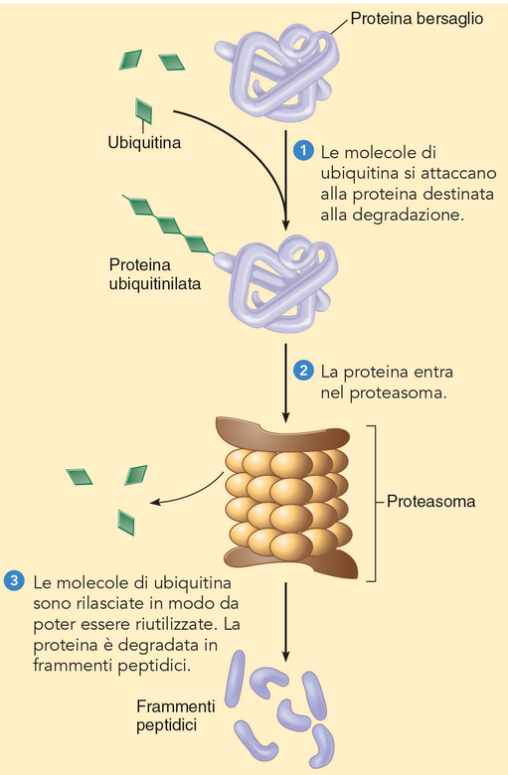



FIGURA 14-14 *Maturazione dell'mRNA: splicing alternativo*
In alcuni casi, una molecola di pre-mRNA è sottoposta ad un processo di maturazione che comporta la formazione di due o più mRNA maturi, ciascuno dei quali codifica una proteina correlata, ma differente. In questo esempio generale, il gene contiene un segmento che può essere un esone nel tessuto A (a sinistra), ma un introne nel tessuto B (a destra).

## L'attività delle proteine eucariotiche può essere alterata da modificazioni chimiche post-traduzionali

Un'ulteriore modalità di controllo dell'espressione genica è basata sulla regolazione dell'attività del prodotto genico. Come avviene nei batteri, anche negli eucarioti molte vie metaboliche coinvolgono enzimi allosterici che sono regolati attraverso una inibizione a feedback. Inoltre, molte proteine possono essere modificate in modo sostanziale anche dopo la loro sintesi.
Attraverso la maturazione proteolitica, le proteine che sono sintetizzate come precursori inattivi vengono convertite in forma attiva mediante la rimozione di porzioni specifiche della catena polipeptidica. Per esempio, la proinsulina è costituita da 86 aminoacidi e la rimozione di 35 di essi genera l'ormone insulina, costituito da due polipeptidi uniti da ponti disolfuro e contenenti, rispettivamente, 30 e 21 aminoacidi.
Una *modificazione chimica*, come l'aggiunta o la rimozione di un gruppo funzionale, può alterare in modo reversibile l'attività di una molecola enzimatica. A questo proposito, un modo molto comune di alterare l'attività di un enzima o di altre proteine è l'aggiunta o la rimozione di gruppi fosfato. Gli enzimi che aggiungono gruppi fosfato sono definiti chinasi, mentre quelli che li rimuovono sono detti fosfatasi. Per esempio, le protein chinasi ciclina-dipendenti, discusse nel Capitolo 10, aiutano a controllare il ciclo cellulare mediante l'aggiunta di gruppi fosfato a certe proteine chiave, causando la loro attivazione o inattivazione. Modificazioni chimiche come la fosforilazione delle proteine permettono alla cellula di rispondere rapidamente a certi ormoni o a repentini cambiamenti ambientali o nutrizionali.
Il controllo post-traduzionale dell'espressione genica può anche coinvolgere la degradazione delle proteine. Il tipo di aminoacido presente all'estremità N-terminale di una proteina è correlato alla vita media della proteina. Alcune proteine, ad esempio, hanno un turnover di sintesi e degradazione del 50% ogni 3 giorni. Altre proteine, come quelle del cristallino dell'occhio umano, possono permanere per tutta la vita dell'individuo.




Le proteine indirizzate alla distruzione sono legate covalentemente all' ubiquitina , un piccolo polipeptide di 76 aminoacidi. L'aggiunta di altre molecole di ubiquitina forma delle brevi catene attaccate alla proteina che deve essere degradata ( FIG. 14-15 ). Una proteina marcata con l'ubiquitina viene indirizzata alla degradazione all'interno di un proteasoma. I proteasomi sono grosse strutture macromolecolari che riconoscono le catene di ubiquitina. Le proteasi (enzimi che degradano le proteine) associate ai proteasomi idrolizzano alcuni dei legami peptidici, scindendo la proteina in corti frammenti peptidici non funzionali. In seguito alla degradazione della proteina, le molecole di ubiquitina vengono rilasciate, in modo da poter essere riutilizzate.

FIGURA 14-15
*La degradazione delle proteine con il sistema ubiquitina-proteasoma*

**Verifica**

- Quali sono le differenze tra la regolazione dei geni eucariotici e la regolazione dei geni procariotici?
- Perché nelle cellule eucariotiche alcuni geni devono essere presenti in copie multiple?
- In che modo la struttura del cromosoma influenza l'attività di alcuni geni eucariotici?
- In che modo la maturazione differenziale dell'mRNA può dare origine a proteine differenti?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SU GLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

14.1

1. Spiegare perché le cellule procariotiche ed eucariotiche presentano differenti meccanismi di regolazione genica.
    - Le cellule procariotiche crescono rapidamente ed hanno una vita media relativamente breve. Il controllo a livello trascrizionale rappresenta il modo più comune con cui le cellule procariotiche regolano l'espressione genica.
    - Le cellule eucariotiche hanno di solito una vita media più lunga, nel corso della quale devono mantenere l'omeostasi rispondendo a molti stimoli differenti. Sebbene il controllo trascrizionale sia quello predominante, molto importanti sono anche le modalità di controllo ad altri livelli dell'espressione genica.

14.2

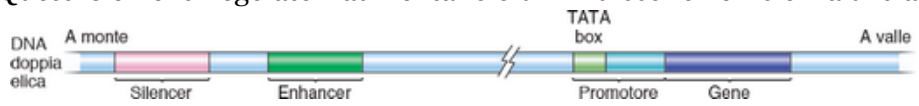
2. Definire il termine operone e spiegare le funzioni delle regioni promotore ed operatore.
    - Un operone è un complesso genico costituito da un gruppo di geni strutturali funzionalmente correlati e dalle vicine sequenze di DNA responsabili del loro controllo.
    - Ogni operone possiede un singolo promotore posto a monte delle regioni codificanti le proteine. Il promotore è il sito del DNA a cui si lega inizialmente l'RNA polimerasi prima che inizi la trascrizione.
    - L' operatore funge da interruttore regolativo per il controllo del livello trascrizionale dell'operone. Quando una proteina repressore si lega alla sequenza dell'operatore, impedisce la trascrizione; benché l'RNA polimerasi si leghi al promotore, essa è bloccata e non può trascrivere i geni strutturali. Quando il repressore non è legato all'operatore, la trascrizione può procedere.
3. Fare una distinzione tra geni inducibili, reprimibili e costitutivi.
    - Un operone inducibile , come l'operone lattosio, è normalmente spento. La proteina repressore viene sintetizzata in forma attiva e si lega all'operatore. Quando è presente il lattosio, esso viene convertito in allolattosio, l'induttore , il quale si lega ad un sito allosterico del repressore, modificandone la forma. Il repressore così modificato non può più legarsi all'operatore e l'operone viene trascritto.
    - Un operone reprimibile , come l'operone triptofano, è normalmente acceso. La proteina repressore viene sintetizzata in forma inattiva e non può legarsi all'operatore. Un metabolita (di solito il prodotto finale di una via metabolica) agisce come corepressore . Quando i livelli intracellulari di corepressore sono alti, una molecola di corepressore si lega al repressore modificandone la forma e permettendogli di legarsi all'operatore; in questo modo, si impedisce la trascrizione dell'operone.
    - I geni costitutivi non sono né inducibili né reprimibili, ma sono attivi in ogni momento. L'attività dei geni costitutivi è controllata dall'efficienza con cui l'RNA polimerasi si lega alle loro regioni promotrici.
4. Evidenziare le differenze tra il controllo positivo e il controllo negativo, mostrando come entrambi i sistemi regolino l'operone lattosio.
    - Gli operoni reprimibili ed inducibili sono sotto controllo negativo . Quando la proteina repressore si lega all'operatore, la trascrizione dell'operone si blocca.
    - Alcuni operoni inducibili sono anche sotto controllo positivo attraverso l'azione di una proteina attivatrice che si legi al DNA ed attiva la trascrizione del gene. L'operone lattosio viene attivato dalla proteina attivatrice del catabolita (CAP) che, unendosi al promotore, stimola la trascrizione legando stabilmente l'RNA polimerasi. Per legarsi all'operone lattosio, la proteina CAP richiede l' AMP ciclico (cAMP) i cui livelli intracellulari crescono quando i livelli di glucosio calano.
5. Descrivere i diversi tipi di controllo post-trascrizionale nei procarioti.
    - Nei procarioti esistono alcuni tipi di controllo post-trascrizionale . Un controllo traduzionale è un controllo post-trascrizionale che regola la velocità di traduzione di un particolare mRNA. I controlli post-traduzionali comprendono l' inibizione da feedback degli enzimi chiave di certe vie metaboliche.

14.3

6. Tracciare la struttura di un tipico gene eucariotico e le sequenze di DNA coinvolte nella sua regolazione.
    - In genere, i geni eucariotici non sono organizzati in operoni. La regolazione dei geni eucariotici può avvenire a livello della trascrizione, della maturazione dell'mRNA, della traduzione e della modificazione del prodotto proteico.
    - La trascrizione di un gene richiede un sito di inizio della trascrizione , dove ha inizio la

trascrizione, ed un promotore a cui si lega l'RNA polimerasi. Negli eucarioti pluricellulari, l'RNA polimerasi si lega ad un promotore detto TATA box che ha una funzione regolatrice e facilita l'espressione del gene.

- Alcuni geni eucariotici sono controllati da elementi enhancer (intensificatori) e silencer (silenziatori), che possono essere localizzati anche a migliaia di basi dal promotore. Questi elementi regolatori aumentano o diminuiscono l'efficienza di trascrizione.




7. Fornire qualche esempio delle modalità con cui alcune proteine eucariotiche si legano al DNA.
   - I geni eucariotici sono controllati da proteine regolatrici che si legano al DNA, chiamate fattori di trascrizione . Molti di questi sono attivatori trascrizionali; altri sono repressori trascrizionali.
   - Ogni fattore di trascrizione possiede un dominio in grado di legarsi al DNA. Alcuni fattori di trascrizione presentano un'organizzazione helix-turn-helix e si inseriscono con una delle due eliche nel DNA. Altri fattori di trascrizione posseggono anse di aminoacidi tenute insieme da ioni zinco; ogni ansa include una α-elica che si inserisce nel DNA. Alcuni fattori di trascrizione sono proteine a cerniera di leucina , che formano dimeri in grado di inserirsi nel DNA.
8. Illustrare come un cambiamento della struttura cromosomica possa modificare l'attività di un gene.
   - I geni possono essere resi inattivi da cambiamenti nella struttura del cromosoma. Regioni altamente condensate dei cromosomi, dette eterocromatina , contengono geni inattivi; i geni attivi sono invece associati con aree cromatiniche più lassamente organizzate, chiamate eucromatina . Gruppi metilici, gruppi acetilici, zuccheri e proteine possono essere attaccati chimicamente alla coda istonica, una sequenza di aminoacidi che si estende dal nucleosoma avvolto dal DNA, e possono esporre o nascondere i geni, attivandoli o reprimendoli.
   - La metilazione del DNA è un meccanismo che perpetua l'inattivazione genica. L' eredità epigenetica è un importante meccanismo di regolazione genica che coinvolge cambiamenti nelle modalità di espressione di un gene. Dal momento che gli schemi di metilazione del DNA tendono ad essere trasmessi alle generazioni cellulari successive, essi forniscono un meccanismo differedità epigenetica.
   - Alcuni geni, i cui prodotti sono necessari in grandi quantità, sono presenti in copie multiple nel cromosoma. Nel processo di amplificazione genica , alcune cellule amplificano selettivamente i geni mediante la replicazione del DNA.
9. Spiegare in che modo, in un organismo pluricellulare, uno stesso gene può dare origine a prodotti diversi in tipi cellulari diversi.
   - Come risultato della maturazione differenziale ( splicing alternativo ) dell'mRNA, un singolo gene può produrre forme differenti di una proteina in tessuti diversi, a seconda del tipo di splicing a cui è sottoposto il pre-mRNA. Tipicamente, un tale gene contiene un segmento che può essere sia un introne che un esone. Come introne, la sequenza è rimossa, mentre come esone è trattenuta.
10. Identificare i principali tipi di regolazione che possono essere utilizzati negli eucarioti dopo la formazione dell'mRNA maturo.
    - Certi meccanismi di regolazione aumentano la stabilità dell'mRNA, permettendo la sintesi di un numero maggiore di proteine prima della degradazione dell'mRNA. In alcuni casi, la stabilità dell'mRNA è sotto controllo ormonale.
    - Il controllo post-traduzionale dei geni eucariotici può avvenire per inibizione retroattiva o per modificazione della struttura della proteina. La funzionalità di una proteina può cambiare con l'aggiunta di gruppi fosfato da parte delle chinasi o con la loro rimozione da parte delle fosfatasi .
    - Il controllo post-traduzionale dell'espressione genica può anche coinvolgere la degradazione delle proteine . Le proteine destinate alla distruzione sono legate covalentemente all' ubiquitina. Una proteina marcata con l'ubiquitina è indirizzata alla degradazione all'interno di un proteasoma, una grossa struttura macromolecolare che riconosce le catene di ubiquitina. Le proteasi (enzimi che degradano le proteine) associate ai proteasomi scindono le proteine in corti frammenti peptidici.

## AUTOVERIFICHE

1. La regolazione della maggior parte dei geni procariotici avviene a livello: (a) della trascrizione; (b) della traduzione; (c) della replicazione; (d) post-traduzionale; (e) post-replicativo.
2. L'operatore di un operone: (a) codifica l'informazione per la proteina repressore; (b) è il sito di legame dell'induttore; (c) è il sito di legame per la proteina repressore; (d) è il sito di legame della RNA polimerasi; (e) codifica l'informazione per la proteina CAP.
3. Una mutazione che inattiva il gene del repressore dell'operone lattosio produrrà: (a) la trascrizione continua dei geni strutturali; (b) nessuna trascrizione dei geni strutturali; (c) il legame del repressore all'operatore; (d) nessuna produzione di RNA polimerasi; (e) nessuna differenza nella velocità di trascrizione.
4. Un operone reprimibile codifica gli enzimi della seguente via metabolica.

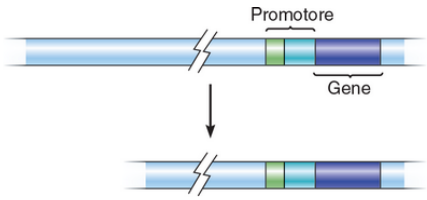
   Quale componente della via è più probabile che sia il corepressore per questo operone? (a) Il substrato A; (b) il substrato B o C; (c) il substrato D; (d) l'enzima 1; (e) l'enzima 3.
5. L'inibizione da feedback è un esempio di controllo a livello: (a) trascrizionale; (b) traduzionale; (c) post-traduzionale; (d) della replicazione; (e) tutte le risposte.
6. Quali dei seguenti è un esempio di controllo positivo? (a) La trascrizione può avvenire quando un repressore lega un induttore; (b) la trascrizione non può avvenire quando un repressore lega un corepressore; (c) la trascrizione è stimolata quando un attivatore trascrizionale si lega al DNA; (d) a e b; (e) a e c.
7. La "cerniera" delle proteine a cerniera di leucina lega: (a) specifici aminoacidi a specifiche coppie di basi del DNA; (b) due catene polipeptidiche tra loro; (c) una regione di DNA ad un'altra; (d) aminoacidi ad atomi di zinco; (e) l'RNA polimerasi all'operatore.
8. I geni inattivi tendono ad essere associati con: (a) cromatina altamente condensata, nota come eucromatina; (b) cromatina decondensata, nota come eucromatina; (c) cromatina altamente condensata, nota come eterocromatina; (d) cromatina decondensata, nota come eterocromatina; (e) cromatina non organizzata in nucleosomi.
9. Quale delle seguenti caratteristiche riguarda i geni e la regolazione genica dei procarioti, ma non degli eucarioti? (a) Presenza di enhancer; (b) aggiunta del cappuccio agli mRNA; (c) numerosi cromosomi per cellula; (d) legame del DNA a molti tipi di proteine regolatrici; (e) splicing degli esoni non richiesto.
10. Quale delle seguenti caratteristiche riguarda i geni e la regolazione genica sia dei procarioti sia degli eucarioti? (a) Promotore; (b) DNA non codificante all'interno di sequenze codificanti; (c) enhancer; (d) operoni; (e) DNA localizzato nel nucleo.
11. Attraverso lo splicing alternativo dell'mRNA, gli eucarioti: (a) rinforzano l'inattivazione genica; (b) impediscono la trascrizione dell'eterocromatina; (c) producono proteine correlate, ma differenti, in tessuti diversi; (d) amplificano i geni per far fronte alla richiesta di alti livelli del prodotto genico; (e) legano i fattori di trascrizione agli enhancer per attivare la trascrizione.

## PENSIERO CRITICO

1. Confrontate i tipi di geni batterici associati ad operoni inducibili, quelli associati a operoni reprimibili e quelli che sono costitutivi. Trovate la categoria nella quale ognuno dei seguenti geni si adatterebbe meglio: (a) un gene che codifica l'RNA polimerasi; (b) un gene che codifica un enzima necessario per degradare il maltosio; (c) un gene che codifica un enzima usato nella sintesi dell'adenina.
2. Il gene regolatore che codifica per il repressore del triptofano non è vicino all'operone triptofano. Sarebbe vantaggioso se lo fosse? Spiegate la vostra risposta.
3. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Fate un'ipotesi sul perché l'evoluzione abbia portato a livelli multipli di regolazione genica negli eucarioti pluricellulari.
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA . Confrontando sequenze di DNA tra diverse specie appare evidente che la maggior parte delle regioni conservate (non modificate) è pertinente a segmenti di DNA che non codificano per proteine. Queste regioni non codificanti sono attribuibili ad elementi di regolazione dell'espressione genica. Fate un'ipotesi sul perché gli elementi regolatori dei geni non hanno subito cambiamenti nel corso dell'evoluzione.
5. ANALISI DEI DATI . Formulate un'ipotesi semplice per spiegare il comportamento di ognuno dei seguenti tipi di mutanti in E. coli :
   Mutante a : la mutazione mappa nell'operone triptofano. Le cellule mutanti producono costitutivamente tutti gli enzimi codificati dall'operone triptofano, anche se grandi quantità di triptofano sono presenti nel terreno di crescita.
   Mutante b : la mutazione mappa nell'operone triptofano. Le cellule mutanti non producono

nessun enzima codificato dall'operone triptofano in qualsiasi condizione di crescita. Mutante c : la mutazione mappa ad una certa distanza dall'operone triptofano. Le cellule mutanti producono costitutivamente tutti gli enzimi codificati dall'operone triptofano, anche se il terreno di crescita contiene grandi quantità di triptofano.

6. ANALISI DEI DATI . State studiando l'efficienza di trascrizione di un particolare gene eucariotico. La rimozione di una sequenza di DNA, localizzata diverse migliaia di nucleotidi a monte del gene, provoca una diminuzione consistente dell'efficienza di trascrizione genica. Come interpretereste questi risultati?




# Articolo III. Le tecnologie del DNA e la genomica 15

A partire dalla metà degli anni '70, lo sviluppo di nuove metodologie per lo studio del DNA ha reso possibile approcci di ricerca nuovi e radicalmente diversi, basati sulla tecnologia del DNA ricombinante, mediante la quale si può unire in laboratorio il DNA di organismi diversi. Uno degli obiettivi principali di questa tecnologia è quello di consentire agli studiosi di ottenere più copie di un frammento di DNA, così da poterlo studiare in dettaglio. Poiché nuove metodiche di analisi del DNA stanno evolvendo in modo rapido, non e approfondiremo tutte in questo capitolo. Ci soffermeremo, invece, sui principali approcci che hanno fornito la base di questa rivoluzione tecnologica, oggi ampiamente sfruttata dai genetisti molecolari. Vedremo come lo studio delle sequenze di DNA abbia avuto un ruolo fondamentale nella comprensione dell'organizzazione strutturale dei geni e della loro relazione con i corrispondenti prodotti. Infatti, molte delle nostre conoscenze sulla complessità della struttura e del controllo dei geni eucariotici e sul ruolo dei geni nello sviluppo sono derivate dall'uso di queste metodologie. Il sequenziamento del DNA ha inoltre rivoluzionato la sistematica aiutando a comprendere le relazioni evolutive esistenti tra organismi diversi. Questo capitolo analizza anche le numerose applicazioni pratiche della tecnologia del DNA ricombinante. Oggi, l'area di studio che si è maggiormente sviluppata è l' ingegneria genetica , cioè la manipolazione del DNA di un organismo allo scopo di produrre nuovi geni con nuove caratteristiche. L'ingegneria genetica può essere utilizzata per diversi scopi che vanno dalla ricerca di base, fino alla creazione di ceppi batterici che sintetizzano un utile prodotto proteico o alla generazione di piante ed animali superiori che esprimono geni a loro originariamente estranei (vedi fotografia).
La grande applicabilità delle nuove scoperte sul clonaggio del DNA e le modificazioni molecolari sta radicalmente cambiando la nostra idea di biotecnologia , cioè dell'utilizzo commerciale o industriale di cellule ed organismi a beneficio dell'umanità. Oggigiorno le applicazioni biotecnologiche più frequentemente citate riguardano campi differenti, come la medicina, la farmaceutica, la produzione di cibo, l'agricoltura e le scienze forensi.

## 15.1 IL CLONAGGIO DEL DNA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Spiegare come un tipico enzima di restrizione taglia le molecole di DNA e fornire alcuni esempi dell'utilizzo di questo tipo di enzimi nella tecnologia del DNA ricombinante.
2. Distinguere i concetti di libreria genomica, libreria cromosomica e libreria di DNA complementare (cDNA); spiegare perché si può clonare lo stesso gene eucariotico sia da una libreria genomica che da una di cDNA.
3. Descrivere gli utilizzi di una sonda genetica.
4. Descrivere il modo in cui la reazione a catena della polimerasi amplifica il DNA in vitro.

La tecnologia del DNA ricombinante non si è sviluppata velocemente: infatti, iniziò negli anni '40 da studi sulla genetica dei batteri e dei virus che li infettano, i batteriofagi (letteralmente "mangiatori di batteri") (vedi Fig. 12-2 che mostra batteriofagi adesi al batterio *Escherichia coli*). Il biologo molecolare Paul Berg fu il primo ricercatore a sintetizzare una molecola di DNA ricombinante; nel 1980 egli condivise il premio Nobel per la chimica per il suo contributo allo sviluppo delle tecnologie del DNA ricombinante. Solo dopo decenni di ricerca di base e con l'acquisizione di ampie conoscenze, le attuali tecnologie sono divenute accessibili ai molti ricercatori che oggi le utilizzano.
Nella tecnologia del DNA ricombinante, particolari enzimi batterici, noti come enzimi di restrizione , sono

utilizzati per tagliare il DNA a livello di specifiche sequenze, o siti. Gli enzimi di restrizione permettono di tagliare il DNA in frammenti maneggiabili. Ogni frammento può quindi essere introdotto in una molecola vettore , capace di trasportarlo in una cellula.
I batteriofagi e particolari molecole di DNA chiamate plasmidi, sono due esempi di vettori. Il DNA del cromosoma batterico è circolare; un plasmide è una molecola circolare più piccola di quella del cromosoma batterico, separata da esso, che può essere presente nella cellula batterica e può replicarsi autonomamente. I plasmidi possono essere introdotti in una cellula batterica, normalmente E. coli , con un metodo chiamato trasformazione , che consiste nell'assunzione di DNA estraneo da parte delle cellule (vedi Capitolo 12 ). Affinché la trasformazione sia efficiente, i ricercatori alterano le cellule con metodi chimici o con l'*elettroporazione* (sottoponendole ad uno shock elettrico) per rendere la membrana plasmatica permeabile alle molecole di DNA plasmidico. Una volta che il plasmide è all'interno della cellula, esso si replica e viene distribuito alle cellule figlie durante la divisione cellulare. Quando un *plasmide ricombinante*, che contiene al suo interno del DNA estraneo, si replica, si producono molte copie anche del DNA estraneo. In altre parole, il DNA estraneo viene clonato .
I trasposoni sono vettori estremamente efficienti per trasferire geni all'interno di topi o in altri organismi da laboratorio. Ricordando ciò che è stato spiegato nel Capitolo 13 , i trasposoni sono elementi genetici mobili che possono autotrasferirsi da una regione del genoma ad un'altra.

## Gli enzimi di restrizione sono "forbici molecolari"

Il maggiore progresso nello sviluppo della tecnologia del DNA ricombinante è stato la scoperta di enzimi batterici detti enzimi di restrizione . Oggigiorno, i ricercatori hanno a disposizione un enorme numero di enzimi di restrizione, ognuno con le proprie caratteristiche. Per esempio, un enzima di restrizione noto come Hind III può riconoscere e tagliare una molecola di DNA in corrispondenza del sito di restrizione 5'—AAGCTT—3'. (Un *sito di restrizione* è una sequenza di DNA che contiene il sito di taglio riconosciuto da un determinato enzima di restrizione). Un altro enzima di restrizione, noto come *Eco* RI, taglia solo il sito 5'—GAATTC—3'. Il nome dell'enzima di restrizione deriva generalmente dal nome del batterio dal quale è stato originariamente isolato. Così, *Hind* III ed Eco RI derivano rispettivamente da *Haemophilus influenzae* e da *Escherichia coli*.
Perché i batteri producono tali enzimi? Durante l'infezione, un batteriofago inietta il suo DNA nella cellula batterica. Il batterio può difendersi se possiede gli enzimi di restrizione capaci di attaccare il DNA del batteriofago. La cellula batterica protegge il proprio DNA dall'azione di tali enzimi modificandolo dopo averlo sintetizzato. Un enzima aggiunge un gruppo metilico a una o più basi in ogni sito di restrizione, così che l'enzima di restrizione non è in grado di riconoscere e tagliare il DNA batterico.
Gli enzimi di restrizione permettono ai ricercatori di tagliare, in maniera controllata, il DNA dei cromosomi in frammenti più piccoli. Molti degli enzimi di restrizione usati negli studi sul DNA ricombinante tagliano sequenze palindromiche , termine che significa che la sequenza di basi su un filamento è uguale a quella del filamento complementare se entrambe sono lette in direzione 5' → 3'. Così, nel nostro esempio su Hind III, entrambi i filamenti portano la sequenza 5'—AAGCTT—3'. La molecola a doppia elica può essere così rappresentata:

5'—AAGCTT—3'
3'—TTCGAA—5'

Con il taglio di entrambi i filamenti di DNA in modo asimmetrico, questi enzimi producono frammenti con terminazioni identiche, complementari, a singolo filamento:

5'—A AGCTT—3'
3'—TTCGA A—5'

Queste terminazioni vengono chiamate *estremità coesive* ("*sticky ends*") proprio perché tendono ad appaiarsi (attraverso legami a idrogeno) con le terminazioni complementari a singolo filamento di altre molecole di DNA ottenute con lo stesso enzima di restrizione ( FIG. 15-1 ). Una volta che le due molecole si sono unite in questo modo, possono essere trattate con la DNA ligasi , che lega covalentemente i due frammenti, formando una molecola di DNA ricombinante stabile. (La DNA ligasi è già stata menzionata nel paragrafo sulla replicazione del DNA nel Capitolo 12 ).

### Il DNA ricombinante si forma quando il DNA è inserito in un vettore

Nella tecnologia del DNA ricombinante, i genetisti tagliano sia il DNA da sottoporre a clonaggio, sia quello plasmidico, con lo stesso enzima di restrizione. I due DNA sono quindi mescolati in condizioni che facilitano la formazione di legami a idrogeno fra le basi complementari delle estremità adesive; la risultante molecola di DNA ricombinante è quindi saldata dalla DNA ligasi ( FIG. 15-2 ).

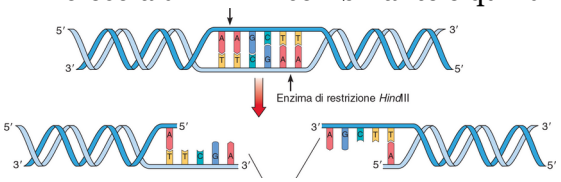



FIGURA 15-1 *Taglio del DNA con un enzima di restrizione*
Molti enzimi di restrizione, come Hind III, tagliano il DNA a livello di sequenze di basi palindromiche, producendo due estremità complementari, dette "sticky ends" o "estremità coesive". Le frecce nere indicano i siti di taglio dell'enzima.

## METODO DI RICERCA

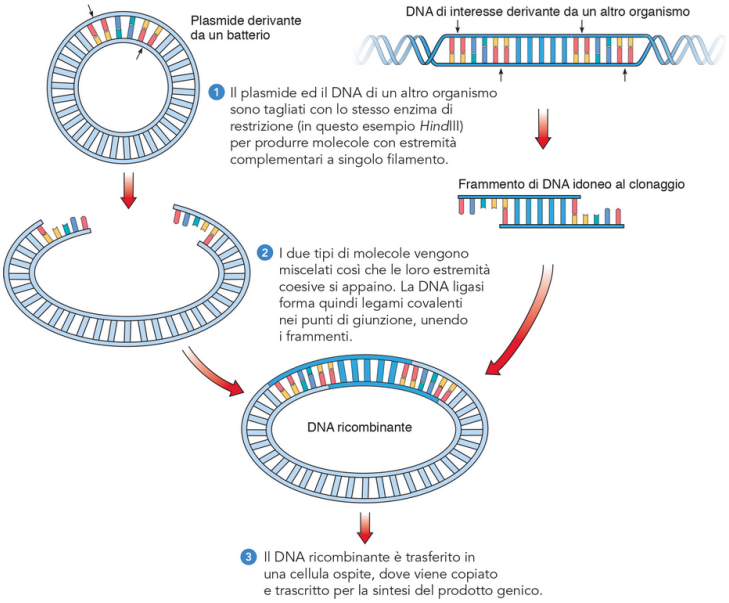
*Perché si usa?*

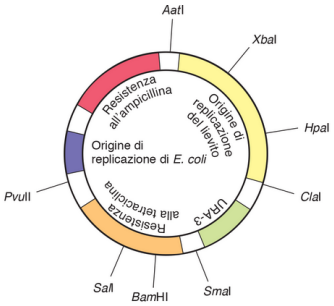
Un plasmide trasporta DNA estraneo in una cellula ospite batterica, dove sono fatte molte copie del gene di interesse, quando la cellula batterica divide. Queste copie vengono utilizzate in molti tipi di ricerca, per esempio, per ottenere il prodotto genico codificato dal DNA estraneo.

*Come funziona?*

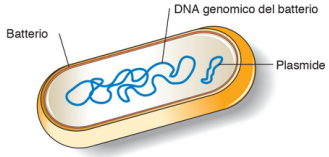
FIGURA 15-2→

*Inserimento di DNA estraneo (gene di interesse) in un vettore di clonaggio (in questo esempio, un plasmide batterico) per generare DNA ricombinante*




**(a)** Questo vettore plasmidico ingegnerizzato geneticamente presenta molte caratteristiche utili. È stato costruito combinando frammenti di DNA isolati da plasmidi, geni di *E. coli* e geni di lievito. Le due origini di replicazione, una per *E. coli* e una per il lievito *Saccharomyces cerevisiae*, gli permettono di replicarsi indipendentemente nei due tipi di cellule. Le sigle nella circonferenza esterna indicano i siti per enzimi di restrizione che tagliano il plasmide solo ed esclusivamente in quella posizione. Sono mostrati anche i geni per la resistenza agli antibiotici ampicillina e tetraciclina ed il gene *URA-3* di lievito. Il gene *URA-3* è utile quando si trasformano le cellule di lievito che sono prive di un enzima necessario per la sintesi dell'uracile perché permette di identificare quelle che hanno ricevuto il plasmide.
Le cellule che incorporano il plasmide, diversamente dalle cellule di partenza, divengono capaci di crescere in un mezzo deficitario di uracile.




**(b)** Dimensioni relative di un plasmide e del DNA principale del batterio.

←FIGURA 15-3

*I plasmidi*

I plasmidi oggi utilizzati negli studi sul DNA ricombinante sono stati "ingegnerizzati", ovvero modificati geneticamente, in modo da inserire caratteristiche utili per meglio isolare ed analizzare il DNA clonato ( FIG. 15-3 ). Fra queste, un'origine di replicazione (vedi Capitolo 12 ), uno o più siti di restrizione e geni che permettono ai ricercatori di selezionare le cellule che sono state trasformate da plasmidi ricombinanti. Questi sono geni che permettono alle cellule trasformate di crescere in condizioni specifiche che, viceversa, non permettono la crescita delle cellule non trasformate. In questo modo, i ricercatori utilizzano caratteristiche che sono anche comunemente presenti nei plasmidi naturali. Normalmente, i plasmidi non contengono geni che in condizioni normali sono essenziali per le cellule batteriche, ma spesso contengono geni che sono utili solo in particolari condizioni, come i geni che conferiscono la resistenza ad un particolare antibiotico o che permettono alla cellula di utilizzare un particolare nutriente. Per esempio, le cellule trasformate con un plasmide che porta un gene per la resistenza all'antibiotico tetraciclina possono crescere in un terreno che contiene la tetraciclina, mentre le cellule non trasformate non lo possono fare.

Un limite all'utilizzo del plasmide come vettore è dato dalla taglia del frammento di DNA che questo può effettivamente trasportare. La lunghezza del frammento di DNA è spesso espressa in chilobasi (kb; 1 kb equivale a 1000 paia di basi). Di norma, frammenti inferiori a 10 kb possono essere inseriti in plasmidi per trasformare batteri quali E. coli . Frammenti più grandi, invece, richiedono come vettori l'uso di batteriofagi, che possono incorporare fino a 23 kb di DNA. Altri tipi di vettori includono i vettori di clonaggio cosmidici , che derivano dalla combinazione di caratteristiche dei batteriofagi e dei plasmidi, ed i cromosomi batterici artificiali ( BAC ), che possono incorporare frammenti di DNA molto più grandi. Ad esempio, un singolo BAC può incorporare fino a 200 kb di DNA esogeno, caratteristica questa che ha reso i BAC particolarmente utili nel *Progetto Genoma Umano*, che sarà discusso più avanti in questo capitolo.

Il DNA ricombinante può anche essere introdotto in cellule di organismi superiori; per esempio, virus ingegnerizzati possono essere utilizzati come vettori in cellule di mammifero. Questi virus vengono modificati in modo da renderli incapaci di uccidere le cellule che infettano; tuttavia, il loro DNA, e ogni DNA estraneo che questi trasportano, viene incorporato nei cromosomi delle cellule durante l'infezione. Come verrà discusso più avanti, sono stati sviluppati altri metodi che non richiedono l'utilizzo di vettori biologici.

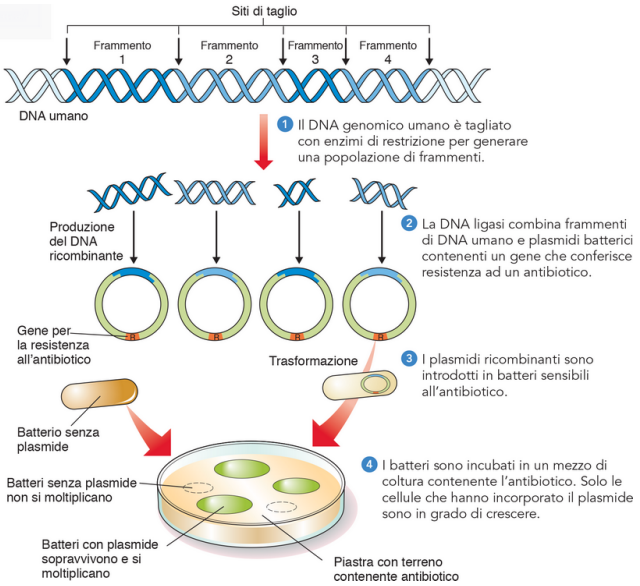
## Il DNA può essere clonato nelle cellule

Poiché un singolo gene è solo una piccola parte del DNA totale di un organismo, isolare un frammento di DNA contenente un gene particolare è come trovare un ago in un pagliaio. È necessario perciò un potente rivelatore. Oggi ci sono molti metodi che permettono di isolare una specifica sequenza nucleotidica da un

organismo. Inizieremo con metodi per il clonaggio del DNA all'interno di cellule batteriche; come esempio, utilizzeremo il clonaggio di DNA umano, benché la procedura possa essere applicata a qualsiasi organismo.

### Una libreria genomica contiene frammenti di DNA di tutto il genoma

Il DNA totale di una cellula costituisce il suo genoma . Per esempio, se si estrae il DNA da cellule umane, ci riferiamo ad esso come al DNA genomico umano. Una libreria genomica (genoteca) è una raccolta di migliaia di frammenti di DNA che rappresentano tutto il DNA del genoma. Ogni frammento è inserito in un plasmide, che normalmente viene incorporato in un batterio. Così, la libreria genomica umana è conservata come collezione di batteri ricombinanti, ciascuno dei quali contiene un diverso frammento di DNA umano. Le librerie genomiche vengono utilizzate per l'isolamento e lo studio di geni specifici. Inoltre, le genoteche contengono un numero elevato di sequenze che non codificano proteine.
Anche i singoli cromosomi possono essere isolati per costruire una libreria cromosomica che contenga tutti i frammenti di DNA che appartengono ad uno specifico cromosoma. Se è noto che un gene di interesse è associato ad un particolare cromosoma, più semplice isolare il gene da una libreria cromosomica piuttosto che da una libreria genomica.




**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*

Una libreria genomica è una raccolta di tutti i frammenti di DNA del genoma di un organismo; una libreria cromosomica è una raccolta di tutti i frammenti di DNA di un cromosoma specifico. Ciascun frammento di DNA viene "conservato" in un clone di cellule batteriche ricombinanti. Gli scienziati usano librerie genomiche e cromosomiche per isolare e studiare geni.

*Come funziona?*

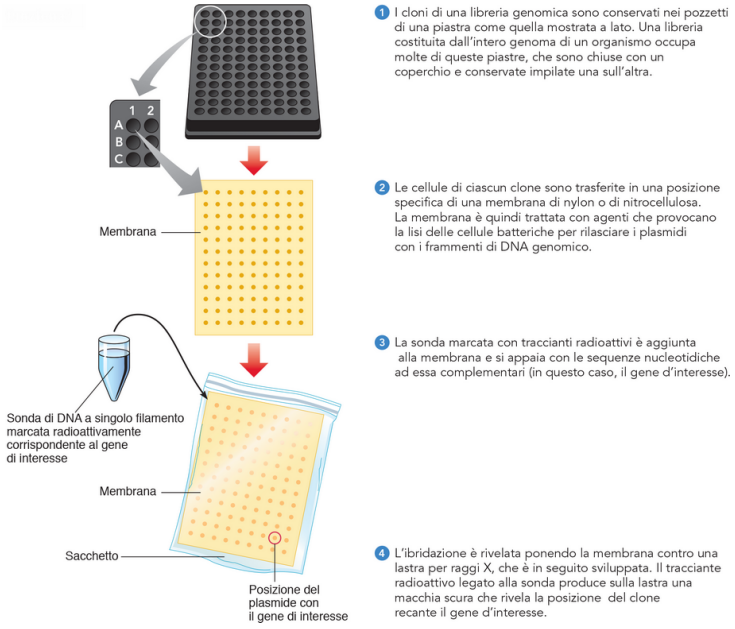
FIGURA 15-4
*Costruzione di una libreria genomica o di una cromosomica*

Per la realizzazione delle librerie genomiche o cromosomiche si utilizzano le metodiche di clonaggio appena descritte. La prima tappa è il taglio del DNA con un enzima di restrizione, per generare una popolazione di frammenti di DNA ( FIG. 15-4 ). Questi frammenti varieranno per dimensione e per tipo di informazioni trasportate, ma avranno tutti terminazioni coesive identiche. Il DNA del vettore plasmidico viene trattato con lo stesso enzima di restrizione, il quale converte il plasmide circolare in una molecola lineare con terminazioni coesive complementari a quelle dei frammenti di DNA umano. I plasmidi ricombinanti si ottengono mescolando i due tipi di DNA (umano e plasmidico) in opportune condizioni che promuovono la formazione di legami a idrogeno fra le basi complementari; infine, le terminazioni appaiate del plasmide e del DNA umano sono riunite enzimaticamente dalla DNA ligasi. Durante questo procedimento, si formano anche plasmidi non ricombinanti ( non mostrati in figura ), in quanto alcuni riformano la loro struttura circolare senza incorporare DNA esogeno.
I plasmidi ricombinanti devono essere inseriti in cellule batteriche antibiotico-sensibili attraverso un meccanismo di trasformazione. Questa fase è realizzata stabilendo un basso rapporto tra plasmidi e cellule, così che sia un evento raro per una cellula ricevere più di un plasmide, e non tutte le cellule lo ricevano. Le cellule sono poi incubate in un terreno di coltura che contiene anche antibiotici, così che crescano solo quelle che hanno incorporato il plasmide (contenente il gene per la resistenza all'antibiotico). Inoltre, i vettori in genere sono ingegnerizzati in modo da permettere ai ricercatori di selezionare le cellule che contengono il vettore con inserito il DNA esogeno.
Le librerie genomiche e cromosomiche contengono ridondanze, cioè certe sequenze di DNA umano sono state inserite nei plasmidi più di una volta. Tuttavia, ogni plasmide ricombinante (in analogia con un libro di una biblioteca) contiene un singolo frammento del genoma umano totale.
Per permettere l'identificazione di un plasmide contenente una sequenza di interesse, ogni plasmide deve essere amplificato mediante clonaggio, finché si ottengono milioni di sue copie con cui lavorare. Questo processo avviene quando le cellule batteriche crescono e si dividono. Un campione diluito di una coltura batterica è distribuito su un mezzo di crescita solido (piastre con agar) in modo che le cellule siano ben separate. Ogni cellula si divide ripetutamente, dando origine a una colonia visibile, che è un clone di cellule geneticamente identiche in quanto originate da una singola cellula. Tutte le cellule di una certa colonia

contengono lo stesso plasmide ricombinante; così, durante questo processo, una specifica sequenza di DNA umano può essere clonata. Il compito più importante è determinare quale colonia (su migliaia di colonie formate) contenga il frammento di interesse clonato; ci sono molti modi per raggiungere tale obiettivo.

### Una specifica sequenza di DNA può essere rivelata da una sonda genetica complementare

Supponiamo che un ricercatore voglia analizzare le migliaia di molecole di DNA ricombinante presenti nelle cellule batteriche, allo scopo di identificare quella che contiene il gene che codifica per una specifica proteina. Un approccio comune è quello di utilizzare una sonda genetica, anche detta sonda a DNA , che è un segmento di DNA omologo a parte della sequenza di interesse. La sonda a DNA è solitamente un singolo filamento di DNA che può ibridare (si attacca cioè per complementarietà di basi) con una sequenza di DNA complementare del gene bersaglio e che è identificabile in quanto marcata con traccianti radioattivi.
Per capire quale colonia porti la sequenza di DNA di interesse, le cellule delle colonie batteriche contenenti i plasmidi ricombinanti possono essere trasferite su un filtro di nitrocellulosa o su una membrana di nylon ( FIG. 15-5 ). Le cellule sul filtro vengono trattate chimicamente per lisarle e per denaturare il DNA, renderlo cioè a singolo filamento. (Il DNA a singolo filamento si lega alla membrana). Il filtro è poi incubato con la miscela di sonde radioattive in modo che possano ibridare con qualsiasi DNA complementare presente.




**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*

Una sonda radioattiva di acido nucleico rivela la presenza di sequenze complementari di DNA in una libreria genomica.

*Come funziona?*

FIGURA 15-5
*Uso di una sonda di acido nucleico per identificare una specifica sequenza di DNA in una libreria genomica*

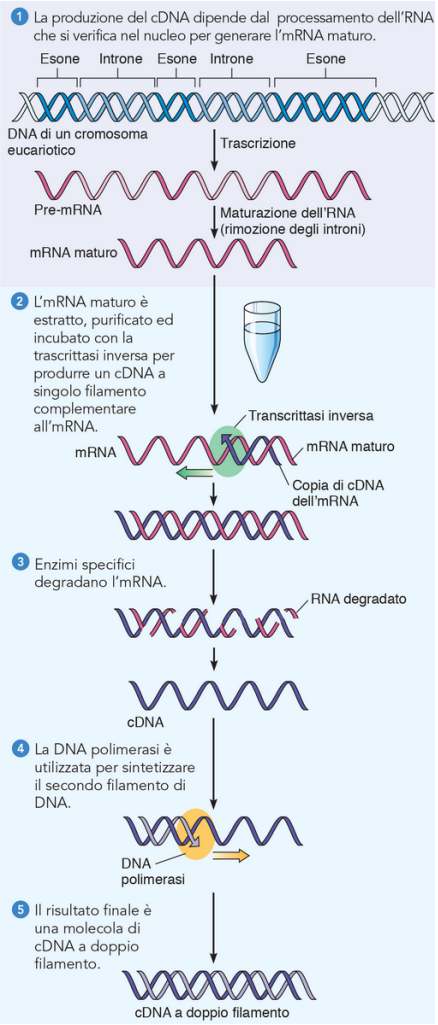
Ogni colonia sul filtro contenente DNA complementare a quella particolare sonda diventa radioattiva e può essere rilevata per autoradiografia (vedi Capitolo 2 ), usando una lastra per raggi X. Ogni macchia sulla lastra identifica, quindi, una colonia che contiene un plasmide che include il DNA di interesse. Le cellule delle colonie di interesse sono quindi prelevate dalla piastra originaria e poste in coltura, in modo da produrre milioni di nuovi batteri, tutti contenenti il DNA ricombinante specifico.

### Una libreria di cDNA è complementare all'mRNA e non contiene introni

I ricercatori frequentemente vogliono clonare intere sequenze geniche, evitando però di clonare gli introni , cioè le porzioni dei geni eucariotici che non codificano le proteine. Inoltre, spesso vogliono clonare soltanto i geni che vengono espressi in un particolare tipo cellulare. In questi casi, vengono costruite librerie contenenti molecole di DNA, che sono la copia degli mRNA maturi, dai quali quindi sono stati rimossi gli introni. Anche le copie, note come DNA complementare ( cDNA ) perché sono complementari all'mRNA, mancano degli introni. La trascrittasi inversa (vedi Capitolo 13 ) è usata per sintetizzare il cDNA a singolo filamento, che è poi reso a doppio filamento utilizzando la DNA polimerasi ( FIG. 15-6 ). Le copie di DNA (cDNA) ottenute dalla popolazione di mRNA di una singola cellula, una volta rese a doppio filamento, possono essere inserite in vettori plasmidici o virali, che poi si moltiplicano nelle cellule batteriche per formare una libreria di cDNA .
L'analisi dei cloni di cDNA permette ai ricercatori di conoscere alcune caratteristiche della proteina codificata dal gene, compresa la sua esatta sequenza aminoacidica. Può anche essere studiata la struttura dell'mRNA maturo. Dato che il cDNA è la copia dell'mRNA e non contiene sequenze introniche, il confronto fra la sequenza di basi presenti nel cDNA e il DNA genomico (o una libreria cromosomica) rivela la collocazione di introni ed esoni nel gene.
Le sequenze di cDNA clonate sono anche molto utili nel caso si voglia ottenere una certa proteina eucariotica nei batteri. Quando si introduce in un batterio un gene umano contenente introni, come il gene per l'ormone della crescita, il batterio è incapace di rimuovere gli introni dal trascritto primario di RNA per ottenere l'mRNA funzionale necessario per la produzione del suo prodotto proteico. Se però si inserisce nel batterio un clone di cDNA del gene, il suo trascritto conterrà solo la regione codificante ininterrotta. Si può

tuttavia sintetizzare una proteina funzionale solo se il gene è inserito a valle di un promotore batterico appropriato e se vi si inserisce un appropriato segnale di inizio di traduzione batterico.

## La reazione a catena della polimerasi è una tecnica per amplificare il DNA in vitro




I metodi di amplificazione di una specifica sequenza di DNA sopra descritti comportano tutti il clonaggio del DNA in cellule, generalmente utilizzando quelle di tipo batterico. Questi processi richiedono una discreta quantità di tempo ed una adeguata quantità di DNA di partenza. La reazione a catena della polimerasi ( PCR ), una tecnica sviluppata dal biochimico statunitense Kary Mullis nel 1985, permette di amplificare una minuscola quantità di DNA milioni di volte ed in poche ore *senza clonare all'interno di cellule*. Nel 1993, Mullis è stato insignito del premio Nobel per la Chimica.

FIGURA 15-6 Formazione del cDNA

Nella PCR la DNA polimerasi utilizza nucleotidi e primer per replicare in vitro la sequenza di DNA di interesse, producendo due molecole di DNA ( FIG. 15-7 ). I due filamenti di ogni molecola sono separati col calore e duplicati di nuovo, così da produrre quattro molecole a doppio filamento. Dopo un successivo ciclo di riscaldamento e duplicazione, le molecole saranno otto, e così via; il numero di molecole di DNA raddoppierà ad ogni ciclo. Dopo 20 cicli successivi, questo processo esponenziale produrrà 2 20 , ovvero più di un milione di copie della sequenza cercata! Poiché la reazione è efficiente solamente se la DNA polimerasi rimane stabile anche dopo numerosi cicli di riscaldamento, nel processo si usa una speciale DNA polimerasi termostabile, la Taq polimerasi. Il nome dell'enzima riflette la sua fonte, Thermus aquaticus , un batterio che vive in sorgenti termali calde nel Parco Nazionale di Yellowstone. Poiché la temperatura dell'acqua in questo ambiente è vicina al punto di ebollizione, tutti gli enzimi del T. aquaticus si sono evoluti in una forma che risulta stabile alle alte temperature (nel Capitolo 3 è stato spiegato che la maggior parte delle proteine si denatura irreversibilmente alle alte temperature, modificando la propria forma e perdendo l'attività biologica). Enzimi simili possono essere trovati in batteri che vivono nei soffioni termali dei mari profondi.

**METODO DI RICERCA**

In poche ore la PCR è in grado di amplificare quantità estremamente piccole di DNA generandone milioni di copie.

*Perché si usa? Come funziona?*

La miscela di reazione iniziale include una piccolissima quantità di DNA a doppio filamento, i precursori del DNA (deossiribonucleotidi), specifici primer di acido nucleico e la Taq DNA polimerasi termostabile. La reazione di PCR coinvolge ripetuti cicli di denaturazione, attacco dei primer ed estensione del filamento, eseguita da enzimi che sfruttano l'appaiamento di basi complementari.

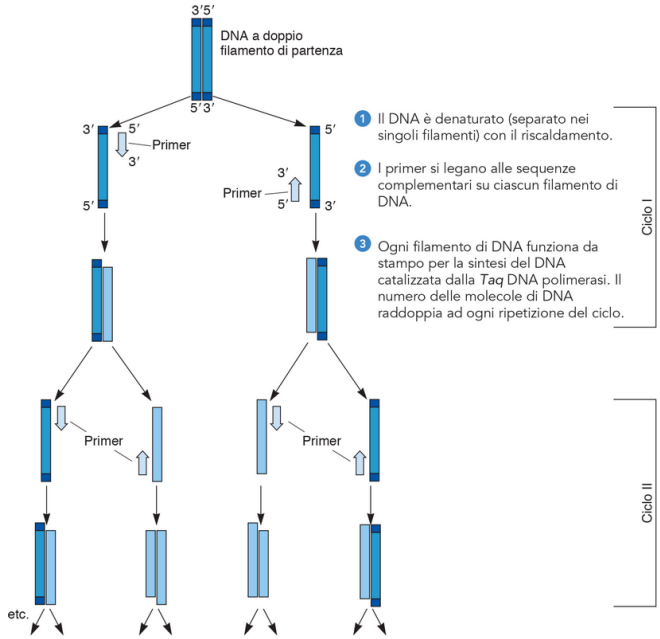



FIGURA 15-7 *Amplificazione del DNA tramite la reazione di polimerizzazione a catena (PCR)*

La tecnica della PCR teoricamente ha applicazioni illimitate. Rende il clonaggio semplice; permette l'amplificazione e l'analisi di campioni molto esigui di DNA da sorgenti varie, quali scene di crimini o resti archeologici. Per esempio, la PCR ha permesso di effettuare la prima analisi di DNA mitocondriale ottenuto dalle ossa dell'uomo di Neandertal (vedi Capitolo 22 ). Parte del genoma di Neandertal è stato sequenziato nel 2006, consentendo confronti con le regioni equivalenti presenti nel genoma dell'uomo moderno.

Se la tecnica della PCR ha un limite, questo è imputabile alla eccessiva sensibilità della tecnica. Infatti, anche una minima quantità di DNA contaminante presente nel campione, può potenzialmente essere amplificata e portare ad una errata conclusione. I ricercatori, consapevoli di questo aspetto, migliorano costantemente i metodi per eliminare questo ed altri problemi tecnici.

**Verifica**

- Che cosa sono gli enzimi di restrizione? Come vengono usati nella ricerca basata sul DNA ricombinante?
- Quali sono i vantaggi relativi di librerie genomiche, librerie cromosomiche e librerie di cDNA?
- Come vengono utilizzate le sonde genetiche?
- Perché la PCR è una tecnica di grande valore?

## 15.2 L'ANALISI DEL DNA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Fare una distinzione tra blotting del DNA, dell'RNA e delle proteine.
6. Descrivere il metodo di terminazione della catena per il sequenziamento del DNA.

Il clonaggio del DNA che utilizza cellule e la tecnica della PCR hanno avuto un grande impatto sull'analisi genetica, in quanto forniscono quantità di materiale genetico sufficienti per poter rispondere a quesiti fondamentali relativi a specifici geni ed ai loro RNA o prodotti proteici. Per esempio, in quale momento è espresso un gene, ed in che modo? Un determinato gene è identico nei diversi individui? È diverso in specie differenti? Dov'è localizzato il gene all'interno del genoma? In questo e nel successivo paragrafo, prenderemo in considerazione varie tecniche che ci aiuteranno a rispondere a questi interrogativi. Quindi, nell'ultimo paragrafo del capitolo, esamineremo alcune delle applicazioni pratiche della tecnologia del DNA.

### L'elettroforesi su gel è utilizzata per separare le macromolecole

Miscele di certe macromolecole, come polipeptidi, frammenti di DNA o RNA, possono essere separate per elettroforesi su gel , un metodo che sfrutta il fatto che queste molecole hanno gruppi carichi che provocano la loro migrazione in un campo elettrico. La FIGURA 15-8 illustra l'elettroforesi di molecole di DNA. Gli acidi nucleici migrano attraverso il gel verso il polo positivo del campo elettrico, perché sono carichi negativamente a causa dei gruppi fosfato. Poiché il gel ritarda maggiormente il movimento delle molecole grandi rispetto a quelle piccole, la velocità a cui viaggiano nel gel è inversamente proporzionale alla loro dimensione (peso molecolare). Includendo nella corsa elettroforetica anche frammenti di DNA di dimensione nota come riferimento, è possibile misurare accuratamente il peso molecolare dei frammenti sconosciuti. Successivamente alla separazione in campo elettrico, il gel viene colorato per rilevare il numero e la posizione dei frammenti.

### I blot di DNA, RNA e proteine permettono di individuare frammenti specifici

I frammenti di DNA possono essere identificati tramite ibridazione con una sonda complementare; tuttavia, è impossibile ibridare una sonda con frammenti di DNA contenuti in un gel. Per questo motivo, il DNA viene normalmente denaturato e trasferito su un filtro di nitrocellulosa, che trattiene il DNA come una carta assorbente trattiene l'inchiostro. Il blot che ne risulta, che è essenzialmente una replica del gel, viene incubato con una sonda di DNA, che ibrida con qualsiasi frammento di DNA ad essa complementare. Se si utilizza una sonda radioattiva, il blot viene poi sottoposto ad autoradiografia. Le macchie che risultano sulla lastra per raggi X corrispondono alla posizione nel gel dei frammenti complementari alla sonda. Oggigiorno, molte sonde vengono rivelate per chemioluminescenza, la quale viene analizzata da scanner computerizzati, eliminando così la necessità di effettuare l'autoradiografia.

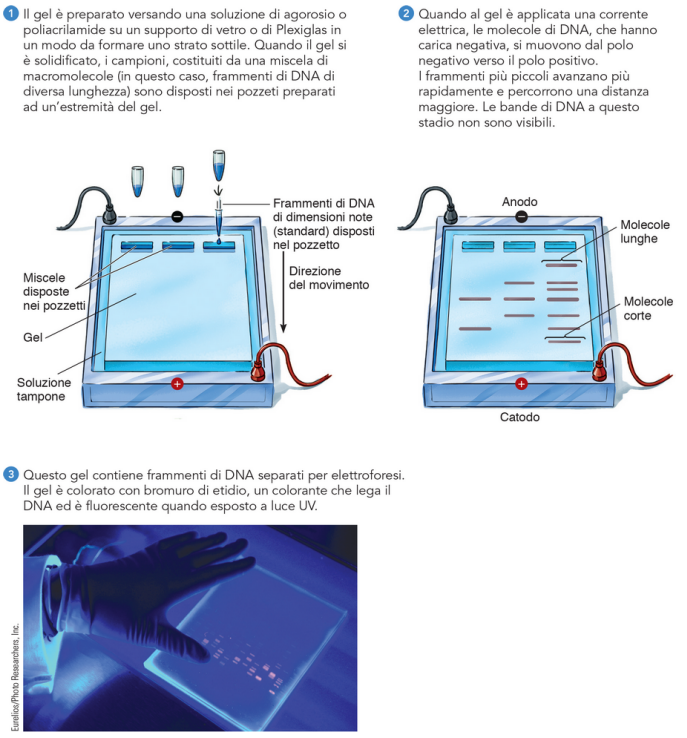
Questo metodo di identificazione di frammenti di DNA, che si basa sulla loro separazione per elettroforesi su gel e sul successivo trasferimento su filtri di nitrocellulosa o di nylon, è detto Southern blot , dal nome del suo inventore, Edward M. Southern, dell'Università di Edimburgo in Scozia ( FIG. 15-9 ). Questa procedura ha ampie applicazioni. È spesso usata per diagnosticare certi tipi di disordini genetici. Per esempio, in alcuni casi un gene mutato può essere rivelato in quanto nel gel migra in modo diverso rispetto alla sua controparte normale.

Tecniche simili di trasferimento sono usate per studiare l'RNA e le proteine. Quando le molecole di RNA separate per elettroforesi sono trasferite su una membrana, si parla di Northern blot . Nella stessa ottica, il

termine Western blot è applicato al trasferimento di proteine o di polipeptidi previamente separati per elettroforesi su gel. (Fino ad ora, nessuno ha inventato un tipo di trasferimento che possa essere denominato Eastern blot). Nel caso del Western blot, i polipeptidi di interesse sono riconosciuti da molecole di anticorpo marcate che si legano in modo specifico. Per esempio, il Western blot è utilizzato per diagnosticare la presenza di proteine del virus umano dell'immunodeficienza (HIV-1), che causa l'AIDS.

## I polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione sono una misura delle correlazioni genetiche

La variabilità dei geni all'interno di una popolazione può essere studiata in diversi modi. Un approccio tradizionale si basa sul fatto che le mutazioni casuali nel DNA e la ricombinazione possono dare origine ad individui che differiscono per la lunghezza dei frammenti prodotti da un determinato enzima di restrizione. Tali polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione , noti più comunemente come RFLP , possono essere utilizzati per determinare il grado di correlazione tra i diversi membri di una popolazione. (Il termine *polimorfismo* significa "molte forme" e si riferisce alle differenze ereditarie presenti all'interno di una popolazione). Si dice che esiste un polimorfismo genetico se in una popolazione sono presenti individui di due o più tipi discreti, anche detti "morfe".




**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*

L'elettroforesi su gel separa molecole, come gli acidi nucleici, sulla base della loro dimensione e carica mentre migrano attraverso un campo elettrico.

*Come funziona?*

FIGURA 15-8
*L'elettroforesi su gel*

Il DNA estratto da due o più individui viene tagliato con enzimi di restrizione ed i frammenti sono separati per elettroforesi su gel, ponendo il DNA di ciascun individuo in una corsia diversa; i frammenti di dimensioni inferiori migrano di più rispetto a quelli più lunghi. Per visualizzare i frammenti, si effettua un Southern blot del DNA presente sul gel, che viene quindi denaturato e fatto ibridare con una sonda di DNA. Gli schemi di bande risultanti possono poi essere confrontati.

L'analisi degli RFLP è stata usata per effettuare attribuzioni di paternità ed analisi di prove presenti sulla scena di un crimine, ed anche per mappare l'esatta localizzazione di mutazioni geniche, come quella che causa la fibrosi cistica. Sebbene la tecnica degli RFLP abbia prodotto informazioni utili in varie aree della biologia, è stata rapidamente sostituita da metodiche più innovative, come il sequenziamento automatizzato del DNA (discusso nel paragrafo successivo).

**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*

LLa tecnica del Southern blotting consiste nel trasferimento su un filtro dei frammenti di DNA separati per elettroforesi, con il mantenimento delle stesse posizioni che occupavano sul gel. I frammenti possono essere così ibridati con sonde radioattive complementari.

*Come funziona?*

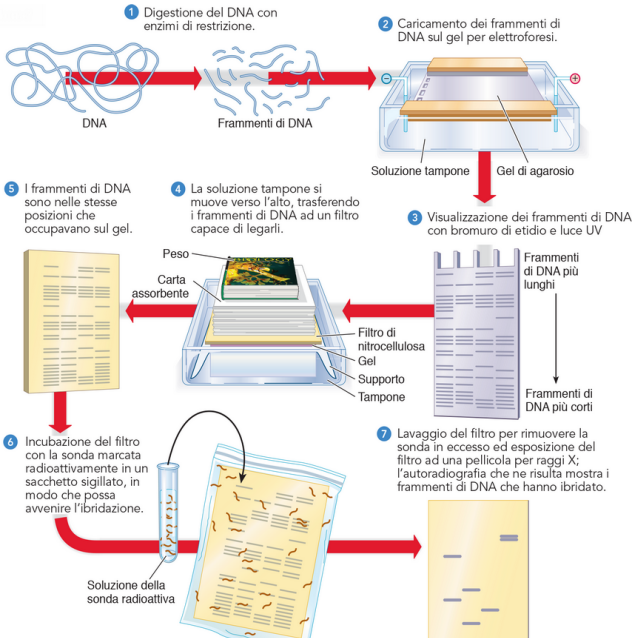


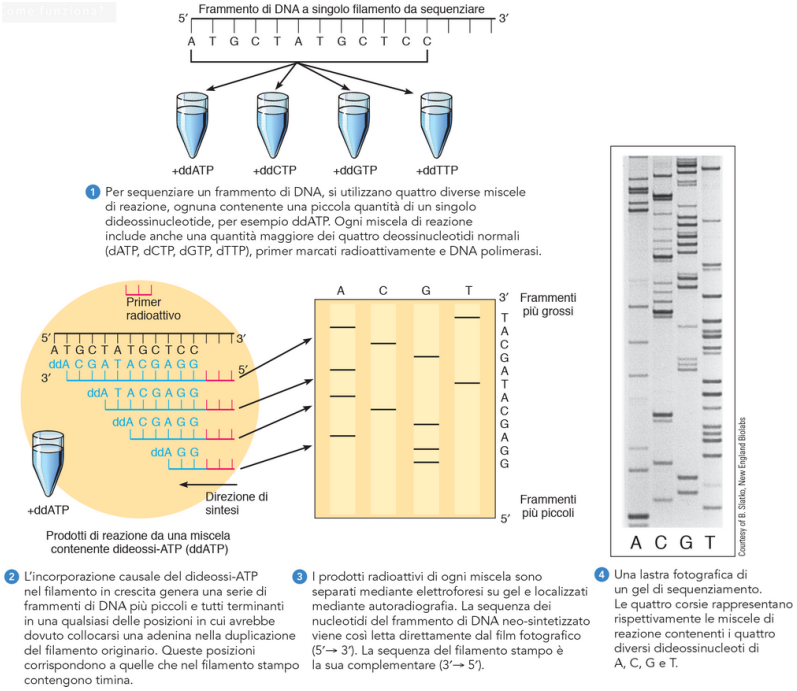

FIGURA 15-9
*La tecnica del Southern blotting*

## Metodi rapidi per il sequenziamento del DNA

Un modo per caratterizzare il DNA è determinare la sua sequenza nucleotidica. Un pezzo di DNA clonato può essere usato come mezzo di ricerca per un gran numero di applicazioni. Per esempio, il clonaggio di un gene può consentire di ottenere la corrispondente proteina utile per

qualche processo industriale o farmaceutico. Indipendentemente dal tipo di applicazione, molto deve essere noto sul gene e su come funziona prima che possa essere "ingegnerizzato" per una particolare applicazione. Normalmente, la prima tappa consiste nella determinazione della sequenza nucleotidica.

Negli anni '90, l'avvento di macchine per il sequenziamento automatizzato del DNA connesse a potenti computer ha permesso ai ricercatori di sequenziare enormi quantità di DNA in maniera rapida ed affidabile. Il sequenziamento automatizzato del DNA si basa sul metodo di terminazione della catena , sviluppato nel 1974 dal biochimico britannico Fred Sanger. Nel 1980 Sanger condivise con il biochimico statunitense Walter Gilbert il premio Nobel per la Chimica grazie a questo contributo. Per Sanger si trattava del secondo premio Nobel, avendone già ricevuto uno per il suo lavoro sulla struttura della proteina insulina. Sebbene il sequenziamento del DNA sia oggi completamente automatizzato, molte delle tecniche automatizzate sono ancora basate sul metodo di terminazione della catena sviluppato da Sanger (FIG. 15-10).




1 Per sequenziare un frammento di DNA, si utilizzano quattro diverse miscele di reazione, ognuna contenente una piccola quantità di un singolo dideossinucleotide, per esempio ddATP. Ogni miscela di reazione include anche una quantità maggiore dei quattro deossinucleotidi normali (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), primer marcati radioattivamente e DNA polimerasi.

Prodotti di reazione da una miscela contenente dideossi-ATP (ddATP)

2 L'incorporazione causale del dideossi-ATP nel filamento in crescita genera una serie di frammenti di DNA più piccoli e tutti terminanti in una qualsiasi delle posizioni in cui avrebbe dovuto collocarsi una adenina nella duplicazione del filamento originario. Queste posizioni corrispondono a quelle che nel filamento stampo contengono timina.

3 I prodotti radioattivi di ogni miscela sono separati mediante elettroforesi su gel e localizzati mediante autoradiografia. La sequenza dei nucleotidi del frammento di DNA neo-sintetizzato viene così letta direttamente dal film fotografico (5′→ 3′). La sequenza del filamento stampo è la sua complementare (3′→ 5′).

4 Una lastra fotografica di un gel di sequenziamento. Le quattro corsie rappresentano rispettivamente le miscele di reazione contenenti i quattro diversi dideossinucleoti di A, C, G e T.

**METODO DI RICERCA**

*Perché si usa?*

Il metodo di terminazione della catena con dideossinucleotidi è un sistema rapido ed efficiente per sequenziare il DNA.

*Come funziona?*

FIGURA 15-10
*Il metodo di sequenziamento del DNA basato sulla terminazione del filamento con dideossinucleotidi*

Questo metodo usato per sequenziare il DNA è basato sul fatto che un filamento di DNA che si replica e che ha incorporato un particolare tipo di nucleotide modificato, noto come *dideossinucleotide*, non può essere allungato oltre quel punto. Rispetto a un deossinucleotide "normale" il quale ha un gruppo ossidrile al carbonio 3', un dideossinucleotide manca appunto dello stesso gruppo ossidrile nella posizione 3'. (Ricordate dal Capitolo 12 che il gruppo ossidrilico al 3' è necessario per la reazione che porta alla formazione del legame fosfodiesterico). Perciò, i dideossinucleotidi interrompono l'allungamento durante la replicazione del DNA.

Si preparano quindi quattro differenti miscele di reazione. Ognuna contiene copie multiple a singolo filamento del DNA da sequenziare, DNA polimerasi, primer marcati radioattivamente e tutti e quattro i deossinucleotidi necessari per sintetizzare il DNA: dATP, dCTP, dGTP e dTTP. Ogni miscela di reazione include anche una piccola quantità di uno solo dei quattro dideossinucleotidi, ddATP, ddCTP, ddGTP e ddTTP. Il prefisso "dd" viene utilizzato per distinguere i dideossinucleotidi dai deossinucleotidi, che vengono identificati con "d".

Consideriamo ora come procede la reazione nella miscela che include ddATP. In ogni punto in cui c'è un'adenina, il filamento in sintesi può incorporare casualmente un ddATP e non essere più in grado di allungarsi oltre. Di conseguenza, si forma una miscela di frammenti di DNA di varia lunghezza nella miscela di reazione. Ogni frammento che contiene un ddATP marca una specifica posizione in cui l'adenina si trova normalmente. Allo stesso modo, nella miscela di reazione che include ddCTP, ogni frammento che contiene ddCTP marca la posizione di una citosina, e così via.
I frammenti radioattivi di ogni reazione sono denaturati e poi separati per elettroforesi su gel; ogni miscela di reazione, corrispondente a A, T, G e C, occupa una corsia separata sul gel. Le posizioni dei frammenti nel gel possono essere determinate per autoradiografia. Poiché l'alta risoluzione del gel rende possibile la distinzione tra frammenti che differiscono in lunghezza per un solo nucleotide, si può leggere la sequenza una base alla volta.

Il metodo di terminazione della catena è ancora oggi utilizzato negli apparecchi per il sequenziamento automatizzato del DNA. Tuttavia, il metodo di rivelazione è cambiato, in quanto la sequenza di nucleotidi non viene più visualizzata mediante radioattività, ma attraverso la marcatura del primer o di ognuno dei quattro ddNTP con una molecola fluorescente di diverso colore. Il computer utilizza un laser per leggere la

fluorescenza dei marcatori colorati, ogni volta che una base attraversa il raggio del laser durante la corsa nel gel elettroforetico ( FIG. 15-11 ).

### L'utilizzo dei sequenziatori automatici del DNA ha permesso di sequenziare interi genomi

Le odierne macchine per il sequenziamento sono estremamente potenti e possono decodificare circa 1,5 milioni di basi in un periodo di 24 ore. Gli avanzamenti nella tecnologia del sequenziamento hanno reso possibile lo studio della sequenza nucleotidica di interi genomi in una grande varietà di organismi, sia procariotici che eucariotici.
Molta di questa ricerca ha ricevuto un forte impulso iniziale con il Progetto Genoma Umano , avviato nel 1990. Nel 2001, l'intera sequenza dei tre miliardi di coppie di nucleotidi che costituiscono il genoma umano è stata praticamente completata. Attualmente, i genomi di più di 100 organismi diversi sono stati sequenziati e molte altre centinaia sono in progettazione o vicine al completamento. Siamo nel mezzo di una straordinaria esplosione di dati riguardanti le sequenze geniche, e ciò è certamente attribuibile all'utilizzo sempre più frequente di metodi di sequenziamento automatizzati.

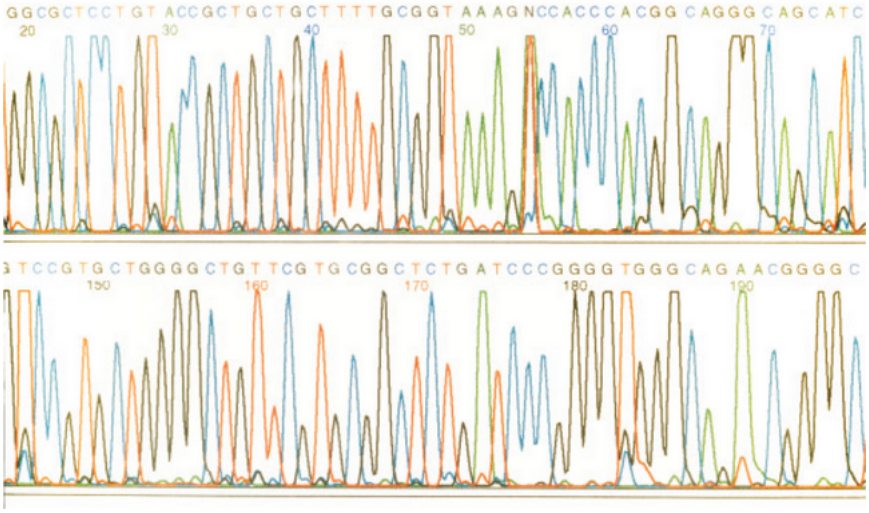


FIGURA 15-11
*Un piccolo segmento dell'elettroferogramma con i risultati di un sequenziamento automatizzato del DNA*
Il computer produce la serie di picchi illustrata, mediante la lettura delle bande fluorescenti sul gel. La base adenina è colorata in verde, la guanina in nero, la citosina in blu e la timina in rosso. La sequenza precisa del DNA, decifrata dal computer, appare al margine superiore della stampa.

Le informazioni inerenti le sequenze del DNA vengono oggi depositate in grandi banche dati informatizzate, a molte delle quali si può accedere attraverso Internet. Esempi includono le banche dati del National Center for Biotechnology Information e della Human Genome Organization (HUGO). I genetisti possono utilizzare queste banche dati per confrontare una nuova sequenza con quelle già conosciute ed identificare geni, nonché ottenere molte altre informazioni, non solo sulla funzione e la struttura del prodotto genico, ma anche sul rapporto fra i vari geni in termini evolutivi e sulla variabilità delle sequenze geniche in una popolazione. Il sequenziamento del DNA nelle diverse specie ha inoltre portato un contributo importante a supporto delle teorie evolutive (come sarà discusso nel Capitolo 18 ).

**Verifica**

- Che cos'è un Southern blot?
- Quale tecnica viene utilizzata per il sequenziamento automatico del DNA? Descrivete i passaggi fondamentali di tale metodica.

## 15.3 LA GENOMICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Descrivere le tre grandi aree di ricerca della genomica.
8. Spiegare come funziona un DNA microarray e fornire un esempio del suo potenziale in campo medico e nella ricerca.
9. Definire la farmacogenomica e la proteomica.

Adesso che abbiamo sequenziato il genoma umano e quello di molte altre specie, cosa ne facciamo di tutte queste informazioni? La genomica è un campo emergente della biologia che studia l'intera sequenza del DNA del genoma di un organismo per identificare i singoli geni, per determinare i corrispondenti RNA o prodotti proteici e per comprendere le loro modalità di regolazione. Come si vedrà in seguito, la genomica presenta importanti applicazioni pratiche, oltre a fornire risposte agli interrogativi scientifici.

La genomica presenta diverse aree di ricerca che comprendono la genomica strutturale, la genomica funzionale, la genomica comparativa e la metagenomica. La *genomica strutturale* si occupa della

mappatura e del sequenziamento dei genomi. La *genomica funzionale* riguarda le funzioni dei geni e delle sequenze non codificanti presenti nei genomi. La *genomica comparativa* consiste nella comparazione dei genomi di specie differenti per determinare quali cambiamenti siano avvenuti nel DNA nel corso dell'evoluzione. Tali informazioni approfondiscono le nostre conoscenze sulle relazioni evolutive in quanto geni caratterizzati da bassa, o addirittura assente, variabilità genetica tra specie rivestono un ruolo funzionale importante. La metagenomica utilizza le tecniche della genomica per analizzare comunità di microrganismi al posto di singoli individui. La *metagenomica* consente l'identificazione e lo studio contemporaneo di tutti i geni in una comunità.

## L'identificazione dei geni che codificano proteine è utile per la ricerca e per le applicazioni mediche

La maggior parte del genoma umano contiene sequenze di DNA che non codificano proteine. Sebbene l'intero genoma sia interessante per i biologi, le regioni codificanti proteine sono di particolare interesse per i ricercatori in campo medico. Gli scienziati hanno raccolto decine di migliaia di corte sequenze di cDNA (da 25 a 30 nucleotidi), note come EST, ovvero espressed sequence tags (pur non esistendo un corrispettivo italiano nella terminologia potremmo definire questi marcatori come "etichette di sequenze espresse") che possono contribuire ad identificare i geni che codificano proteine.
Su Internet è disponibile una gran quantità di dati contenenti migliaia di EST umane. Con l'utilizzo di un programma per la ricerca dei geni, i biologi che lavorano con una determinata sequenza di DNA possono accedere a questi dati e confrontare la loro sequenza con una sequenza EST nota.
Molte delle EST presenti in banca dati sono state identificate mettendole a confronto con sequenze di DNA note di altre specie. Per esempio, il gene della telomerasi umana *TRT* è stato identificato confrontando la sua sequenza EST con quella di una telomerasi di lievito nota. (Ricordate dal Capitolo 12 che la telomerasi aggiunge sequenze nucleotidiche ripetute alle estremità, o telomeri, dei cromosomi eucariotici).

## Una modalità di studio della funzione genica consiste nel silenziare i geni uno per volta

L'RNA interference (RNAi), scoperta nella metà degli anni '90, può essere utilizzata per determinare rapidamente la funzione di uno specifico gene. Si ricordi dal Capitolo 13 che la RNA interference (RNAi) è un fenomeno determinato da piccole molecole di RNA che interferiscono con l'espressione dei geni o, più precisamente, con i loro trascritti di mRNA maturi. L'RNA interference coinvolge i piccoli RNA interferenti (siRNA), i microRNA ed altri tipi di corte molecole di RNA. I biologi ipotizzano che l'RNAi, che si verifica in molti organismi eucariotici, si sia evoluta originariamente in natura come meccanismo di protezione delle cellule da virus contenenti molecole di RNA a doppio filamento.
Dopo l'identificazione di un gene codificante una proteina, avvenuta eventualmente mediante l'utilizzo delle EST, la funzione di quel gene può essere studiata adoperando l'RNA interference per reprimerne l'espressione. Per fare ciò, si sintetizza una breve sequenza di RNA complementare ad una parte della sequenza di DNA del gene in esame. L'RNA è veicolato all'interno della cellula e, una volta ottenuto il silenziamento del gene, si osservano gli eventuali cambiamenti fenotipici per determinare la funzione della proteina mancante.

### Anche il "gene targeting" rivela la funzione di un gene

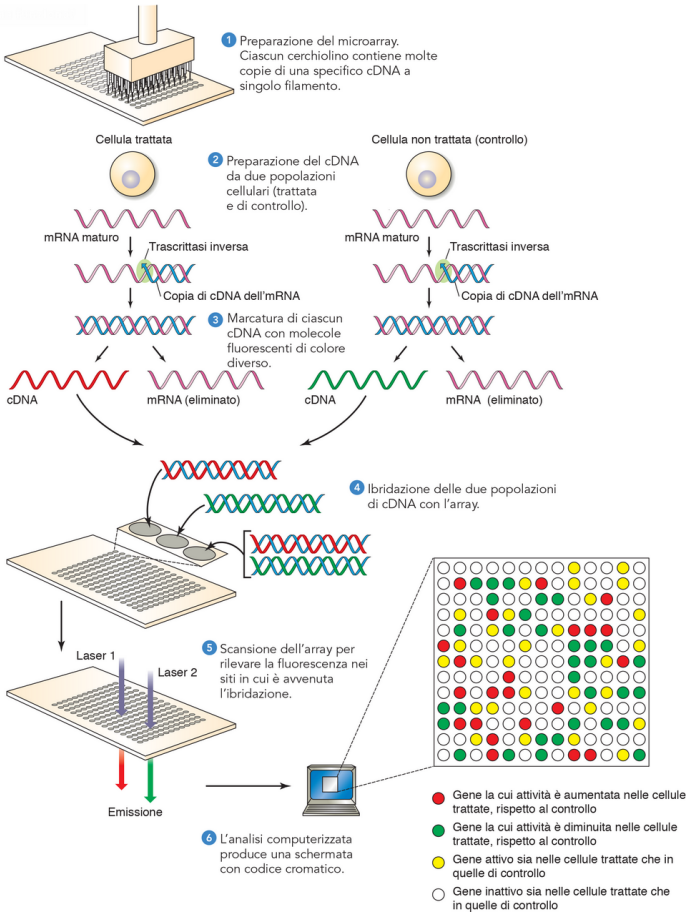
Un altro strumento estremamente potente per rivelare la funzione di un gene è il gene targeting (che potremmo tradurre come "bersagliamento genico"), una procedura nella quale un singolo gene viene scelto e messo "fuori combattimento" (knockout genico) o inattivato in un organismo. I *topi knockout* sono modelli comunemente utilizzati per lo studio del ruolo di geni ortologhi con funzione sconosciuta nei mammiferi, incluso l'uomo. I geni ortologhi sono geni omologhi identificati in specie diverse e così definiti in quanto ereditati da un progenitore comune (ancestore). Il ruolo del gene inattivato può essere determinato osservando il fenotipo del topo portatore del gene inattivato. Per esempio, se il gene codifica per una proteina, lo studio di individui privi di quella proteina può portare alla comprensione della sua funzione. Dato che circa il 98-99% dei loci genici del topo sono ortologhi a quelli dell'uomo, le conoscenze su quelli geni inattivati nel topo forniscono informazioni anche su quelli corrispondenti presenti nell'uomo.

A differenza della RNA interference, il gene targeting è una procedura piuttosto complessa e laboriosa; è richiesto infatti circa un anno per ottenere un nuovo ceppo di topi knockout con un gene "spento". Inizialmente, il gene non funzionale (knockout) è introdotto in cellule staminali embrionali ( cellule ES ) di topo (vedi anche i Capitoli 1 e 17 ). La manipolazione delle cellule ES è particolarmente semplice, in quanto, come le cellule tumorali, possono essere mantenute in coltura per un tempo indefinito. Ancora più importante è il fatto che, se vengono introdotte in un embrione di topo, esse sono in grado di dividersi e di originare tutti i tipi cellulari normalmente presenti. In una frazione molto piccola di queste cellule ES, il gene knockout introdotto si associa fisicamente con il gene corrispondente, presente in uno specifico cromosoma. Se questo avviene, il gene introdotto e quello originario avranno la possibilità di scambiarsi

segmenti di DNA, mediante un meccanismo chiamato *ricombinazione omologa*. In questo modo, l'allele normale nel cromosoma di topo è sostituito con quello non funzionale introdotto, producendo un knockout genico.
In pratica, i ricercatori introducono un gene inattivato in cellule ES di topo ed iniettano le cellule geneticamente modificate in embrioni precoci di topo che vengono poi fatti crescere fino al raggiungimento della maturità. Tuttavia, poiché molti geni sono essenziali per la sopravvivenza degli animali, i ricercatori sono stati obbligati a modificare la tecnica del knockout per ottenere ceppi di topi nei quali un gene specifico è inattivato selettivamente solo in un determinato tipo cellulare. Oggigiorno, sono disponibili migliaia di ceppi diversi di topi knockout prodotti in diversi laboratori a livello mondiale ed ognuno di essi mostra il proprio specifico fenotipo; il loro numero è in continuo aumento.
La sostituzione mirata dei geni nel topo sta fornendo risposte a problemi di biologia di base, connessi allo sviluppo embrionale, allo sviluppo del sistema nervoso e al funzionamento del sistema immunitario. La stessa tecnica apre ampie prospettive di conoscenza su diverse malattie dell'uomo, la maggior parte delle quali ha una base genetica. La sostituzione mirata dei geni può essere usata per lo studio dei tumori, delle malattie cardiovascolari, dell'anemia falciforme, di malattie respiratorie quali la fibrosi cistica, e di altre patologie.

### Lo screening per mutagenesi rivela i geni implicati in un particolare fenotipo

Attualmente sono in corso numerosi progetti di screening per mutagenesi su larga scala nei topi e in altri organismi. Lo screening per mutagenesi consiste nel trattare i topi maschi con *mutageni* chimici, che causano la comparsa di mutazioni nel DNA. Dopodiché, si fanno accoppiare tali maschi con femmine normali e si analizza la progenie per l'eventuale presenza di fenotipi anomali. Diversamente dal gene targeting, la mutagenesi non inattiva completamente un gene, ma determina l'insorgenza di piccole mutazioni casuali, che risultano in una variazione nelle proprietà delle proteine codificate dal DNA. Lo screening per mutagenesi è una metodica effettuata su larga scala; per esempio, un progetto di screening in Germania ha permesso di esaminare circa 28.000 topi mutanti differenti per la ricerca di varianti fenotipiche associate.




**METODO DI RICERCA**

Il DNA microarray è una metodica che rivela i livelli di espressione genica di centinaia o addirittura migliaia di geni specifici in diversi tipi di cellule. Questa tecnica aiuta gli scienziati a comprendere quali geni sono attivi (o inattivi) ad esempio in cellule trattate con un farmaco specifico rispetto a cellule non trattate, di controllo. *Perché si usa?*

FIGURA 15-12
*Un'analisi di DNA microarray*

### I microarray di DNA sono un strumento potente per lo studio dell'espressione genica

I DNA microarray sono una metodica di studio dei quadri di espressione genica nei diversi animali. Ogni punto (spot) in un microarray di DNA è costituito da una sonda a singolo filamento posizionata su un supporto di vetro o chip (FIG. 15-12). Inizialmente un robot meccanico prepara il microarray, ponendo in ogni punto della griglia microgocce contenenti da migliaia a milioni di copie di uno specifico filamento di DNA complementare (cDNA). Ogni punto (spot), noto come *microdot*, contiene diverse copie di una specifica molecola di cDNA a singolo filamento. Le molecole di cDNA a singolo filamento vengono sintetizzate a partire da uno specifico mRNA utilizzando la trascrittasi inversa, ed in seguito amplificate mediante la reazione a catena della polimerasi (PCR).

I ricercatori quindi isolano le molecole di mRNA mature da due popolazioni cellulari; per esempio, cellule epatiche trattate con un nuovo farmaco e cellule epatiche di controllo non trattate. (Si utilizzano solitamente cellule epatiche in quanto il fegato produce numerosi enzimi che metabolizzano le molecole

estranee, xenobiotici, inclusi i farmaci. I farmaci che il fegato non riesce a metabolizzare o che metabolizza debolmente possono risultare troppo tossici per essere utilizzati).
Le molecole di mRNA isolate vengono utilizzate per sintetizzare molecole di cDNA per ciascuna popolazione cellulare, le quali vengono successivamente marcate con molecole fluorescenti di diversi colori. Per esempio, le molecole di cDNA derivanti dalle cellule trattate potrebbero essere marcate con un colorante rosso e quelle derivanti dalle cellule non trattate con un colorante verde. Le due popolazioni di cDNA vengono aggiunte all'array; alcune ibridano (per appaiamento complementare delle basi) con il cDNA presente sull'array.

Dopo aver effettuato un lavaggio dell'array per rimuovere tutti i cDNA che non hanno ibridato, un raggio laser fa una scansione per identificare i segnali fluorescenti rossi e verdi nei punti in cui è avvenuta l'ibridazione. L'analisi computerizzata del rapporto tra i segnali fluorescenti rosso e verde in ciascun microdot dell'array produce una schermata con un codice cromatico che può essere ulteriormente analizzata. Per esempio, un ricercatore medico può confrontare il pattern complessivo di attività genica risultante dall'uso di un farmaco in via di sperimentazione, con quello di cellule esposte alla somministrazione di farmaci o tossine conosciuti. Se l'attività genica delle cellule trattate con il farmaco sperimentale è paragonabile a quella delle cellule trattate con una tossina che danneggia il fegato, il farmaco non potrà essere avviato a test clinici.

I microarray di cDNA consentono ai ricercatori di mettere a confronto l'attività di migliaia di geni presenti in cellule normali ed in altre malate, prelevate da campioni di tessuto. Dal momento che il cancro ed altre patologie mostrano quadri di espressione genica alterati, i microarray di DNA possono identificare i geni o le proteine da essi codificate che potranno essere utilizzati come bersaglio di una terapia farmacologica. Presentiamo un esempio applicativo. Nel 2002, i ricercatori medici hanno identificato 17 geni che risultano attivi in diversi sottotipi di linfoma delle cellule B. Con l'utilizzo del DNA microarray, essi hanno determinato quale combinazione dei 17 geni risulta attiva in ciascun sottotipo di questa forma di cancro. Avendo la possibilità di sapere da quale sottotipo di linfoma è affetto ogni singolo paziente, i medici possono scegliere il trattamento che molto probabilmente sarà il più efficace per quel paziente. L'analisi dei quadri di attività genica con i microarray di DNA permette ai medici anche di prevedere quali pazienti, in seguito alla terapia, probabilmente guariranno completamente dal cancro e quali invece probabilmente andranno incontro ad una ricaduta.

## Il Progetto Genoma Umano è stato uno stimolo per lo studio delle sequenze genomiche di altre specie

Allo scopo di facilitare l'analisi del genoma umano, studi di genomica comparativa basati sul sequenziamento e sulla mappatura genica sono stati condotti simultaneamente sui genomi del topo e del ratto. Topi e ratti sono stati scelti per il sequenziamento del DNA in quanto, essendo stati studiati per quasi un secolo, si conosceva molto della loro biologia. Questi organismi sono sufficientemente diversi dall'uomo da poter affermare che qualunque sequenza risulti conservata (cioè identica) tra roditori e uomo è presumibilmente importante dal punto di vista funzionale.

Inoltre, il topo è sufficientemente simile all'uomo da condividere con esso numerose caratteristiche fisiologiche, incluse alcune malattie. Per dimostrare la similarità tra il genoma murino e quello umano, nel 2002 un consorzio di scienziati ha pubblicato uno studio in cui il cromosoma 16 del topo è stato confrontato con il genoma umano. Soltanto 14 dei 731 geni noti presenti sul cromosoma 16 del topo non hanno un corrispettivo umano; i rimanenti 717 geni sono presenti, in una forma o in un'altra, nel genoma umano.

La comparazione in specie diverse delle sequenze geniche e della loro organizzazione nei cromosomi rappresenta uno strumento molto importante per l'identificazione degli elementi fondamentali per la loro funzione. Se la funzione di un gene umano non è nota, indicazioni sul suo possibile ruolo possono essere spesso derivate dallo studio di geni equivalenti in specie diverse.

Sono stati sequenziati anche i genomi di altri organismi modello appartenenti ai vertebrati, come il pesce palla ed il pesce zebra (zebrafish). Il pesce palla ha il più piccolo genoma conosciuto tra i vertebrati. Confrontando il genoma umano con quello del pesce palla, sono state identificate sequenze comuni che sono rimaste invariate per diverse centinaia di milioni di anni. Essendo sopravvissute alle forze selettive dell'evoluzione, è stato ipotizzato che tali sequenze possano appartenere a geni o ad elementi di regolazione importanti per lo sviluppo e essenziali in tutti i vertebrati. L'analisi del genoma di organismi importanti dal punto di vista commerciale, come il salmone, il pollo, il maiale ed il riso, rappresenta un'altra priorità. Sono state pubblicate le sequenze genomiche del riso, del parassita che provoca la malaria e di quello che provoca la malattia del sonno africana.

Uno degli sforzi più significativi in una prospettiva evoluzionistica si focalizza sul sequenziamento del genoma di uno o più primati non umani, come lo scimpanzé (i cui risultati sono stati pubblicati nel 2005). Il confronto delle sequenze del DNA dell'uomo e dei suoi più stretti "parenti" viventi sta aiutando a comprendere i cambiamenti genetici avvenuti nel corso dell'evoluzione dell'uomo, compresi quelli avvenuti in geni responsabili delle capacità mentali e linguistiche.

## La bioinformatica, la farmacogenetica e la proteomica sono discipline scientifiche emergenti

Abbiamo già sottolineato che la valutazione della gran quantità di dati genomici attualmente disponibile richiede l'uso di potenti computer. La disciplina nota come bioinformatica, o *biocomputing*, include l'immagazzinamento, il recupero ed il confronto di sequenze nucleotidiche o aminoacidiche nell'ambito di una data specie o tra specie differenti. La bioinformatica fa uso di potenti computer e sofisticati software per la gestione e l'analisi di enormi quantità di dati ottenuti con il sequenziamento ed altre tecnologie. Per esempio, quando i ricercatori determinano nuove sequenze di DNA, le analizzano mediante programmi informatici automatizzati alla ricerca di regioni nucleotidiche specifiche presenti nei geni. Mediante il confronto delle sequenze di DNA di diversi organismi presenti nelle banche dati, la bioinformatica ha già dato risultati nell'identificazione di geni e delle loro funzioni e nella comprensione delle relazioni evolutive.

La nuova scienza della medicina basata sui geni, nota come farmacogenetica , cerca di comprendere come la variabilità genetica individuale dei pazienti influenzi l'azione terapeutica dei farmaci. L'obiettivo della farmacogenetica è quindi quello di progettare terapie individuali sulla base dei singoli profili genetici. Attualmente, non è possibile sapere in anticipo se un determinato farmaco può apportare benefici o causare gravi effetti collaterali ad un paziente. I geni di un individuo, in particolare quelli che codificano per enzimi che metabolizzano i farmaci, determinano la risposta individuale ad un certo farmaco. La farmacogenetica tiene conto delle sottili differenze genetiche esistenti tra gli individui. Tra 5-10 anni, i pazienti potranno effettuare degli screening genetici di routine prima che il medico prescriva loro un farmaco.

La farmacogenetica, come altri campi della genetica umana, pone importanti questioni etiche. I test genetici, che saranno parte integrante della farmacogenetica, sollevano problemi di privacy, di possibile non corretta interpretazione dei risultati e di discriminazione genetica. Considereremo tali questioni nel Capitolo 16 .
I test genetici individualizzati potrebbero creare nelle persone inutili preoccupazioni rispetto ad una certa malattia genetica di cui probabilmente non svilupperanno mai i sintomi. Quasi tutte le patologie più comuni sono il risultato di complesse interazioni tra geni multipli e fattori non genetici o ambientali. (Ricordiamo dal Capitolo 11 che l'ambiente rappresenta un fattore importante per la sua influenza sull'espressione genica). Nell'uomo, i fattori ambientali che contribuiscono ad un buono stato di salute includono una dieta corretta, un'attività fisica adeguata e il non fumare.

Lo studio di tutte le proteine espresse in una cellula in un determinato momento è definito proteomica . I ricercatori hanno identificato tutte le proteine sintetizzate da un certo tipo cellulare, ma il processo è molto più complicato del sequenziamento del genoma umano. Innanzitutto, alcuni geni codificano per una serie di proteine differenti (vedi Fig. 14-14 per un esempio di splicing alternativo). Inoltre, tutte le cellule somatiche del corpo umano hanno essenzialmente lo stesso genoma, ma le cellule di tessuti diversi presentano notevoli variazioni nel tipo di proteine che producono. I quadri di espressione proteica variano non solo tra tessuti diversi, ma anche tra i diversi stadi di sviluppo di una singola cellula.

I ricercatori si sono posti l'obiettivo di comprendere il ruolo di ciascuna proteina in una cellula, il modo in cui le proteine interagiscono tra loro, la loro struttura tridimensionale, come le proteine sono distribuite spazialmente nel citosol e negli organelli, nonché i profili proteici presenti in cellule malate. Gli avanzamenti delle conoscenze biologiche sono promettenti anche per il progresso in campo medico. Infatti, conoscere la forma di una proteina associata ad un certo tipo di cancro o ad un'altra patologia significa poter sviluppare un farmaco che si leghi al sito attivo della proteina inibendone l'attività. Attualmente, l'industria farmaceutica ha a disposizione farmaci diretti contro circa 500 proteine cellulari; si stima che la proteomica potrà far salire questo numero fino a 10.000-20.000.

## Verifica

- Fate una distinzione tra genomica strutturale, funzionale e comparativa.
- Che cos'è un microarray di DNA?
- Che cos'è la farmacogenetica? E la proteomica?

# 15.4 LE APPLICAZIONI DELLE TECNOLOGIE DEL DNA

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Descrivere almeno un'importante applicazione della tecnologia del DNA ricombinante in ciascuno dei seguenti campi: medicina, fi ngerprinting del DNA, organismi transgenici.

La tecnologia del DNA ricombinante non ha fornito solo una nuova serie di strumenti per rispondere a domande biologiche fondamentali sui meccanismi cellulari, ma ha permesso anche un approccio diverso a problemi tecnologici in molti altri campi. In alcuni casi, la produzione di proteine e di organismi geneticamente modificati ha iniziato ad avere un certo impatto sulla nostra vita; basti pensare all'industria farmaceutica ed alla medicina.

### La tecnologia del DNA ha rivoluzionato la medicina

In un numero sempre maggiore di casi, i medici effettuano test genetici per determinare se un individuo presenta una particolare mutazione genetica associata a patologie come la malattia di Huntington, l'emofilia, la fibrosi cistica, la malattia di Tay-Sachs, il carcinoma della mammella e l'anemia falciforme. La terapia genica , ovvero l'uso di un DNA specifico per il trattamento di una malattia genetica mediante la correzione del problema genetico, rappresenta un'ulteriore applicazione della tecnologia del DNA che è attualmente ancora in fase iniziale. Poiché i test genetici e la terapia genica riguardano quasi esclusivamente gli esseri umani, queste applicazioni della tecnologia del DNA saranno discusse nel Capitolo 16 . In questo paragrafo, focalizzeremo la nostra discussione sull'utilizzo della tecnologia del DNA per la produzione di prodotti farmaceutici.

L'*insulina* umana prodotta da E. coli è stata la prima, fra le proteine geneticamente ingegnerizzate, ad essere approvata per l'uso umano. Prima che si ottenessero batteri modificati per produrre l'ormone umano, l'insulina derivava esclusivamente da animali. Molti individui diabetici manifestarono allergie all'insulina di origine animale, poiché questa differisce lievemente nella sequenza aminoacidica rispetto a quella umana; la possibilità, dunque, di ottenere la proteina mediante il DNA ricombinante ha costituito un reale beneficio per i diabetici insulino-dipendenti.

L'*ormone della crescita* (*GH*) umano, modificato geneticamente, permette di compensare deficienze nell'accrescimento dei bambini, in particolare il nanismo ipofisario (vedi Capitolo 49 ). In passato, tale ormone si otteneva solo dai cadaveri; non se ne potevano avere che piccole quantità ed inoltre alcune prove suggerivano che certe preparazioni erano contaminate da agenti infettivi simili a quelli che causano l'encefalopatia spongiforme bovina, anche detto morbo della mucca pazza (discusso nel Capitolo 24 ).

La lista delle sostanze che possono essere prodotte mediante l'ingegneria genetica è in costante aumento. Per esempio, l' *attivatore tissutale del plasminogeno* (TPA), una proteina che previene o dissolve i coaguli di sangue, è utilizzato per il trattamento delle malattie cardiovascolari. Se somministrato poco dopo un infarto, il TPA riduce il rischio di un infarto successivo. Il *fattore di crescita tissutale-beta* (*TGF-β*) promuove l'accrescimento dei vasi sanguigni e della pelle ed è utilizzato per la rimarginazione delle ferite e delle ustioni. Il TGF- β viene anche utilizzato nell'ingegneria tissutale, una tecnologia in via di sviluppo mediante la quale si cercherà di far fronte alle pressanti richieste di tessuti umani ed eventualmente di organi per i trapianti, che si potranno sviluppare da colture cellulari.

La U.S. Food and Drug Administration (FDA) ha approvato i trapianti di pelle ingegnerizzata nei casi di ustioni gravi ed estese, mentre la cartilagine ingegnerizzata è utilizzata nella ricostruzione delle articolazioni. Sono in corso ricerche sull'utilizzo di cellule staminali embrionali per la ricostruzione cardiaca successivamente ad infarto del miocardio.

L'emofilia A viene trattata con il *fattore VIII della coagulazione* del sangue umano. Prima dello sviluppo delle tecniche del DNA ricombinante, il fattore VIII era ottenibile solo dal sangue umano o animale, e ciò presentava un rischio di trasmissione di agenti infettivi, come l'HIV. Infine, la *Dornasi Alfa (DNasi)* aumenta la funzionalità respiratoria e lo stato generale di benessere nei pazienti affetti da fibrosi cistica (facilita la fluidificazione del muco compatto).

La tecnologia del DNA ricombinante è usata sempre più di frequente per produrre vaccini che conferiscono un'immunità efficace e sicura contro le malattie infettive umane ed animali. Un modo per sviluppare un vaccino ricombinante consiste nel clonare un gene per una proteina di superficie prodotta dal patogeno (l'agente che causa la malattia) e nell'introdurre questo gene in un vettore non patogeno. Quando il vaccino viene somministrato ad un uomo o ad un animale, esso stimola una risposta immunitaria contro la proteina

di superficie; di conseguenza, quando l'organismo si troverà a contatto con il patogeno che porta quella specifica proteina di superficie, il sistema immunitario lo riconoscerà e lo indirizzerà alla distruzione. Esempi di vaccini ricombinanti antivirali umani sono quelli per l'influenza A, l'epatite B e la poliomielite. Si stanno sviluppando vaccini ricombinanti anche contro alcune malattie batteriche e tumori umani. Per esempio, la Food and Drug Administration ha approvato nel 2006 un vaccino ricombinante contro diversi tipi di papillomavirus umano (HPV). Il vaccino, somministrato a giovani ragazze di età compresa tra 9 e 26 anni, è in grado di proteggere da circa il 70% delle forme di carcinoma della cervice uterina causate da HPV.

## Il DNA fingerprinting presenta numerose applicazioni

L'analisi di frammenti del DNA estratti da un individuo, che sono caratteristici di quell'individuo, è nota come DNA fingerprinting (impronte digitali molecolari o tipizzazione del DNA). Il DNA fingerprinting presenta svariate applicazioni nell'uomo ed in altri organismi, come nei seguenti esempi:

1. L'analisi delle prove trovate sulla scena di un crimine (analisi forense) ( FIG. 15-13 )
2. L'identificazione delle vittime di una strage
3. L'attribuzione di relazioni di parentela nei cani per la registrazione dei pedigree
4. L'identificazione di linee cellulari cancerose nell'uomo
5. Lo studio delle specie a rischio di estinzione nella biologia della conservazione
6. L'individuazione di cibi contaminati
7. Gli studi genealogici delle popolazioni umane
8. La risoluzione di dispute nelle attribuzioni di parentela
9. Lo scagionamento di individui erroneamente inquisiti per crimini.

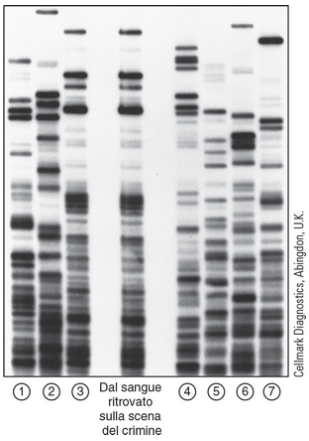



FIGURA 15-13 *Fingerprinting del DNA*
Questi fingerprint di DNA mostrano il DNA derivante dalla scena di un crimine ( al centro ) insieme ai profili del DNA di sette individui sospettati. Riuscite ad individuare il profilo di DNA del sospettato che corrisponde al campione di sangue ritrovato sulla scena del crimine?

Storicamente il DNA fingerprinting era basato sulla tecnica RFLP (discussa in precedenza). Oggi molte tecniche di fingerprinting si basano sull'individuazione di marcatori molecolari mediante amplificazione PCR , digestione con enzimi di restrizione ed elettroforesi su gel. I marcatori molecolari più utili sono quelli che presentano un alto grado di polimorfismo all'interno di una popolazione umana (si ricordi la discussione sul *polimorfismo*). Le brevi ripetizioni in tandem ( Short Tandem Repeats, STR ) sono marcatori molecolari costituiti da brevi sequenze di DNA ripetuto (fino a 200 nucleotidi con un semplice schema ripetuto, ad esempio GTGTGTGTGT oppure CAGCAGCAGCAG). Le STR sono altamente polimorfiche poiché variano in lunghezza da individuo a individuo; questa caratteristica le rende utili per l'identificazione degli individui con un alto grado di certezza.

Se si confronta un numero sufficiente di marcatori, la probabilità che due persone prese a caso da una popolazione abbiano profili del DNA identici è di 1 su diversi miliardi. L'FBI utilizza una serie di STR derivante da 13 marcatori differenti per stabilire il profilo unico del DNA di un individuo, che lo distingue da tutti gli altri individui degli Stati Uniti, tranne nel caso di gemelli identici. Ricordiamo che il DNA è presente anche nei mitocondri delle cellule. Mentre il DNA nucleare è presente in doppia copia in ogni cellula (coppie di cromosomi omologhi), in una singola cellula sono presenti circa 100.000 copie di DNA mitocondriale. Per tale ragione, il DNA mitocondriale rappresenta la molecola di elezione per la tipizzazione del DNA in quei casi in cui i campioni biologici siano stati danneggiati (ad esempio, nell'identificazione di resti umani riesumati).

La tipizzazione del DNA ha rivoluzionato gli aspetti esecutivi della legge. Nel 1990, l'FBI ha stabilito il "Combined DNA Index System" (CODIS), che consiste in una banca dati di DNA provenienti da tutti i 50 Stati. Attualmente, il profilo del DNA di un sospettato non identificato può essere confrontato con i profili del DNA di milioni di pregiudicati presenti in banca dati; questa operazione risulta spesso nell'identificazione del sospettato. Il DNA del sospettato non identificato può derivare da sangue, sperma, ossa, denti, capelli, saliva, urine o feci rinvenuti sulla scena del delitto. Minuscole quantità di DNA umano sono state estratte addirittura da cicche di sigarette, buste da lettera chiuse con la saliva o francobolli, forfora, impronte digitali, lame di rasoi, gomme da masticare, orologi da polso, cerume delle orecchie, residui prelevati sotto le unghie e spazzolini da denti.

Se applicata correttamente, la tipizzazione del DNA ha la capacità di identificare il colpevole e di scagionare un innocente. Infatti, centinaia di individui inizialmente condannati hanno vinto nuovi processi e sono stati rilasciati sulla base dell'applicazione della prova del DNA a reperti provenienti dalla scena del crimine. Il

principale limite in questo approccio è da porre in relazione al fatto che i campioni di DNA sono generalmente piccoli e possono essere degradati. Ovviamente, bisogna prestare anche molta attenzione a non contaminare i prelievi. Ciò è un aspetto cruciale se si utilizza la tecnica della PCR per amplificare il DNA partendo da minime quantità di campione.

## Gli organismi transgenici hanno DNA estraneo incorporato nelle loro cellule

Piante ed animali che abbiano incorporato geni estranei si dicono organismi transgenici . Si sono affermati diversi metodi di inserimento di geni estranei in cellule vegetali od animali. I virus sono spesso usati come vettori, ma si può effettuare anche un'iniezione diretta del DNA nelle cellule.

FIGURA 15-14 *Un topo transgenico*
Il topo sulla destra è normale, mentre quello sulla sinistra è transgenico ed esprime l'ormone della crescita di ratto.

## Gli animali transgenici sono utili alla ricerca

Gli animali transgenici si ottengono iniettando il DNA di un particolare gene all'interno del nucleo di una cellula uovo fecondata o di una cellula staminale embrionale. Successivamente, le uova vengono impiantate nell'utero di una femmina perché si sviluppino normalmente. Alternativamente, la cellula staminale embrionale (totipotente) modificata geneticamente è iniettata in una *blastocisti*, uno stadio precoce dello sviluppo embrionale, che viene successivamente impiantata in una madre adottiva.

Iniettare il DNA nelle cellule non è l'unico modo per ottenere animali transgenici. I ricercatori possono utilizzare i virus come vettori di DNA ricombinanti. I virus a RNA, chiamati retrovirus , producono copie di DNA mediante trascrizione inversa. Talvolta, il DNA si integra nel cromosoma dell'ospite e viene quindi replicato insieme al DNA dell'ospite.

Gli animali transgenici hanno dimostrato di avere numerose utili applicazioni in campo scientifico, che includono lo studio della regolazione dell'espressione genica, della funzione del sistema immunitario, delle malattie genetiche e virali, e dei geni responsabili dello sviluppo del cancro. Il topo da laboratorio è diventato un organismo modello particolarmente importante per questo tipo di studi.

In uno studio pionieristico di questo tipo, condotto dal genetista dell'Università della Pennsylvania Ralph L. Brinster nel 1983, sono stati costruiti topi transgenici che portavano un gene per l'ormone della crescita di ratto (vedi Fig. 17-18 ). Brinster e i suoi collaboratori volevano capire quali tipi di controllo permettessero a certi geni di essere espressi in alcuni tessuti, ma non in altri. Normalmente, un topo produce nell'ipofisi piccole quantità dell'ormone della crescita, ma i ricercatori pensavano che anche altri tessuti avrebbero potuto produrre lo stesso ormone. Come prima cosa, il gene per l'ormone della crescita fu isolato da una libreria genomica di ratto ed associato alla regione promotrice di un gene di topo che normalmente codifica la metallotioneina, una proteina attiva nel fegato la cui sintesi è stimolata dalla presenza di concentrazioni tossiche di metalli pesanti, come lo zinco. Le sequenze regolative della metallotioneina furono utilizzate come interruttore per accendere o spegnere a piacimento la produzione dell'ormone della crescita di ratto. Dopo aver iniettato il gene ingegnerizzato con una micropipetta nelle cellule embrionali di topo, gli embrioni furono impiantati nell'utero di un topo per l'ulteriore sviluppo.

FIGURA 15-15 *Mucche transgeniche "pharm"*
Queste mucche contengono il gene umano che codifica per la lattoferrina, una proteina che si trova nel latte materno umano ed in alcune secrezioni, come le lacrime, la saliva, la bile ed i succhi pancreatici. La lattoferrina rappresenta una delle linee di difesa del sistema immunitario contro gli organismi patogeni. Queste mucche transgeniche secernono la lattoferrina umana nel proprio latte.

Data la difficoltà di manipolare gli embrioni senza danneggiarli, l'impianto ebbe successo solo in una piccola frazione di animali. Esposti ad una piccola quantità di zinco, i topi transgenici produssero grandi quantità di ormone della crescita, perché il fegato è un organo molto più grande dell'ipofisi. I topi crebbero velocemente, ed uno che si era sviluppato da un embrione che aveva ricevuto due copie del gene raggiunse una taglia doppia del normale ( FIG. 15-14 ). Come atteso, questi topi sono in grado di trasmettere alla progenie la loro aumentata capacità di crescita.

## Gli animali transgenici possono produrre proteine geneticamente modificate

Alcuni ceppi di animali transgenici sono stati generati per produrre latte contenente proteine estranee di importanza terapeutica o di alto valore commerciale. Per esempio, il gene per l'attivatore tissutale del

plasminogeno (TPA) umano è stato introdotto nelle pecore. La produzione di bestiame transgenico (maiali, pecore, mucche e capre) che secerne proteine estranee nel latte è nota comunemente come “pharming”, una combinazione dei termini “pharmaceutical” (farmaceutico) e “farming” (agricoltura) ( FIG. 15-15 ).
Nel pharming, i geni ricombinanti sono fusi con sequenze regolatrici di geni codificanti proteine del latte e perciò espresse solo nel tessuto mammario durante il processo di secrezione. Il vantaggio di ottenere le proteine dal latte è che questo può essere prodotto in grandi quantità e può essere raccolto semplicemente mungendo gli animali. La proteina di interesse viene poi purificata dal latte. Poiché l’introduzione dei geni ricombinanti non è dannosa per l’animale e i loro discendenti producono solitamente essi stessi la proteina ricombinante, sono stati creati e stabilizzati veri e propri ceppi transgenici.

### Le piante transgeniche stanno acquisendo sempre maggiore importanza in agricoltura

Le piante vengono riprodotte per selezione da migliaia di anni. Il successo di queste operazioni dipende dalla presenza di caratteri affermatisi nella varietà di pianta selezionata, o in piante selvatiche o domestiche strettamente correlate a questa, le cui caratteristiche possono essere trasmesse attraverso incroci reciproci. Le varietà primitive di piante coltivate, o le specie più strettamente correlate a queste, presentano spesso caratteri utili, come la resistenza a determinate malattie, che, se introdotti nelle varietà più utilizzate in agricoltura, possono portare vantaggi alle necessità dell’uomo. Se geni vengono introdotti nelle piante appartenenti a ceppi o specie che di solito non si incrociano, le possibilità di miglioramento delle specie aumentano.

Courtesy of the Monsanto Corporation
**(a)** Si noti la bassa resa produttiva di piante di granoturco normali utilizzate come controlli.

**(b)** Piante di granoturco modificate geneticamente sopportano meglio la siccità rispetto a quelle normali.

Il sistema vettore più ampiamente usato per introdurre geni ricombinanti all’interno di linee cellulari vegetali è il batterio *Agrobacterium tumefaciens*, che produce normalmente tumori nelle piante introducendo un plasmide, denominato *plasmide Ti* nelle cellule ospiti; Ti è l’acronimo di “tumor inducing”. Il plasmide provoca una crescita anomala, in quanto costringe le celcellule vegetali a produrre livelli elevati di un ormone della crescita, chiamato citochinina (vedi Capitolo 38).

È possibile “disarmare” il plasmide Ti in modo che non induca la formazione tumorale, così da utilizzarlo come vettore per introdurre geni nelle cellule delle piante. Le cellule nelle quali viene introdotto il plasmide alterato sono essenzialmente normali, eccetto che per i geni che sono stati introdotti. I geni introdotti nel genoma della pianta possono in questo modo essere trasmessi alla generazione successiva per via sessuata, attraverso cioè i semi, oppure per via asessuata.
Sfortunatamente, non tutte le piante incorporano facilmente il DNA e ciò è vero in particolare per i cereali, che sono la principale risorsa di nutrimento per l’uomo. Un approccio utile nel tentativo di risolvere il problema è stato lo sviluppo di una tecnica denominata “shotgun” genetico, letteralmente “colpo di fucile”.

FIGURA 15-16
*Prove sperimentali su granoturco transgenico resistente alla siccità*

Microscopici frammenti di (oro o di tungsten) vengono ricoperti con DNA e quindi sparati all’interno delle cellule delle piante, oltrepassando le pareti cellulari. Alcune di queste cellule trattengono il DNA e quindi vengono trasformate da esso e possono così essere coltivate e usate per rigenerare un’intera pianta (vedi Fig. 17-2 ). Questo approccio, ad esempio, è stato usato con successo per trasferire un gene per la resistenza ad una malattia batterica dal riso selvatico a quello coltivato.

Un’ulteriore complicazione per l’ingegneria genetica in campo botanico è che circa 120 geni delle piante si trovano nel DNA dei cloroplasti; gli altri circa 3000 geni necessari alla vita della pianta si trovano nel nucleo). I cloroplasti sono essenziali per la fotosintesi, che è alla base della produttività delle piante. Dal momento che gran parte del potenziale agricolo fa affidamento sull’incremento della produttività fotosintetica, sarebbe utile sviluppare metodologie per modificare la parte di DNA delle piante che risiede all’interno dei cloroplasti. Attualmente, dozzine di laboratori stanno studiando metodi per ingegnerizzare i cloroplasti, anche se si sta procedendo molto lentamente. Nel 2001, alcuni fisiologi vegetali australiani hanno riportato di aver modificato la rubisco , l’enzima chiave per la fissazione fotosintetica del carbonio (vedi Capitolo 9 ), alterando uno dei geni presenti nel DNA del cloroplasto.

Gli Stati Uniti sono i maggiori produttori mondiali di piante da raccolto transgeniche, anche conosciute come colture geneticamente modificate ( GM ). Nel 2007 gli agricoltori americani hanno coltivato 57,7 milioni di ettari (143 milioni di acri) di colture GM. Nello specifico, il 51% dei raccolti di soia, il 31% di quelli di granturco, il 13% di quelli di cotone ed il 5% di quelli di canola sono raccolti GM.

Alcune applicazioni delle piante transgeniche I genetisti agrari stanno sviluppando piante GM che sono resistenti ad insetti dannosi, malattie virali e fungine, siccità, caldo, freddo, erbicidi e suoli salati o acidi. Ad esempio, alberi di papaya geneticamente modificati e resistenti a diverse forme di virus, vengono coltivati da oltre10 anni alle Isole Hawaii. Una varietà di granoturco resistente alla siccità è attualmente in corso di sperimentazione con prove sul campo ( FIG. 15-16 ).

Il granturco è stato inoltre modificato geneticamente mediante l'introduzione del gene batterico Bt, che codifica per una proteina con proprietà insetticide (Bt è una sigla che indica il nome scientifico del batterio, *Bacillus thuringensis*). Il granturco *Bt*, introdotto negli Stati Uniti nel 1996, ha eliminato la necessità di spruzzare periodicamente insetticidi chimici per il controllo della piralide del mais, l'insetto infestante del mais più dannoso negli Stati Uniti e in Canada.

La tecnologia del DNA ha anche la potenzialità di sviluppare piante da raccolto con maggiori qualità nutrizionali. Per esempio, nel 1990 alcuni genetisti hanno ingegnerizzato il riso in modo tale che producesse una gran quantità β -carotene, che viene utilizzato nel corpo umano per la sintesi della vitamina A. Nei paesi in via di sviluppo, la carenza di vitamina A è una delle maggiori cause di cecità nei bambini. La carenza di vitamina A rende i bambini anche più suscettibili al morbillo e ad altre malattie infettive. Dal momento che il riso rappresenta l'alimento base nella dieta di molti paesi afflitti dalla carenza di vitamina A, un uso diffuso del riso GM, ricco β -carotene, aiuterebbe a prevenire la carenza di vitamina A in molti bambini a livello mondiale.
Come alcuni animali transgenici, anche le piante possono essere potenzialmente usate per operazioni di "pharming" ovvero per produrre grosse quantità di proteine utili in medicina, come per esempio gli anticorpi contro il virus dell'herpes, oppure vaccini specifici contro il linfoma (una forma tumorale).
Alcune persone sono preoccupate riguardo agli effetti sulla salute dei cibi derivati dalle piante GM e pensano che questi cibi dovrebbero essere vietati. Per esempio, un timore diffuso è che alcuni consumatori possano sviluppare allergie alimentari. Gli scienziati riconoscono anche questo problema ed effettuano delle analisi di routine sulle eventuali proprietà allergizzanti delle nuove piante da raccolto GM. Esiste anche un forte dibattito sulla necessità di etichettare in modo specifico i cibi GM. La FDA e la maggior parte degli scienziati ritengono che tale operazione sarebbe controproducente, in quanto non farebbe altro che aumentare il timore delle persone rispetto ad una tecnologia che è sicura come i metodi tradizionali di allevamento. Nel 1996, la Corte d'Appello degli Stati Uniti ha sostenuto la posizione della FDA secondo la quale non dovrebbe essere richiesta un'etichettatura specifica per i cibi GM.

**Verifica**

- Perché la produzione dell'insulina umana mediante i metodi del DNA ricombinante ha apportato notevoli vantaggi in campo medico per i diabetici?
- Che cosa sono le brevi ripetizioni in tandem (STR) e perché sono così utili per la tipizzazione del DNA?
- Perché il gene targeting e lo screening per mutagenesi nei topi presentano dei potenziali benefici per l'uomo?

## 15.5 LA TECNOLOGIA DEL DNA ha sollevato preoccupazioni relative alla sicurezza

**OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO**

11. Citare almeno due questioni relative alla sicurezza della tecnologia del DNA ricombinante e spiegare in che modo sono state affrontate.

Negli anni '70, quando fu introdotta la tecnologia del DNA ricombinante, oltre ai benefici che questa innovazione avrebbe portato, molti scienziati si preoccupavano anche per i possibili abusi che ne sarebbero derivati. Si temeva che potesse essere prodotto un organismo con effetti indesiderabili sull'ambiente. Effettivamente, poteva risultare difficile controllare totalmente nuovi ceppi batterici o altri organismi di cui il mondo non aveva alcuna esperienza, per cui i ricercatori insistettero sulla necessità di rigide procedure per rendere sicura la nuova tecnologia.

Gli esperimenti condotti negli ultimi 35 anni in migliaia di università e laboratori industriali hanno dimostrato che la manipolazione del DNA può essere effettuata in sicurezza. I ceppi di E. coli prodotti in laboratorio non possono competere con quelli naturali presenti nell'ambiente e muoiono rapidamente

all'esterno dei laboratori. Gli esperimenti considerati rischiosi vengono effettuati in speciali strutture realizzate per ospitare organismi che possono causare effetti dannosi e per consentire ai ricercatori di lavorare in piena sicurezza. Fino ad ora, non vi è alcuna indicazione che suggerisca che i ricercatori abbiano mai clonato accidentalmente geni pericolosi o abbiano rilasciato organismi pericolosi nell'ambiente. Ciò non significa naturalmente che non siano possibili manipolazioni *intenzionali* di geni pericolosi.

Molte delle norme per l'uso del DNA ricombinante sono state rese meno restrittive da quando è stata garantita la sicurezza sperimentale. Tuttavia, esistono ancora pesanti restrizioni in certe aree di ricerca sul DNA dove viene riconosciuto un pericolo certo e le domande sui possibili effetti sull'ambiente sono ancora senza risposta.
Queste restrizioni sono molto evidenti nella ricerca che si propone di introdurre organismi ricombinanti in natura, come specie di piante i cui semi o pollini potrebbero diffondersi in maniera incontrollata. Numerose ricerche sono ora dedicate alla determinazione degli effetti dell'introduzione di organismi transgenici in un ambiente naturale. Prove condotte con ogni precauzione hanno dimostrato che gli organismi ricombinanti non sono dannosi per l'ambiente solamente perché transgenici.

Tuttavia, è importante stabilire i rischi di ogni nuovo organismo ricombinante. Gli scienziati devono determinare se esso ha caratteristiche tali da poter essere, in certe condizioni, rischioso per l'ambiente. Per esempio, potrebbe avvenire che, se una pianta transgenica è stata modificata geneticamente per resistere agli erbicidi, quel gene venga trasferito attraverso il polline o per qualche altra via alle piante selvatiche correlate, generando dei superinfestanti resistenti agli erbicidi? Nel 2003, gli ecologi dell'Università del Tennessee, a Knoxville, hanno annunciato di aver incrociato le piante transgeniche di rapa dai semi oleosi che contenevano il gene Bt , con le corrispondenti piante selvatiche (erbe infestanti). Gli ibridi risultanti sono stati poi incrociati di nuovo con le piante selvatiche e si è testata la capacità della progenie di competere con altre erbe infestanti in un campo di grano. L'erbaccia transgenica è risultata un competitore debole ed ha sortito minori effetti sulla produzione delle piante di grano rispetto alle corrispondenti erbacce selvatiche in un campo di controllo. Questi risultati, sebbene incoraggianti, devono essere interpretati con attenzione. I ricercatori devono testare indipendentemente ogni tipo di pianta da raccolto transgenica per valutare se si verifica la trasmissione del gene estraneo alle piante selvatiche correlate e, in caso positivo, quali effetti ne risultano.

Altre preoccupazioni sono rivolte alle piante che sono state modificate per produrre pesticidi, come per esempio quelle in grado di produrre la tossina Bt . La presenza di bassi livelli di Bt potrebbe fornire le condizioni ideali per la selezione di individui resistenti all'interno della popolazione di insetti. Infatti, sembra che certi insetti possano sviluppare la resistenza alla tossina Bt prodotta dalle piante transgeniche proprio come sviluppano la resistenza agli insetticidi chimici.
Un'altra preoccupazione riguarda la possibilità che le specie non infestanti siano in pericolo di estinzione. Per esempio, si è data grande importanza alla scoperta che le larve di farfalla monarca, cresciute in laboratorio, sono a rischio se vengono nutrite con polline di piante di grano ingegnerizzate geneticamente per produrre la tossina Bt . Benché studi più recenti suggeriscano che le larve che vivono in un ambiente naturale non consumino sufficiente polline da averne danno, queste preoccupazioni persistono e dovranno essere valutate caso per caso.

Esistono anche preoccupazioni ambientali rispetto agli animali transgenici. Diversi paesi stanno per procedere allo sviluppo di pesci transgenici a crescita rapida, mediante l'inserzione di un gene che codifica per un ormone della crescita. Ad esempio, il salmone atlantico transgenico cresce sei volte più velocemente del salmone non transgenico allevato per il consumo umano. Il pesce transgenico non raggiunge dimensioni superiori rispetto al normale, cresce solo più velocemente. I benefici di tali pesci geneticamente potenziati includono la ridotta pressione di pesca portata sui salmoni selvatici ed il minore inquinamento causato dagli allevatori ittici. Tuttavia, se un pesce transgenico scappasse dall'allevamento, che effetto avrebbe sui corrispondenti pesci selvatici? Per ovviare a questa preoccupazione, tutti i salmoni transgenici sviluppati negli Stati Uniti sono femmine sterili.

In sintesi, la tecnologia del DNA ricombinante applicata in campo agrario offre numerosi benefici, incluse rese nettamente superiori (conferendo resistenza alle malatti), cibi più nutrienti ed un minore utilizzo di pesticidi chimici. Tuttavia, come altri tipi di tecnologie, l'ingegneria genetica comporta alcuni rischi, come quello che piante o animali geneticamente modificati possano trasmettere i loro geni estranei alle corrispondenti popolazioni selvatiche, causando problemi ambientali non prevedibili. La scienza della valutazione del rischio ( risk assessment ), che utilizza metodi statistici per quantificare i rischi in modo da renderli confrontabili, potrà aiutare la società a decidere se ignorare, ridurre, oppure eliminare specifici rischi connessi agli organismi geneticamente modificati.

**Verifica**

- Quali potrebbero essere alcuni dei problemi ambientali potenziali derivanti dall'utilizzo di organismi transgenici? Quale tipo di informazione è necessaria affinché la società possa stabilire se le preoccupazioni sono reali?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

15.1

1. Spiegare come un tipico enzima di restrizione taglia le molecole di DNA e fornire alcuni esempi dell'utilizzo di questo tipo di enzimi nella tecnologia del DNA ricombinante.
   - La tecnologia del DNA ricombinante è utilizzata per isolare ed amplificare specifiche sequenze di DNA incorporandole in molecole di DNA vettore . Il DNA ricombinante che ne risulta può essere quindi clonato , cioè propagato e amplificato) in organismi come E. coli .
   - Gli enzimi di restrizione sono usati per tagliare il DNA in specifici frammenti. Ogni tipo di enzima di restrizione riconosce e taglia una sequenza di basi altamente specifica. Molti enzimi di restrizione tagliano le sequenze di DNA in modo da produrre terminazioni a singolo filamento tra loro complementari, dette "estremità appiccicose" o "sticky ends".
   - Le molecole di DNA ricombinante sono spesso costruite facendo in modo che le estremità complementari di un frammento di DNA e di un vettore (che sono stati entrambi tagliati dallo stesso enzima di restrizione) possano unirsi per complementarietà di basi. I filamenti di DNA sono poi legati covalentemente dalla DNA ligasi per formare una molecola di DNA ricombinante stabile.
2. Distinguere fra i concetti di libreria genomica, libreria cromosomica e libreria di DNA complementare (cDNA); spiegare perché si può clonare lo stesso gene eucariotico sia da una libreria genomica che da una di cDNA.
   - Una libreria genomica contiene migliaia di frammenti di DNA che rappresentano l'intero DNA di un organismo, mentre una libreria cromosomica contiene tutti i frammenti di DNA di uno specifico cromosoma. Ogni frammento di DNA di una libreria genomica o cromosomica è conservato in uno specifico ceppo batterico.
   - Una libreria di cDNA viene prodotta utilizzando la trascrittasi inversa per sintetizzare copie di DNA dagli mRNA maturi isolati da cellule eucariotiche. Queste sequenze, note come DNA complementare (cDNA) , vengono poi introdotte in vettori di DNA ricombinante.
   - I geni presenti nelle librerie genomiche e cromosomiche degli eucarioti contengono introni , ovvero regioni che non codificano per proteine. Questi geni possono essere amplificati nei batteri, ma le proteine non vengono espresse correttamente. Poiché gli introni sono stati rimossi dalle molecole di mRNA, i geni eucariotici nelle librerie di cDNA possono a volte essere espressi nei batteri, che ne sintetizzano i prodotti proteici funzionali.
3. Descrivere gli utilizzi di una sonda genetica.
   - Una sequenza radioattiva di DNA può essere usata come sonda genetica per lo screening di migliaia di molecole di DNA ricombinante presenti in cellule batteriche, allo scopo di identificare la colonia che contiene il DNA di interesse.
4. Descrivere il modo in cui la reazione a catena della polimerasi amplifica il DNA in vitro.
   - La reazione a catena della polimerasi (PCR) è una tecnica in vitro molto usata, automatizzata, in cui una particolare sequenza di DNA può essere identificata da primer specifici e poi clonata da una DNA polimerasi termoresistente.
   - Utilizzando la PCR, i ricercatori amplificano ed analizzano minimi quantitativi di DNA prelevati da varie fonti, come la scena di un crimine o un reperto archeologico.

15.2

5. Fare una distinzione tra blotting del DNA, dell'RNA e delle proteine.
   - Nella tecnica del Southern blot , i frammenti di DNA sono separati mediante elettroforesi su gel, denaturati e poi trasferiti su una membrana di nitrocellulosa o di nylon. Una sonda è poi ibridata , mediante appaiamento complementare delle basi, al DNA legato alla membrana e le bande di DNA sono identificate per autoradiografia o per chemioluminescenza.
   - Un Northern blot consiste nel trasferimento su una membrana di molecole di RNA che sono state separate per elettroforesi su gel.
   - Un Western blot consiste nel trasferimento su una membrana di proteine o polipeptidi precedentemente separati per elettroforesi su gel.
6. Descrivere il metodo di terminazione della catena utilizzato nel sequenziamento del DNA.

- Il sequenziamento del DNA può dare informazioni sulla struttura di un gene e sulla probabile sequenza aminoacidica della proteina da esso codificata.
- Il sequenziamento automatizzato del DNA è basato sul metodo di terminazione della catena , che utilizza i dideossinucleotidi marcati con molecole fluorescenti di colore diverso, per bloccare l'allungamento nel corso della replicazione del DNA. I frammenti risultanti vengono separati per elettroforesi su gel e la sequenza nucleotidica viene determinata da un raggio laser.

15.3

7. Descrivere le tre grandi aree di interesse della genomica.
   - La genomica è un campo emergente della biologia che studia l'intera sequenza di DNA del genoma di un organismo. La genomica strutturale si occupa della mappatura e del sequenziamento dei genomi. La genomica funzionale riguarda le funzioni dei geni e delle sequenze non geniche presenti nei genomi. La genomica comparativa consiste nea confronto dei genomi di specie differenti per approfondire la comprensione delle relazioni evolutive.
8. Spiegare come funziona un DNA microarray e fornire un esempio del suo potenziale nell'applicazione in campo medico e nella ricerca.
   - Molti test diagnostici fanno uso dei microarray di DNA , in cui centinaia di molecole di DNA differenti sono poste su un supporto di vetro, o su un chip. I microarray di DNA permettono di confrontare le attività di migliaia di geni in cellule normali e patologiche prelevate da campioni di tessuto. Poiché il cancro ed altre malattie mostrano quadri di espressione genica alterati, i microarray di DNA hanno la potenzialità di identificare i geni che causano le malattie o i loro prodotti proteici, che possono quindi diventare il bersaglio di terapie farmacologiche.
9. Definire la farmacogenetica e la proteomica .
   - La farmacogenetica , la nuova scienza della medicina basata sui geni, tiene conto delle lievi differenze genetiche tra gli individui e personalizza i farmaci in base alla costituzione genetica dei pazienti.
   - La proteomica è lo studio di tutte le proteine codificate dal genoma umano e prodotte nelle cellule e nei tessuti di un individuo. I ricercatori cercano di identificare tutte le proteine prodotte da un determinato tipo cellulare, ma il processo è molto più complicato del sequenziamento del genoma umano.

15.4

10. Descrivere almeno un'importante applicazione della tecnologia del DNA ricombinante in ciascuno dei seguenti campi: medicina e farmacologia, tipizzazione del DNA, organismi transgenici.
    - Alcuni batteri geneticamente modificati sono capaci di produrre svariate proteine umane di notevole importanza, come l'insulina, l'ormone della crescita, l'attivatore tissutale del plasminogeno (TPA), il fattore di crescita tissutale-beta (TGF- β ), il fattore VIII della coagulazione del sangue e la Dornasi Alfa (DNasi).
    - Il DNA fingerprinting consiste nell'analisi del DNA di un individuo. Si basa su una varietà di brevi ripetizioni in tandem (STR) , marcatori molecolari altamente polimorfici all'interno delle popolazioni umane. La tipizzazione del DNA presenta applicazioni negli aspetti esecutivi della legge, nei processi per le dispute di parentela e nell'individuazione di cibi contaminati, per citarne alcune.
    - Gli organismi transgenici posseggono del DNA estraneo incorporato nel proprio materiale genetico. Il bestiame transgenico secerne proteine estranee nel latte. Le piante transgeniche presentano grandi potenzialità in campo agrario.

15.5

11. Citare almeno due questioni relative alla sicurezza della tecnologia del DNA ricombinante e spiegare in che modo sono state affrontate.
    - Alcuni consumatori hanno preoccupazioni relative alla sicurezza degli organismi geneticamente modificati. Per far fronte a queste preoccupazioni, i ricercatori rispettano alcune procedure di sicurezza nell'utilizzo della tecnologia del DNA ricombinante.
    - L'introduzione di piante ed animali transgenici nell'ambiente naturale e la loro potenziale diffusione incontrollata è una preoccupazione emergente.

## AUTOVERIFICHE

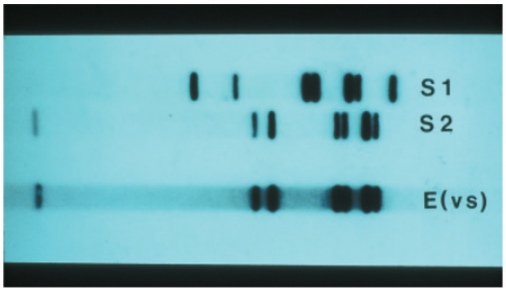
1. Un plasmide: (a) viene usato come vettore di DNA; (b) è un tipo di batteriofago; (c) è un tipo di cDNA; (d) è un retrovirus; (e) b e c.
2. Molecole di DNA con estremità coesive complementari si associano mediante: (a) legami

covalenti; (b) legami a idrogeno; (c) legami ionici; (d) ponti disolfuro; (e) legami fosfodiesterici.

3. Sia il DNA umano che un particolare plasmide hanno entrambi siti che possono essere tagliati dagli enzimi di restrizione Hind III ed EcoRI . Per produrre una molecola di DNA ricombinante, si dovrebbe: (a) tagliare il plasmide con EcoRI ed il DNA umano con Hind III; (b) usare EcoRI per tagliare sia il plasmide che il DNA umano; (c) usare Hind III per tagliare sia il plasmide che il DNA umano; (d) a o b; (e) b o c.
4. Quale tecnica permette di replicare rapidamente i frammenti di DNA senza clonarli utilizzando cellule? (a) L'elettroforesi su gel; (b) le librerie di cDNA; (c) le sonde genetiche; (d) i polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione; (e) la reazione a catena della polimerasi.
5. La tecnica della PCR utilizza: (a) una DNA polimerasi resistente al calore; (b) una trascrittasi inversa; (c) una DNA ligasi; (d) enzimi di restrizione; (e) b e c.
6. Un clone di cDNA contiene: (a) introni; (b) esoni; (c) anticodoni; (d) a e b; (e) b e c.
7. I dideossinucleotidi ddATP, ddTTP, ddGTP e ddCTP sono importanti nel sequenziamento del DNA perché: (a) provocano la terminazione prematura della catena nascente di DNA; (b) sono usati come primer; (c) fanno sì che i frammenti di DNA che li contengono migrino più lentamente in un gel di sequenza; (d) non sono influenzati dalle alte temperature; (e) hanno più energia dei deossinucleotidi.
8. Nella tecnica del Southern blot, _____ è/sono trasferito/i da un gel ad una speciale membrana di nitrocellulosa o di nylon. (a) Proteine; (b) RNA; (c) DNA; (d) colonie batteriche; (e) trascrittasi inversa.
9. L'elettroforesi su gel separa gli acidi nucleici sulla base della differenza di: (a) lunghezza (peso molecolare); (b) carica; (c) sequenza nucleotidica; (d) proporzioni relative di adenina e guanina; (e) proporzioni relative di timina e citosina.
10. Una libreria genomica: (a) rappresenta l'intero DNA di uno specifico cromosoma; (b) viene prodotta utilizzando la trascrittasi inversa; (c) è conservata in una collezione di batteri ricombinanti; (d) è una copia di DNA degli mRNA maturi; (e) permette di amplificare un piccolissimo campione di DNA.
11. Il fattore di crescita tissutale-beta: (a) è una sonda genetica per i plasmidi ricombinanti; (b) è un prodotto della tecnologia del DNA utilizzato nell'ingegneria tissutale; (c) è necessario per la costruzione di una libreria di cDNA; (d) non può essere sintetizzato senza l'uso di una DNA polimerasi resistente al calore; (e) viene isolato mediante la tecnica del Southern blot.
12. Quali dei seguenti marcatori molecolari altamente polimorfici sono utili nel DNA fingerprinting? (a) Vettori di clonaggio cosmidici; (b) sequenze clonate di DNA; (c) sequenze di DNA palindromiche; (d) brevi ripetizioni in tandem; (e) DNA complementari.

## PENSIERO CRITICO

1. Quali sono i problemi che possono sorgere quando si cerca di produrre una proteina eucariotica in un batterio? Come potrebbero essere risolti alcuni di questi usando piante o animali transgenici?
2. Sarebbe stata possibile la nascita dell'ingegneria genetica senza una profonda conoscenza della genetica batterica? Date una spiegazione.
3. Che relazione c'è tra la proteomica e la genomica funzionale?
4. ANALISI DEI DATI . È stata effettuata l'analisi di marcatori RFLP su un campione di sangue ritrovato sulla scena di un crimine e su quello di due sospetti. Il DNA relativo alla scena del crimine è indicato E(vs). Quale individuo sospettato è il probabile colpevole? Quale individuo è sicuramente innocente?
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA . La tecnologia del DNA, come ad esempio la produzione di animali transgenici, è possibile solo grazie al fatto che organismi anche molto diversi tra loro posseggono sistemi genetici identici (DNA → RNA → proteine). Qual è il significato evolutivo dell'universalità dei sistemi genetici presenti in organismi tanto diversi, come ad esempio i batteri e i maiali?
6. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ . Quali sono le vie attraverso le quali le recenti innovazioni nel campo della genetica potrebbero influenzarti personalmente?



# Articolo I. Genetica umana e il genoma dell'uomo 16

I princìpi della genetica si applicano a tutti gli altri organismi, uomo compreso. Nonostante ciò, ci sono delle differenze rilevanti tra la ricerca genetica applicata all'uomo e quella condotta negli altri organismi. Per lo studio dell'ereditarietà in qualsiasi specie, i genetisti dovrebbero, in teoria, poter eseguire incroci controllati fra individui differenti e poter allevare la progenie in condizioni controllate. Naturalmente, nella popolazione umana è illegale e non etico effettuare gli incroci sperimentali in tali condizioni.

Una differenza importante tra la ricerca genetica condotta sull'uomo e quella effettuata in altre specie è riferibile principalmente al fatto che gli organismi non umani generano numerosi individui ad ogni evento riproduttivo e hanno brevi tempi generazionali. Al contrario, la maggior parte dei nuclei familiari umani sono numericamente piccoli e fra le varie generazioni intercorrono 20, 30 anni, o più.

Nonostante queste difficoltà oggettive, lo studio della genetica umana , ossia la scienza della variabilità ereditabile nell'uomo, sta facendo rapidi progressi (vedi figura). Tradizionalmente, la genetica umana è stata studiata usando approcci basati su studi di popolazione condotti su famiglie molto grandi. Più recentemente, questa disciplina ha ricevuto notevole impulso grazie all'interesse del mondo medco per le malattie genetiche dell'uomo. Inoltre, studi di genetica eseguiti su altri organismi hanno fornito preziose informazioni: molti interrogativi in genetica umana sono stati risolti studiando l'ereditarietà in organismi modello come i batteri, i lieviti, i vermi, i moscerini della frutta e i topi.

Il genoma umano , che contiene la totalità dell'informazione genetica delle cellule umane, è stato mappato e sequenziato. Con il sequenziamento del DNA è stato identificato l'ordine dei nucleotidi per cercare di comprendere le basi genetiche delle somiglianze e delle differenze tra individui.
In questo capitolo, sarà illustrato inizialmente come si studia il genoma umano, considerando anche i progressi derivati dal Progetto Genoma Umano. Quindi si analizzeranno diverse malattie genetiche umane, i test genetici, l'analisi e la consulenza genetica, e come vengono curate alcune malattie genetiche con la terapia genica. Il capitolo si conclude con una considerazione sui problemi etici emergenti al crescere delle conoscenze sul genoma umano.

## 16.1 LO STUDIO DELLA GENETICA UMANA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. P Fare una distinzione tra analisi del cariotipo ed analisi degli alberi genealogic.
2. Discutere le implicazioni del Progetto Genoma Umano.
3. Discutere il modello murino per lo studio della fibrosi cistica.

I genetisti umani utilizzano metodi diversi che consentono di identificare malattie genetiche e di fare deduzioni sulla modalità di trasmissione di un carattere. Noi considereremo tre di questi metodi: l'identificazione dei cromosomi attraverso il cariotipo, l'analisi dei quadri di ereditarietà familiare attraverso la costruzione di alberi genealogici (pedigree), il sequenziamento e il mappaggio dei geni mediante i progetti genomici. L'ereditarietà nell'uomo è spesso studiata utilizzando sia una combinazione dei metodi sopra citati sia altri approcci.

### I cromosomi umani sono studiati con l'analisi del cariotipo

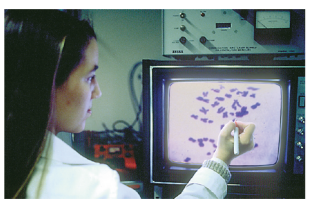
Come avvenne con Mendel e le sue piante di pisello, molti dei principi di base della genetica sono stati scoperti utilizzando organismi semplici, con i quali è spesso possibile correlare i dati genetici al numero e alla struttura di specifici cromosomi. Alcuni degli organismi usati in genetica, come il moscerino della frutta *Drosophila melanogaster*, hanno pochissimi cromosomi; solo quattro paia nel caso del moscerino della frutta. Nelle ghiandole salivari delle larve di Drosophila, i cromosomi sono così grandi che si può osservare la loro struttura in dettaglio (Nella Figura 2-3 è possibile osservare i dettagli dei cromosomi di Drosophila). Questo organismo, quindi, ha consentito di correlare le alterazioni fenotipiche ereditabili ad alcune modificazioni della struttura dei cromosomi.
Il numero dei cromosomi nella specie umana è di 46: 44 autosomi (22 coppie) e due cromosomi sessuali (una coppia). Un cariotipo (dal greco, significa "nucleo") è il corredo cromosomico di un individuo. Fino alla metà degli anni '50, prima che fossero disponibili moderni sistemi di cariotipizzazione, il numero dei

cromosomi umani si pensava fosse 48. Questo risultato si basava su studi pubblicati nel 1923. La difficoltà nel determinare il corretto numero dei cromosomi era basata sull'incapacità di separare i cromosomi, in modo da poterli contare con sicurezza.
Nel 1952, il biologo cellulare T. C. Hsu dell'Università del Texas, trattando per errore le cellule con una soluzione ipotonica, osservò che le stesse si gonfiavano e i cromosomi si separavano magnificamente. Utilizzando questa e altre metodiche, nel 1956 i ricercatori J.H. Tjio e A. Levan riportarono che il corretto numero dei cromosomi era 46 e non 48. La storia della scoperta del numero dei cromosomi umani è un valido esempio della natura autocritica della scienza (benché questo processo a volte richieda un po' di tempo). La continua rivalutazione di fatti e idee, effettuata spesso utilizzando tecniche migliori delle precedenti, è una componente essenziale del processo scientifico.
I cromosomi umani sono visibili solamente nelle cellule in divisione (vedi Capitolo 10 ) ed è difficile ottenere cellule in divisione direttamente dal corpo umano. Normalmente si utilizza il sangue, in quanto i globuli bianchi possono essere indotti a dividersi in coltura trattandoli con sostanze chimiche. Altre fontidi cellule in divisione sono la pelle e, per analisi prenatali, i villi coriali o le cellule fetali del liquido amniotico (discussi più avanti nel capitolo).
Nell'esecuzione del cariotipo, le cellule sono coltivate e quindi trattate con colchicina , che le blocca in metafase mitotica, o tarda profase, quando i cromosomi sono maggiormente condensati. Successivamente, le cellule sono poste in una soluzione ipotonica che le fa rigonfiare, in modo che i cromosomi, separandosi, possano essere facilmente osservati. Le cellule sono quindi schiacciate su un vetrino e i cromosomi sono colorati per mettere in evidenza il quadro delle bande che è caratteristico per ogni coppia di omologhi. Dopo che l'immagine microscopica è stata acquisita da un computer, le coppie di omologhi sono appaiate elettronicamente ( FIG. 16-1 ).
Per convenzione, i cromosomi possono essere identificati in base alla lunghezza, alla posizione del centromero, alla bandeggiatura (prodotta colorando i cromosomi con sostanze che originano bande chiare e scure di varia dimensione) e ad altre caratteristiche, come i satelliti presenti nelle regioni terminali di alcuni cromosomi. Ad eccezione dei cromosomi sessuali, i cromosomi sono numerati ed allineati in ordine di grandezza, eccetto il cromosoma 21, che è più piccolo del cromosoma 22. Il cromosoma più grande (cromosoma 1) è cinque volte più lungo del più piccolo (cromosoma 21), ma fra quelli di dimensioni intermedie le differenze sono minime. I cromosomi X e Y di un maschio normale sono omologhi solo alle estremità; le femmine normali hanno due cromosomi X e non posseggono il cromosoma Y. Differenze rispetto al cariotipo normale, che riguardano modificazioni del numero e della struttura dei cromosomi, sono associate con alcune malattie, come la sindrome di Down (discussa più avanti in questo capitolo).
Un altro metodo per distinguere i cromosomi in un cariotipo è l' ibridazione in situ fluorescente (FISH) . Un filamento di DNA complementare al DNA di uno specifico cromosoma viene marcato con un colorante fluorescente. Il DNA del cromosoma viene denaturato (cioè i due filamenti vengono separati) in modo che il filamento marcato vi si possa legare. Per ogni cromosoma viene usato un fluoroforo differente, cosicché ciascuno presenta un proprio colore (osservate il cariotipo in Fig. 16-1 ). Un cromosoma che presenti più colori ( non mostrato ) indica rottura e fusione di cromosomi, un'anomalia associata ad alcune malattie genetiche e a molti tipi di cancro.

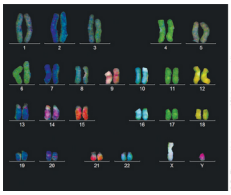
## Gli alberi genealogici possono aiutare ad identificare alcune condizioni ereditarie

Gli studi iniziali di genetica umana generalmente si occupavano di analizzare la distribuzione all'interno dei membri di una famiglia di coppie di caratteri facilmente identificabili. L'"albero genealogico" che mostra la trasmissione dei caratteri genetici per parecchie generazioni all'interno di una famiglia è noto come pedigree . Anche con l'avvento delle moderne tecniche di genetica molecolare, l'analisi del pedigree rappresenta ancora una tecnica molto utile, in quanto aiuta i genetisti molecolari a determinare le esatte correlazioni tra le molecole di DNA che essi analizzano in individui imparentati. L'analisi del pedigree rappresenta anche uno strumento molto utile per la consulenza genetica e per la clinica. Però, poiché nella specie umana le famiglie tendono ad essere di piccole dimensioni e le informazioni su alcuni membri delle famiglie, soprattutto su quelli deceduti, possono essere carenti, l'analisi del pedigree presenta delle limitazioni.

**METODO DI RICERCA** *Perché si usa?* I ricercatori utilizzano l'analisi del cariotipo per identificare anomalie cromosomiche negli individui. *Come funziona?*




I cariotipi sono comunemente preparati da colture di globuli bianchi. Le cellule preparate sono disposte su un vetrino e i cromosomi sono rilasciati in seguito alla rottura del nucleo. Il microscopio ottico utilizzato per osservare il vetrino è collegato ad un computer in cui un software di analisi dell'immagine consente ai biologi di combinare i cromosomi omologhi e di ordinarli in base alla lunghezza. Prima dell'avvento dei computer, questo passaggio veniva effettuato ritagliando i cromosomi da una fotografia stampata.
Questi cromosomi sono stati "colorati" con sonde marcate con traccianti flurescenti di diverso colore, che ibridizzano

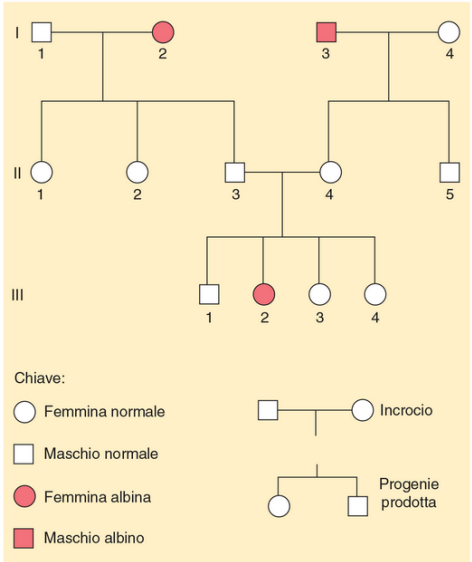


con specifiche coppie di cromosomi. La colorazione facilita l'identificazione dei cromosomi. Nell'immagine sottostante è mostrato un tipico cariotipo maschile umano.

FIGURA 16-1
*La cariotipizzazione*

I pedigree sono disegnati utilizzando una simbologia standardizzata. Esaminiamo la FIGURA 16-2 , che mostra un ipotetico pedigree per l' albinismo , patologia caratterizzata dall'assenza di pigmentazione della pelle, dei capelli e degli occhi. Ogni riga orizzontale rappresenta una generazione, con la generazione più vecchia (identificata con il numero romano I) in alto e quella più recente in basso. All'interno di una determinata generazione, gli individui sono numerati consecutivamente da sinistra a destra con numeri arabi. Una linea orizzontale unisce due genitori, e una verticale scende dai genitori verso i figli. Per esempio, gli individui II-3 e II-4 hanno quattro figli (III-1, III-2, III-3 e III-4). È da notare che gli individui di una stessa generazione possono anche non essere correlati geneticamente. Per esempio, gli individui II-1, II-2 e II-3 non sono correlati con II-4 e II-5. All'interno di un gruppo di fratelli, il più vecchio è a sinistra e il più giovane è a destra.
L'allele per l'albinismo non può essere dominante; se lo fosse, almeno uno dei genitori della femmina III-2 sarebbe albino. Questo pedigree dimostra che l'albinismo è un esempio di ereditarietà autosomica (non legata cioè ai cromosomi sessuali) dovuta ad un allele recessivo. In questo caso, due genitori fenotipicamente normali possono generare un figlio albino in quanto eterozigoti e quindi in grado di trasmettere entrambi un allele recessivo.
Lo studio dei pedigree ha permesso di predire come sono ereditati i caratteri fenotipici che sono sotto il controllo genetico di un singolo locus. Questi caratteri sono definiti mendeliani. Nell'uomo, sono stati descritti circa 10.000 caratteri mendeliani. L'analisi del pedigree frequentemente identifica tre tipi di ereditarietà mendeliana: autosomica dominante, autosomica recessiva e recessiva legata al cromosoma X (cosiddetta X-linked); più avanti nel capitolo verranno presentati esempi delle tre modalità.

**(a)** Una ragazza albina, appartenente all'etnia nativa americana Cuna, gioca con gli amici. L'albinismo è frequente nell'etnia Cuna che vive nelle Isole San Blas di Panama.




**(b)** Attraverso lo studio della storia familiare, è spesso possibile determinare il meccanismo genetico di un tratto ereditario. Consideriamo l'individuo III-2, una ragazza albina con due genitori fenotipicamente normali, i soggetti II-3 e II-4.

## Il Progetto Genoma Umano ha permesso di sequenziare il DNA di tutti i cromosomi umani

Coloro che hanno lavorato per il Progetto Genoma Umano hanno sequenziato il DNA dell'intero genoma nucleare umano, della lunghezza di circa 2,9 miliardi di coppie di basi. (Il genoma mitocondriale umano era già stato sequenziato nel 1981). Questo impegno internazionale, che ha utilizzato il DNA estratto da 6-10 individui anonimi, è stato concluso nel 2001 e ha coinvolto centinaia di ricercatori di due gruppi indipendenti: l'International Human Genome Sequencing Consortium finanziato dal governo e la compagnia privata Celera Genomics. Il completamento definitivo del Progetto Genoma Umano nel 2003 rappresenta una significativa pietra miliare della genetica ( TABELLA 16-1 ).
I ricercatori adesso sperano di riuscire ad identificare la localizzazione di tutti i geni all'interno del DNA sequenziato. Nel 2001, il National Human Genome Research Institute (NHGRI) ha stimato un numero di geni compreso tra 35.000 e 45.000 nel genoma umano, ma nel 2010 il numero stimato è sceso a circa 20.000-25.000.

←FIGURA 16-2
*Un albero genealogico per l'albinismo*

L'identificazione dei geni rappresenta un impegno formidabile. Come è possibile identificare un gene all'interno di una sequenza di DNA se non se ne conosce alcunché? Il genoma umano è estremamente complesso, ed include il DNA contenuto sia nel nucleo che nei mitocondri. Tuttavia, il DNA nucleare costituisce la quasi totalità dell'informazione genetica presente nel genoma umano. Come nel caso dei genomi di altri organismi eucariotici, solo una parte del genoma umano (circa il 2%) codifica polipeptidi, mentre alcuni altri segmenti codificano solo prodotti ad RNA.

| Anno | Progresso scientifico |
|---|---|
| 1866 | Mendel propone l'esistenza dei fattori ereditari, oggi noti come geni |
| 1871 | Scoperti gli acidi nucleici |
| 1879 | Identificati i cromosomi e osservati durante la divisione cellulare |
| 1929 | Caratterizzata la natura chimica dei nucleotidi |
| 1953 | Determinata la struttura del DNA a doppia elica |
| 1960-1970 | Decifrato il codice genetico (come sono prodotte le proteine dal DNA) |
| 1972 | Prodotta la prima molecola di DNA ricombinante |
| 1977 | Inizia il sequenziamento del DNA |
| 1986 | Sequenziamento del DNA automatizzato |
| 1995 | Completato il sequenziamento del primo genoma procariotico (batterio *Haemophilus influenzae*) |
| 1996 | Completato il sequenziamento del primo genoma eucariotico (lievito *Saccharomyces cerevisiae*) |
| 1998 | Completato il sequenziamento del primo genoma di un eucariote pluricellulare (nematode *Caenorhabditis elegans*) |
| 2001 | Pubblicata la sequenza grezza dell'intero genoma umano; scoperto che il 95% del genoma è non codificante |
| 2003 | Completato definitivamente il sequenziamento del genoma umano |

TABELLA 16-1 **Funzioni degli elementi negli organismi**

La maggior parte del genoma è costituita da elementi di regolazione non codificanti, sequenze ripetute (copie multiple) di DNA e segmenti genici le cui funzioni sono ancora sconosciute. Talvolta, i geni sono sovrapposti gli uni agli altri, mentre in altri casi un singolo gene codifica proteine multiple. L'identificazione della correlazione tra specifici geni e gli RNA e le proteine da essi codificati, nonchè la determinazione dei ruoli di tali RNA e proteine nell'organismo sono due degli obiettivi degli studi di genetica umana.
Ad esempio, l'analisi del cromosoma 22 mediante un processo computerizzato di scansione delle sequenze di DNA volto all'identificazione di marcatori, come gli elementi promotori tipicamente associati ai geni, ha permesso di identificare 545 geni su questo cromosoma. Molti dei geni identificati sono in realtà geni "potenziali", in quanto i loro RNA messaggeri (mRNA) ed i loro prodotti proteici non sono stati ancora isolati. Altri geni sono stati evidenziati solo perché codificano per proteine simili ad altre precedentemente identificate nell'uomo e in altri organismi. Malgrado le difficoltà, si stanno facendo ampi progressi e gli studi di mappaggio permetteranno di capire le relazioni fisiche e funzionali tra i geni e i gruppi di geni, suggerite dal loro ordine sui cromosomi.
Ora che l'obiettivo del sequenziamento del genoma umano è stato raggiunto, i biologi saranno occupati per molti decenni nell'analisi dei dati ottenuti. Oltre ad identificare i geni, bisogna capire che cosa fa ogni gene, come interagisce con gli altri geni e come è regolata la sua espressione nei diversi tessuti. Tutte le migliaia di proteine prodotte nelle cellule umane saranno identificate, e sarà inoltre determinata la loro struttura tridimensionale e valutata la loro funzione.

### Gli studi di associazione genomica su larga scala mettono in evidenza la complessità genetica delle più importanti malattie dell'uomo

I biologi hanno cominciato a studiare la variabilità molecolare all'interno del genoma umano, con lo scopo di evidenziare differenze tra singoli individui che possano essere alla base della predisposizione ad alcune malattie. Le potenziali applicazioni mediche del Progetto Genoma Umano sono molto promettenti. Per esempio, le mutazioni nei geni del cromosoma 22 sono legate ad almeno 27 malattie, note per avere una componente genetica. I geni alla base di molte di queste malattie non sono però stati ancora identificati in modo preciso. A questo riguardo, un gene coinvolto nella schizofrenia è fortemente associato al cromosoma 22, ma la sua esatta posizione e la sua funzione non sono state ancora scoperte.
Gli studi di associazione genomica su larga scala (GWA) confrontano il genoma di individui affetti da una particolare malattia, con quello di individui sani. Per esempio, nel 2007 sono stati studiati i genomi di oltre 16.000 cittadini britannici per confrontare i profili genetici di individui sani con quelli di pazienti affetti da una delle sette più comuni patologie: disordini bipolari, malattia coronarica, morbo di Crohn, ipertensione arteriosa, artrite reumatoide, diabete di tipo I e diabete di tipo II. I fenotipi assai variabili dei pazienti affetti sottintendono meccanismi di trasmissione ereditaria complessa, in cui diversi geni contribuiscono alla suscettibilità individuale alla malattia. In questo studio specifico, i ricercatori hanno scoperto 24 varianti geniche associate ad un aumentato rischio di sviluppare una o più di queste malattie. La funzione della maggior parte di queste varianti GWA non è stata definita, tuttavia conoscerne l'esatta localizzazione sui singoli cromosomi è un passo importante nella comprensione delle basi genetiche di alcune tra le più comuni patologie umane.

### La genomica comparativa ha evidenziato segmenti di DNA identici nei genomi di topo ed uomo

Sono noti circa 500 segmenti di DNA lunghi più di 200 coppie di basi che sono "conservati" al 100% (sono cioè identici) nei genomi murino ed umano. Questo notevole grado di conservazione presenta interessanti implicazioni evolutive, in quanto indica che tali segmenti non sono mutati nel corso dei circa 75 milioni di anni trascorsi dalla divergenza di uomo e topo da un antenato comune. Durante tutto questo tempo, altri segmenti di DNA sono andati incontro ad un alto tasso di mutazione e selezione, portando alla divergenza tra topi ed uomini fino allo stato attuale. Sebbene le funzioni di tali segmenti invariati non siano ancora state determinate, è chiaro che debbano avere un ruolo vitale. (Se non fossero stati essenziali nella loro

forma attuale, sarebbero andati incontro a mutazione e selezione). Molti dei segmenti altamente conservati sembrano contenere elementi non codificanti proteine che potrebbero regolare l'espressione di altri geni.

### I ricercatori utilizzano modelli murini per lo studio delle malattie genetiche umane

Molti dei quesiti relativi alle malattie genetiche umane sono di difficile risoluzione a causa delle questioni etiche derivanti dalla realizzazione di test sperimentali sugli esseri umani. Tuttavia, lo studio di una qualunque malattia è senza dubbio facilitato se è possibile avere un modello animale per la sperimentazione.
Un esempio calzante è quello della *fibrosi cistica*, una malattia genetica causata da una mutazione in un singolo gene che viene ereditata come allele recessivo. Nel 1994, i ricercatori hanno utilizzato il gene targeting per ottenere ceppi di topi che fossero omozigoti ed eterozigoti per la fibrosi cistica.
L'allele responsabile della fibrosi cistica è una forma mutante di un gene responsabile del controllo del bilancio dell'acqua e degli elettroliti nell'organismo.
Questo gene, conosciuto come *CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator)*, è stato clonato e si è visto che codifica per una proteina di un canale ionico per il cloruro posto nella membrana plasmatica. Questo canale ionico è responsabile del trasporto degli ioni cloruro all'esterno delle cellule che tappezzano il tubo digerente e l'apparato respiratorio. Quando lo ione cloruro lascia le cellule, l'acqua lo segue per osmosi; in questo modo, il secreto normale di queste cellule è relativamente acquoso. Dato che le cellule di un individuo affetto da fibrosi cistica sono prive dei normali canali ionici per il cloruro, il loro secreto ha uno scarso contenuto di acqua e il sudore è estremamente salato. Le cellule degli individui eterozigoti hanno solamente la metà del numero normale di canali CFTR funzionanti, ma questi sono sufficienti per mantenere una adeguata fluidità dei loro secreti.
Alcuni ricercatori stanno focalizzando i loro sforzi sulla comprensione della modalità di attivazione ed inattivazione del canale CFTR nei topi, in modo da poter usare questa informazione per progettare un farmaco che possa potenziare il trasporto di ioni cloruro attraverso questi canali. Tale farmaco, quindi, dovrebbe avere la potenzialità di trattare la fibrosi cistica nell'uomo mediante l'attivazione dei canali mutanti.

### Verifica

- Quali tipi di informazioni può fornire un cariotipo umano?
- Che cos'è l'analisi degli alberi genealogici (pedigree)?
- Quali sono due dei possibili benefici che si spera di ottenere studiando ulteriormente il genoma umano?
- In che modo l'utilizzo di un modello murino per lo studio di una malattia genetica può risolvere le difficoltà relative allo studio dell'ereditarietà umana?

## 16.2 ALTERAZIONI NEL NUMERO E NELLA STRUTTURA DEI CROMOSOMI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Spiegare come la non disgiunzione durante la meiosi possa essere responsabile di anomalie cromosomiche come la sindrome di Down, la sindrome di Klinefelter e la sindrome di Turner.
5. Distinguere tra le seguenti anomalie strutturali dei cromosomi: traslocazioni, delezioni e siti fragili.

La poliploidia , cioè la presenza di corredi cromosomici completi multipli, è comune nelle piante, ma rara negli animali. Può verificarsi come risultato di una mancata separazione dei cromosomi durante la meiosi o per la fecondazione della cellula uovo da parte di più di uno spermatozoo. La poliploidia nell'uomo ed in molti altri animali è letale quando è a carico di tutte le cellule somatiche. Per esempio, la *triploidia* (3n) si riscontra qualche volta in embrioni abortiti spontaneamente nelle prime fasi della gravidanza.
Anomalie per la presenza di un unico cromosoma extra o per l'assenza di un cromosoma sono molto più comuni nell'uomo: tali situazioni sono indicate come aneuploidie . Bisogna ricordare che, come regola, vi sono due rappresentanti per ciascun tipo di cromosoma e questa è la normale condizione disomica . Un individuo con un cromosoma extra — cioè con tre rappresentanti di un determinato tipo — è detto trisomico per quel tipo di cromosoma; la trisomia viene indicata 2 n + 1. Un individuo che non possiede un membro di una coppia di cromosomi è detto monosomico; il cariotipo monosomico è indicato 2 n − 1. La TABELLA 16-2 riassume alcune delle malattie causate da aneuploidie.
Le aneuploidie, generalmente, si verificano come risultato di una divisione meiotica (o, raramente, mitotica) anormale in cui i cromosomi non si separano all'anafase; tale fenomeno è detto non disgiunzione

e può interessare sia gli autosomi, sia i cromosomi sessuali. Nella meiosi, la non disgiunzione si può avere sia nella prima che nella seconda divisione (o in entrambe). Per esempio, due cromosomi X che non si separano alla prima o alla seconda divisione possono trovarsi entrambi nel nucleo della cellula uovo, oppure i due cromosomi X possono finire in un globulo polare lasciando la cellula uovo priva di cromosoma X. (Ricordate dal Capitolo 10 che un globulo polare è una cellula aploide non funzionale prodotta nel corso dell'oogenesi; vedi anche Fig. 50-11 ).
La non disgiunzione della coppia XY nel maschio può portare alla formazione di spermatozoi contenenti entrambi questi cromosomi oppure di spermatozoi con nessuno dei due ( FIG. 16-3 ). In maniera analoga, la non disgiunzione alla seconda divisione meiotica può produrre spermatozoi con due cromosomi X o due Y. Quando un gamete anormale si unisce con uno normale, lo zigote che ne risulta presenta un'anomalia cromosomica che sarà presente in ogni cellula dell'organismo.
La non disgiunzione meiotica origina un numero anormale di cromosomi a livello dello zigote, e pertanto tutte le cellule del futuro individuo avranno un numero anormale di cromosomi. Al contrario, la non disgiunzione durante la mitosi avviene in stadi di sviluppo più tardivi e pertanto conduce ad una linea di cellule anormali in un individuo per il resto normale. Questa mescolanza di cellule con differente numero di cromosomi potrà o meno interessare i tessuti somatici e/o della linea germinale.
Anomalie nel numero dei cromosomi sono ricorrenti nelle cellule cancerose, in modo particolare in quelle dei tumori solidi, tuttavia non è chiaro se l'aneuploidia è una causa del cancro, oppure ne è una conseguenza.
Anomalie cromosomiche riconoscibili si riscontrano in meno dell'1% dei nati vivi, ma molte osservazioni suggeriscono che il tasso al concepimento sia molto più elevato. Almeno il 17% delle gravidanze arrivate ad 8 settimane è destinato a terminare in un aborto spontaneo. Circa la metà di tali embrioni abortiti spontaneamente presenta grosse anomalie cromosomiche, tra cui trisomie autosomiche (come la trisomia 21), triploidie, tetraploidie e sindrome di Turner (X0), dove lo 0 si riferisce all'assenza del secondo cromosoma sessuale. Le monosomie autosomiche sono estremamente rare, forse perché causano aborti spontanei molto precocemente, ancor prima che si venga a conoscenza dello stato di gravidanza. Alcuni studiosi forniscono stime sorprendentemente alte (50% o più) per il tasso di perdita di embrioni molto precoci. Probabilmente, alla base di tali aborti spontanei ci sono proprio anomalie cromosomiche.

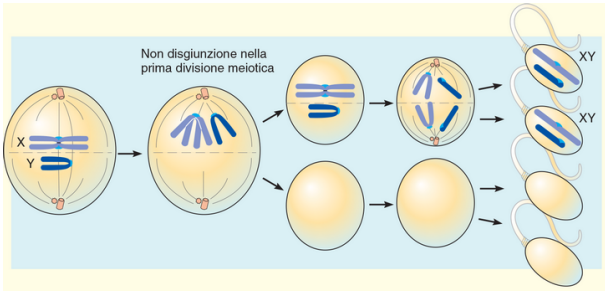
## La sindrome di Down è causata di norma dalla trisomia 21

La sindrome di Down è una delle anomalie cromosomiche più comuni nell'uomo (il termine *sindrome* si riferisce ad una serie di sintomi che di solito sono presenti insieme in un particolare stato patologico). È stata chiamata così perché John Langdon Down, un medico inglese, la descrisse per primo nel 1866. I soggetti colpiti presentano anomalie nel volto, nelle palpebre, nella lingua, nelle mani e in altre parti del corpo, e spesso sono fisicamente e mentalmente ritardati ( FIG. 16-4a ). Inoltre, essi sono particolarmente suscettibili nei confronti di particolari malattie, come la leucemia e il morbo di Alzheimer.

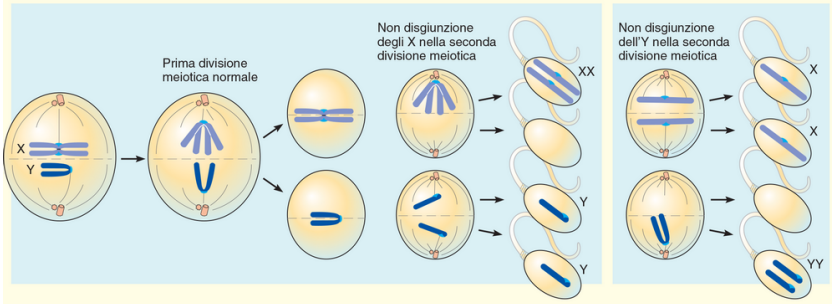
Studi citogenetici hanno rivelato che la maggior parte degli individui con la sindrome di Down ha 47 cromosomi a causa di una *trisomia autosomica*: questa condizione è nota come trisomia 21 ( FIG. 16-4b ). Si pensa che la presenza del cromosoma soprannumerario sia dovuta alla non disgiunzione durante la meiosi. Sebbene in questi individui l'informazione genetica sia completa, le copie soprannumerarie dei geni del cromosoma 21 portano un qualche tipo di sbilanciamento che è responsabile dello sviluppo anomalo, sia fisico che mentale. La sindrome di Down è abbastanza variabile nell'espressione, con alcuni individui che manifestano una sintomatologia più grave di altri. I ricercatori stanno usando le metodologie dell'ingegneria genetica per identificare sul cromosoma 21 sia i geni che influenzano lo sviluppo mentale sia possibili *oncogeni* (geni in grado di causare il cancro) e geni che possono essere coinvolti nel morbo di Alzheimer. (Come molte condizioni umane, il cancro ed il morbo di Alzheimer hanno componenti sia genetiche sia ambientali).

### TABELLA 16-2 Funzioni degli elementi negli organismi

| Cariotipo | Nome comune | Descrizione clinica |
|---|---|---|
| Trisomia 13 | Sindrome di Patau | Difetti multipli, morte in genere nei primi tre mesi di vita |
| Trisomia 18 | Sindrome di Edwards | Orecchie deformi, difetti cardiaci, spasticità e altri danni; morte in genere nel primo anno di vita |
| Trisomia 21 | Sindrome di Down | Incidenza circa 1 su 800 nati vivi. La trisomia vera si trova più frequentemente fra figli di madri anziane (+ di 35 anni), mentre la traslocazione, che porta ad una situazione equivalente alla trisomia, non è correlata all'età. La trisomia 21 è caratterizzata da una plica della pelle al di sopra dell'occhio, ritardo mentale di grado variabile, bassa statura, lingua sporgente e rugosa, solco palmare trasversale, deformità cardiache e rischio aumentato per leucemie e morbo di Alzheimer |
| X0 | Sindrome di Turner | Bassa statura, collo con pliche palmate, talvolta leggero ritardo mentale; le ovaie degenerano in fase embrionale tardiva producendo caratteristiche sessuali rudimentali; il sesso è femminile; assenza di corpi di Barr |
| XXY | Sindrome di Klinefelter | Maschi con testicoli in progressiva degenerazione, mammelle ingrossate; un corpo di Barr per cellula |
| XYY | Cariotipo XYY | Molti maschi non presentano sintomi; alcuni maschi sono eccezionalmente alti con acne vistosa; una certa tendenza a un lieve ritardo mentale |
| XXX | Triplo-X | Nonostante i tre cromosomi X, femmine generalmente normali e fertili; due corpi di Barr per cellula |




**(a) La non disgiunzione nella prima divisione meiotica** dà origine a due spermatozoi con X e Y e a due spermatozoi sprovvisti di entrambi.




**(b) La non disgiunzione degli X nella seconda divisione meiotica** dà origine ad uno spermatozoo con due X, due con un Y ciascuno ed uno privo di cromosomi sessuali. In maniera analoga, la non disgiunzione dell'Y dà origine ad uno spermatozoo con due Y, due con un X ciascuno ed uno privo di cromosomi sessuali (riquadro a *destra*).

**PUNTO CHIAVE** L'aneuploidia può essere il risultato di una non disgiunzione meiotica,ovvero la separazione anomala dei cromosomi nel corso della meiosi.

FIGURA 16-3
*Non disgiunzione meiotica*

La sindrome di Down si riscontra in circa 1 su 800 neonati di tutti i gruppi etnici, ma la sua incidenza aumenta notevolmente con l'età della madre. L'incidenza della sindrome di Down non è influenzata dall'età del padre (sebbene lo siano altri disordini, come la schizofrenia e l'acondroplasia, la forma più comune di nanismo). La sindrome di Down è 68 volte più probabile nella prole di madri di 45 anni rispetto a quella di madri di 20 anni. Tuttavia, negli USA, la maggior parte dei bambini con sindrome di Down nasce da madri con età inferiore ai 35 anni. Ciò è in parte da attribuire al fatto che queste donne sono molto più numerose di quelle più anziane, e in parte perché circa il 90% delle donne più anziane, che si sottopongono al test prenatale, decide di porre termine alla gravidanza se vi è la diagnosi di sindrome di Down.
La ragione della relazione tra l'aumento dell'incidenza della sindrome di Down e l'età materna non è nota. Molte ipotesi cercano di spiegare l'effetto dell'età materna, ma nessuna di esse è suffragata in modo inequivocabile. Una di queste suggerisce che nelle donne più anziane il mantenimento delle cellule uovo nello stato di meiosi sospesa per un tempo troppo lungo, potrebbe portare ad un deterioramento dell'apparato del fuso meiotico. (Alla nascita, la donna possiede già tutti gli oociti che permarranno nel corso della sua vita; tali oociti restano bloccati alla profase I della meiosi fino all'ovulazione). Un'altra possibilità è che un utero più vecchio abbia una minore capacità di rigettare un feto anormale.

Richard Hutchings/Photo Researchers, Inc.

**(a)** Questo ragazzino con la sindrome di Down si dedica ad un esperimento scientifico nella sua classe all'asilo. Alcuni individui con la sindrome di Down imparano a leggere e a scrivere.

**(b)** Si noti la presenza di un cromosoma 21 soprannumerario in questo cariotipo colorato di una femmina con la sindrome di Down.

FIGURA 16-4
*Sindrome di Down*

## La maggior parte delle aneuploidie dei cromosomi sessuali è meno grave delle aneuploidie autosomiche

Le aneuploidie dei cromosomi sessuali sembrano essere relativamente ben tollerate (vedi Tabella 16-2 ), apparentemente e almeno in parte a causa del fenomeno della compensazione del dosaggio . Le cellule di mammifero, per compensare il materiale cromosomico X in eccesso, rendono inattivi uno dei due cromosomi X. Il materiale X inattivo è visibile come corpo di Barr , una zona di cromatina intensamente colorata presente vicino all'involucro nucleare durante l'interfase (vedi Fig. 11-16 ). La presenza del corpo di Barr nelle cellule delle femmine (ma non dei maschi) rappresenta un primo test per verificare se un individuo è geneticamente maschio o femmina. Come vedremo nella nostra discussione sulle aneuploidie dei cromosomi sessuali, il test del corpo di Barr ha grossi limiti.
Individui con la sindrome di Klinefelter hanno 47 cromosomi, che comprendono due X e un Y. Si tratta di maschi che hanno testicoli piccoli, producono pochi o nessuno spermatozoo e sono di conseguenza sterili. La dimostrazione che il cromosoma Y è il maggior determinante del fenotipo maschile è stata convalidata dal fatto che c'è almeno un gene sul cromosoma Y che sembra agire come "interruttore genetico",

indirizzando lo sviluppo in senso maschile. I soggetti con la sindrome di Klinefelter tendono ad essere eccezionalmente alti e ad avere mammelle di tipo femminile; circa la metà mostra un certo grado di ritardo mentale, ma la maggior parte di essi conduce una vita relativamente normale. Esaminando le loro cellule, si trova un corpo di Barr per cellula; sulla base di questo test, potrebbero essere classificati erroneamente come femmine. Circa 1 su 1000 maschi nati vivi è affetto dalla sindrome di Klinefelter.
La costituzione cromosomica sessuale per la sindrome di Turner viene indicata come X0, dove 0 si riferisce all'assenza del secondo cromosoma sessuale. Mancando il forte effetto mascolinizzante del cromosoma Y, gli individui affetti da sindrome di Turner si sviluppano come femmine. Tuttavia, il loro apparato genitale esterno ed interno è poco sviluppato e sono sterili. È chiaro che un secondo cromosoma X è necessario in un embrione femmina per il corretto sviluppo delle ovaie. L'esame delle loro cellule rivela l'assenza di corpi di Barr, mancando il cromosoma X extra da inattivare. Usando il test del corpo di Barr, l'individuo sarebbe classificato erroneamente come maschio. Circa 1 su 2500 femmine nate vive ha la sindrome di Turner.
Soggetti con un cromosoma X e due cromosomi Y sono fenotipicamente maschi e fertili. Le altre caratteristiche di questi soggetti (eccezionalmente alti e con acne grave) difficilmente meritano la qualifica di sindrome; da qui la designazione di cariotipo XYY . Anni fa era diffusa l'opinione che i soggetti con questo cariotipo avessero più probabilità di sviluppare tendenze criminali e di finire in prigione. Tuttavia, tali studi non erano attendibili, in quanto si basavano su piccoli numeri di maschi XYY e mancavano di studi di controllo adeguati su maschi XY. Oggigiorno, l'opinione prevalente in genetica medica è che nella popolazione generale vi siano molti maschi XYY non diagnosticati, che non mostrano aggressività e tendenze criminali e che di conseguenza non sono stati incarcerati.

## Anomalie nella struttura cromosomica sono causa di determinate malattie

Le anomalie cromosomiche non sono soltanto causate da cambiamenti nel numero dei cromosomi, ma anche da distinti cambiamenti nella struttura di uno o più cromosomi. La rottura e la riunione di parti di cromosomi possono produrre quattro tipi di alterazioni strutturali all'interno di un cromosoma o tra cromosomi diversi: duplicazioni, inversioni, delezioni e traslocazioni ( FIG. 16-5 ). Le rotture nei cromosomi sono il risultato di errori nel corso della replicazione o della ricombinazione. In una duplicazione , un segmento cromosomico è ripetuto una o più volte; tali ripetizioni si presentano spesso in tandem. In un' inversione , l'orientamento di un segmento cromosomico è invertito. In una delezione , la rottura determina la perdita di parte di un cromosoma, insieme ai geni presenti in quel segmento. Una delezione può verificarsi all'estremità o all'interno di un cromosoma. In alcuni casi di traslocazione , un frammento cromosomico si stacca e si attacca ad un cromosoma non omologo. In una traslocazione reciproca , due cromosomi non omologhi si scambiano segmenti.
Qui di seguito consideriamo tre semplici esempi di alterazioni strutturali in uno o più cromosomi che causano anomalie fenotipiche: traslocazioni, delezioni e siti fragili , ovvero siti cromosomici suscettibili alla rottura.

### La traslocazione è l'attacco di parte di un cromosoma ad un altro cromosoma

Le conseguenze delle traslocazioni variano in modo considerevole; esse comprendono situazioni in cui mancano alcuni geni (delezioni) o sono presenti copie soprannumerarie di altri geni (duplicazioni). In circa il 4% degli individui con la sindrome di Down sono presenti soltanto 46 cromosomi, ma uno è anormale. Solitamente in questi casi il braccio lungo del cromosoma 21 è stato traslocato sul braccio lungo del cromosoma 14. Il cromosoma anomalo con la traslocazione si definisce cromosoma 14/21. Le persone affette dalla sindrome di Down per traslocazione hanno quindi un cromosoma 14, un cromosoma 14/21 e due copie normali del cromosoma 21. Tutto o parte del cromosoma 21 è presente in triplice copia. Quando si studiano i cariotipi dei genitori di un individuo in questa situazione, si trova che o la madre o il padre hanno 45 cromosomi, sebbene siano fenotipicamente normali. Questi individui hanno un cromosoma 14, un cromosoma 14/21 ed un cromosoma 21. Sebbene il cariotipo sia anormale, non c'è materiale genetico in eccesso. A differenza della trisomia 21, questa forma di sindrome di Down per traslocazione è familiare e la sua incidenza non è correlata con l'età materna.

### Una delezione è la perdita di una parte di un cromosoma

A volte i cromosomi si rompono e non si riuniscono. Queste rotture portano a delezioni che possono andare da poche basi fino all'intero braccio di un cromosoma. Come ci si potrebbe aspettare, grosse delezioni sono letali, mentre piccole delezioni non hanno alcun effetto oppure sono causa di malattie fenotipicamente riconoscibili.
Un'alterazione causata da delezione è la sindrome "cri-duchat" (pianto di gatto) (1 su 50.000 nati vivi), in cui è deleta una parte del braccio corto del cromosoma 5. Come avviene nella maggior parte delle delezioni, il punto esatto di rottura del cromosoma 5 varia da persona a persona; in alcuni casi c'è una piccola perdita, mentre in altri la perdita è più consistente. I bambini nati con questa sindrome hanno tipicamente una testa piccola con lineamenti alterati, descritti come "faccia a luna", ed un pianto caratteristico che assomiglia al

miagolio di un gatto. Gli individui affetti di solito sopravvivono oltre l'infanzia, ma presentano forte ritardo mentale.

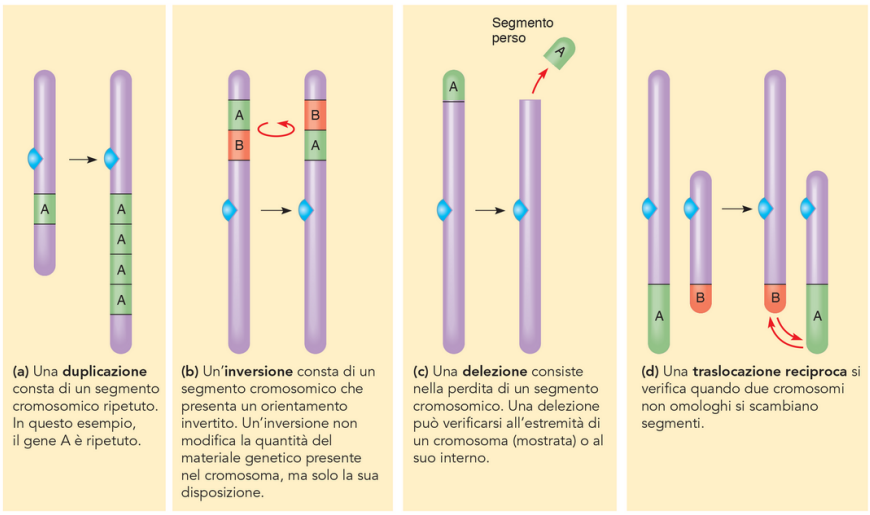



FIGURA 16-5
*Comuni anomalie nella struttura dei cromosomi*

### I siti fragili sono punti deboli in siti specifici dei cromatidi

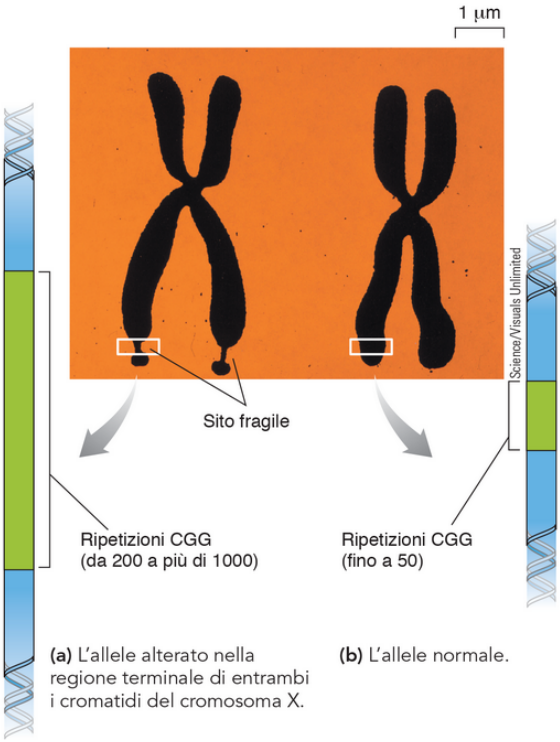
Un sito fragile , in cui parte di un cromatidio sembra essere attaccata al resto del cromosoma da un sottile filo di DNA, può presentarsi in una posizione specifica su entrambi i cromatidi di un cromosoma. Questi siti sono stati identificati sia sul cromosoma X, sia su alcuni autosomi. La posizione di un sito fragile è esattamente la stessa in tutte le cellule di un individuo e nelle cellule di altri membri della famiglia. Vi sono prove sempre più forti che nelle cellule tumorali le rotture avvengano più facilmente a livello di questi siti fragili. Al momento non è noto se le cellule tumorali destabilizzino i siti fragili, oppure se i siti fragili stessi contengano geni che contribuiscono alla progressione tumorale.

Nella sindrome dell'X fragile , anche nota come sindrome di Martin-Bell , il sito fragile si trova vicino all'estremità terminale del cromosoma X, dove una tripletta di nucleotidi (CGG) è ripetuta da 200 a 1000 volte ( FIG. 16-6 ). Nel cromosoma X normale, la tripletta CGG è invece ripetuta fino a 50 volte.

La sindrome dell'X fragile è la causa più comune di ritardo mentale ereditario. Gli effetti della sindrome dell'X fragile sono più pronunciati nei maschi che nelle femmine e vanno da una leggera incapacità di apprendere o di focalizzare l'attenzione ad un grave ritardo mentale ed iperattività. Secondo la Fondazione Nazionale per l'X fragile, circa l'80% dei maschi e il 35% delle femmine con la sindrome dell'X fragile sono affetti almeno da leggero ritardo mentale. Le femmine con la sindrome dell'X fragile sono di solito eterozigoti (dal momento che l'altro X è di solito normale) e generalmente hanno un'intelligenza normale.

La scoperta del gene dell'X fragile nel 1991 e lo sviluppo del primo modello di topo con l'X fragile nel 1994 hanno dotato i ricercatori di strumenti per saggiare i potenziali trattamenti, compresa la terapia genica.

Al microscopio, le cellule nervose degli individui affetti dalla sindrome dell'X fragile mostrano malformazioni a livello dei dendriti (la parte del neurone che riceve gli impulsi nervosi da altri neuroni). A livello molecolare, il numero eccessivo di ripetizioni della tripletta CGG associato alla sindrome dell'X fragile altera la funzionalità di un gene che codifica per una proteina detta proteina del ritardo mentale da X fragile (FMRP ). Nelle cellule normali, la FMRP si lega a dozzine di molecole di mRNA differenti (la ragione di tali interazioni non è nota), mentre nelle cellule degli individui affetti dalla sindrome dell'X fragile l'allele mutato non consente la produzione della FMRP funzionale.

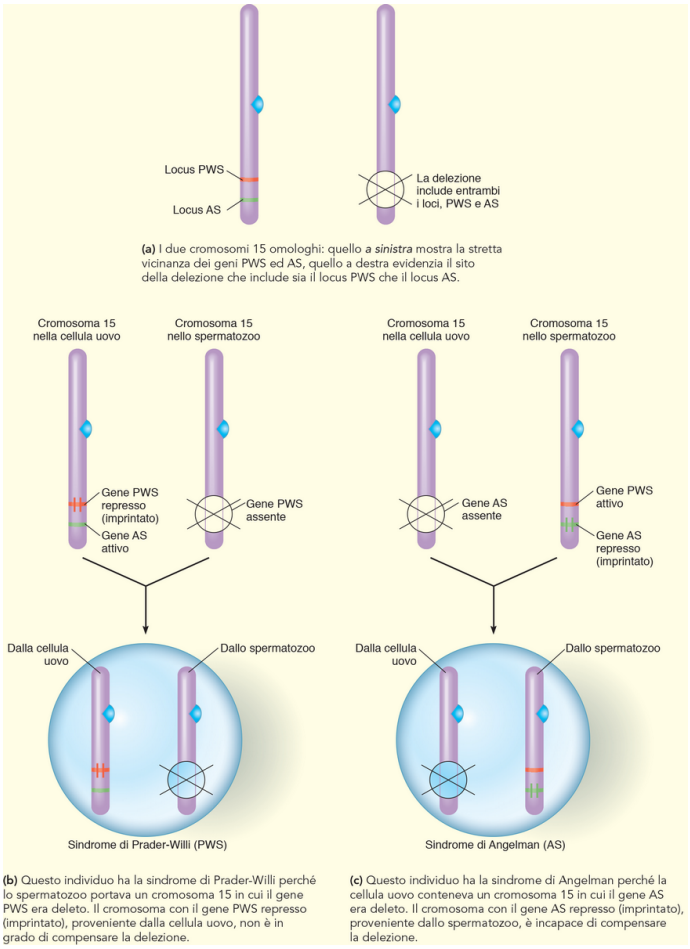



### L'imprinting genomico è determinato dall'ereditarietà uniparentale

Alcuni tratti sono il risultato dell' imprinting genomico o parentale , mediante il quale l'espressione di un gene in un determinato tessuto o in un preciso stadio di sviluppo è determinata dall'origine parentale, ossia è condizionata dalla trasmissione materna o paterna del gene. In alcuni geni imprintati, l'allele ereditato dal padre è sempre represso (non espresso) mentre per altri è quello materno ad essere represso. Ne consegue che i genomi materno e paterno hanno differenti alleli sottoposti a imprinting che determinano un'espressione genica differenziale nell'embrione. Come discusso nel Capitolo 14 , l' ereditarietà epigenetica si riferisce alle diverse modalità di espressione di un gene in assenza di variazioni nella sequenza codificante del DNA. L'ereditarietà epigenetica può causare imprinting genomico.

FIGURA 16-6 *Sindrome dell'X fragile*
Immagine MES colorata di un cromosoma X con un sito fragile e di un cromosoma X normale.

Due rare malattie genetiche ci forniscono una formidabile dimostrazione di cosa sia l'imprinting genomico. Nella sindrome di Prader-Willi ( PWS ) gli individui sono affetti da alimentazione eccessiva su base compulsiva ed obesità; essi sono inoltre di bassa statura e affetti da ritardo mentale da lieve a moderato. Nella sindrome di Angelman ( AS ) i pazienti sono iperattivi, presentano ritardo mentale, sono incapaci di parlare e in alcuni casi sono affetti da crisi epilettiche. Una piccola delezione che interessa numerosi loci all'interno di un'unica regione del cromosoma 15 è responsabile sia della PWS sia della AS ( FIG. 16-7a ). Uno dei loci deleti è responsabile della PWS, un altro della AS.
Analisi dell'albero genealogico hanno dimostrato che quando il paziente eredita la delezione dal padre, la patologia che si manifesta è la PWS, mentre nei casi di trasmissione materna la patologia è la AS. Il meccanismo di ereditarietà suggerisce che l'allele PWS normale è espresso solo nel cromosoma paterno e quello normale per la AS è espresso solo in quello materno. La PWS quindi si manifesta perché in presenza di delezione nel cromosoma paterno, l'allele materno non è in grado di compensarne la mancanza in quanto è esso stesso silenziato, (imprintato ossia represso, FIG. 16-7b ). In modo del tutto simile, la AS si manifesta quando l'allele AS paterno è imprintato (represso) e quindi è incapace di sopperire alla delezione avvenuta nel cromosoma materno ( FIG. 16-7c ).




**(a)** I due cromosomi 15 omologhi: quello *a sinistra* mostra la stretta vicinanza dei geni PWS ed AS, quello a destra evidenzia il sito della delezione che include sia il locus PWS che il locus AS.

**(b)** Questo individuo ha la sindrome di Prader-Willi perché lo spermatozoo portava un cromosoma 15 in cui il gene PWS era deleto. Il cromosoma con il gene PWS represso (imprintato), proveniente dalla cellula uovo, non è in grado di compensare la delezione.

**(c)** Questo individuo ha la sindrome di Angelman perché la cellula uovo conteneva un cromosoma 15 in cui il gene AS era deleto. Il cromosoma con il gene AS represso (imprintato), proveniente dallo spermatozoo, è incapace di compensare la delezione.

**PUNTO CHIAVE** Nei mammiferi sono stati trovati molti esempi di imprinting genomico e, senza dubbi, molti altri saranno scoperti in futuro.

FIGURA 16-7 *Imprinting genomico e sviluppo della sindrome di Prader-Willi (PWS) e di Angelman (AS)*

Il locus genico PWS è attivo nel gamete maschile e represso (imprintato) nel gamete femminile. Al contrario, il locus AS è attivo nel gamete femminile e represso (imprintato) in quello maschile.

**Verifica**

- Quali sono le anomalie cromosomiche specifiche della sindrome di Down, della sindrome di Klinefelter e della sindrome di Turner?
- Qual è l'anomalia cromosomica responsabile della sindrome cri-du-chat?
- Qual è l'anomalia cromosomica responsabile della sindrome dell'X fragile?

## 16.3 MALATTIE GENETICHE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Stabilire se ciascuno dei seguenti difetti genetici è ereditato come autosomico recessivo, autosomico dominante o recessivo legato all'X: fenilchetonuria (PKU), anemia falciforme, fibrosi cistica, malattia di TaySachs, morbo di Huntington ed emofilia A.

Abbiamo visto che alcune malattie umane sono basate su anomalie cromosomiche. Però, centinaia di quadri patologici dell'uomo sono legati a difetti enzimatici e sono dovuti a mutazioni in singoli geni.
La *fenilchetonuria* (*PKU*) e l'*alcaptonuria* (vedi Capitolo 13 ) sono esempi di queste malattie che vengono spesso definite errori congeniti del metabolismo , ossia patologie causate da mutazioni in geni codificanti per enzimi coinvolti nelle principali vie metaboliche. Sia la PKU che l'alcaptonuria comportano un blocco nel metabolismo di specifici aminoacidi.

### Molte malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici recessivi

Molte malattie genetiche nell'uomo presentano un quadro di ereditarietà semplice autosomica recessiva e, pertanto, si esprimono solo in omozigosi. Perché generalmente questi caratteri sono recessivi? La maggior

parte delle mutazioni recessive consiste in un allele mutato il cui prodotto o non funziona o è sintetizzato in quantità insufficiente. Nello stato eterozigote, è presente una copia funzionale del gene assieme ad una mutata. La cellula compensa quindi la presenza della mutazione con l'attività dell'allele normale che è solitamente in grado di produrre quantitativi sufficienti di proteina. Negli individui omozigoti recessivi entrambi gli alleli del gene sono non funzionali; questi individui sviluppano pertanto i sintomi della malattia.

### La fenilchetonuria (PKU) è dovuta ad una deficienza enzimatica

La fenilchetonuria (PKU) , che è più comune nelle persone con origini nell'Europa occidentale, è una malattia autosomica recessiva causata da un difetto nel metabolismo aminoacidico. Nel Nord America, colpisce circa 1 neonato su 10.000 nati. I soggetti omozigoti recessivi mancano di un enzima che trasforma un aminoacido, la fenilalanina, in un altro aminoacido, la tirosina. Questi individui accumulano alti livelli di fenilalanina, acido fenilpiruvico e composti simili.
La fenilalanina che si accumula è convertita in fenilchetoni, che danneggiano il sistema nervoso centrale, incluso il cervello, dei bambini. Il risultato ultimo è un severo ritardo mentale: un neonato omozigote per la PKU è di solito sano alla nascita perché la madre, che è eterozigote, produce abbastanza enzima per prevenire l'accumulo della fenilalanina prima della nascita. Tuttavia, durante l'infanzia e verso l'adolescenza, i prodotti tossici causano danni irreversibili al sistema nervoso centrale.
Negli anni '50 si vide che, se i bambini con PKU venivano identificati e trattati prima possibile con una dieta speciale povera di fenilalanina, i sintomi potevano essere ridotti drasticamente. Questa dieta è difficile da effettuare, in quanto non contiene carne, pesce, derivati del latte, pane o nocciole. Anche il sostituto dello zucchero, l'aspartame, presente nelle bibite e nei cibi dietetici, non può essere utilizzato, poiché anch'esso contiene fenilalanina. Sono stati messi a punto test biochimici per la PKU e lo screening dei neonati con un semplice test sul sangue è obbligatorio negli Stati Uniti. Questo programma di screening e la possibilità di un trattamento efficace hanno consentito di salvare migliaia di bambini da gravi ritardi mentali. La maggior parte di questi bambini deve continuare la dieta anche durante l'adolescenza. I medici raccomandano anche che la dieta sia seguita durante tutto l'arco della vita, in quanto alcuni adulti che non hanno seguito questo consiglio mostrano una diminuzione di alcune facoltà mentali, come la perdita della concentrazione e della memoria a breve termine.
Per ironia della sorte, il successo del trattamento della PKU durante l'infanzia presenta oggi un problema nuovo. Se una femmina omozigote, che si è salvata dal ritardo mentale, rimane incinta, gli alti livelli di fenilanina nel suo sangue possono danneggiare il cervello del feto che ha in utero, anche se il feto è eterozigote. Perciò, ella dovrà riprendere la dieta, preferibilmente prima di entrare in gravidanza. Tale procedimento generalmente (ma non sempre) riesce a prevenire gli effetti della PKU materna . È quindi molto importante che la donna con PKU sia al corrente della sua situazione, in modo da ricevere una consulenza appropriata e un trattamento medico adeguato durante la gravidanza.

### L'anemia falciforme deriva da un difetto dell'emoglobina

L' anemia falciforme viene ereditata come carattere autosomico recessivo. La malattia è maggiormente presente negli individui di origine africana (circa 1 su 500 Afro-Americani), e circa 1 su 12 Afro-Americani è eterozigote. A basse concentrazioni di ossigeno, i globuli rossi di una persona affetta da anemia falciforme hanno la forma a falce, o a mezza luna, mentre le cellule normali sono dei dischi biconcavi.
La mutazione che causa l'anemia falciforme è stata identificata per la prima volta nel 1957. Le cellule falciformi contengono un'emoglobina anomala che possiede nella catena β globina l'aminoacido valina al posto dell'acido glutammico in posizione 6 (il sesto aminoacido a partire dall'estremità amminica) (vedi Fig. 3-22a ). La sostituzione di un acido glutammico con una valina rende l'emoglobina meno solubile, appiccicosa, e quindi predisposta a formare strutture pseudocristalline responsabili del cambiamento di forma del globulo rosso. Questo si verifica nelle vene dopo che l'ossigeno è stato rilasciato dall'emoglobina. La forma anomala a falce delle cellule del sangue fa rallentare il flusso sanguigno e causa ostruzioni nei piccoli capillari ( FIG. 16-8 ), con conseguente danno tissutale (per la mancanza di ossigeno e delle sostanze nutritive essenziali) e crisi dolorose; queste cellule inoltre hanno una vita breve, il che provoca, nelle persone affette, una grave anemia.
Le terapie a disposizione per l'anemia falciforme comprendono rimedi contro il dolore, trasfusioni e, più recentemente, medicine come l'idrossiurea, che attiva il gene per la produzione di emoglobina fetale, normalmente non espresso dopo la nascita. La presenza nei globuli rossi dell'emoglobina fetale diluisce quella falcemica, diminuendo il dolore e la richiesta di trasfusioni. Attualmente, non si conosce l'effetto a lungo termine della idrossiurea, ma esiste il timore che possa indurre la formazione di tumori.
Sono in atto ricerche e studi mirati alla scoperta di una terapia genica per questi pazienti. Lo sviluppo di un modello murino dell'anemia falciforme ha permesso ai ricercatori di provare potenziali farmaci e terapie geniche. Nel primo esperimento di terapia genica nei topi, è stato utilizzato un retrovirus murino come vettore , un trasportatore che può trasferire l'informazione genetica. Tuttavia, il retrovirus non riusciva a

trasportare il gene per l'emoglobina normale all'interno del midollo osseo, dove le nuove cellule del sangue sono prodotte dalle cellule staminali. Nel 2001, i ricercatori sono riusciti a curare l'anemia falciforme nei topi utilizzando come vettore una forma di HIV modificata. Prima di poter provare questo tipo di trattamento sull'uomo, si deve dimostrare che il vettore HIV è assolutamente sicuro. Anche il trapianto di midollo osseo è un promettente trattamento per i pazienti gravemente malati.
La ragione per cui l'allele per l'anemia falciforme si trova con una frequenza più alta in alcune zone dell'Africa e dell'Asia è ben nota. Gli individui eterozigoti ( Hb A Hb S ), che portano gli alleli sia per l'emoglobina normale ( Hb A ) che per l'emoglobina responsabile dell'anemia falciforme ( Hb S ), sono più resistenti al parassita Plasmodium falciparum , che provoca una grave forma, spesso mortale, di malaria. Il parassita, che trascorre parte del suo ciclo vitale all'interno dei globuli rossi, non prospera quando è presente l'emoglobina anomala. (Un individuo eterozigote per l'anemia falciforme produce sia l'emoglobina normale che quella mutata). Le aree dell'Africa dove c'è la malaria da P. falciparum corrispondono esattamente alle aree in cui la frequenza dell'allele per l'anemia falciforme è più comune nella popolazione umana. In questo modo, gli individui Hb A Hb S , che possiedono una copia di un allele mutato per l'anemia falciforme, hanno un vantaggio selettivo sugli individui omozigoti, sia Hb A Hb A (che possono morire di malaria) sia Hb S Hb S (che possono morire di anemia falciforme). Questo fenomeno è conosciuto come vantaggio degli eterozigoti ed è trattato ulteriormente nel Capitolo "Cambiamneti evolutivi nelle popolazioni".

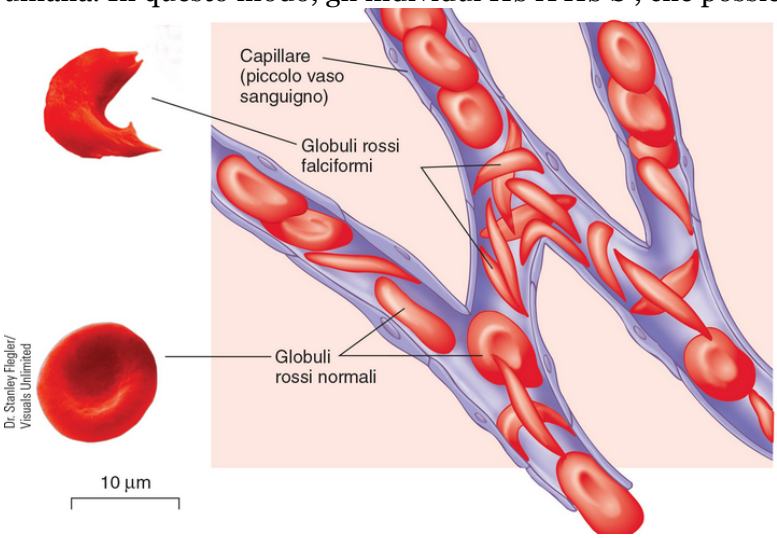



FIGURA 16-8
*Anemia falciforme*
Le cellule falciformi, al contrario dei globuli rossi normali, non passano facilmente attraverso i piccoli capillari, causando blocchi del flusso sanguigno che impediscono la distribuzione dell'ossigeno ai tessuti.

## La fibrosi cistica è la conseguenza di un sistema di trasporto ionico difettoso

La fibrosi cistica è la più comune malattia autosomica recessiva fra i bambini di origini europee (1 su 2500 nati). Circa 1 persona su 25 negli Stati Uniti è portatrice del gene per la fibrosi cistica, disturbo caratterizzato da secrezioni anormali. L'effetto più grave di questa malattia è a carico dell'apparato respiratorio, che produce muco molto viscoso. Le ciglia bronchiali non possono rimuovere facilmente il muco, che diventa così un mezzo di coltura per batteri nocivi. Questi batteri, o le loro tossine, attaccano i tessuti circostanti, dando origine a polmoniti ricorrenti ed altre complicazioni. Il muco molto viscoso si trova anche in altre parti del corpo, dove provoca problemi digestivi ed altri effetti.
Come è stato discusso in precedenza, il gene della fibrosi cistica codifica la proteina CFTR, che controlla il trasporto degli ioni cloruro attraverso le membrane cellulari. La proteina difettiva, presente nella membrana plasmatica delle cellule epiteliali che tappezzano i polmoni, l'intestino, il pancreas, il fegato, le ghiandole sudoripare e gli organi genitali, è responsabile della produzione di un muco molto denso, che alla fine porta a danni tissutali. Sebbene esistano forme differenti di questa malattia che si manifesta con quadri sintomatologici polimorfici (variabili), la fibrosi cistica è generalmente una malattia molto grave.
Per controllare le infezioni batteriche si usano gli antibiotici, ed ogni giorno è necessaria la fisioterapia per ripulire le vie respiratorie dal muco ( FIG. 16-9 ). Anche il trattamento con la Dornasi Alfa ( DNasi ), un enzima prodotto con la tecnologia del DNA ricombinante, è di valido aiuto nel tentativo di fluidificare il muco. Senza questi trattamenti la morte sopravviene durante l'infanzia, mentre con la terapia l'aspettativa di vita per le persone affette è di circa 38 anni. Visti i grossi limiti delle terapie a disposizione, si sta cercando di sviluppare una terapia genica per la fibrosi cistica.
L'allele mutato per le forme più gravi di fibrosi cistica predomina nell'Europa del Nord, mentre un altro, meno grave, è prevalente nell'Europa del Sud. È presumibile che questi alleli mutati siano il frutto di mutazioni indipendenti che sono state mantenute dalla selezione naturale. Alcune osservazioni sperimentali suffragano l'ipotesi che gli individui eterozigoti abbiano maggiori possibilità di sopravvivenza qualora contraggano malattie infettive gravi, che producono diarrea grave, come avviene per esempio nel colera. Questo è un altro esempio di vantaggio dell'eterozigote.

FIGURA 16.9 *Trattamento della fibrosi cistica*
Uno dei trattamenti tradizionali della fibrosi cistica comporta la percussione del torace o una lieve pressione su di esso per ripulire le vie respiratorie intasate dal muco. Tale tecnica viene tipicamente adoperata dopo una terapia aerosolica, che serve per fluidificare il muco.

### La malattia di Tay-Sachs è il risultato di un anomalo metabolismo lipidico nel cervello

La malattia di Tay-Sachs è una malattia autosomica recessiva del sistema nervoso centrale, che provoca cecità e grave ritardo mentale. I sintomi compaiono nel primo anno di vita e si concludono con la morte entro cinque anni. Per l'assenza di un enzima, un lipide che è normalmente presente nelle membrane delle cellule del cervello non viene demolito e si accumula nei lisosomi (organuli intracellulari discussi nel Capitolo 4 ). I lisosomi si rigonfiano, causando il malfunzionamento delle cellule nervose. Sfortunatamente, anche se molte ricerche sono in corso, al momento non è disponibile nessuna terapia efficace per la malattia di Tay-Sachs. Tuttavia, una strategia terapeutica efficace per il trattamento della malattia di Tay-Sachs è stata descritta nel 1997 in seguito a ricerche svolte su un modello murino. Questo trattamento, che richiede l'assunzione orale di un inibitore che riduce la sintesi del lipide che si accumula nei lisosomi, offre la speranza di affrontare in modo più efficiente la malattia di Tay-Sachs nell'uomo.
L'allele anomalo è particolarmente frequente negli Stati Uniti, fra gli ebrei i cui antenati provengono dall'Europa orientale (ebrei Ashkenazi). Invece, gli ebrei che provengono dalle regioni mediterranee (ebrei Sefarditi) hanno una bassissima frequenza dell'allele.

## Alcune malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici dominanti

La malattia di Huntington ( HD ), chiamata così perché è stata descritta per la prima volta nel 1872 dal medico americano George Huntington, è determinata da un raro allele autosomico dominante che colpisce il sistema nervoso. La malattia provoca un grave deterioramento fisico e mentale, spasmi incontrollati dei muscoli, cambiamento della personalità ed infine la morte. Non è stata trovata una terapia efficace. Ogni figlio di un genitore affetto dalla patologia ha il 50% di probabilità di esserne anche lui affetto (e di trasmettere a sua volta l'allele anomalo a metà della sua prole). Generalmente, ci aspetteremmo che un allele dominante con tali aspetti devastanti sia presente solo come effetto di una mutazione nuova e che non possa essere trasmesso alle generazioni successive. Tuttavia, questa malattia si manifesta relativamente tardi (di solito non prima dei 40 anni), cosicché un soggetto può avere dei figli prima di rendersi conto della presenza dell'allele mutato ( FIG. 16-10 ). Nel Nord America, la HD ha una frequenza di 1 su 20.000 nati vivi.
Il gene responsabile della malattia di Huntington è localizzato ad un'estremità del cromosoma 4. La mutazione è una tripletta di nucleotidi (CAG) ripetuta molte volte; l'allele normale ha da 6 a 35 CAG ripetute, mentre l'allele mutante ha la tripletta CAG ripetuta da 40 a più di 150 volte. Dal momento che la tripletta CAG codifica per l'aminoacido glutammina, la proteina che ne deriva, detta "huntingtina", ha un lungo filamento di glutammine. Il numero delle triplette ripetute sembra essere importante nel determinare l'età di esordio della malattia e la sua gravità; un maggior numero di triplette è correlato con un esordio più precoce e con una maggiore gravità.
Molte ricerche sono indirizzate a studiare come la mutazione sia connessa alla neurodegenerazione cerebrale. Un modello murino della malattia di Huntington fornisce validi indizi sullo sviluppo della patologia. Utilizzando questo modello, i ricercatori hanno dimostrato che la versione difettiva dell'huntingtina si lega ad enzimi chiamati *acetiltransferasi* nelle cellule cerebrali, bloccandone l'azione. Le acetiltransferasi sono implicate nell'accensione dell'espressione genica, per cui, nelle cellule cerebrali degli individui affetti da HD, gran parte della normale trascrizione non può avvenire. Una volta compreso meglio il meccanismo d'azione della HD sulle cellule nervose, sarà anche possibile sviluppare trattamenti efficaci per rallentare la progressione della malattia.

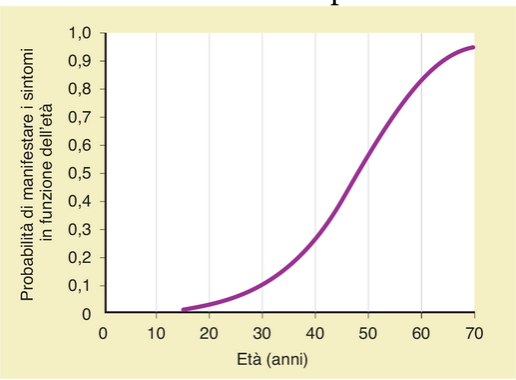



FIGURA 16-10
*Età di insorgenza della malattia di Huntington*
Il grafico mostra la probabilità cumulativa che un individuo che possiede l'allele responsabile della malattia di Huntington manifesti i sintomi ad una determinata età. (Adattato da P. S. Harper, Genetic Counseling , 5th edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1998).

Il clonaggio dell'allele HD è diventato la base per i test che permettono alle persone a rischio di sapere se sono portatrici dell'allele. La decisione di sottoporsi a tali test è inequivocabilmente molto personale, ma indubbiamente può essere utile per chi deve decidere di avere o meno dei figli. Tuttavia, chi risulta positivo per l'allele HD deve vivere con la certezza che alla fine svilupperà questa malattia devastante e incurabile. Si spera che le persone che scelgono di essere identificate come persone affette prima della manifestazione dei sintomi possano contribuire allo sviluppo di terapie efficaci.

## Alcune malattie genetiche sono ereditate come caratteri recessivi legati al cromosoma X

L' emofilia A veniva citata una volta come malattia delle case regnanti, a causa della sua alta incidenza fra i

discendenti maschi della regina Vittoria; essa si trova tuttavia anche in alberi genealogici di famiglie comuni. Caratterizzata dalla mancanza di un fattore della coagulazione del sangue, il fattore VIII, l'emofilia A provoca emorragie all'interno della testa, nelle articolazioni ed in altre aree, anche per piccole ferite. Siccome la modalità di trasmissione è di tipo recessivo legato all'X, le persone affette sono quasi esclusivamente maschi, avendo ereditato dalla madre portatrice eterozigote l'allele mutato presente sul cromosoma X. (Una femmina, per essere affetta da una malattia legata all'X, deve ereditare gli alleli mutati da entrambi i genitori, mentre un maschio deve ereditare un solo allele mutato dalla madre).
Oggi la terapia consiste in trasfusioni sanguigne e somministrazione in vena di fattore VIII (il prodotto del gene non funzionante). Sfortunatamente, questi trattamenti sono costosi e molte preparazioni di fattore VIII, ottenute da plasma umano, sono risultate contaminate, negli anni '80, dall'HIV-1, il virus che causa l'AIDS. Come conseguenza, molti malati di emofilia sono deceduti per AIDS. Però, dal 1992 è disponibile il fattore VIII esente da contaminazioni virali, che deriva sia dal plasma umano sia dalla tecnologia del DNA ricombinante.

### I genetisti stanno iniziando ad identificare i geni associati al cromosoma X che influiscono sull'intelligenza

Il cromosoma X contiene una frazione sproporzionata degli oltre 200 geni finora identificati che hanno effetti sulle capacità cognitive, ad esempio codificando per proteine necessarie per il normale funzionamento del cervello. Non è sorprendente che molti tipi di ritardo mentale siano associati a difetti in geni presenti sul cromosoma X. Il cromosoma X umano contiene meno del 4% del genoma umano, ma il 10% dei geni responsabili di qualche forma di ritardo mentale si trova sul cromosoma X. Poiché i maschi posseggono un solo cromosoma X, sono più numerosi i maschi affetti da qualche forma di ritardo mentale che non le femmine, un'osservazione nota da oltre un secolo.

**Verifica**

- Quali delle seguenti malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici recessivi? Fenilchetonuria, morbo di Huntington, malattia di Tay-Sachs.
- Quali delle seguenti malattie genetiche sono ereditate come caratteri autosomici dominanti? Anemia falciforme, emofilia A, morbo di Huntington.
- Quali delle seguenti malattie genetiche sono ereditate come caratteri recessivi legati al cromosoma X? Emofilia A, fibrosi cistica, malattia di Tay-Sachs.

## 16.4 LA TERAPIA GENICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Discutere brevemente il procedimento della terapia genica, inclusi alcuni dei problemi tecnici che presenta.

Molte sono le difficoltà relative al trattamento delle malattie genetiche più gravi e pertanto gli scienziati sognano da sempre di riuscire a scoprire rimedi efficaci per queste patologie. Oggi, grazie all'ingegneria genetica, i loro sogni si avvicinano alla realtà. Una strategia è la terapia genica ovvero un approccio terapeutico basato sulla sostituzione dell'allele difettivo mutato con l'allele normale (e la sua proteina espressa) in alcune cellule del corpo. Il ragionamento alla base di questa strategia è che, nonostante un particolare allele possa essere presente in tutte le cellule, esso si esprime solo in alcune; l'espressione dell'allele normale nelle sole cellule che lo richiedono può essere sufficiente a conferire un fenotipo normale ( FIG. 16-11 ).

Questo approccio presenta una serie di ostacoli tecnici, la cui soluzione deve essere trovata considerando la natura del gene stesso, del suo prodotto e dei tipi di cellule nelle quali si deve esprimere. Prima il gene deve essere clonato, poi il suo DNA deve essere introdotto nelle cellule appropriate.

La tecnica migliore è quella di impacchettare il materiale genetico in un virus, creando un vettore virale, cioè un'entita biologica in grado di introdurre l'allele normale all'interno delle cellule mutate. Idealmente, il virus dovrebbe infettare un'alta percentuale di cellule e, ancora più importante, non dovrebbe essere pericoloso, specialmente a lungo termine. Inizialmente la terapia genica ha sfruttato le proprietà di un adenovirus, l'agente eziologico del comune raffreddore, tuttavia alcuni pazienti hanno avuto una forte reazione immunitaria che ha portato a privilegiare, negli studi clinici successivi, i virus adeno-associati che non causano effetti collaterali.

Fino ad oggi, la terapia genica ha avuto successo nel 90% dei casi di ricostituzione del sistema immunitario in 30 bambini affetti da *immunodeficienza combinata grave* (SCID). (La SCID è un gruppo di disordini ereditari che compromettono seriamente il sistema immunitario). Il successo ottenuto con questo approccio terapeutico è decisamente superiore al 50% precedentemente raggiunto con la terapia tradizionale, basata sul trapianto di midollo osseo.
Sebbene gli ostacoli da superare siano molti, la terapia genica per parecchie malattie genetiche è in fase di avanzato sviluppo o di sperimentazione clinica su pazienti. I ricercatori attualmente si orientano sullo studio dei singoli problemi presentati da ciascuna malattia.

### I programmi di terapia genica sono sotto stretto controllo

Fino a poco tempo fa, i continui progressi tecnologici avevano condotto ad un incremento costante degli studi clinici sulla terapia genica. Tuttavia, la morte di un paziente durante un trial clinico nel settembre 1999, e cinque casi più recenti di leucemia in bambini, uno dei quali è deceduto, hanno provocato il brusco calo di molte sperimentazioni, in attesa di ulteriori valutazioni sui possibili rischi della terapia genica per la salute. Il maggiore obiettivo di queste valutazioni riguarda la potenziale tossicità dei vettori virali. Il vettore utilizzato nel giovane paziente morto era un adenovirus, richiesto in alte dosi per ottenere una terapia efficace, basata sul trasferimento di un elevato numero di copie dell'allele normale. Sfortunatamente, le alte dosi virali hanno indotto nel paziente una forte risposta immunitaria, risultata poi fatale. I bambini che hanno sviluppato la leucemia erano in trattamento per la SCID. In questi casi, il vettore era un retrovirus, il quale ha inserito il proprio genoma in prossimità di un oncogene che causa la leucemia nell'infanzia, attivandolo.
La conduzione di studi clinici sull'uomo comporta sempre rischi elevati. I pazienti devono essere accuratamente selezionati, e i potenziali benefici, insieme ai rischi (se noti), devono essere spiegati al paziente con grande chiarezza o, nel caso dei bambini, i genitori devono dare un consenso informato per la procedura che si intende effettuare. Comunque, le questioni sollevate negli ultimi anni sui problemi connessi alla terapia genica hanno spinto i ricercatori ad impegnarsi nello sviluppo di alternative più sicure rispetto ai vettori virali.

**METODO DI RICERCA** *Perché si usa?* I topi sono modelli sperimentali adatti allo sviluppo di nuove conoscenze sulla terapia genica, tecnica che consente di inserire alleli funzionali in sostituzione di altri difettivi e responsabili di malattie genetiche. Questa procedura è applicata all'uomo per alcuni tipi di malattie genetiche.
*Come funziona?*

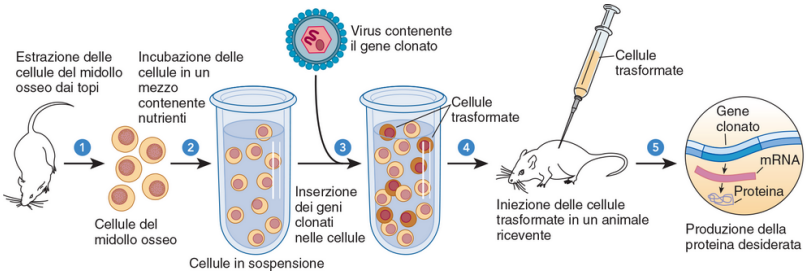



FIGURA 16-11
*Terapia genica nelle cellule del midollo osseo di un topo*

### Verifica

- Come vengono usati i virus nella terapia genica umana?
- Perché i vettori virali rappresentano una potenziale preoccupazione nella terapia genica umana?

## 16.5 LA CONSULENZA E I TEST GENETICI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

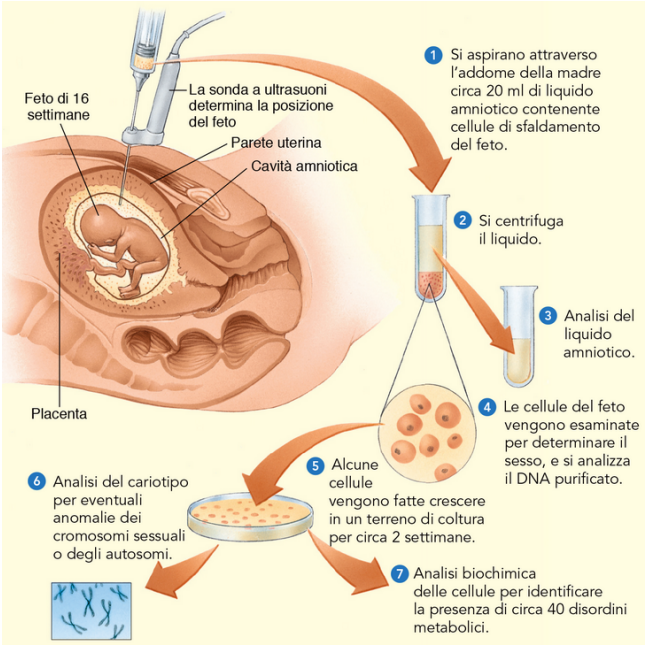
8. Indicare i relativi vantaggi e svantaggi di amniocentesi, prelievo dei villi coriali e diagnosi genetica preimpianto nella diagnosi prenatale di anomalie genetiche nell'uomo.
9. Distinguere tra programmi di screening genetico nei neonati e negli adulti e discutere le finalità e le implicazioni della consulenza genetica.

Sono stati fatti molti progressi nella diagnosi delle malattie genetiche. Questi progressi, che includono la diagnosi prenatale e lo screening genetico, forniscono utili informazioni alle coppie che siano esposte al rischio di generare figli affetti da malattie genetiche. Aiutare le coppie a capire e a confrontarsi con queste informazioni è un aspetto essenziale del campo, in rapida espansione, della consulenza genetica.

## La diagnosi prenatale può rivelare anomalie cromosomiche e difetti genici

Negli ultimi venti anni, i medici hanno riportato crescenti successi nella diagnosi prenatale di una serie di malattie genetiche. In una tecnica diagnostica, conosciuta come amniocentesi, si preleva un campione del *liquido amniotico* che circonda il feto inserendo un ago nell'addome di una donna gravida, attraverso la parete dell'utero e aspirando dalla cavità amniotica una quota del fluido con una siringa ( FIG. 16-12 ). Questa procedura è relativamente sicura, soprattutto perché attraverso l'ecografia si può determinare la posizione del feto, della placenta e dell'ago (la Figura 51-18 mostra un'ecografia di un feto umano). Tuttavia esiste una probabilità dello 0,5% (1 su 200) che l'amniocentesi induca un aborto.

Il liquido amniotico contiene cellule di sfaldamento del feto dalle quali è possibile determinare le sue caratteristiche genetiche. Queste cellule possono essere coltivate in laboratorio e dopo due settimane le cellule in divisione possono essere cariotipizzate per evidenziare eventuali anomalie cromosomiche ed altri difetti genetici. Sono stati messi a punto anche altri tipi di analisi per l'identificazione della maggior parte delle anomalie cromosomiche. L'amniocentesi viene eseguita dagli anni '60 principalmente su donne gravide sopra i 35 anni, la cui prole è a maggior rischio soprattutto per la sindrome di Down.




**PUNTO CHIAVE** Nell'amniocentesi viene prelevato il fluido che circonda il feto intorno alla sedicesima settimana di gravidanza per diagnosticare malattie genetiche o alterazioni dello sviluppo embrio-fetale.

FIGURA 16-12 *Amniocentesi*
L'amniocentesi consente la diagnosi prenatale di alcune malattie genetiche e di altre condizioni anomale.

Sono stati messi a punto ulteriori test prenatali per individuare una serie di malattie genetiche con quadri di ereditarietà semplici, ma si tratta di malattie abbastanza rare, tanto che i test vengono eseguiti solamente se ci sono sospetti per un particolare problema. Le deficienze enzimatiche sono spesso identificate incubando le cellule recuperate dal liquido amniotico con il substrato specifico e misurando, quindi, il prodotto. Questa tecnica è stata utile nella diagnosi prenatale di malattie come quella di TaySachs. I test per un gruppo di altre malattie, incluse l'anemia falciforme, la malattia di Huntington e la fibrosi cistica, sono effettuati analizzando direttamente il DNA alla ricerca dell'allele difettivo.

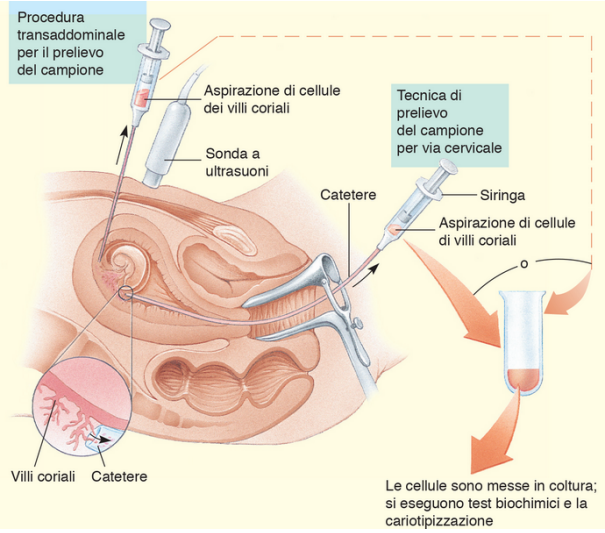
L'amniocentesi è utile anche nell'identificare una condizione conosciuta come *spina bifida*, un'anomalia di sviluppo caratterizzata da una difettosa chiusura della impalcatura ossea del midollo spinale. Si tratta di una malformazione riscontrabile alla nascita ed è relativamente frequente (circa 1 su 300 nati). Questo difetto è associato a livelli eccezionalmente elevati di una proteina che si trova normalmente nel liquido amniotico, l' *α-fetoproteina*. Una certa quantità di questa proteina attraversa la placenta e si riversa nel sangue della madre, che viene analizzato per dosare la quantità di *α-fetoproteina presente nel siero materno* ( *MSAFP* ) come indicatore biochimico in grado di rivelare il difetto della spina bifida.

Se si riscontrano alti livelli di MSAFP, vengono condotti ulteriori test diagnostici, come l'ecografia e l'amniocentesi. (È interessante notare che livelli *bassi*, al di sotto della normalità, di MSAFP sono associati alla sindrome di Down e ad altre trisomie).

Un problema connesso con l'amniocentesi è che la maggior parte delle anomalie evidenziate è incurabile e che i risultati completi dell'analisi si possono ottenere nel secondo trimestre di gravidanza, quando l'aborto diventa più difficile sia dal punto di vista medico che psicologico. Perciò, si è cercato di sviluppare delle metodiche che diano risultati informativi in uno stadio più precoce della gravidanza. Uno di questi è il prelievo dei villi coriali (CVS) , che comporta il prelievo e lo studio di cellule che andranno a contribuire alla parte fetale della placenta ( FIG. 16-13 ). Il CVS, effettuato negli Stati Uniti dal 1983, è associato ad un rischio leggermente più alto di infezioni e di aborto rispetto all'amniocentesi, ma presenta il vantaggio che i risultati si possono ottenere nel primo trimestre.

Una procedura di screening embrionale relativamente nuova, conosciuta come diagnosi genetica preimpianto (PGD) , è disponibile per le coppie portatrici degli alleli responsabili della malattia di Tay-Sachs, dell'emofilia, dell'anemia falciforme e di dozzine di altre condizioni genetiche ereditarie. La PGD è un supporto diagnostico introdotto con la tecnologia della riproduzione assistita. Il concepimento avviene con la fecondazione in vitro (IVF) , in cui si raccolgono i gameti, si fecondano le uova in una piastra di

laboratorio e si impianta l'embrione risultante nell'utero per il successivo sviluppo (vedi Approfondimenti: origini insolite, nel Capitolo 50 ). Gli embrioni vengono analizzati per una o più malattie genetiche *prima* dell'impianto nell'utero della donna. La PGD differisce dall'amniocentesi e dal prelievo dei villi coriali in quanto è un test che viene eseguito prima che una donna sia gravida, in modo da evitare di dover prendere la decisione di interrompere o meno la gravidanza nel caso in cui l'embrione presenti un'anomalia genetica. Tuttavia, la PGD non è accurata come l'amniocentesi o il prelievo dei villi coriali ed è anche più costosa. Inoltre, spesso questa procedura è anche controversa, in quanto alcune coppie la utilizzano non allo scopo di effettuare uno screening delle malattie genetiche, bensì per scegliere il sesso del nascituro.




Tutte le tecniche (amniocentesi, prelievo dei villi coriali e diagnosi genetica preimpianto) possono diagnosticare alcune malattie genetiche con un alto grado di precisione, ma esse non sono completamente sicure e molte malattie possono non essere diagnosticate; pertanto, l'assenza di un risultato anomalo non garantisce una gravidanza normale.

**PUNTO CHIAVE** Nel prelievo dei villi coriali, si preleva un campione di cellule del corion, geneticamente identiche a quelle dell'embrione, solitamente durante l'ottava o la nona settimana di gestazione, per rilevare eventuali anomalie genetiche.

FIGURA 16-13 *Il prelievo dei villi coriali (CVS)*
Questo test consente la diagnosi precoce di alcune anomalie genetiche. I campioni si ottengono inserendo un ago attraverso la parete uterina o l'apertura cervicale.

## Lo screening genetico ricerca particolari genotipi o cariotipi

Lo screening genetico rappresenta la ricerca sistematica, nella popolazione, di individui con un genotipo o un cariotipo che possa causare una malattia genetica in loro stessi o nei loro figli. Esistono due principali tipi di screening genetico, per i neonati e per gli adulti, ognuno dei quali ha uno scopo diverso. Lo screening dei neonati viene effettuato essenzialmente come primo passo della medicina preventiva, mentre quello sugli adulti ha la finalità di aiutarli ad acquisire informazioni sui possibili rischi legati alla riproduzione.
I neonati sono analizzati per rivelare e trattare una o più malattie genetiche prima della manifestazione della sintomatologia. Lo screening routinario dei neonati per la PKU è iniziato nel 1962 in Massachusetts e oggi molti Stati hanno leggi che rendono questo screening obbligatorio. Anche l'anemia falciforme può essere curata più efficacemente se la diagnosi è effettuata precocemente. In questo caso, è possibile ridurre la mortalità infantile di circa il 15%, in quanto la somministrazione di antibiotici aiuta a prevenire le infezioni batteriche, cui sono suscettibili i neonati con anemia falciforme. Il numero delle malattie genetiche per cui è disponibile lo screening nei neonati è in rapido aumento e molti paesi stanno decidendo quale sia il modo migliore per implementare procedure addizionali di analisi, oltre ai 29 disordini, per lo più genetici, per i quali oggi è raccomandato lo screening.

Lo screening genetico negli adulti viene effettuato per identificare i portatori (eterozigoti) di malattie genetiche recessive. I portatori vengono quindi edotti circa il rischio di avere bambini malati se entrambi i genitori sono portatori. Dal 1970, circa un milione di ebrei negli Stati Uniti, in Israele e in altre nazioni si sono sottoposti volontariamente allo screening per la malattia di Tay-Sachs, e circa 1 su 30 è risultato portatore. Lo screening per la malattia di TaySachs ha ridotto l'incidenza della patologia quasi a zero.

## I consulenti genetici informano le persone rispetto alle malattie genetiche

Coppie di genitori preoccupate circa il rischio di anomalie nei loro figli, perché hanno avuto un precedente figlio con patologie o un parente affetto da una malattia ereditaria, possono rivolgersi al consultorio genetico . I consulenti genetici forniscono informazioni mediche e genetiche, così come supporto e guida. Nelle maggiori città esistono delle strutture specializzate in genetica medica solitamente affiliate alle principali istituzioni accademiche.
I consulenti genetici, che hanno una preparazione specializzata in consulenza, medicina e genetica umana, forniscono informazioni necessarie per poter prendere decisioni. I consigli possono essere dati solo in termini di *probabilità* del verificarsi di una particolare situazione per ogni singolo discendente. Il genetista ha bisogno della storia familiare completa di entrambi i genitori e può usare test per individuare gli eterozigoti portatori di una certa condizione.
È molto importante che i portatori identificati ricevano una consulenza genetica appropriata. Un consulente genetico è preparato non solo a fornire informazioni necessarie nel caso di decisioni riproduttive, ma anche

ad aiutare i singoli individui a comprendere la loro situazione genetica e a non sentirsi discriminati.

**Verifica**

- Quali sono i relativi vantaggi e svantaggi di amniocentesi, prelievo dei villi coriali e diagnosi genetica preimpianto?
- Qual è la finalità dello screening genetico per i neonati?
- Qual è la finalità dello screening genetico per gli adulti?

## 16.6 GENETICA UMANA, SOCIETÀ ED ETICA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Discutere le controversie relative alla discriminazione genetica.

Esistono molte idee sbagliate sulle malattie genetiche e sul loro effetto sulla società. Alcune persone pensano erroneamente che certi individui, o popolazioni, siano geneticamente non idonei e responsabili di molti dei mali della società. Per esempio, essi sostengono che il trattamento medico di individui affetti da malattie genetiche, particolarmente quelli in grado di riprodursi, possa aumentare la frequenza di alleli anormali nella popolazione. Tuttavia, queste nozioni non sono corrette: le malattie genetiche sono così rare che i moderni trattamenti medici possono avere solo un effetto trascurabile sulla loro incidenza.
Gli alleli mutanti recessivi sono presenti in tutti gli individui e in tutti i gruppi etnici; nessuno ne è esente. Ciascuno di noi è probabilmente eterozigote per diversi (da 3 a 15) alleli molto pericolosi, ognuno dei quali potrebbe provocare malattie debilitanti o la morte nella condizione di omozigosi. Perché allora le malattie genetiche sono relativamente poco frequenti? Ognuno di noi possiede molte migliaia di alleli essenziali, ognuno dei quali può mutare. È molto improbabile che un allele mutato presente in una persona si trovi anche nel coniuge. Naturalmente, questa possibilità aumenta se l'allele dannoso è relativamente comune, come quello per la fibrosi cistica.
I consanguinei hanno maggiori probabilità di possedere gli stessi alleli mutati rispetto a persone senza rapporti di parentela, perché li hanno ereditati da un antenato comune. Infatti, la maggiore frequenza di una particolare malattia genetica nella prole di matrimoni fra consanguinei è spesso la prima indicazione della modalità di eredità autosomica recessiva della patologia. I figli di genitori consanguinei hanno un rischio superiore di manifestare una malattia ereditaria, e rappresentano in una popolazione la percentuale più alta di individui affetti da difetti autosomici recessivi. A causa di questo notevole costo sociale, in molti stati USA vengono proibiti i matrimoni fra consanguinei, compresi i primi cugini. Tuttavia, tali matrimoni sono ancora frequenti in alcuni paesi in via di sviluppo.

### La discriminazione genetica ha provocato un acceso dibattito

Lo screening genetico è una delle aree della diagnostica medica che cresce più in fretta, ed ogni anno aumentano i test per evidenziare malattie come la fibrosi cistica, l'anemia falciforme, il morbo di Huntington, il cancro del colon e della mammella. Tuttavia, l'analisi genetica solleva molte questioni sociali, etiche e legali che la società deve affrontare.
Una delle questioni più argomentate è se l'informazione genetica debba essere accessibile alle compagnie assicurative che stipulano polizze sulla vita e sulla salute. Molte persone sostengono che l'informazione genetica non debba essere comunicata alle compagnie di assicurazione, ma altri, come i datori di lavoro, gli assicuratori e molte associazioni che rappresentano le persone affette da malattie genetiche, pensano che questo modo di vedere non sia realistico. Se le persone usano i test genetici per essere aiutati a decidere quando e per quanto assicurarsi, anche gli assicuratori insistono per avere accesso alle stesse informazioni. Gli assicuratori dicono di aver bisogno di accedere ai dati genetici per calcolare premi equi (l'intero concetto di assicurazione si basa sul calcolo della media del rischio in una grande popolazione). Tuttavia, in questo caso ci sono preoccupazioni emergenti, perché gli assicuratori potrebbero usare i risultati dei test genetici per discriminare le persone con malattie genetiche o per negare loro la copertura assicurativa.
I medici argomentano che gli individui a rischio per una particolare malattia genetica potrebbero ritardare l'effettuazione delle analisi per il timore di essere discriminati da assicuratori e datori di lavoro. La discriminazione genetica è la discriminazione nei confronti di individui o membri di determinate famiglie a causa delle loro differenze rispetto al genoma "normale". La percezione della possibile discriminazione genetica è già evidente nella società. In uno studio del 1996, il 25% di 332 individui con una storia familiare di una o più malattie genetiche riteneva che gli fosse stata rifiutata l'assicurazione sulla vita, il 22% che gli fosse stata rifiutata l'assicurazione sanitaria e il 13% che gli fosse stato rifiutato un lavoro per discriminazione genetica. Da un'indagine effettuata nel 1998 dal National Center for Genetic Resources, è risultato che il 63% degli intervistati ha affermato che probabilmente, o certamente, non si sarebbe sottoposto ad un test genetico se i risultati fossero stati rivelati ai datori di lavoro o agli assicuratori

A rendere questo punto ancora più complicato vi è il fatto che i test genetici sono talvolta difficili da interpretare, in parte perché esistono molte interazioni complesse tra geni ed ambiente. Se, per esempio, una donna è positiva ai test per un allele che è correlato al tumore della mammella, ha un rischio significativo; ma la positività al test non vuole necessariamente dire che ella svilupperà il tumore della mammella. Queste incertezze rendono difficile decidere la forma di intervento più appropriata da un punto di vista medico, che può andare da frequenti mammografie alla rimozione chirurgica preventiva delle mammelle sane.
Il programma di ricerca sulle implicazioni etiche, legali e sociali (ELSI) del National Human Genome Research Institute ha sviluppato dei princìpi per proteggere le persone dalla discriminazione genetica. Il Genetic Information Non-discrimination Act (GINA) , emanato nel 2008, introduce alcuni principi importanti per la tutela dei diritti della salute e la non discriminazione sul luogo di lavoro. Questa legge proibisce ai datori di lavoro e alle compagnie assicurative di perseguire comportamenti discriminatori derivati dall'analisi di test genetici. Per esempio, né i datori di lavoro né le compagnie di assicurazione sono autorizzati a richiedere test genetici. I lavoratori sono tenuti, a loro volta, a non adottare comportamenti lavorativi inadeguati come conseguenza dell'effettuazione di analisi genetiche. Inoltre è fatto divieto alle compagnie assicurative di negare rimborsi o aumentare i costi delle polizze sulla base di informazioni genetiche.

### Devono essere affrontate molte questioni etiche relative alla genetica umana

La discriminazione genetica è solo un esempio delle questioni etiche sollevate dalle crescenti scoperte e da progressi tecnologici in genetica umana. Consideriamo i seguenti interrogativi, tutti concernenti l'ampia questione etica dei diritti degli individui: qual è l'età minima alla quale dovrebbe essere permesso effettuare un test genetico per la diagnosi di una malattia con insorgenza nell'età adulta, come il morbo di Huntington? Quali sono le conseguenze emotive e psicologiche negli individui a cui sia stata diagnosticata una malattia genetica incurabile? I test dovrebbero essere effettuati nel caso in cui alcuni membri della famiglia siano d'accordo ed altri no? I genitori dovrebbero avere il diritto di sottoporre i figli minorenni ad un test genetico? L'accesso ai dati derivanti da test genetici dovrebbe essere consentito nei casi di attribuzione di paternità o parentela? Gli Stati dovrebbero avere il diritto di raccogliere i dati genetici dei propri cittadini? Gli amministratori scolastici e gli enti esecutivi della legge dovrebbero avere accesso ai dati genetici? Questi interrogativi rappresentano soltanto una piccola parte degli innumerevoli problemi etici che bisogna prendere in considerazione, sia oggi che in futuro. Al crescere dell'importanza del ruolo sociale della genetica umana, dovranno essere affrontati i problemi relativi alla privacy genetica ed alla riservatezza dell'informazione genetica.

### Verifica

- Perché non è corretto affermare che determinati individui o popolazioni portano la maggior parte degli alleli anormali presenti nell'uomo?
- Perché si esprima una malattia genetica autosomica recessiva, l'allele mutato deve essere in condizione di omozigosi. Che relazione c'è tra questo concetto ed i matrimoni tra consanguinei?
- Perché le compagnie di assicurazione che stipulano polizze sulla salute e sulla vita chiedono l'accesso alle informazioni genetiche dei loro clienti?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

16.1

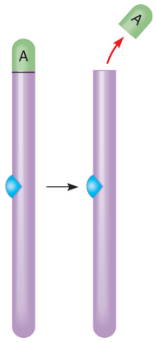
1. Fare una distinzione tra analisi del cariotipo ed analisi degli alberi genealogici (pedigree).
    - Gli studi del cariotipo di un individuo, il numero ed il tipo di cromosomi presenti nel nucleo, permettono di rivelare varie anomalie cromosomiche.
    - Un albero genealogico (pedigree) è un grafico che mostra la trasmissione dei caratteri genetici all'interno di una famiglia, attraverso varie generazioni. L'analisi degli alberi genealogici è utile per l'identificazione, all'interno di una famiglia, di mutazioni autosomiche dominanti, autosomiche recessive e recessive legate al cromosoma X, nonché di difetti dovuti all' imprinting genomico , ovvero la diversa espressione di un gene a seconda dell'origine parentale.
2. Discutere le implicazioni del Progetto Genoma Umano.
    - Il genoma umano rappresenta tutta l'informazione genetica presente nelle cellule umane. Il Progetto Genoma Umano ha permesso di sequenziare tutto il DNA che costituisce il genoma nucleare umano. Ora che il genoma umano è stato sequenziato, i ricercatori saranno impegnati per molti decenni nell'identificazione dei geni e nella comprensione del ruolo di ogni gene, delle modalità di interazione tra i geni e delle modalità di regolazione dell'espressione di ciascuno di essi nei diversi tessuti. Per esempio, i ricercatori hanno iniziato ad utilizzare la tecnica dell' associazione genomica su larga scala (GWA) per

identificare le varianti genetiche associate a patologie umane complesse.

3. Discutere il modello murino per lo studio della fibrosi cistica.
    - L'utilizzo di modelli animali aiuta notevolmente i ricercatori nello studio delle malattie genetiche. È stato utilizzato il gene targeting per generare ceppi di topi che fossero omozigoti ed eterozigoti per la fibrosi cistica; i risultati di tali studi potranno portare allo sviluppo di farmaci più efficaci per la cura di questa malattia.

16.2

4. Spiegare come la non disgiunzione durante la meiosi possa essere responsabile di anomalie cromosomiche come la sindrome di Down, la sindrome di Klinefelter e la sindrome di Turner.
    - Nelle aneuploidie ci sono copie mancanti, o in soprannumero, di certi cromosomi. Le aneuploidie comprendono la trisomia , in cui un individuo ha un cromosoma in più, e la monosomia , in cui manca un membro di una coppia di cromosomi.
    - La trisomia 21 , la forma più comune di sindrome di Down , e la sindrome di Klinefelter (XXY) sono esempi di trisomia. La sindrome di Turner (X0) è un esempio di monosomia.
    - La trisomia e la monosomia sono causate dalla non disgiunzione meiotica, in cui i cromatidi fratelli o i cromosomi omologhi non si separano in modo appropriato durante la meiosi.
5. Distinguere tra le seguenti anomalie strutturali dei cromosomi: traslocazioni, delezioni e siti fragili.
    - In una traslocazione , una parte di un cromosoma si unisce ad un altro cromosoma. Circa il 4% degli individui con la sindrome di Down ha una traslocazione in cui il braccio lungo del cromosoma 21 è attaccato al braccio lungo di uno dei cromosomi più grandi, come il cromosoma 14.
    - In una delezione , un cromosoma si rompe e non si risalda. La delezione può variare in dimensioni, da poche coppie di basi ad un intero braccio del cromosoma. Una malattia da delezione nell'uomo è la sindrome "cri-du-chat" , in cui una parte del braccio corto del cromosoma 5 è deleta.




    - I siti fragili si possono presentare in posizioni specifiche su entrambi i cromatidi di un determinato cromosoma. Nella sindrome dell'X fragile , il sito fragile si trova vicino ad un'estremità del cromosoma X, dove la tripletta di nucleotidi CGG è ripetuta molte più volte del normale. La sindrome dell'X fragile è la causa più comune di ritardo mentale ereditario.

16.3

6. Stabilire se ciascuno dei seguenti difetti genetici è ereditato come autosomico recessivo, autosomico dominante o recessivo legato all'X: fenilchetonuria (PKU), anemia falciforme, fibrosi cistica, malattia di Tay-Sachs, morbo di Huntington ed emoflia A.
    - La maggior parte delle malattie genetiche ad eredità semplice dell'uomo è trasmessa come carattere autosomico recessivo. La fenilchetonuria (PKU) è una malattia autosomica recessiva nella quale la presenza di fenilchetoni tossici danneggia il sistema nervoso durante lo sviluppo. L' anemia falciforme è una malattia autosomica recessiva nella quale viene prodotta un'emoglobina (la proteina che trasporta l'ossigeno nel sangue) anormale. La fibrosi cistica è una malattia autosomica recessiva nella quale si ha una secrezione anormale principalmente a livello delle vie respiratorie e digestive. La malattia di Tay-Sachs è una malattia autosomica recessiva causata da un anomalo metabolismo lipidico nel cervello.
    - La malattia di Huntington ha un quadro di ereditarietà autosomico dominante. Si manifesta nell'età adulta con deterioramento fisico e mentale.
    - L' emofilia A è una malattia recessiva legata all'X. Consiste nel difetto di uno dei fattori della coagulazione del sangue.

16.4

7. Discutere brevemente il procedimento della terapia genica, inclusi alcuni dei problemi tecnici che presenta.
    - Nella terapia genica , l'allele normale viene clonato ed il suo DNA è introdotto in determinate cellule del corpo, dove la sua espressione può essere suffciente per ottenere un fenotipo normale.
    - Un problema tecnico relativo alla terapia genica riguarda la possibilità di trovare dei vettori (di solito virus) sicuri ed efficaci, per indirizzare il gene di interesse all'interno delle cellule.

16.5

8. Indicare i vantaggi e gli svantaggi di amniocentesi, prelievo dei villi coriali e diagnosi genetica preimpianto nella diagnosi prenatale di anomalie genetiche nell'uomo.
    - Nella amniocentesi , viene prelevato un campione del liquido amniotico che circonda il feto. Le cellule fetali in esso contenute vengono coltivate ed esaminate. L'amniocentesi consente

di effettuare la diagnosi nel secondo trimestre di gravidanza.

- Con il prelievo dei villi coriali (CVS) , si studiano direttamente le cellule fetali prelevate dai villi. Il CVS fornisce risultati nel primo trimestre di gravidanza. Tuttavia, presenta un rischio di infezioni ed aborto leggermente maggiore rispetto all'amniocentesi.
- La diagnosi genetica preimpianto (PGD) si effettua durante la fecondazione in vitro. Gli embrioni vengono analizzati per la presenza di una o più malattie genetiche, per poter poi impiantare un embrione sano nell'utero della donna. La PGD non è sicura come l'amniocentesi ed il CVS, ed è anche più costosa.

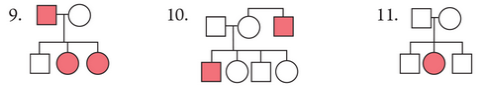
9. Distinguere tra programmi di screening genetico nei neonati e negli adulti e discutere le finalità e le implicazioni della consulenza genetica.
    - Lo screening genetico identifica gli individui portatori di una grave malattia genetica. Lo screening dei neonati rappresenta il primo passo della medicina preventiva, mentre lo screening degli adulti è effettuato per aiutarli a prendere decisioni riproduttive consapevoli.
    - Le coppie che sono preoccupate per il rischio di anomalie genetiche nei loro figli possono rivolgersi al consultorio genetico . I consulenti genetici forniscono informazioni genetiche e mediche relative alle decisioni da prendere ed aiutano le persone a comprendere la loro condizione e a non sentirsi discriminate.

16.6

10. Discutere le controversie relative alla discriminazione genetica.
    - La discriminazione genetica è la discriminazione nei confronti di un individuo o dei membri di una determinata famiglia a causa delle loro differenze rispetto al genoma "normale".
    - Una delle questioni più complicate da affrontare riguardo la discriminazione genetica è se le informazioni genetiche debbano essere rese disponibili ai datori di lavoro e alle compagnie di assicurazione. Il Genetic Information Non-discrimination Act (GINA) proibisce ai datori di lavoro e alle compagnie assicurative di perseguire comportamenti discriminatori sulla base dei risultati di test genetici.

## AUTOVERIFICHE

1. Un pedigree (albero genealogico) mostra: (a) incroci controllati tra membri di differenti ceppi isogenici; (b) l'informazione genetica totale delle cellule umane; (c) la comparazione del DNA umano con quello di altre specie; (d) le differenze genetiche tra individui non imparentati; (e) l'espressione di caratteri genetici nei membri di una o più generazioni di una famiglia.
2. Quale tipo di ereditarietà è associato ad un carattere che: (1) solitamente non è espresso nei genitori; (2) è espresso in circa un quarto dei figli; (3) è espresso sia nei figli maschi che nelle femmine? (a) Autosomico recessivo; (b) autosomico dominante; (c) recessivo associato all'X; (d) dominante associato all'X; (e) associato all'Y.
3. Un'anomalia in cui è presente un cromosoma in più o uno in meno rispetto al normale è detta: (a) cariotipo; (b) sito fragile; (c) aneuploidia; (d) trisomia; (e) traslocazione.
4. La non separazione dei cromosomi durante la divisione cellulare si dice: (a) sito fragile; (b) errore congenito del metabolismo; (c) satellite; (d) traslocazione; (e) non disgiunzione.
5. La composizione cromosomica di un individuo o di una cellula è detta: (a) cariotipo; (b) ripetizione di una tripletta nucleotidica; (c) pedigree; (d) microarray di DNA; (e) traslocazione.
6. Una malattia ereditaria causata da un enzima alterato o mancante si dice: (a) cariotipo; (b) trisomia; (c) traslocazione reciproca; (d) errore congenito del metabolismo; (e) aneuploidia.
7. Nel(la)_____, una mutazione genetica codifica per una emoglobina alterata che è meno solubile di quella normale e quindi ha più probabilità di alterare la forma dei globuli rossi. (a) Sindrome di Down; (b) malattia di Tay-Sachs; (c) anemia falciforme; (d) PKU; (e) emofilia A.
8. Durante questa procedura, si ottiene un campione del liquido che circonda il feto mediante l'inserzione di un ago attraverso la parete dell'addome e dell'utero. (a) DNA marcatore; (b) prelievo di villi coriali; (c) ecografia; (d) PGD; (e) amniocentesi.
9. Esaminate i seguenti pedigree e scegliete la modalità di ereditarietà più probabile per ciascuna malattia. (a) autosomica recessiva; (b) autosomica dominante; (c) recessiva legata all'X; (d) a, b o c; (e) a o c.




## PENSIERO CRITICO

1. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Immaginate di essere un consulente genetico; che suggerimento o consiglio dareste nelle seguenti situazioni?
    a) Si è presentata per un consiglio una coppia in cui la donna aveva una sorella morta per la

malattia di Tay-Sachs.

b) Una ragazza ed un ragazzo non legati da vincoli di parentela hanno intenzione di sposarsi. Hanno saputo, però, che i genitori del ragazzo erano cugini di primo grado. Sono preoccupati perché pensano di correre il rischio di malattie ereditarie per i loro futuri figli.
c) Lo zio di una giovane donna (il fratello di suo padre) ha l'emofilia A. Suo padre non ha la malattia e non c'è mai stato un caso di emofilia nella famiglia della madre. Esiste la possibilità per i suoi figli di avere la malattia?
d) Un giovane di 20 anni si rivolge alla consulenza genetica perché a suo padre è stata appena diagnosticata la malattia di Huntington.
e) Ad una donna di 45 anni è stata appena diagnosticata la malattia di Huntington. Ella afferma di non avere intenzione di dirlo ai suoi figli adolescenti per non traumatizzarli. Dato che la donna è vostra paziente, ma non i suoi figli, pensate di avere l'obbligo di informare i figli? Spiegate il vostro ragionamento.

2. Un'idea sbagliata sulla genetica umana è che soltanto i geni siano capaci di determinare il destino di una persona. Spiegate perché questo non è corretto.
3. Una delezione cromosomica è equivalente ad una mutazione frameshift (discussa nel Capitolo 13 )? Perché o perché no?
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Illustrate alcune delle implicazioni evolutive che si possono dedurre dal fatto che il topo e l'uomo hanno circa 500 segmenti di DNA completamente identici.
5. ANALISI DEI DATI. Esaminate la Figura 16-10 e stimate a che età la metà degli individui portatori di un allele della malattia di Huntington avrà sviluppato i sintomi. A che età i tre quarti di questi individui avranno sviluppato i sintomi?

# Articolo II. Genetica dello sviluppo 17

La genetica dello sviluppo è lo studio dei geni coinvolti nel differenziamento cellulare e nello sviluppo di un organismo. Fino alla fine degli anni '70, si sapeva poco di come i geni agissero nel controllo dello sviluppo. Il chiarimento, infatti, delle interazioni genetiche che hanno luogo durante lo sviluppo non era affrontabile con approcci tradizionali. Tuttavia, i rapidi progressi nella tecnologia del DNA ricombinante hanno portato gli scienziati a cercare mutanti dello sviluppo e ad applicare le tecniche più sofisticate per studiarli. (Un *mutante* è un individuo che presenta un fenotipo alterato a causa di una mutazione genica).

L'organismo rappresentato nella fotografia è un embrione in via di sviluppo del moscerino della frutta *Drosophila melanogaster*. I genetisti hanno utilizzato la tecnica dell' immunofluorescenza, in cui una molecola fluorescente è legata ad un anticorpo che si lega a sua volta, in modo specifico, ad una determinata proteina, rendendone visibile la localizzazione. In questo caso, tre anticorpi diversi (rosso, blu e giallo) hanno legato tre specifiche proteine. Lo schema delle bande colorate indica che le diverse cellule dell'embrione hanno un'*espressione genica differenziale*, cioè geni differenti sono attivi contemporaneamente durante lo sviluppo.

La ricerca svolta su *Drosophila* e su altri organismi, ha profonde implicazioni sia per la comprensione dello sviluppo normale dell'uomo (incluso l'invecchiamento) sia per l'evidenziazione di alterazioni che possono portare a difetti congeniti ed al cancro. Le straordinarie similarità tra i geni che regolano lo sviluppo in un'ampia varietà di specie differenti, suggeriscono che i meccanismi genetici importanti per lo sviluppo hanno radici profonde nella storia evolutiva degli organismi pluricellulari. D'altra parte, esistono anche differenze nei quadri di sviluppo di specie diverse che riflettono i loro percorsi evolutivi separati. Come sarà discusso nel Capitolo 18 , i geni dello sviluppo hanno svolto un ruolo chiave nel rimodellamento degli organismi nel corso della loro evoluzione.

Attualmente, i biologi stanno studiando in che modo i geni sono attivati, inattivati e modificati per il controllo dello sviluppo. In ultima analisi, ci si aspetta di comprendere in che modo una singola cellula (l'uovo fecondato) si sviluppi in un organismo pluricellulare complesso, come ad esempio l'uomo.

# 17.1 IL DIFFERENZIAMENTO CELLULARE E L'EQUIVALENZA NUCLEARE

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Fare una distinzione tra determinazione cellulare e differenziamento cellulare, e tra equivalenza nucleare e totipotenza.
2. Descrivere gli esperimenti classici di Steward, Gurdon e Wilmut.
3. Dare una definizione delle cellule staminali , distinguere tra cellule staminali embrionali e cellule staminali pluripotenti, nonchè descrivere alcune delle promettenti aree di ricerca in cui sono implicate le cellule staminali.

Lo studio dello sviluppo, ti che avvengono durante la vita di un individuo, affronta uno dei problemi più difficili e affascinanti dell'odierna biologia. Di particolare interesse è il processo attraverso il quale le cellule si specializzano e si organizzano in un organismo complesso. Durante le molteplici divisioni cellulari, attraverso le quali una singola cellula si sviluppa in un organismo pluricellulare, gruppi di cellule vengono indotte gradualmente a realizzare specifici schemi di attività genetica, attraverso un processo detto determinazione cellulare. Con il procedere della determinazione cellulare, si restringe il percorso di sviluppo di una cellula embrionale, in modo che il suo destino divenga sempre più limitato. La tappa finale che conduce alla specializzazione delle cellule è il differenziamento cellulare. Una cellula differenziata, che si può riconoscere per il suo aspetto e per le sue attività caratteristiche, sembra essere irreversibilmente indirizzata verso il suo destino.
Un'altra parte intrigante del "puzzle" dello sviluppo è rappresentata dalla costruzione del corpo. Nel processo di morfogenesi , ovvero di sviluppo della forma, le cellule che occupano specifiche posizioni si differenziano e si organizzano nello spazio in strutture riconoscibili. La morfogenesi procede attraverso il processo a più stadi della formazione strutturale (formazione del pattern di sviluppo), ossia l'organizzazione delle cellule in strutture tridimensionali. La formazione del pattern di sviluppo prevede la comunicazione tra le cellule, i cambiamenti della forma cellulare e le migrazioni cellulari. A seconda della loro localizzazione, le cellule sono esposte a concentrazioni differenti delle molecole segnale che portano informazioni di posizione. Pertanto, dove una cellula è posizionata (microambiente), determinerà spesso cosa quella cellula diventerà una volta matura.

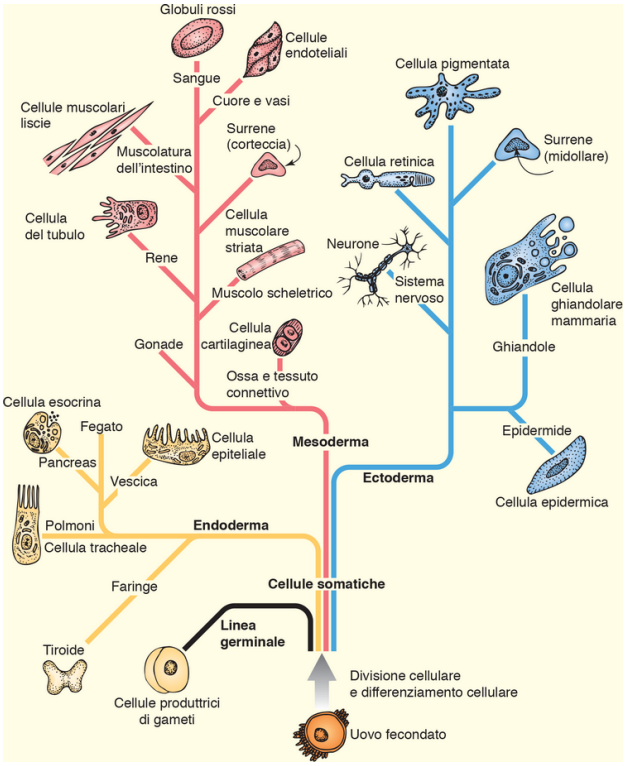
Il corpo umano, come quello di altri vertebrati, contiene circa 250 differenti tipi di cellule ( FIG. 17-1 ). Combinazioni di queste cellule specializzate, dette cellule differenziate , si trovano organizzate in strutture assai diverse e complesse, come l'occhio, la mano, il cervello, ognuna in grado di svolgere molte attività sofisticate. Degno di nota è il fatto che tutte le strutture corporee e le cellule che ne fanno parte provengono da una singola cellula uovo fecondata, lo zigote .
Tutti gli organismi pluricellulari obbediscono ad un complesso programma di sviluppo. Le cellule radicali delle piante, per esempio, hanno strutture e funzioni molte diverse da quelle di vario tipo che si trovano nelle foglie. Differenze notevoli si possono trovare anche a livello molecolare; più precisamente, ogni tipo di cellula animale o vegetale produce un insieme di proteine altamente specifico. In alcuni casi, come l'emoglobina nei globuli avere un corredo di proteine altamente specifiche che, sebbene presenti in minime quantità, svolgono una funzione essenziale. Tuttavia, siccome certe proteine svolgono un ruolo essenziale in tutte le cellule (ad es., alcuni enzimi della glicolisi), di norma le proteine cellula-specifiche rappresentano solo una piccola frazione della componente proteica cellulare.

Una possibile spiegazione del fatto che ogni tipo di cellula differenziata produca un insieme unico di proteine potrebbe essere che, durante lo sviluppo, ogni gruppo di cellule perda i geni di cui non ha bisogno e conservi solo quelli necessari. Generalmente, ciò non corrisponde al vero. Secondo il concetto dell'equivalenza nucleare, i nuclei di tutte le cellule differenziate di un individuo sono geneticamente (ma non necessariamente metabolicamente) identici tra loro e identici allo zigote dal quale discendono. Ciò significa che virtualmente tutte le *cellule somatiche* in un individuo adulto possiedono gli stessi geni, che però si esprimono con diverse modalità nei diversi tessuti.
Le cellule somatiche sono tutte le cellule del corpo ad eccezione delle cellule della linea germinale . Negli animali, le cellule della linea germinale, i cui discendenti si differenziano in gameti mediante la meiosi, si separano precocemente dalle cellule somatiche. Nelle piante non c'è una netta distinzione fra cellule somatiche e cellule della linea germinale e la determinazione delle cellule che andranno incontro a meiosi si verifica molto più tardi nel corso dello sviluppo.
L'idea dell'equivalenza nucleare è nata da casi in cui si è dimostrato che le cellule già differenziate, o i loro nuclei, conservano la capacità di guidare lo sviluppo dell'intero organismo. Queste cellule o nuclei mostrano quella che è chiamata totipotenza .

## La maggior parte delle differenze tra cellule è dovuta all'espressione differenziale dei geni

Siccome non risulta che durante lo sviluppo vi sia perdita di geni, le differenze nella composizione molecolare delle cellule devono essere dovute ad un sistema di regolazione che modula l'attività di geni differenti. Tale processo di regolazione genica nel corso dello sviluppo è spesso indicato espressione genica differenziale.

Come discusso nel Capitolo 14, l'espressione dei geni eucariotici può essere regolata con modalità molto varie e a livelli molto diversi. Per esempio, un particolare enzima può essere prodotto in una forma inattiva e attivato successivamente. Tuttavia, la maggior parte dei processi di regolazione che sono importanti nello sviluppo si verifica a livello trascrizionale: viene cioè repressa la trascrizione di certi gruppi di geni, mentre altri vengono attivati. Anche l'espressione di geni *costitutivi* (cioè costantemente trascritti) può essere regolata durante lo sviluppo, di modo che la *quantità* di ciascun prodotto cambi da un tessuto ad un altro.




**PUNTO CHIAVE** Al procedere dello sviluppo, cellule somatiche che in precedenza avevano la potenzialità di dare origine ad una varietà di cellule, divengono sempre più orientate verso uno specifico destino.

FIGURA 17-1 *Linee cellulari dei vertebrati*
Ripetute divisioni dell'uovo fecondato (in basso) portano alla formazione di tessuti contenenti gruppi di cellule specializzate. Le cellule germinali, che producono i gameti, si separano molto presto nello sviluppo. Le cellule somatiche progrediscono lungo varie vie di sviluppo, esibendo una serie di limitazioni che man mano determinano i destini delle diverse linee cellulari.

Possiamo pensare al differenziamento come ad una serie di tappe che porta da una singola cellula alle molteplici cellule di ciascun tessuto specializzato, disposte secondo uno schema appropriato. Una cellula determina la linea di sviluppo che le sue discendenti seguiranno, restringendo il numero delle possibili vie di sviluppo che esse possono intraprendere e indirizzandole verso la formazione di un determinato gruppo di tessuti. Questa progressiva delimitazione del destino delle discendenti di una cellula è il processo di determinazione.

I cambiamenti che caratterizzano una cellula lungo una determinata linea di sviluppo possono non essere evidenti. Però, quando un particolare stadio di determinazione si è completato, i cambiamenti si trasmettono alla progenie e non sono facilmente reversibili. Il differenziamento cellulare è l'ultima tappa del processo di sviluppo. A questo punto, una cellula diventa strutturalmente e funzionalmente riconoscibile, ad esempio come osteocita, e il suo quadro di attività genica è diverso da quello di un neurone e di qualsiasi altro tipo cellulare.

## Un nucleo totipotente contiene tutte le istruzioni per lo sviluppo

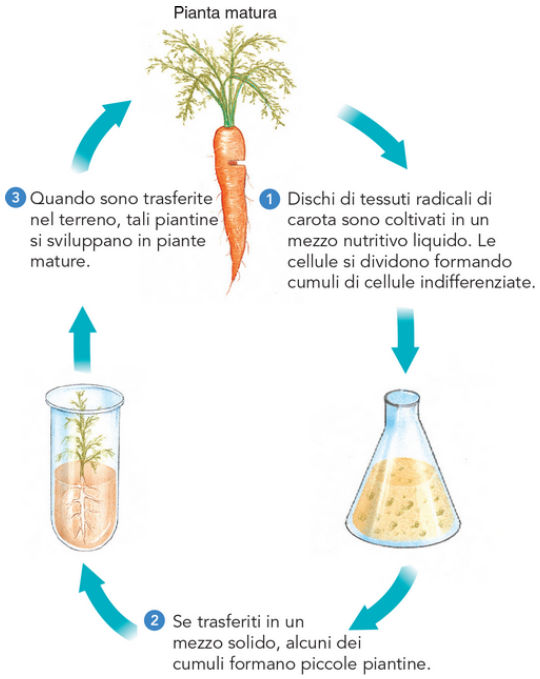
Nelle piante è possibile dimostrare che alcune cellule differenziate possono essere indotte a diventare l'equivalente di cellule embrionali. La *tecnica delle colture tissutali* consente di far crescere in un mezzo nutritivo cellule isolate da piante.

Negli anni '50, F. C. Steward e collaboratori condussero alla Cornell University alcuni dei primi esperimenti sulla totipotenza delle cellule vegetali ( FIG. 17-2 ). Le cellule totipotenti hanno la potenzialità di dare origine a tutte le parti di un organismo, in quanto contengono un insieme completo delle istruzioni genetiche necessarie per dirigere il normale sviluppo di un intero organismo. Steward e colleghi indussero singole cellule isolate dalla radice della pianta di carota a dividersi in un mezzo nutritivo liquido, fino a formare gruppetti di cellule detti *corpi embrioidi* (simili ad embrioni). Queste masserelle di cellule, con capacità proliferativa, vennero trasferite in un terreno solido di agar, in grado di fornire nutrimento e una struttura solida di supporto per lo sviluppo delle cellule della pianta. Dopo il trasferimento in agar, alcune cellule embrioidi diedero origine a radici, fusto e foglie. Le *plantule* così ottenute vennero trasferite nel terreno, dove alla fine si svilupparono in piante adulte capaci di produrre fiori e semi vitali.

Piante derivate dalla stessa pianta parentale sono tutte geneticamente identiche e di conseguenza costituiscono un clone. Come è stato discusso nel Capitolo 15 , un clone è costituito da singoli organismi, cellule o molecole di DNA che sono geneticamente identici ad un altro individuo, cellula o molecola di DNA da cui sono derivati. I metodi di coltura di tessuti vegetali sono ora largamente usati per produrre piante

geneticamente modificate; essi infatti consentono di rigenerare piante intere a partire da cellule che hanno incorporato molecole di DNA ricombinante. (vedi il Capitolo 38 ).

Negli anni ’50 i ricercatori hanno avviato alcune sperimentazioni per verificare se i processi di determinazione sono reversibili nelle cellule animali; per far ciò essi hanno effettuato il trapianto del *nucleo* prelevato da una cellula in uno stadio di sviluppo relativamente avanzato, immettendolo in una cellula uovo enucleata (il cui nucleo era stato distrutto). In particolare, Robert Briggs e Thomas J. King dell’Institute for Cancer Research della Pennsylvania condussero esperimenti pionieristici di *trapianto nucleare*. Essi trasferirono nuclei di cellule di anfibio, a differenti stadi di sviluppo, all’interno di cellule uovo enucleate. Alcuni trapianti progredirono normalmente attraverso un certo numero di stadi di sviluppo e alcuni addirittura si svilupparono fino al normale girino. Come regola generale, i nuclei prelevati da cellule a stadi precoci avevano maggiori probabilità di condurre lo sviluppo fino allo stadio di girino. Man mano che il destino delle cellule si faceva più definito, la probabilità di un nucleo trapiantato di dirigere uno sviluppo normale diminuiva rapidamente.
Negli esperimenti condotti negli anni ’60, il biologo britannico J. Gurdon dimostrò che, in pochissimi casi, nuclei isolati da cellule intestinali specializzate di girino erano in grado di dirigere lo sviluppo fino allo stadio di girino ( FIG. 17-3 ). Questo risultato non si verificava frequentemente (circa nell’1,5% dei casi); tuttavia, in tali esperimenti, il successo conta più del fallimento. Egli potè concludere con sicurezza che almeno alcuni nuclei di cellule differenziate sono di fatto totipotenti.

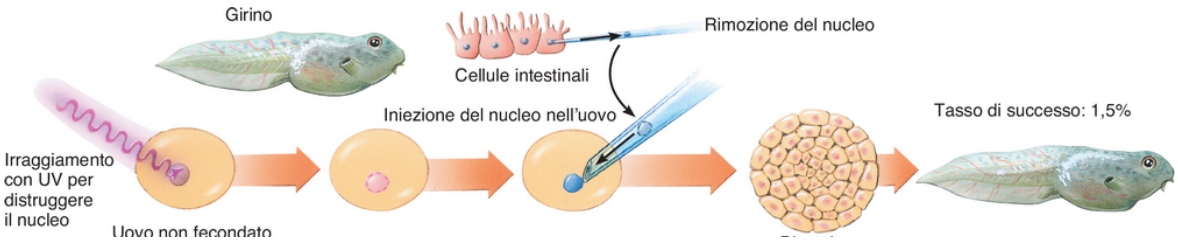



**ESPERIMENTO CHIAVE**
PORSI DOMANDE CRITICHE: Le cellule somatiche differenziate di una pianta sono totipotenti?
SVILUPPARE UN’IPOTESI: Le singole cellule di una pianta di carota possono essere indotte a svilupparsi in una pianta intera.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: F.C. Steward e collaboratori coltivarono i tessuti radicali della pianta di carota in un mezzo di coltura liquido. Le cellule si divisero a formare gruppi di cellule indifferenziate, che furono poi trasferiti in un mezzo di coltura solido.
RISULTATI E CONCLUSIONI:Lo sviluppo di una pianta di carota completa da cellule somatiche differenziate ha dimostrato la totipotenza di tali cellule.
Fonte: Shantz, E. M., and F. C. Steward. “Investigations on Growth and Metabolism of Plant Cells VII: Sources of Nitrogen for Tissue Cultures under Optimal Conditions for Their Growth.” Annals of Botany, Vol. 23, 371–390, 1959. By permission of Oxford University Press.

FIGURA 17-2
*L’esperimento di Steward sulla totipotenza cellulare nelle carote*

**ESPERIMENTO CHIAVE**
PORSI DOMANDE CRITICHE: I nuclei delle cellule animali differenziate sono totipotenti?
SVILUPPARE UN’IPOTESI: I nuclei delle cellule differenziate contengono tutte le informazioni necessarie per uno sviluppo normale.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Gurdon iniettò i nuclei di cellule differenziate (cellule intestinali di girino) in cellule uovo i cui nuclei erano stati distrutti mediante irraggiamento con luce UV.
RISULTATI E CONCLUSIONI: Il normale processo di sviluppo proseguì fino allo stadio di girino in circa l’1,5% dei tentativi, ad indicare che i geni per il programma di sviluppo fino a quel punto erano ancora presenti e potevano essere attivati in modo appropriato
Fonte: Gurdon, J. B. “The Developmental Capacity of Nuclei Taken from Intestinal Epithelium Cells of Feeding Tadpoles.” Journal of Embryology and Experimental Morphology Vol. 10, Dec. 1962.

FIGURA 17-3
*L’esperimento di Gurdon sulla totipotenza nucleare nelle rane*



Per molti anni, non si è riusciti ad ottenere con embrioni di mammifero gli stessi successi sperimentali ottenuti con gli anfibi, facendo ritenere a molti biologi dello sviluppo che alcune delle caratteristiche fondamentali della riproduzione dei mammiferi potessero costituire una barriera impenetrabile alla loro clonazione. Questa convinzione cadde nel 1996 e nel 1997, quando furono riportati i primi casi di clonazione di mammiferi.

## Il primo mammifero clonato è stato una pecora

Nel 1996, Ian Wilmut, Keith Campbell e i loro collaboratori all'Istituto Roslin di Edimburgo in Scozia riferirono di essere stati in grado di clonare pecore usando i nuclei derivati da embrioni precoci (allo stadio di *blastocisti*, vedi Capitolo 51 ). Questi scienziati attirarono l'attenzione di tutto il mondo all'inizio del 1997, quando annunciarono la nascita di un agnello, chiamato Dolly, il cui materiale genetico derivava da una cellula coltivata di ghiandola mammaria (di una pecora adulta)che era stata fusa con un oocita enucleato della stessa specie. La cellula che ne era derivata si era divisa, dando origine ad un embrione, che era stato poi coltivato in vitro fino al raggiungimento di uno stadio in cui poteva essere trasferito in una madre surrogata (madre ospite) ( FIG. 17-4 ). Come ci si poteva aspettare, la percentuale di successo fu bassa: su 277 cellule manipolate, soltanto 29 si svilupparono in embrioni che poterono essere impiantati e Dolly fu l'unico agnello vivo nato.

Perché il gruppo di Wilmut ha avuto successo, mentre molti altri ricercatori hanno fallito? Applicando i principi di base della biologia cellulare, questi ricercatori capirono che il ciclo cellulare (vedi Capitolo 10 ) del citoplasma dell'uovo e del nucleo del donatore non erano sincroni; cioè la cellula uovo non si stava dividendo, ma era ferma in metafase II della meiosi, mentre la cellula somatica donatrice, che era in crescita attiva, era probabilmente in fase di sintesi del DNA (S) o in G 2 . Togliendo alcune sostanze nutritive alle cellule donatrici, i ricercatori indussero uno stato di interruzione del ciclo detto G 0 . Questo ebbe l'effetto di sincronizzare il nucleo donatore con il ciclo cellulare dell'uovo. Venne poi usata una scarica elettrica per far sì che il nucleo della cellula donatrice si fondesse con l'uovo ed iniziasse lo sviluppo dell'embrione.

Sebbene sia richiesto un alto livello di capacità tecnica, questi ed altri ricercatori sono stati capaci di apportare modifiche a questa tecnica per clonare vitelli, maiali, cavalli, ratti, topi, cani, gatti e possiamo pensare che l'elenco dei mammiferi clonati sia destinato a crescere. Nonostante il crescente numero di specie clonate, il tasso di successo per ogni serie di esperimenti continua ad essere basso, intorno all'1-2%, mentre è elevata l'incidenza di difetti genetici. Dolly fu sottoposta ad eutanasia all'età di 6 anni poiché soffriva di un tumore al polmone di origine virale, che aveva trasmesso anche ad altre pecore del suo stesso allevamento. Inoltre, Dolly aveva sviluppato l'artrite all'età di 5 anni e mezzo, un'età relativamente precoce per l'insorgenza di una simile malattia degenerativa in una pecora. Alcuni biologi ritengono che l'utilizzo del materiale genetico di un adulto per la produzione di un clone potrebbe determinare l'invecchiamento prematuro delle cellule dell'animale clonato (vedi la discussione sui telomeri e l'invecchiamento cellulare nel Capitolo 12 ). Ulteriori ricerche potranno fornire delle risposte a questo tipo di problema.

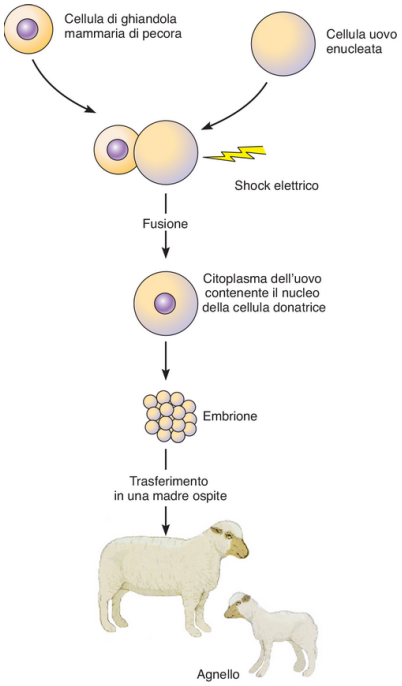
La produzione di organismi transgenici , in cui sono stati incorporati geni estranei, continua ad essere il maggiore obiettivo di questa linea di ricerca (vedi Capitolo 15 ). I ricercatori stanno mettendo a punto nuove tecniche per aumentare l'efficienza della procedura di clonazione. Solo allora sarà possibile produrre grossi numeri di animali transgenici clonati per una varietà di usi, quali ad esempio l'incremento delle popolazioni delle specie a rischio. Ad esempio, nel 2003 è nato il primo clone sano appartenente ad una specie a rischio, un "parente" selvatico del bue noto come *banteng*. Il nucleo utilizzato per la creazione di questo clone derivava da una cellula della pelle congelata, appartenente ad un banteng morto nel 1980 nello Zoo di San Diego.

## Le cellule staminali si dividono e danno origine a cellule differenziate

Le cellule staminali sono cellule indifferenziate che si possono dividere per dare origine a discendenti differenziati, ma conservano la capacità di dividersi per riprodurre se stesse, mantenendo così la popolazione di cellule staminali. Quando una cellula staminale si divide, le sue cellule figlie possono restare allo stato di cellula staminale o differenziarsi in cellule specializzate, ad esempio muscolari, nervose o sanguigne. Ciò che succede dipende dalla presenza o dall'assenza di una serie di segnali biochimici. Oggigiorno, uno dei settori più stimolanti della ricerca sulle cellule staminali riguarda la determinazione dell'identità, dell'ordine e delle quantità dei segnali chimici che danno origine ad uno specifico tipo di differenziamento cellulare.

**ESPERIMENTO CHIAVE**

PORSI DOMANDE CRITICHE: I nuclei delle cellule differenziate di mammifero sono totipotenti?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: Il nucleo di una cellula differenziata di un mammifero adulto, se fuso con una cellula uovo enucleata, può fornire l'informazione genetica necessaria per dirigere un normale sviluppo.




EFFETTUARE ESPERIMENTI: Ian Wilmut e i suoi ciollaboratori produssero un embrione di pecora mediante la fusione di una cellula in coltura della ghiandola mammaria di una pecora adulta con un uovo di pecora enucleato. Quindi, impiantò l'embrione nell'utero di una madre ospite.
RISULTATI E CONCLUSIONI: Il normale sviluppo andò a termine, portando alla nascita di una femmina di agnello — il primo mammifero clonato al mondo. Un'ulteriore prova della completa funzionalità dell'agnello clonato fu fornita dal fatto che, una volta maturo, fu fatto accoppiare e diede origine ad una progenie normale.
Fonte: Campbell, K. H., J. McWhir, W. A. Ritchie, and I. Wilmut. "Sheep Cloned by Nuclear Transfer from a Cultured Cell Line." Nature, Vol. 380, 1996.

FIGURA 17-4
*L'esperimento di Wilmut sulla clonazione dei mammiferi*

Le cellule staminali più versatili, gli zigoti, sono definite totipotenti, cioè capaci di dare origine a tutti i tessuti del corpo, compresa la placenta. Le cellule staminali possono essere ottenute anche da embrioni o da cellule adulte. (Il termine *adulto* può essere fuorviante, in quanto le cellule staminali adulte possono essere raccolte dal cordone ombelicale, dai lattanti e dai bambini, oltre che dagli adulti). Le cellule staminali embrionali ed adulte sono note come cellule staminali pluripotenti , dal momento che possono dare origine a molti, ma non a tutti, i tipi cellulari di un organismo. Le cellule staminali embrionali (cellule ES) , che si formano durante il processo di segmentazione dello zigote, cioè quando quest'ultimo subisce diversi cicli di divisione cellulare per formare una blastocisti allo stadio di sviluppo di 5-6 giorni, sono più versatili delle cellule staminali adulte ( FIG. 17-5 ). Per esempio, le cellule ES sono pluripotenti ed hanno la potenzialità di svilupparsi in qualsiasi tipo di cellula del corpo; tuttavia, non sono totipotenti, in quanto non sono capaci di formare le cellule della placenta.
Le cellule staminali adulte sono state trovate nell'uomo all'interno del cervello, nella retina, nel cuore, nel midollo osseo, nella polpa dentale, nell'intestino ed in altri organi. Cellule staminali neurali adulte presenti nel cervello sono pluripotenti e possono dare origine a neuroni e cellule gliali. Le cellule staminali adulte presenti nel midollo osseo danno origine sia ai globuli rossi, sia ai vari tipi di globuli bianchi del sistema immunitario. La varietà di cellule in cui possono differenziarsi le cellule staminali adulte è più limitata di quella delle cellule ES. Tuttavia, studi recenti suggeriscono che persino le cellule staminali specializzate potrebbero essere più versatili di quanto si pensi. Ad esempio, le cellule staminali neurali formano cellule del sangue se trapiantate nel midollo osseo.
Le cellule staminali sono fonti potenziali di cellule da trapiantare in pazienti in condizioni degenerative serie. Per esempio, il morbo di Parkinson è dovuto ad una progressiva degenerazione delle cellule che producono il neurotrasmettitore dopamina in una specifica regione del cervello. Il trapianto di cellule staminali indotte a differenziarsi in cellule che producono dopamina sembra molto promettente per i trattamenti a lungo termine di questa malattia. Analogamente, le cellule staminali possono diventare una fonte di cellule che producono insulina nel pancreas dei pazienti con il diabete mellito; oppure potrebbero essere indotte a trasformarsi in neuroni negli individui che hanno subito danni al midollo spinale o altri danni neurologici.
L'obiettivo ultimo dei ricercatori è di realizzare linee di cellule umane pluripotenti a crescita continua, che possano essere indotte a differenziarsi in condizioni controllate, che mantengano stabilmente il loro stato differenziativo e che possano essere modificate geneticamente. A livello di ricerca, si cercherà di sviluppare linee di cellule staminali embrionali di pazienti affetti da cancro, diabete, malattie cardiovascolari e disordini neurodegenerativi (come il morbo di Parkinson), per studiare l'origine di tali malattie e comprenderne le basi molecolari e cellulari. Benché per molti anni si siano condotti studi sulle cellule staminali nel topo e in altri organismi, studi simili nell'uomo sono progrediti con lentezza malgrado le grandi promesse iniziali di queste ricerche.
Ad oggi, le uniche fonti conosciute di cellule staminali totipotenti sono gli embrioni umani precoci avanzati dalle procedure di fecondazione in vitro (vedi Capitolo 50 ). Molte nazioni pongono restrizioni governative sulle cellule staminali, basate su considerazioni etiche correlate all'origine e alla gestione degli embrioni. Altri paesi, in particolare alcuni stati asiatici, non pongono limitazioni a questo tipo di ricerca. Negli Stati Uniti, l'amministrazione Obama ha rimosso alcune delle restrizioni imposte dal precedente governo di George W. Bush e i finanziamenti pubblici hanno ripreso ad essere disponibili dal 2009.

FIGURA 17-5
*Cellule staminali embrionali (ES) umane*

### Cellule staminali pluripotenti indotte (iPS) potranno forse rimpiazzare le cellule staminali embrionali (ES)

Nel biennio 2007-2008 i ricercatori hanno scoperto la possibilità di produrre cellule staminali pluripotenti indotte (iPS) introducendo alcuni fattori trascrizionali in cellule mature di topo e umane, principalmente fibroblasti e cellule della cute (si ricordi dal Capitolo 14 che i fattori di trascrizione sono proteine in grado di legare il DNA e regolare la trascrizione genica negli eucarioti).
I fattori di trascrizione riprogrammano lo stadio di sviluppo delle cellule mature per ritrasformarle in cellule embrionali pluripotenti; il meccanismo attraverso il quale avviene questa conversione non è ancora stato scoperto. Si ipotizza che i fattori di trascrizione siano in grado di rimuovere i gruppi metilici che bloccano alcuni geni chiave nelle cellule adulte, riportandoli allo stato attivo caratteristico delle cellule embrionali. (Si ricorda dal Capitolo 14 che l'ereditarietà epigenetica consiste nell'inattivazione genica, per esempio a causa della metilazione del DNA). Nel caso di geni inattivati dalla metilazione, la rimozione dei gruppi metilici è in grado di riattivare i geni.
Gli scienziati devono tuttavia progredire ulteriormente nella comprensione delle iPS, prima di poter procedere con il loro utilizzo al posto delle cellule staminali embrionali. Qualora si dovesse raggiungere questo traguardo, le controversie legate alle questioni etiche sull'utilizzo delle cellule ES (che saranno discusse nel prossimo paragrafo) non avranno più senso di esistere, in quanto non sarà più necessario operare con cellule prelevate da embrioni.

### Esistono questioni etiche relative alla clonazione umana

La ricerca sulla clonazione continua ad alimentare un acceso dibattito sulla possibile clonazione umana e sulle sue implicazioni etiche e religiose. Negli Stati Uniti, è stata stabilita una Commissione Nazionale di Bioetica, cha ha il compito di esaminare questa ed altre questioni. Nel considerare questi problemi, è importante tener presente che il termine *clonazione* è abbastanza generico ed include una serie di procedure differenti per la produzione di cellule, tessuti, organi oppure organismi.

La clonazione riproduttiva umana ha lo scopo di generare un nuovo essere umano geneticamente identico ad un altro, di solito un adulto. Si tratta dell'impianto in utero di un embrione umano generato con un processo diverso dalla fecondazione. Molti paesi si sono opposti a questo tipo di clonazione.

La clonazione terapeutica umana consiste, invece, nella duplicazione di cellule ES umane o di cellule iPS per studi scientifici o scopi medici, ma senza raggiungere il completo sviluppo di un nuovo essere umano. Queste cellule forniscono riserve di tessuti da trapiantare, quali il muscolo cardiaco o il tessuto nervoso, per trattamenti medici rivoluzionari.

Molte persone sostengono la ricerca per la clonazione terapeutica ritenendola in grado di apportare grandi benefici alla cura delle malattie. Altre persone avanzano obiezioni etiche o religiose, specialmente nel caso in cui gli embrioni (cellule ES) siano creati specificamente a scopi di ricerca e poi distrutti.

**Verifica**

- Quali prove esistono a sostegno del principio dell'equivalenza nucleare?
- Come mai il gruppo di Wilmut ha avuto successo nella clonazione dei mammiferi mentre altri hanno fallito?
- Cosa sono le cellule staminali?

# 17.2 IL CONTROLLO GENETICO DELLO SVILUPPO

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Indicare le caratteristiche di *Drosophila melanogaster, Caenorhabditis elegans, Mus musculus ed Arabidopsis thaliana* che hanno reso tali organismi dei validi modelli per gli studi di genetica dello sviluppo.
5. Distinguere tra geni ad effetto materno, geni della segmentazione e geni omeotici in Drosophila .
6. Spiegare il rapporto esistente tra fattori di trascrizione e geni che controllano lo sviluppo.
7. Definire l'induzione e l'apoptosi e fornire esempi del ruolo che svolgono nello sviluppo.

Per molti anni, la biologia dello sviluppo è stata un'area importante di ricerca e uno sforzo consistente è stato fatto nello studio dello sviluppo di organismi invertebrati e vertebrati. Identificando i quadri di morfogenesi in specie diverse, i ricercatori sono stati capaci di mettere in evidenza somiglianze e differenze nei piani fondamentali dello sviluppo che si susseguono dallo zigote fino all'individuo adulto, in specie che vanno dal riccio di mare ai mammiferi (vedi Capitolo 51 ).
In aggiunta agli studi descrittivi, alcuni esperimenti classici hanno permesso di comprendere il differenziamento cellulare e ciò che avviene durante i vari processi di sviluppo. I ricercatori hanno sviluppato programmi di screening per mettere in evidenza mutazioni in grado di rivelare i geni dello sviluppo sia nelle piante che negli animali. Essi inoltre impiegano una grande varietà di tecnologie di genetica molecolare ed altre metodologie sofisticate, per determinare come questi geni funzionino e come interagiscano per coordinare i processi di sviluppo.

### Esiste una varietà di organismi modello che forniscono informazioni sui processi biologici di base

Negli studi sul controllo genetico dello sviluppo è diventata sempre più importante la scelta dell'organismo da usare come modello sperimentale. Un organismo modello è una specie selezionata per la conduzione di studi biologici, in quanto presenta caratteristiche che consentono un'analisi efficace dei processi biologici. Poiché la maggior parte degli organismi modello è rappresentata da piccoli organismi, con tempi di generazione brevi, è facile farli crescere e studiarli in condizioni controllate. Per esempio, i topi sono modelli migliori dei canguri.

Uno degli approcci più potenti in genetica dello sviluppo comporta l'isolamento di mutanti in un organismo modello con anomalie dello sviluppo. Non tutti gli organismi hanno caratteristiche utili da permettere di isolare e mantenere mutanti per lo sviluppo da utilizzare in ricerca. La genetica del moscerino della frutta, *Drosophila melanogaster*, è conosciuta così a fondo che questo organismo è diventato uno dei sistemi più importanti per questo tipo di studi. Anche altri organismi sono diventati importanti in genetica dello sviluppo, come il verme nematode *Caenorhabditis elegans*, lo zebrafish *Danio rerio* ed il topolino di laboratorio, Mus musculus , così come alcune piante quali l' *Arabidopsis thaliana* ed alcuni eucarioti semplici come il lievito *Saccharomyces cerevisiae*. Ciascuno di questi organismi ha caratteristiche che lo rendono particolarmente utile per esaminare particolari aspetti dello sviluppo ( FIG. 17-6 ).
Negli anni '90, i genetisti dello sviluppo che lavoravano su *C. elegans* hanno scoperto l'RNA interference, uno strumento di ricerca che può essere ancora più potente dell'identificazione di mutanti. Nell'RNA interference (RNAi) certe piccole molecole di RNA interferiscono con l'espressione dei geni o con i loro trascritti di RNA (vedi Capitolo 13 ). Una delle modalità di azione di tali molecole consiste nel silenziare i geni mediante il taglio selettivo delle molecole di mRNA che hanno sequenze complementari a quelle delle piccole molecole di RNA. L'utilizzo della RNAi rende possibile la soppressione dell'espressione di uno specifico gene nel corso dello sviluppo di un oganismo e quindi la deduzione della funzione di quel gene.

### Molti geni che controllano lo sviluppo sono stati identificati nel moscerino della frutta

La sequenza del genoma del moscerino della frutta Drosophila , disponibile dal 1999, contiene circa 13.600 geni che codificano per proteine. Tra questi, almeno 1.200 sono essenziali per lo sviluppo embrionale.

Due dei fondamentali vantaggi del modello sperimentale *Drosophila* risiede nei numerosi alleli mutanti (inclusi quelli dello sviluppo) disponibili per la ricerca e la relativa facilità con cui le nuove mutazioni possono essere direttamente localizzate sui cromosomi. Il biologo statunitense Edward B. Lewis (1918-2004), un pioniere nella genetica dello sviluppo, iniziò a lavorare con i mutanti di Drosophila negli anni '40. Successivamente, il lavoro del tedesco Christiane Nüsslein-Volhard e dell'americano Eric Wieschaus ampliarono le conoscenze sullo sviluppo del moscerino della frutta. Nel 1995, Lewis, Nüsslein-Volhard e Wieschaus hanno condiviso il premio Nobel per la Medicina per i decenni dedicati alla ricerca sulla genetica dello sviluppo di Drosophila . Molti dei geni che essi scoprirono nel moscerino della frutta sono adesso noti per essere importanti nella crescita e nello sviluppo di tutti gli animali

## Il ciclo vitale della Drosophila comprende gli stadi di uovo, larva, pupa ed adulto

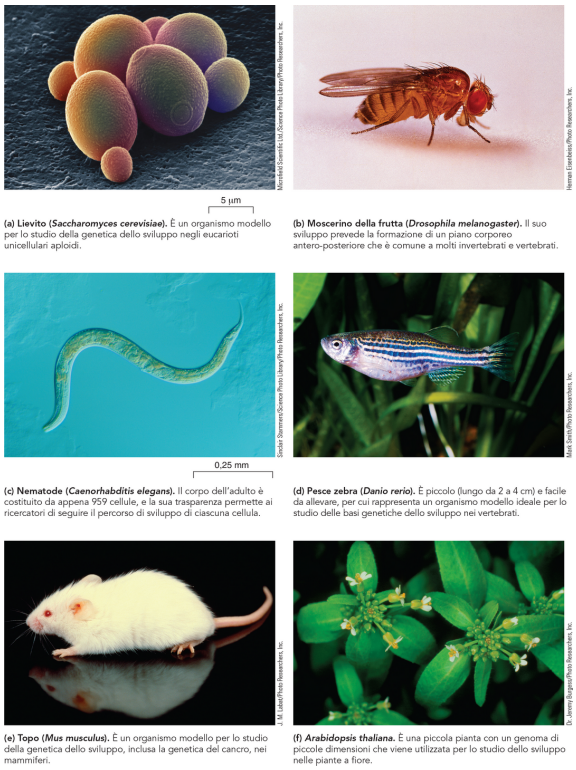
Il ciclo vitale della Drosophila consiste di molti stadi distinti ( FIG. 17-7 ). Alla fecondazione dell'uovo segue l'embriogenesi, in cui lo zigote si trasforma in un individuo sessualmente immaturo: la larva . Dopo la schiusa dall'uovo, la larva subisce numerose mute in cui perde l'involucro esterno, o cuticola. Ad ogni muta, la larva si ingrandisce, finché è pronta a divenire una pupa . L'impupamento comprende una muta e l'indurimento della cuticola neoformata, cosicché la pupa è completamente incapsulata nell'involucro esterno. A questo punto, l'insetto va incontro ad una completa metamorfosi (cambio di forma). In questo periodo, la maggior parte dei tessuti larvali degenera e altri tessuti si differenziano in parti del corpo proprie dell'insetto adulto sessualmente maturo.

Le larve sono vermiformi e non hanno alcuna somiglianza con l'insetto adulto; tuttavia, le cellule progenitrici di molte delle strutture adulte si organizzano precocemente nello stadio di larva in strutture bilaterali relativamente indifferenziate, chiamate dischi imaginali. Questo termine deriva da *imago*, come viene chiamato l'insetto adulto. Ogni disco imaginale ha una ben definita posizione nella larva e formerà una struttura specifica nel corpo dell'insetto, ad esempio l'ala o la zampa ( FIG. 17-8 ). I dischi si formano al termine dell'embriogenesi, quando la larva inizia a nutrirsi. La larva può essere considerata un complesso stadio dello sviluppo che nutre e protegge le cellule progenitrici dell'individuo adulto, che rappresenta l'unica forma capace di riprodursi.

L'organizzazione degli abbozzi delle strutture dell'organismo adulto, come pure dei dischi imaginali, è sotto un complesso controllo genico. Sono stati identificati più di 50 geni per la formazione dei dischi, per la loro disposizione nella larva e per la loro funzione definitiva nell'adulto. Questi geni sono stati identificati per mezzo di mutazioni che impediscono ad alcuni dischi di formare o modificare strutture o di portare a termine il loro programma di sviluppo.

## Mutazioni dello sviluppo in Drosophila modificano il piano corporeo

Sono stati identificati numerosi mutanti dello sviluppo in Drosophila i cui effetti in varie combinazioni sono stati esaminati e studiati in dettaglio a livello molecolare. Nella nostra discussione, prenderemo in considerazione gli effetti che si osservano sulla segmentazione del corpo sia dell'insetto adulto sia della larva.




**(a) Lievito (*Saccharomyces cerevisiae*).** È un organismo modello per lo studio della genetica dello sviluppo negli eucarioti unicellulari aploidi.

**(b) Moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*).** Il suo sviluppo prevede la formazione di un piano corporeo antero-posteriore che è comune a molti invertebrati e vertebrati.

**(c) Nematode (*Caenorhabditis elegans*).** Il corpo dell'adulto è costituito da appena 959 cellule, e la sua trasparenza permette ai ricercatori di seguire il percorso di sviluppo di ciascuna cellula.

**(d) Pesce zebra (*Danio rerio*).** È piccolo (lungo da 2 a 4 cm) e facile da allevare, per cui rappresenta un organismo modello ideale per lo studio delle basi genetiche dello sviluppo nei vertebrati.

**(e) Topo (*Mus musculus*).** È un organismo modello per lo studio della genetica dello sviluppo, inclusa la genetica del cancro, nei mammiferi.

**(f) *Arabidopsis thaliana*.** È una piccola pianta con un genoma di piccole dimensioni che viene utilizzata per lo studio dello sviluppo nelle piante a fiore.

FIGURA 17-6 Organismi modello nella genetica dello sviluppo

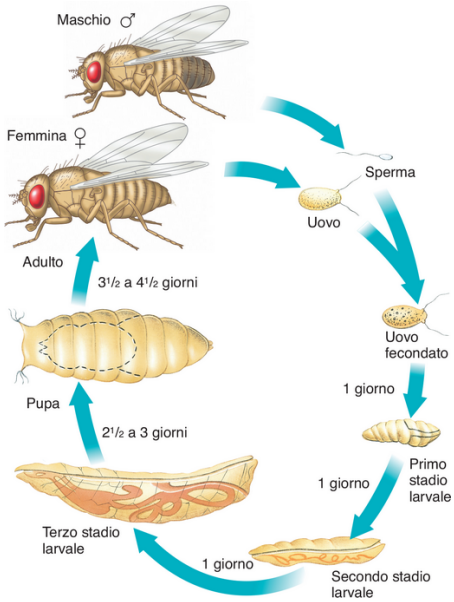



FIGURA 17-7 *Il ciclo vitale di Drosophila*
Il moscerino della frutta attraversa diversi stadi mentre si sviluppa da zigote a mosca adulta sessualmente matura. Per completare il ciclo vitale a 25°C sono necessari circa 12 giorni. Le linee tratteggiate all'interno della pupa rappresentano l'animale durante la metamorfosi.

I primissimi stadi dello sviluppo di Drosophila coinvolgono l'organizzazione della struttura dell'uovo nell'ovario della femmina. Quando l'uovo si sviluppa, RNA messaggeri (mRNA), proteine del vitello e altre molecole citoplasmatiche sono trasferiti alla cellula uovo dalle cellule materne circostanti. Immediatamente dopo la fecondazione, il nucleo zigotico si divide, iniziando una serie di 13 divisioni mitotiche consecutive.

Ognuna di queste impiega solo 5-10 minuti, ad indicare che il DNA dei nuclei è replicato in modo costante e ad elevata velocità. Durante questo periodo, la sintesi di RNA è bloccata, non avviene la citocinesi e i nuclei rimangono localizzati al centro dell'embrione fino all'ottava divisione. Raggiunta l'ottava divisione, la maggior parte dei nuclei inizia a migrare verso la periferia dell'embrione. Poiché i nuclei non sono circondati da singole membrane plasmatiche, questo stadio è noto come stadio del *blastoderma sinciziale*. (Un sincizio è una struttura che contiene molti nuclei circondati dallo stesso citoplasma). Successivamente si formano le membrane cellulari, e questo stadio è chiamato *blastoderma cellulare*.

Geni ad effetto materno I geni che organizzano la struttura dell'uovo sono detti geni ad effetto materno . Questi geni, localizzati nei tessuti materni circostanti, trascrivono molecole di mRNA che verranno trasportate all'interno dell'uovo in via di sviluppo. L'analisi di mutanti di questi geni ha evidenziato che molti sono coinvolti nella polarità dell'embrione, nel definire cioè quale parte dell'uovo sarà anteriore o posteriore, dorsale o ventrale (vedi Capitolo 30 ); questi geni sono quindi noti *come geni della polarità dell'uovo*.

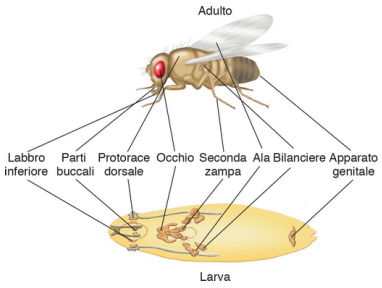
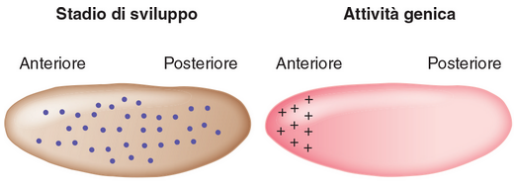
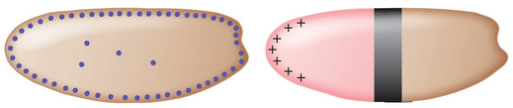



FIGURA 17-8 *La posizione dei dischi imaginali*
Ciascun paio di dischi in una larva di Drosophila (in basso ) si sviluppa in uno specifico paio di strutture nella mosca adulta.

La FIGURA 17-9a illustra il gradiente di concentrazione per due tipi specifici di mRNA materno presenti nell'embrione in fase precoce. Questi trascritti di mRNA di alcuni dei geni ad effetto materno possono essere identificati attraverso l'ibridazione con sonde radioattive di DNA di geni clonati (vedi Capitolo 15 ). In alternativa, i loro prodotti proteici possono essere identificati da anticorpi fluorescenti in grado di legarli in modo specifico (come nella fotografia all'inizio del capitolo). Il gradiente proteico prodotto organizza il quadro precoce dello sviluppo del l'embrione definendo la porzione anteriore e quella posteriore.
Una combinazione dei gradienti di proteine può fornire informazioni posizionali che specificano il destino di ciascun nucleo o cellula all'interno dell'embrione. Per esempio, mutazioni in geni ad effetto materno possono produrre un embrione con due teste o due estremità posteriori, per l'assenza di segnali specifici nell'uovo.
In molti casi, il fenotipo associato alle mutazioni di geni ad effetto materno può essere annullato iniettando mRNA materno normale nell'embrione mutante ed ottenendo uno sviluppo normale: ciò dimostra che il prodotto di questi geni è necessario per un periodo molto breve e solo nei primissimi stadi dello sviluppo.
Geni della segmentazione Quando i nuclei iniziano a migrare alla periferia dell'embrione, comincia la sintesi di mRNA embrionale da parte dei geni della segmentazione . Finora, sono stati individuati almeno 24 geni della segmentazione che contengono l'informazione per generare un modello ripetitivo di segmenti nell'embrione e nel moscerino adulto. Sulla base di studi effettuati su fenotipi mutanti, i geni della segmentazione sono stati raggruppati in tre classi — geni gap (di intervallo), geni pair-rule (regolatori della coppia) e geni segment polarity (di polarità dei segmenti).
I geni gap sembrano essere il primo gruppo di geni ad entrare in azione: interpretano l'informazione materna presente nell'uovo che direziona in senso antero-posteriore lo sviluppo dell'embrione e iniziano ad organizzare i segmenti in una regione anteriore, una intermedia ed una posteriore ( FIG. 17-9b ). Una loro mutazione provoca la mancanza di uno o più segmenti nell'embrione ( FIG. 17-10a ).




**(a)** A 1,25 ore dalla fecondazione, l'embrione è costituito da 128 nuclei (*cerchietti viola*) all'interno di un citoplasma comune. I geni ad effetto materno suddividono l'embrione in un settore anteriore ed uno posteriore. Le crocette nella regione anteriore rappresentano le molecole di mRNA trascritte da uno dei geni ad effetto materno. La sfumatura rosa rappresenta un diverso mRNA materno che è più concentrato nella regione anteriore.



**(b)** A due ore dalla fecondazione, circa 1500 nuclei sono migrati alla periferia dell'embrione ed hanno cominciato a produrre le proprie molecole di mRNA. I geni gap suddividono l'embrione in tre settori: anteriore, centrale e posteriore. L'mRNA materno mostrato in rosa è ora trascritto da geni di segmentazione (*crocette*) nei nuclei della regione anteriore. L'mRNA di un altro gene gap è trascritto nel settore centrale dell'embrione (*regione scura*).

FIGURA 17-9 Primi stadi dello sviluppo in Drosophila
Le sezioni longitudinali sulla sinistra mostrano due stadi dello sviluppo iniziale dell'embrione di Drosophila . Sulla destra sono riportati i quadri semplificati dell'attività genica corrispondenti ai due stadi. (Adattato da M.E. Akam, "The Molecular Basis for Metameric Pattern in the Drosophila embryo", Development , Vol. 101, 1987).

Le altre due classi di geni della segmentazione non agiscono su piccoli gruppi di segmenti, ma su tutti i segmenti. Mutazioni dei geni pair-rule distruggono i segmenti pari o dispari, producendo una larva con la metà del numero normale di segmenti ( FIG. 17-10b e FIG. 17-11 ). Mutazioni dei geni segment polarity producono segmenti in cui manca una parte, che è sostituita dall'immagine speculare della rimanente ( FIG. 17-10c ). Gli effetti delle diverse classi di mutanti sono riassunti nella TABELLA 17-1 .

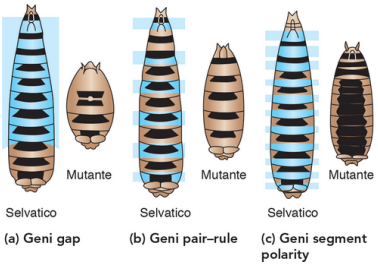



FIGURA 17-10 *Confronto degli effetti delle mutazioni nei geni della segmentazione in Drosophila*
Geni gap, geni pair-rule e geni segment polarity controllano la disposizione dei segmenti corporei nell'embrione di Drosophila . Le bande blu indicano le regioni in cui, nell'embrione normale (wild type), i prodotti proteici di questi geni sono espressi normalmente. Queste stesse regioni sono assenti negli embrioni in cui il gene è mutato, ovvero i mutanti sono privi delle regioni indicate in blu. Il fenotipo risultante è tipico della classe a cui il gene appartiene. (Adattato da C. Nüsslein-Volhard and E, Wieschaus, "Mutations Affecting Segment Number and Polarity in Drosophila ", Nature , Vol. 287, 1980).

Ogni gene della segmentazione dimostra di avere propri tempi e luoghi di azione nell'embrione. Le modalità di espressione dei geni materni e zigotici che controllano la segmentazione dimostrano che le cellule destinate a formare le strutture dell'individuo adulto sono determinate da una serie progressiva di passaggi. Dapprima, i geni materni determinano l'asse anteroposteriore e le regioni dorsale e ventrale, mediante la formazione di gradienti di morfogeni nell'uovo. Un morfogeno è un composto chimico che influenza il differenziamento delle cellule e lo sviluppo della forma. I gradienti di morfogeni sono segnali che aiutano le cellule a portarsi nella propria ubicazione all'interno dell'embrione e promuovono il loro successivo differenziamento in tessuti ed organi specializzati.

TABELLA 17-1 Classi di geni coinvolti nella formazione dei segmenti embrionali in *Drosophila*

| Classi di geni | Sito di attività dei geni | Funzioni dei geni |
|---|---|---|
| Geni ad effetto materno | Tessuti materni che circondano l'uovo | Indirizzano lo sviluppo delle regioni antero-posteriori nell'embrione e regolano l'espressione dei geni della segmentazione |
| Geni di segmentazione | | |
| Geni gap | Embrione | Suddividono l'embrione in ampie regioni e influenzano l'attività dei geni pair-rule |
| Geni pair-rule | Embrione | Dividono l'embrione in fasce, ognuna delle quali comprende circa due segmenti, e influenzano l'attività dei geni segment polarity |
| Geni segment polarity | Embrione | Definiscono i segmenti del corpo e dividono ogni segmento in una metà anteriore ed una posteriore |
| Geni omeotici | Embrione | Controllano l'identità dei segmenti; l'espressione dei geni omeotici è regolata dai geni della segmentazione |

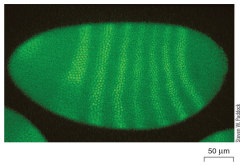
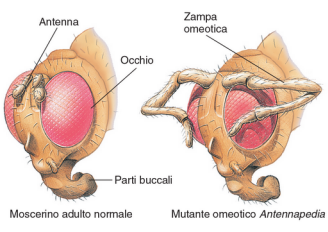



FIGURA 17-11 *Attività dei geni della segmentazione*
Le bande luminose in questa fotografia al microscopio ottico a fluorescenza mostrano la presenza di mRNA trascritto da uno dei geni pair-rule, conosciuto come fushi tarazu (termine giapponese che sta per "segmenti non sufficienti"). I segmenti della larva che normalmente derivano da queste bande sono assenti quando questo locus è mutato.

In base ai gradienti dei morfogeni, i geni zigotici della segmentazione si attivano e controllano la formazione di una serie di segmenti in senso cranio-caudale. In seguito, nell'ambito di ciascun segmento sono attivati altri geni che "leggono" la posizione del segmento e "interpretano" questa informazione, che specifica quale parte del corpo dovrà derivare da quel segmento. Nell'ambito di ogni segmento, viene ulteriormente specificata la posizione di ciascuna cellula, assegnandole un "indirizzo" che è stabilito dalle attività combinate dei geni regolatori.
I geni della segmentazione si attivano sequenzialmente: dapprima agiscono i geni gap, poi i geni pair-rule e, infine, i geni di polarità del segmento. Inoltre, vi sono interazioni fra i membri dei tre gruppi. Ogni volta che un nuovo raggruppamento di geni entra in azione, la direzione dello sviluppo di un particolare gruppo di cellule viene sempre più delimitata. Man mano che lo sviluppo dell'embrione procede, esso viene suddiviso in zone più piccole e più specializzate.
La maggior parte dei geni della segmentazione codifica fattori di trascrizione, proteine che legano il DNA e regolano la trascrizione genica nelle cellule eucariotiche. Per esempio, alcuni geni della segmentazione codificano una proteina regolatrice del tipo "zinc finger" che si lega al DNA (vedi Fig. 14-12b per un ripasso sui zinc finger). I *geni omeotici* (discussi più avanti) codificano altri tipi di fattori di trascrizione. Il fatto che molti geni che controllano lo sviluppo codifichino fattori di trascrizione sta ad indicare che queste proteine agiscono come "interruttori" genetici che regolano l'espressione di altri geni.




(a) Testa di un moscerino normale e di un moscerino con una mutazione *Antennapedia*.

(b) Testa di un moscerino con una mutazione *Antennapedia* al microscopio elettronico a scansione.

FIGURA 17-12 Il locus Antennapedia
Le mutazioni Antennapedia causano trasformazioni omeotiche in Drosophila in cui le antenne sono sostituite da zampe o da parti di zampe.

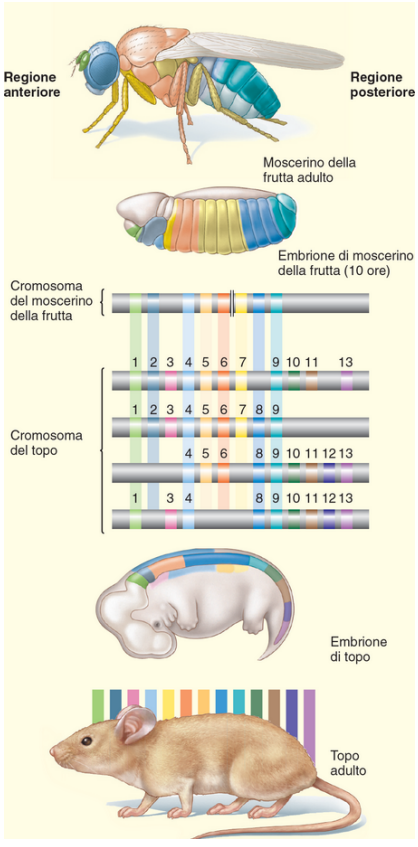
La purificazione delle proteine che funzionano come fattori di trascrizione rende possibile l'identificazione delle sequenze "bersaglio" del DNA a cui si legano. Questa metodologia si è dimostrata sempre più utile per svelare le modalità di regolazione delle varie tappe dello sviluppo. I fattori di trascrizione giocano un ruolo anche nel cancro (discusso più avanti nel capitolo).
Geni omeotici Dopo che i geni della segmentazione hanno stabilito lo schema di base dei segmenti nel corpo del moscerino, i geni omeotici specificano il piano di sviluppo di ciascun segmento. Mutazioni nei geni omeotici producono, dato il loro coinvolgimento nell'identità dei segmenti, lo scambio di una parte del

corpo con un'altra, producendo modificazioni molto particolari. Tra i mutanti più sorprendenti, troviamo il mutante *Antennapedia*, che ha zampe che crescono sulla testa, nella sede dove normalmente crescono le antenne ( FIG. 17-12 ).
Inizialmente, i geni omeotici nella *Drosophila* furono identificati attraverso le alterazioni fenotipiche prodotte dagli alleli mutanti. L'analisi delle sequenze del DNA di numerosi geni omeotici rivelò che una breve sequenza di DNA costituita da 180 coppie di basi era presente in molti geni omeotici ed in altri geni coinvolti nello sviluppo. Questa sequenza è stata chiamata omeobox . Ciascun omeobox codifica un distretto funzionale di una proteina chiamato omeodominio , composto da 60 aminoacidi che formano quattro α - eliche. Una di queste serve come elica di riconoscimento, che si lega a specifiche sequenze di DNA e influenza la trascrizione. Quindi, i prodotti dei geni omeotici, come quelli dei geni della segmentazione che agiscono nelle fasi precoci dello sviluppo, sono fattori di trascrizione; infatti, anche alcuni geni della segmentazione contengono omeobox.

Gli studi sui geni *Hox*, un raggruppamento (cluster) di geni contenenti omeobox che specificano l'asse antero-posteriore durante lo sviluppo, forniscono informazioni sulle relazioni evolutive. I geni Hox sono stati scoperti originariamente in Drosophila , dove sono disposti in due gruppi adiacenti sul cromosoma: il *complesso Antennapedia* e il *complesso bithorax*. Geni Hox sono stati identificati anche in altri animali, inclusi altri artropodi, celenterati, anellidi (vermi segmentati), vermi cilindrici e vertebrati, e presentano una organizzazione molto simile a quella osservata in *Drosophilia*.

La FIGURA 17-13 mette a confronto l'organizzazione dei geni Hox del moscerino della frutta e del topo. I geni della Drosophila e quelli equivalenti del topo sono disposti nello stesso ordine sul cromosoma. Inoltre, l'ordine dei geni nel cromosoma rispecchia l'ordine (anteriore-posteriore) dei corrispondenti segmenti che essi controllano nell'animale. Questa organizzazione è legata, forse, alla necessità di questi geni di essere trascritti in una specifica sequenza temporale.

Drosophila ha un solo complesso *Antennapedia-bithorax*, mentre l'uomo, il topo e molti altri vertebrati hanno quattro cluster simili di geni Hox , che probabilmente si sono originati per duplicazione genica e sono localizzati in cromosomi differenti. La presenza di copie supplementari di questi geni può spiegare perché nei vertebrati le mutazioni che provocano anomalie di tipo omeotico sono molto rare. Ad esempio, non si vede mai un topo che abbia un occhio aberrante dove normalmente è presente una zampa. Tuttavia, una particolare mutazione Hox descritta nell'uomo e nel topo causa anomalie degli arti e dei genitali. Il coinvolgimento dei genitali fornisce un'ulteriore spiegazione della bassa frequenza di questi alleli mutati, dovuta al fatto che gli individui affetti non si riproducono.
Il fatto che meccanismi di controllo dello sviluppo molto simili si osservino in organismi così diversi come insetti e vertebrati (incluso l'uomo), indica che i meccanismi fondamentali si sono evoluti precocemente e sono altamente conservati in tutti gli animali che hanno un asse antero-posteriore, perfino se non sono segmentati. Sta diventando chiaro che, una volta che un meccanismo che controlla ed integra l'attività di gruppi di geni si sia evoluto con successo, esso permane attraverso l'evoluzione, sebbene possa essere modificato per fornire variazioni allo schema di organizzazione del corpo.
La scoperta di geni simili agli omeobox nelle piante suggerisce che si tratti di geni di origine antica nella storia evolutiva degli eucarioti. Ulteriori ricerche potranno consentire di sviluppare un modello generale di come i fondamenti della morfogenesi siano controllati negli eucarioti pluricellulari. Questi sistemi di geni fondamentali per lo sviluppo forniscono dei "fossili molecolari" che possono chiarire la storia dell'evoluzione. Questi tipi di studi hanno portato ad una nuova sintesi dell'evoluzione e della biologia dello sviluppo, che è oggi chiamata " Evo Devo " (Evolutionary Development).




**PUNTO CHIAVE** I geni Hox sono organizzati sul cromosoma in un ordine che corrisponde all'ordine con cui sono espressi lungo l'asse antero-posteriore dell'embrione.

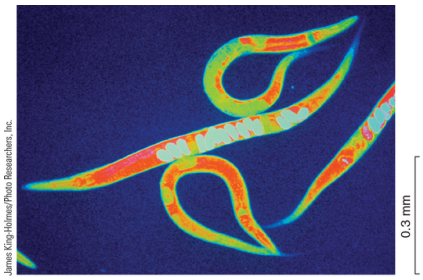
FIGURA 17-13 *Raggruppamenti (cluster) di geni Hox*
Raggruppamenti di geni Hox si trovano in tutti i gruppi di animali, fatta eccezione per le spugne. Si noti che in ogni organismo l'ordine di questi geni dello sviluppo ( bande colorate ) sul cromosoma rispecchia l'ordine spaziale della loro espressione nell'embrione.

## Caenorhabditis elegans mostra un quadro di sviluppo relativamente rigido

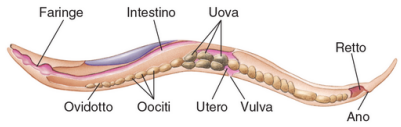
Il nematode *Caenorhabditis elegans* è un organismo modello ideale, in quanto il suo sistema di controllo genetico dello sviluppo è relativamente semplice da studiare. Negli anni '60, Sidney Brenner, un genetista molecolare britannico, iniziò a studiare lo sviluppo a livello molecolare in questo animale all'Università di Cambridge. Egli scelse C. elegans perché è di piccole dimensioni, ha un ciclo vitale breve (circa 3 settimane) ed è semplice dal punto di vista genetico. Il suo genoma, costituito da circa 19.700 geni codificanti per proteine, è stato il primo genoma animale ad essere sequenziato. Oggi, C. elegans è uno strumento indispensabile per trovare risposte a domande fondamentali sullo sviluppo di singole cellule in un organismo pluricellulare.

Allo stadio adulto, C. elegans è lungo solo 1,5 mm ed è composto da 959 cellule somatiche ( FIG. 17-14 ). Gli individui possono essere ermafroditi (organismi che hanno gli organi riproduttori di entrambi i sessi) o maschi. Gli ermafroditi sono capaci di autofecondazione e ciò facilita la creazione di progenie omozigote per mutazioni recessive neoindotte. La disponibilità di maschi che possono accoppiarsi con gli ermafroditi rende possibili gli incroci.

La trasparenza del suo corpo consente in pratica di seguire lo sviluppo di ogni singola cellula somatica col microscopio a contrasto interferenziale di Nomarski, che crea contrasto nei campioni trasparenti. I notevoli sforzi di molti laboratori hanno consentito di determinare la discendenza delle singole cellule somatiche nell'organismo adulto. Il nematode mostra un quadro di sviluppo estremamente rigido: dopo la fecondazione, l'uovo va incontro a ripetute divisioni producendo circa 550 cellule, che costituiscono la larva sessualmente immatura. Dopo la schiusa, ulteriori divisioni cellulari formano l'individuo adulto.



**(a)** Micrografia ottica a scansione colorata del nematode ermafrodita adulto. Le strutture ovali sono le uova.



**(b)** Strutture dell'ermafrodita adulto. Le gonadi maschili non sono mostrate.

FIGURA 17-14 *Caenorhabditis elegans*
Questo organismo trasparente possiede un numero fisso di cellule somatiche. [ (b) Adattato da Figura 22-6 a in V. Walbot e N. Holder, Developmental Biology , © 1987. Per gent. conc. di McGraw-Hill companies].

La genealogia di ciascuna cellula somatica del verme adulto può essere seguita a ritroso fino ad una singola cellula appartenente ad un piccolo gruppo di cellule fondatrici , che si formano in uno stadio precoce dello sviluppo ( FIG. 17-15a ). La distruzione di una cellula fondatrice comporta la mancanza nel verme di specifiche strutture che prendono origine da quella specifica cellula. Un tale tipo di sviluppo viene detto sviluppo a mosaico , in quanto il destino delle cellule è determinato molto precocemente e, proprio come in un mosaico, ogni tessera è una parte specifica dell'opera.

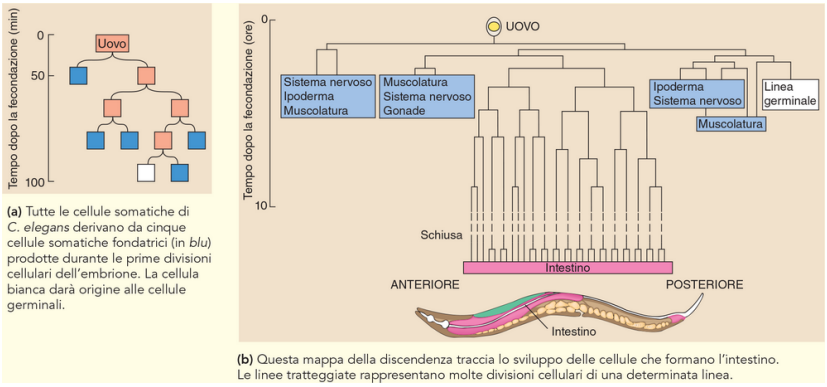
Inizialmente, si pensava che ogni organo in C. elegans derivasse da una sola cellula fondatrice. Analisi più dettagliate delle linee cellulari hanno tuttavia rivelato che molte delle strutture trovate nell'adulto, come il sistema nervoso e la muscolatura, originano di fatto da più di una cellula fondatrice ( FIG. 17-15b ). Al contrario, si sono identificate alcune linee in cui un neurone e un miocita derivavano dalla divisione di una singola cellula.

L'uso di raggi laser microscopici, capaci di distruggere una singola cellula, ha permesso anche di studiare l'influenza di una cellula sulle cellule vicine. In accordo con il modello rigido di sviluppo, nella maggior parte dei casi, alla distruzione di singole cellule di C. elegans segue la mancanza di tutte le strutture che originano da quella cellula ma con il differenziamento normale delle cellule somatiche circostanti. Evidentemente, lo sviluppo di ogni cellula segue un proprio programma interno.

Tuttavia, lo schema di sviluppo di C. elegans non è interamente a mosaico. In alcuni casi il differenziamento di una cellula può essere influenzato dalle cellule vicine: tale fenomeno viene detto induzione . Un esempio è la formazione della vulva, la struttura riproduttiva attraverso la quale vengono deposte le uova. Nell'ovario (l'organo in cui le cellule germinali subiscono la meiosi e diventano uova) esiste una singola cellula che non si divide ed è chiamata cellula àncora ; essa si àncora all'ovario e ad un punto della superficie esterna dell'animale, dando inizio alla realizzazione di un passaggio attraverso il quale le uova potranno raggiungere l'esterno. La sua presenza organizza le cellule della superficie esterna a formare la vulva, mentre la sua eliminazione, mediante distruzione con un raggio laser, impedisce la formazione della vulva e le cellule normalmente destinate a formarla rimangono cellule della superficie corporea (FIG. 17-16). L'analisi di mutazioni delle cellule progenitrici ha permesso di capire tali interazioni induttive. Per esempio, molti tipi di mutazioni provocano la formazione di più vulve, talora anche in assenza di cellule àncora. Quindi, le cellule mutate non necessitano di un segnale induttivo da parte di una cellula àncora per formare la vulva; evidentemente, il gene o i geni necessari per la formazione della vulva sono costitutivamente espressi in tali mutanti. Al contrario, si conoscono anche mutanti che non formano la vulva; in alcuni di questi, sembra che le cellule che normalmente dovrebbero formare la vulva non rispondano al segnale induttore della cellula àncora.

## C. elegans rappresenta un sistema modello per lo studio dell'apoptosi

Durante il normale sviluppo di C. elegans , ci sono casi in cui le cellule sono destinate a morire subito dopo la loro formazione. L' apoptosi , o morte cellulare geneticamente programmata, è stata osservata in un'ampia varietà di organismi, sia vegetali che animali. Per esempio, nell'uomo la mano inizialmente ha le dita unite tra loro da pliche palmari e solo successivamente la membrana interdigitale scompare per apoptosi delle cellule che la compongono. In C. elegans , come negli altri organismi, l'apoptosi è sotto controllo genetico. Gli embrioni del verme vanno in mitosi per produrre un totale di 1090 cellule, delle quali 131 vanno in apoptosi nel corso dello sviluppo; di conseguenza, i vermi adulti sono formati da 959 cellule.



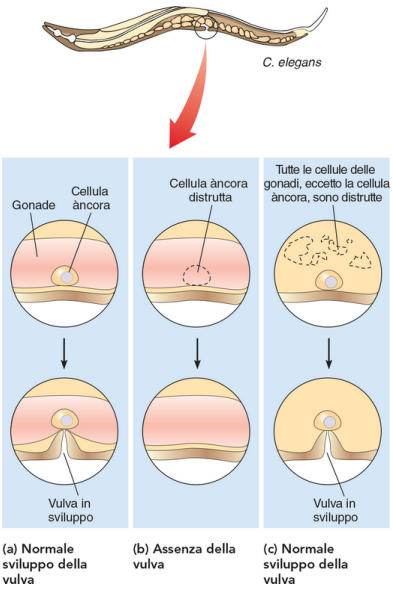

**(a)** Tutte le cellule somatiche di *C. elegans* derivano da cinque cellule somatiche fondatrici (in *blu*) prodotte durante le prime divisioni cellulari dell'embrione. La cellula bianca darà origine alle cellule germinali.

**(b)** Questa mappa della discendenza traccia lo sviluppo delle cellule che formano l'intestino. Le linee tratteggiate rappresentano molte divisioni cellulari di una determinata linea.

**PUNTO CHIAVE** Il verme nematode C. elegans ha uno schema di sviluppo fisso in cui l'origine di ciascuna cellula adulta può essere ricondotta ad una delle cellule fondatrici presenti nell'embrione.

FIGURA 17-15
*Genealogie cellulari in Caenorhabditis elegans*

Nel 1986, il genetista molecolare statunitense Robert Horvitz individuò vermi mutanti le cui cellule non andavano incontro ad apoptosi. Egli caratterizzò le mutazioni e i geni responsabili di tale fenomeno a livello molecolare. Ad esempio, uno di questi geni codifica una proteina che regola il rilascio dai mitocondri di molecole che innescano l'apoptosi (adesso si sa che i mitocondri svolgono un ruolo cruciale nell'apoptosi negli animali, da C. elegans all'uomo). Sono stati identificati anche altri geni, che codificano per una famiglia di proteine conosciute come caspasi , enzimi proteolitici che sono attivi durante gli stadi iniziali dell'apoptosi. In seguito, sono stati individuati i geni omologhi in altri organismi, incluso l'uomo; alcuni di questi loci codificano per le caspasi anche nei mammiferi. Gli eventi molecolari che guidano l'apoptosi rappresentano un'area di ricerca di forte interesse, che potrà far luce sui processi generali dell'invecchiamento cellulare e del cancro.




(a) Normale sviluppo della vulva (b) Assenza della vulva (c) Normale sviluppo della vulva

Nel 2002, Robert Horvitz ed i ricercatori britannici Sidney Brenner e John Sulston furono insigniti del premio Nobel per la Medicina grazie al loro lavoro sulla regolazione genetica dello sviluppo degli organi e dell'apoptosi in C. elegans . Sulston era uno studente di Brenner e delineò la corretta sequenza attraverso la quale un singolo zigote dà origine alle 959 cellule del nematode adulto ed osservò, inoltre, che alcune cellule morivano nel corso del normale sviluppo. Portando avanti il lavoro di Sulston sulla morte cellulare programmata, Horvitz, come già detto, fu il primo ad identificare i geni coinvolti nell'apoptosi.

*FIGURA 17-16 Induzione*
Una singola cellula àncora induce le cellule vicine a formare la vulva in C. elegans . Il diagramma schematico mostra come la distruzione con il laser di una cellula o di un gruppo di cellule influisca sulle cellule vicine.

## Il topo è un modello per lo sviluppo dei mammiferi

Gli embrioni dei mammiferi seguono uno sviluppo notevolmente diverso da quello degli embrioni di Drosophila e di C. elegans . Il topolino di laboratorio, *Mus musculus*, è l'esempio meglio studiato delle prime fasi di sviluppo dei mammiferi. Numerosi geni che influenzano lo sviluppo del topo sono stati identificati. Il genoma di topo, la cui sequenza è stata pubblicata nel 2002, contiene 27.000-30.000 geni codificanti per proteine, un numero che si avvicina molto a quello dell'uomo; inoltre, il 99% dei geni del topo ha un corrispettivo nell'uomo.

Le prime fasi dello sviluppo del topo e di altri mammiferi sono molto simili a quelle dell'uomo. Nelle prime fasi dello sviluppo, l'embrione vive libero all'interno dell'apparato riproduttore della madre; successivamente si impianta nella parete dell'utero e da quel momento la madre provvede ai suoi bisogni nutritivi e respiratori. Infatti, le uova dei mammiferi sono molto piccole e contengono poche riserve nutritive. Quasi tutte le ricerche sullo sviluppo del topo si sono concentrate sulle fasi precedenti l'impianto, in quanto, essendo l'embrione libero da connessioni, può essere facilmente manipolato. Nel periodo pre-

impianto, avvengono numerose restrizioni critiche per la futura organizzazione dell'embrione.
Dopo la fecondazione, una serie di divisioni cellulari dà origine ad un gruppo di cellule lassamente connesse fra loro. Si è visto che tutte le cellule in queste primissime fasi sono equivalenti fra loro. Per esempio, allo stadio di due cellule dell'embriogenesi del topo, la distruzione di un elemento e l'impianto nell'utero di una madre surrogata dell'elemento cellulare residuo porta per lo più alla formazione di un topo normale.
La fusione di due embrioni allo stadio di otto cellule e l'impianto in utero dà origine a un topo di grandezza normale ( FIG. 17-17 ). Usando due embrioni con caratteri genetici diversi, quali per esempio il colore del mantello, si vede che questi topi chimerici originano da quattro genitori: sul mantello vi sono infatti chiazze di diverso colore derivanti da raggruppamenti di cellule geneticamente differenti. Una chimera è un organismo che contiene due o più tipi di cellule, geneticamente differenti, che originano da zigoti diversi. Il termine deriva dal nome di un animale mitologico che aveva la testa di leone, il corpo di capra e la coda di serpente. Le chimere sono utili perché consentono di usare marcatori genetici per tracciare il destino di particolari cellule durante lo sviluppo.
La risposta degli embrioni di topo a queste manipolazioni è in netto contrasto col quadro a mosaico o di tipo restrittivo di C. elegans , dove la distruzione di una delle cellule fondatrici porta alla perdita di parti dell'embrione. Per questo motivo i biologi affermano che il topo ha uno sviluppo altamente regolativo : l'embrione nelle fasi precoci è un insieme capace di autoregolarsi, che ripara eventuali parti in difetto o in eccesso.

## La regolazione dello sviluppo viene studiata nei topi transgenici

Negli esperimenti di trasformazione, il DNA estraneo iniettato nelle uova fecondate di topo può essere incorporato nei cromosomi ed espresso ( FIG. 17-18 ). (Osservare anche la Figura 15-14 per un esempio di topo transgenico). I topi transgenici così ottenuti hanno consentito ai ricercatori di trarre alcune conclusioni su come i geni vengono attivati durante lo sviluppo. Un transgene (un gene estraneo) introdotto nel topo può essere identificato e si può riconoscere se è attivo, marcandolo in modi differenti. In alcuni casi, viene usato un gene simile, ma di una specie animale diversa, le cui proteine sono differenti da quelle del topo e possono essere riconosciute con anticorpi specifici.

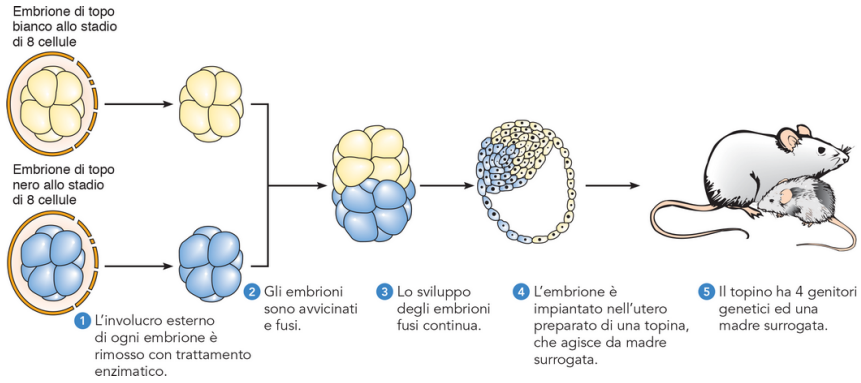
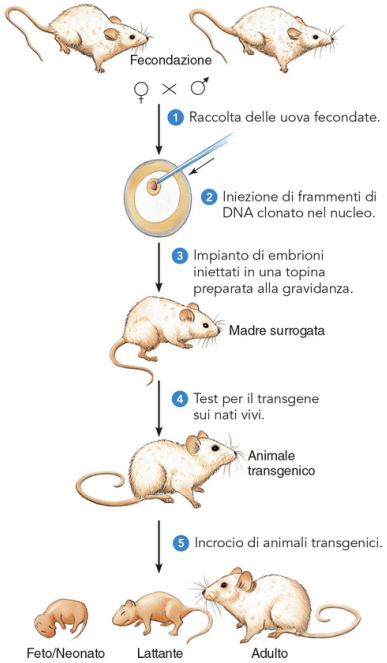



FIGURA 17-17 *Topi chimerici*
È possibile ottenere topi chimerici prelevando embrioni da femmine di ceppi differenti e fondendoli in vitro. L'embrione aggregato che ne risulta continua a svilupparsi e viene impiantato nell'utero di una madre surrogata. La prole ha quattro diversi genitori genetici. Anche se la madre surrogata è quella che porta avanti la gravidanza, dal punto di vista genetico non è imparentata con la prole.

Si possono anche costruire "geni ibridi" che contengono elementi regolatori di un gene di topo e parte di un altro gene, non appartenente al topo, che codifica una proteina "reporter" (rivelatrice). Per esempio, una proteina reporter potrebbe essere un enzima di norma non presente nel topo. Tali ricerche sono state importanti nel capire quali sequenze di DNA, all'interno dei geni omeobox del topo, determinano dove il gene è espresso nell'embrione.




**METODO DI RICERCA** Perché si usa? Questo metodo viene utilizzato per stabilire una linea di topi transgenici che contengono geni con caratteri utili per la ricerca scientifica e medica.
Come funziona?

FIGURA 17-18
*Produzione di un topo transgenico*

Numerosi geni coinvolti nello sviluppo sono stati introdotti nei topi e hanno fornito importanti informazioni sulla regolazione genica. Quando i ricercatori introducono nei topi geni controllati dallo sviluppo provenienti da altre specie, come uomo o ratto, questi sono regolati allo stesso modo in cui sono regolati nell'animale da cui provengono. Per esempio, l'introduzione nel topo di geni umani che codificano l'insulina, la globina o il cristallino che normalmente sono espressi, rispettivamente, nelle cellule

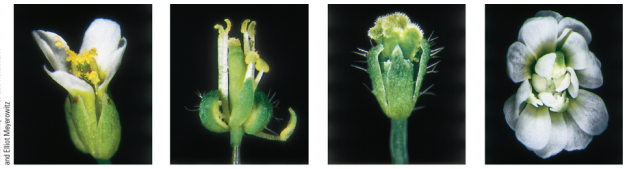
del pancreas, del midollo osseo e del cristallino dell'occhio, nel topo sono espressi nei medesimi tessuti; la corretta espressione nelle sedi appropriate testimonia che i segnali per l'espressione di geni tessuto-specifici sono comuni alle diverse specie e quindi altamente conservati attraverso l'evoluzione. Ciò significa che l'informazione sulla regolazione dei geni che controllano lo sviluppo in una specie, può avere valide applicazioni in altre specie, quali l'uomo.
Il topo ed altri organismi modello stanno fornendo informazioni sul processo di invecchiamento

L' invecchiamento , definito come un declino progressivo del funzionamento di varie parti del corpo, rappresenta un argomento importante della biologia dello sviluppo. Lo studio dell'invecchiamento ha un grande potenziale pratico, in quanto la comprensione delle malattie correlate all'età rappresenta una delle più grandi sfide della ricerca medica attuale.
I ricercatori che lavorano con organismi modello, come Drosophila e C. elegans , hanno scoperto oltre un migliaio di geni codificanti proteine in grado di influenzare l'invecchiamento a vari livelli. Nel nematode C. elegans la maggior parte di questi geni sono sotto il controllo di 3 ulteriori geni (denominati ELT-3, ELT-5 e ELT-6) ognuno dei quali codifica per fattori di trascrizione.
Molti dei geni che rallentano l'invecchiamento nel lievito, nei nematodi e nei mammiferi sono associati a risposte cellulari ai nutrienti. È dimostrato, infatti, che restrizioni dietetiche allungano la vita di molti organismi, dai lieviti ai cani e presumibilmente anche dei primati. Due geni coinvolti (PHA-4 e SKN-1), in grado prolungare la vita nel C. elegans , codificano per fattori di trascrizione.
Uno dei geni più potenti nell'allungare la durata della vita nel verme C . elegans , codifica per una proteina molto simile al recettore di membrana che lega il peptide denominato fattore di crescita insulino-simile ( IGF ), presente nell'uomo ed in altri mammiferi. Il legame dell'IGF al suo recettore innesca una via di trasduzione del segnale all'interno della cellula che regola l'espressione di numerosi altri geni.
I ricercatori si sono chiesti se il recettore dell'IGF influenzi l'invecchiamento nei mammiferi, uomo compreso. Per verificare questa ipotesi, hanno prodotto topi knockout in cui era stato inattivato il gene per il recettore del fattore di crescita insulino-simile (IGF-1R). (I topi knockout sono stati discussi nel Capitolo 15 ). Essendo organismi diploidi, i topi posseggono due copie del gene igflr . Quando entrambi gli alleli del gene igflr sono inattivati, i topi sviluppano numerose anomalie e muoiono alla nascita. Invece, quando uno degli alleli è inattivato e l'altro è lasciato nel suo stato normale, i topi crescono bene e vivono circa il 25% più a lungo dei topi di controllo. Sotto tutti gli altri aspetti, i topi eterozigoti sono normali; infatti, sono praticamente indistinguibili dai topi di controllo per quanto riguarda la velocità di sviluppo, il tasso metabolico, la capacità riproduttiva e le dimensioni corporee.
I topi eterozigoti per il locus igflr producono un minor numero di recettori per l'IGF, per cui le cellule sono esposte ad una segnalazione da IGF più lieve.
Gli studi sul recettore dell'IGF e sull'invecchiamento nei topi suggeriscono che alcuni delle centinaia di altri geni mutanti associati all'invecchiamento in C. elegans potrebbero essere coinvolti anche nell'invecchiamento dei mammiferi. Pertanto, il controllo genetico dell'invecchiamento nei mammiferi è un argomento che impegnerà i genetisti molecolari ancora per molti anni.

## Arabidopsis è un modello per lo studio dello sviluppo delle piante, inclusi i fattori di trascrizione

*Arabidopsis thaliana*, membro della famiglia delle crucifere, è l'organismo maggiormente utilizzato per studiare il controllo genetico dello sviluppo nelle piante. Sebbene essa sia una pianta erbacea di nessuna importanza economica, presenta numerosi vantaggi per la ricerca. La pianta completa il suo ciclo vitale in poche settimane ed è abbastanza piccola da poter crescere in una capsula Petri, per cui migliaia di esemplari possono essere coltivati in uno spazio limitato. L'uso di mutageni chimici consente di ottenere numerosi mutanti, fra cui anche mutanti dello sviluppo. Nelle cellule di *Arabidopsis* possono inoltre essere inseriti geni clonati, che si integrano nei cromosomi e vengono espressi. Queste cellule trasformate possono essere indotte a differenziarsi in piante transgeniche.
Nel 2000, il genoma di Arabidopsis è stato il primo genoma di un organismo vegetale ad essere sequenziato; benché sia relativamente piccolo (quattro volte inferiore rispetto a quello del riso), esso contiene circa 26.000 geni che codificano per proteine. A termine di paragone, la Drosophila ne contiene 13.600 e C. elegans circa 19.700. Molti geni della pianta sono funzionalmente equivalenti a geni del moscerino, del verme e a quelli di altre specie animali.
Circa 1500 geni sono di particolare importanza per lo sviluppo; questi codificano essenzialmente per fattori di trascrizione ( Drosophila ne ha 635). Non è sorprendente che molti dei geni che specificano le diverse parti del fiore codifichino per fattori di trascrizione. Durante lo sviluppo del fiore si distinguono quattro parti: sepali, petali, stami e carpelli ( FIG. 17-19a ; vedi anche Fig. 33-1 ). I sepali coprono e proteggono il fiore quando è una gemma, i petali contribuiscono ad attrarre gli animali impollinatori, gli stami producono il polline e i carpelli producono gli ovuli che si sviluppano in semi dopo la fecondazione (vedi Capitolo 28 ).
Il modello ABC spiega come tre classi di geni omeotici controllano lo sviluppo di questi quattro organi e

suggerisce come possano aver avuto origine migliaia di diversi tipi di fiore. I geni della classe A sono necessari per specificare i sepali, quelli delle classi A e B sono richiesti per i petali, quelli delle classi B e C per gli stami e quelli della classe C per i carpelli. Le mutazioni in questi geni, che sono omeotici e che codificano per fattori di trascrizione, causano la sostituzione di una parte del fiore con un'altra. Per esempio, i mutanti della classe C hanno i petali al posto degli stami e i sepali al posto dei carpelli. Di conseguenza, il fiore è costituito solo da sepali e petali. La FIGURA 17-19b , c e d mostra tre mutanti omeotici di Arabidopsis .
Il modello ABC da solo non può spiegare completamente lo sviluppo del fiore. I geni appartenenti ad un'altra classe, detta SEPALLATA , interagiscono con i geni B e C per specificare lo sviluppo di petali, stami e carpelli. Quando i geni SEPALLATA sono attivati in maniera permanente in Arabidopsis , le piante che ne risultano hanno petali bianchi che crescono dove dovrebbero esserci le foglie. (Di conseguenza tali piante non effettuano la fotosintesi e vengono cresciute su un terreno arricchito).
Queste scoperte effettuate in Arabidopsis hanno permesso di preparare molte sonde molecolari per identificare altri geni coinvolti nello sviluppo di altre specie di piante e di compararli con quelli di numerosi altri organismi. Il grande successo del progetto sul sequenziamento di Arabidopsis ha portato ad un'iniziativa internazionale volta a comprendere le funzioni di tutti i geni caratterizzati in questa specie. Queste informazioni di genomica funzionale consentiranno di comprendere con maggior chiarezza lo sviluppo delle piante e la loro storia evolutiva.



Photos courtesy of Jane Lutz Reichmann and Elliot Meyerowitz

**(a)** Un fiore normale di *Arabidopsis* presenta quattro sepali verdi, quattro petali bianchi, sei stami (strutture riproduttive maschili) ed un carpello centrale (struttura riproduttiva femminile).

**(b)** Questo mutante omeotico è privo di petali.

**(c)** Questo mutante omeotico ha solamente sepali e carpelli.

**(d)** Questo mutante omeotico ha sepali e petali, ma non le altre strutture del fiore.

FIGURA 17-19
*Mutanti omeotici di fiori di Arabidopsis*

**Verifica**

- Quali sono i vantaggi relativi di Drosophila, C. elegans, Mus musculus ed Arabidopsis come organismi modello per gli studi sullo sviluppo?
- Cosa sono i fattori di trascrizione e in che modo influenzano lo sviluppo?
- Che ruolo gioca l'induzione nello sviluppo?
- Che cos'è l'apoptosi?

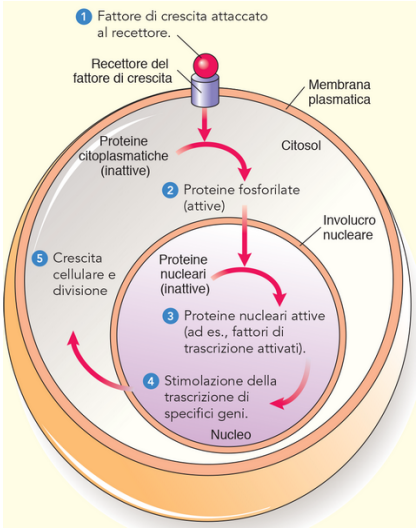
## 17.3 CANCRO E SVILUPPO CELLULARE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Discutere la relazione tra il cancro e le mutazioni che influenzano i processi cellulari di sviluppo.

Una cellula cancerosa manca delle normali inibizioni biologiche. Le cellule normali sono rigidamente controllate da meccanismi che le fanno dividere quando è necessario e impediscono loro di crescere e dividersi in tempi non appropriati. Nell'adulto, le cellule di molti tessuti non si dividono e si riproducono solo per rimpiazzare le cellule vicine che sono morte o danneggiate. Le cellule tumorali sfuggono questi controlli e possono dividersi continuamente.
Come conseguenza di tale anomalia della crescita, alcune cellule cancerose formano una massa di tessuto detta tumore , o neoplasia. Se il tumore rimane localizzato nel punto di origine, può di solito essere rimosso chirurgicamente. Uno dei maggiori problemi con certe forme cancro risiede nel fatto che le cellule sfuggono ai sistemi di controllo che le tengono localizzate in un tessuto. La metastasi consiste nella diffusione delle cellule cancerose in varie parti del corpo. Le cellule cancerose invadono altri tessuti e formano tumori multipli. Il cancro del polmone, ad esempio, è particolarmente letale perché le sue cellule metastatizzano facilmente e penetrano nel torrente circolatorio, diffondendosi e formando tumori in altre parti del polmone o in altri organi, come il fegato e il cervello.
Noi ora sappiamo che il cancro è una malattia causata da una alterata espressione di specifici geni coinvolti nel processo di divisione cellulare. Usando i metodi del DNA ricombinante, si sono identificati alcuni geni che trasformano le cellule normali in cellule cancerose. Ogni cellula cancerosa deve le sue caratteristiche almeno ad uno, e più spesso a molti piccoli gruppi di geni conosciuti come oncogeni (geni che causano il cancro). Gli oncogeni originano dal cambiamento dell'espressione di alcuni geni chiamati proto-oncogeni , che sono geni normali che si trovano in tutte le cellule e sono coinvolti nel controllo della crescita e dello sviluppo.
I primi oncogeni furono scoperti nei virus che possono infettare le cellule dei mammiferi e trasformarle in cellule cancerose, con un processo noto come *trasformazione maligna*. Tali virus posseggono oncogeni

all'interno del genoma; quando infettano una cellula, gli oncogeni virali vengono espressi ed inducono la cellula a dividersi.
Un proto-oncogene in una cellula non infettata da virus può comunque mutare e divenire un oncogene. Uno dei primi oncogeni identificati fu isolato da un tumore della vescica urinaria. Nelle cellule che davano origine al tumore, un proto-oncogene aveva subìto una mutazione in una singola coppia di basi il cui risultato era la sostituzione di una glicina con la valina nella proteina. Questo modesto cambiamento era un fattore critico nel trasformare la cellula normale in cellula cancerosa.
Alcuni di questi meccanismi di controllo sono illustrati in maniera estremamente semplificata nella FIGURA 17-20 . La crescita e la divisione cellulare possono essere innescate da una o più molecole segnale esterne. Alcune di queste sostanze, conosciute come fattori di crescita , si legano a specifici recettori dei fattori di crescita posti sulla superficie cellulare, dando inizio ad una cascata di eventi all'interno della cellula. Spesso, il complesso fattore di crescita/recettore agisce come una protein-chinasi , un enzima che fosforila aminoacidi specifici di numerose proteine citoplasmatiche. Questa modificazione post-traduzionale di solito attiva enzimi precedentemente inattivi. Questi enzimi attivati sono quindi capaci di attivare alcune proteine nucleari, molte delle quali sono fattori di trascrizione. I fattori di trascrizione attivati si legano ai loro siti specifici sul DNA e stimolano la trascrizione di gruppi di geni specifici che iniziano la crescita e la divisione.
Perfino nel quadro semplificato mostrato nella figura, risulta evidente che per il controllo della proliferazione cellulare sono necessarie molte tappe. Si deve segnalare che sono stati identificati i proto-oncogeni che codificano i prodotti per il controllo di molte di queste tappe. La lista di proto-oncogeni attualmente conosciuti comprende geni che codificano vari fattori di crescita o recettori di fattori di crescita e geni che rispondono alla stimolazione da parte di fattori di crescita, inclusi numerosi fattori di trascrizione. Quando uno di questi proto-oncogeni è espresso impropriamente (ovvero quando diventa un oncogene), la cellula può fraintendere il segnale e rispondere con la crescita e la divisione. Per esempio, in alcuni casi un proto-oncogene che codifica per il recettore di un fattore di crescita può subire una mutazione in modo tale che il recettore non sia più regolabile. Esso è sempre attivato, anche in assenza del rispettivo fattore di crescita.




**PUNTO CHIAVE** I fattori di crescita sono proteine di segnalazione che stimolano la divisione cellulare in specifiche cellule bersaglio.

FIGURA 17-20
*Controllo a cascata della crescita cellulare*
In questo esempio, un fattore di crescita stimola la crescita cellulare. Il recettore del fattore di crescita, così come alcuni altri componenti del sistema, sono codificati da proto-oncogeni. Quando un proto-oncogene muta e diventa un oncogene, la cellula cresce e si divide anche in assenza del fattore di crescita.

Non tutti i geni che causano il cancro derivano, però, da proto-oncogeni. Circa la metà dei tumori è causata da una mutazione in un gene onco-soppressore (geni soppressori del tumore). Questi geni, detti anche anti-*oncogeni*, interagiscono normalmente con fattori che inibiscono la crescita per bloccare la divisione cellulare. Quando subiscono mutazioni, essi perdono la capacità di "schiacciare il freno", per cui la cellula cresce in maniera incontrollata.
Fino ad oggi, sono stati identificati più di 100 oncogeni e 15 onco-soppressori. Un'alterazione in un singolo proto-oncogene non è sufficiente a trasformare una cellula normale in cellula tumorale. Lo sviluppo di un cancro è un processo con vari stadi e prevede sia mutazioni che attivano oncogeni, sia mutazioni che inattivano geni onco-soppressori.
Un ruolo importante può essere giocato anche da fattori aggiuntivi, come l'attivazione inappropriata dell'enzima responsabile del mantenimento dei telomeri (vedi Capitolo 12 ) oppure eventi di traslocazione cromosomica (vedi Capitolo 16 ). Attualmente, il Progetto Genoma Cancro (Cancer Genome Project), un'iniziativa internazionale a lungo termine fondata in Gran Bretagna, sta esaminando tutti i geni umani per individuare eventuali mutazioni che siano correlate allo sviluppo del cancro. Man mano che oncogeni e anti-oncogeni verranno individuati e verranno comprese le loro complesse interazioni, si otterrà una più completa comprensione del controllo dell'insorgenza e dello sviluppo della malattia. È augurabile che queste conoscenze portino ad un miglioramento diagnostico e terapeutico dei vari tipi di cancro.

Alcuni studiosi considerano il cancro una malattia delle cellule staminali, dal momento che le cellule cancerose si propagano a partire da un piccolo numero di cellule che mostrano molte proprietà delle cellule staminali. Tuttavia, la propagazione delle cellule staminali normali è strettamente regolata, per cui l'interrogativo che si pongono alcuni biologi è come i meccanismi cellulari che regolano l'autorinnovamento

delle cellule staminali possano cambiare e causare la proliferazione delle cellule cancerose. È possibile che la durata di vita relativamente lunga delle cellule staminali permetta loro di accumulare mutazioni che ne causano la proliferazione incontrollata. Benché questa sia una linea di ricerca promettente, si dovrebbe sottolineare che la validità dell'ipotesi che il cancro sia una malattia originata dalle cellule staminali resta ancora da dimostrare per la maggior parte dei tipi di cancro.

**Verifica**

- In che modo oncogeni ed onco-soppressori sono correlati ai geni coinvolti nel normale controllo della crescita e dello sviluppo?
- In che modo un fattore di crescita è coinvolto in un controllo a cascata della crescita?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

17.1

1. Fare una distinzione tra determinazione cellulare e differenziamento cellulare, e tra equivalenza nucleare e totipotenza.
    - Un organismo contiene molti tipi di cellule che sono specializzate, sia strutturalmente che metabolicamente, per svolgere funzioni specifiche. Queste cellule sono il prodotto di un processo detto determinazione cellulare , che al termine porta alla fase finale della specializzazione, detta differenziamento cellulare .
    - Il concetto di equivalenza nucleare afferma che, con poche eccezioni, tutti i nuclei delle cellule somatiche differenziate di un organismo sono identici gli uni agli altri e al nucleo della singola cellula da cui si sono originati. La totipotenza è la capacità delle cellule di dirigere lo sviluppo di un intero organismo.
2. Descrivere gli esperimenti classici di Steward, Gurdon e Wilmut.

    - Steward indusse cellule radicali mature di carota a dedifferenziarsi e ad esprimere la loro totipotenza, formando un'intera pianta.
    - Gurdon iniettò nuclei di cellule intestinali di girino in uova enucleate; una piccola frazione di esse si sviluppò in girini, a dimostrazione della totipotenza dei nuclei iniettati.
    - Wilmut fuse una cellula differenziata derivante da una pecora adulta con un uovo enucleato ed impiantò la cellula risultante nell'utero di una madre surrogata, dove si sviluppò in un agnello normale.
3. Dare una definizione di cellule staminali , distinguere tra cellule staminali embrionali e cellule staminali pluripotenti, e descrivere alcune delle aree di ricerca più promettenti in cui sono coinvolte le cellule staminali.
    - Le cellule staminali possono dividersi per produrre discendenti differenziati, pur conservando la capacità di replicarsi per mantenere la popolazione di cellule staminali. Le cellule staminali totipotenti possono dare origine a tutti i tipi cellulari del corpo e della placenta, mentre le cellule staminali pluripotenti possono dare origine a molti, ma non a tutti, i tipi cellulari.
    - Le cellule staminali embrionali (cellule ES) , che si formano dopo che uno zigote è andato incontro a diversi cicli di divisione cellulare per formare una blastocisti allo stadio di 5-6 giorni, sono pluripotenti ed hanno la potenzialità di svilupparsi in ogni tipo di cellula del corpo; le cellule ES non sono totipotenti, in quanto non possono formare le cellule della placenta.
    - Le cellule staminali hanno applicazioni promettenti per il trattamento di malattie come il morbo di Parkinson e il diabete mellito.

17.2

4. Indicare le caratteristiche di Drosophila melanogaster, Caenorhabditis elegans, Mus musculus ed Arabidopsis thaliana che hanno reso tali organismi dei validi modelli per gli studi di genetica dello sviluppo.
    - Nel moscerino della frutta, Drosophila melanogaster , sono state identificate mutazioni dello sviluppo, molte delle quali interessano lo schema di segmentazione corporea dell'animale. Molti geni dello sviluppo scoperti nel moscerino della frutta sono adesso noti per la loro importanza nella crescita e nello sviluppo di tutti gli animali.
    - Caenorhabditis elegans è un nematode che ha uno sviluppo a mosaico , uno schema di sviluppo estremamente rigido in cui il destino delle cellule è determinato durante le prime fasi di sviluppo. La genealogia di tutte le cellule somatiche dell'adulto è conosciuta e per ciascuna di esse può essere tracciata l'origine fino a risalire ad una singola cellula fondatrice nell'embrione precoce.

- Il topo di laboratorio, Mus musculus , è utilizzato negli studi sullo sviluppo dei mammiferi. A differenza di C. elegans , il topo mostra uno sviluppo regolativo : nelle primissime fasi, l'embrione è un'unità autoregolantesi e può svilupparsi normalmente anche se contiene cellule in difetto o in eccesso. I topi transgenici , in cui sono stati incorporati geni estranei, sono utilissimi per comprendere i meccanismi di attivazione e regolazione dei geni durante lo sviluppo.
- Geni implicati nello sviluppo sono stati identificati anche in alcune piante, come Arabidopsis thaliana . Il modello ABC di interazione tra tre tipi di geni spiega come si sviluppano gli organi del fiore in Arabidopsis . Le mutazioni in questi geni omeotici causano la sostituzione di una parte del fiore con un'altra.

5. Distinguere tra geni ad effetto materno, geni della segmentazione e geni omeotici in Drosophila .
   - I primissimi eventi dello sviluppo che operano nell'uovo sono stabiliti da geni ad effetto materno nei tessuti materni circostanti; questi geni sono attivi prima della fecondazione ed alcuni producono gradienti di morfogeni , agenti chimici che influenzano il differenziamento e lo sviluppo morfologico. I geni ad effetto materno stabiliscono la polarità dell'embrione.
   - I geni della segmentazione producono uno schema ripetitivo di segmenti corporei nell'embrione. I geni gap sono geni di segmentazione che cominciano ad organizzare il corpo in tre regioni: anteriore, intermedia e posteriore. I geni pair-rule ed i geni della polarità del segmento agiscono su tutti i segmenti del corpo piuttosto che su piccoli gruppi di segmenti.
   - I geni omeotici , ad espressione ancora più tardiva, specificano l'identità di ciascun segmento.
6. Spiegare il rapporto esistente tra fattori di trascrizione e geni che controllano lo sviluppo.
   - I fattori di trascrizione sono proteine che si legano al DNA e regolano la trascrizione negli eucarioti. Alcuni dei geni che codificano per fattori di trascrizione contengono una sequenza di DNA chiamata omeobox , che codifica per una proteina con una regione che lega il DNA chiamata omeodominio .
   - Alcuni geni omeobox sono organizzati in complessi che sembrano essere sistemi di geni principali che specificano il piano dello sviluppo corporeo dell'organismo. Esistono notevoli somiglianze tra i complessi omeobox di Drosophila e quelli di altri animali.
7. Definire l' induzione e l' apoptosi e fornire esempi del ruolo che svolgono nello sviluppo.
   - L' induzione consiste in interazioni di sviluppo con le cellule vicine. Durante lo sviluppo di C. elegans , la cellula àncora induce le cellule di superficie ad organizzarsi per formare la vulva, la struttura attraverso cui vengono deposte le uova.
   - L' apoptosi è la morte cellulare programmata. Durante lo sviluppo, la mano umana presenta le dita unite tra loro da pliche palmari; successivamente, la membrana interdigitale scompare per apoptosi delle cellule che la costituiscono e le dita si separano.

17.3

8. Discutere la relazione esistente tra il cancro e le mutazioni che influenzano i processi cellulari di sviluppo.
   - Le caratteristiche delle cellule tumorali sono dovute a geni che causano il cancro, detti oncogeni . Gli oncogeni derivano da alterazioni nell'espressione di geni normali, detti proto-oncogeni , che sono presenti in tutte le cellule e sono coinvolti nel controllo della crescita e dello sviluppo.
   - I proto-oncogeni noti includono geni che codificano per vari fattori di crescita o recettori di fattori di crescita e geni che rispondono alla stimolazione da parte dei fattori di crescita, inclusi molti fattori di trascrizione. Quando un proto-oncogene è espresso in modo inappropriato (diventando così un oncogene), la cellula può interpretare in maniera errata il segnale e rispondere con la crescita e la divisione.
   - I geni oncosoppressori (geni soppressori del tumore) normalmente interagiscono con fattori che inibiscono la crescita per bloccare la divisione cellulare. Una mutazione in un gene oncosoppressore può portare alla sua inattivazione e, in ultima analisi, al cancro.

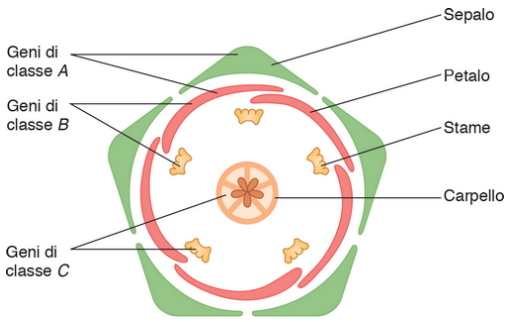
## AUTOVERIFICHE

1. La morfogenesi avviene attraverso una serie di tappe conosciute come: (a) differenziamento; (b) determinazione; (c) formazione del pattern; (d) totipotenza; (e) selezione.
2. Gli esperimenti di clonazione condotti sugli anfibi hanno dimostrato che: (a) tutte le cellule differenziate di anfibi sono totipotenti; (b) alcune cellule differenziate di anfibi sono totipotenti; (c) tutti i nuclei di cellule differenziate di anfibi sono totipotenti; (d) alcuni nuclei di cellule differenziate di anfibi sono totipotenti; (e) il differenziamento cellulare richiede sempre la perdita di certi geni.

3. L'asse antero-posteriore di un embrione di Drosophila è determinato all'inizio da alcuni: (a) geni omeotici; (b) geni ad effetto materno; (c) geni di segmentazione; (d) proto-oncogeni; (e) geni pair-rule.
4. Se identificaste un nuovo mutante di Drosophila in cui parti dell'apparato buccale si trovano nella sede in cui normalmente si trovano le antenne, ipotizzereste che il gene mutato è molto probabilmente un: (a) gene omeotico; (b) gene gap; (c) gene pair-rule; (d) gene ad effetto materno; (e) gene di polarità dei segmenti.
5. La maggior parte dei geni zigotici di segmentazione codifica per: (a) RNA transfer; (b) enzimi; (c) fattori di trascrizione; (d)istoni; (e) proteine di trasporto.
6. I geni omeobox: (a) si trovano nel moscerino della frutta, ma non negli altri animali; (b) tendono ad essere espressi nell'ordine in cui sono disposti su un cromosoma; (c) contengono una sequenza di DNA caratteristica; (d) b e c; (e) a, b e c.
7. Il quadro di sviluppo di C. elegans è detto a mosaico perché: (a) lo sviluppo è controllato da gradienti di morfogeni; (b) parte dell'embrione non si sviluppa se una cellula fondatrice è distrutta; (c) alcuni individui sono ermafroditi e si autofecondano; (d) tutto lo sviluppo è controllato da geni ad effetto materno; (e) non c'è mai apoptosi.
8. Quali delle seguenti risposte illustra la natura regolativa dello sviluppo precoce del topo? (a) L'embrione del topo è a vita libera prima dell'impianto nell'utero; (b) è possibile produrre topi transgenici; (c) è possibile produrre topi in cui un gene specifico è stato inattivato; (d) nel topo sono stati isolati geni che hanno omologia con i geni omeotici di Drosophila ; (e) un topo chimerico può essere prodotto dalla fusione di due embrioni di topo.
9. Arabidopsis è utile come organismo modello per lo studio dello sviluppo delle piante perché: (a) è di grande importanza economica; (b) ha un tempo di generazione molto lungo; (c) sono stati isolati molti mutanti dello sviluppo; (d) contiene una grande quantità di DNA per cellula; (e) ha un piano di sviluppo rigido.
10. Le cellule staminali pluripotenti: (a) perdono materiale genetico nel corso dello sviluppo; (b) danno origine a molti, ma non a tutti, i tipi cellulari di un organismo; (c) si organizzano in strutture riconoscibili mediante la formazione di uno schema; (d) non sono capaci di crescere in coltura; (e) sono state usate per clonare una pecora e alcuni altri mammiferi.
11. Quale delle seguenti affermazioni sul cancro è falsa ? (a) Gli oncogeni derivano da mutazioni nei proto-oncogeni; (b) i geni soppressori del tumore normalmente interagiscono con fattori che inibiscono la crescita per bloccare la divisione cellulare; (c) sono stati identificati più di 100 oncogeni e 15 geni soppressori del tumore; (d) gli oncogeni furono scoperti per la prima volta in modelli murini per il cancro; (e) lo sviluppo del cancro è di solito un processo a vari stadi che coinvolge sia oncogeni sia geni soppressori del tumore mutati.
12. I proto-oncogeni codificano per: (a) morfogeni; (b) anticorpi per la risposta immunitaria; (c) recettori di fattori di crescita ed altri componenti del controllo a cascata della crescita; (d) enzimi come la trascrittasi inversa; (e) cellule ES.

## PENSIERO CRITICO

1. Perché negli eucarioti la comprensione della regolazione genica è fondamentale per capire i processi dello sviluppo?
2. Perché è necessario studiare lo sviluppo in più di un tipo di organismo?
3. È possibile che un gene sia coinvolto nella crescita sia delle cellule staminali che di alcuni tipi di cancro? Spiegate la vostra risposta.
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Perché le straordinarie similarità tra i geni che governano lo sviluppo in specie molto diverse costituiscono una forte prova a favore dell'evoluzione?
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Qual è il denominatore comune tra i biologi evolutivi e i biologi dello sviluppo che hanno adottato la visione definita Evo Devo?
6. ANALISI DEI DATI. Le diverse parti che costituiscono un fiore sono organizzate in 4 cerchi concentrici: sepali, petali, stami e carpello. Secondo il modello ABC dello sviluppo degli organi del fiore in Arabidopsis , i geni di classe A sono necessari per lo sviluppo dei sepali, i geni di classe A e B per quello dei petali, i geni B e C per quello degli stami e i geni di classe C per quello dei carpelli. Se si verifica una mutazione in uno dei geni B che ne causa l'inattivazione, da cosa saranno costituiti i fiori risultanti?



Articolo III.

# Introduzione al concetto darwiniano di evoluzione 18

La diversità biologica rappresentata dai milioni di specie che attualmente vivono sul nostro pianeta potrebbe essersi originata a partire da un singolo progenitore nel corso della lunga storia della Terra. Così, organismi che sono radicalmente diversi sono imparentati lontanamente gli uni agli altri e sono legati, attraverso numerosi antenati intermedi, fino ad un unico progenitore comune. Il naturalista britannico Charles Darwin (1809-1882) sviluppò un meccanismo notevolmente semplice e verificabile scientificamente per spiegare questo fenomeno. Egli sosteneva in modo persuasivo che tutte le specie che esistono oggi, così come quelle ormai estinte, derivano da specie più primitive in seguito a un processo di *divergenza* (separazione di linee evolutive diverse) graduale, o *evoluzione*.

Il concetto di evoluzione è la pietra miliare della biologia, dal momento che esso lega tutti i campi delle scienze biologiche in un unico corpo di conoscenze. Come disse l'evoluzionista T. Dobzhansky "Niente ha significato in biologia se non nell'ottica evoluzionistica"[1]. I biologi tentano di interpretare sia la sorprendente varietà che le similarità fondamentali degli organismi nel contesto dell'evoluzione. In questo modo, l'evoluzione consente ai biologi di paragonare tratti tra organismi in apparenza diversi, come batteri, balene, gigli e tenie. [[1] American Biology Teacher, Vol. 35, No. 125 (1973).]

Esempi di discipline che si interessano di evoluzione sono l'etologia, la biologia dello sviluppo, la genetica, l'ecologia evolutiva, la sistematica e l'evoluzione molecolare.
Questo capitolo tratta di Charles Darwin e dello sviluppo della sua teoria dell'evoluzione per selezione naturale. Inoltre, presenta diverse prove a sostegno dell'evoluzione, inclusi fossili, biogeografia, anatomia comparata, biologia molecolare, biologia dello sviluppo, e studi sperimentali dei cambiamenti evolutivi in atto, sia in laboratorio che in natura.

## 18.1 CHE COS'È L'EVOLUZIONE?

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Dare una definizione di evoluzione.

Per iniziare, possiamo definire l'evoluzione come l'accumulo, nel corso del tempo, di cambiamenti genetici all'interno di popolazioni. Una popolazione è un gruppo di individui di una data specie che vive nella stessa area geografica nello stesso momento. Come la definizione di gene è cambiata nel corso del vostro studio della genetica, vedrete che anche la definizione di *evoluzione* diverrà più precisa in questo capitolo.

Con il termine evoluzione non ci si riferisce a cambiamenti che avvengono in un individuo durante la sua vita, ma a cambiamenti nelle caratteristiche di popolazioni nel corso di numerose generazioni. Questi cambiamenti possono essere così modesti da essere difficili da individuare o così macroscopici che la popolazione differisce enormemente da quella ancestrale.

È anche possibile che due popolazioni possano divergere così tanto che ci si riferisca ad esse come a specie diverse. Il concetto di specie è sviluppato in maniera estesa nel Capitolo "Cambiamenti evolutivi nelle popolazioni". Per adesso, una semplice definizione operativa indica una specie come un gruppo di organismi con struttura, funzione e comportamento simili, che sono capaci di accoppiarsi.

Quindi, l'evoluzione ha due prospettive principali adattamenti a breve termine delle popolazioni (*microevoluzione*, vedi Capitolo "Cambiamenti evolutivi nelle popolazioni") e formazione a lungo termine di specie differenti da antenati comuni (*macroevoluzione*, vedi Capitolo "Speciazione e macroevoluzione"). L'evoluzione ha anche importanti applicazioni pratiche. In agricoltura, per esempio, si deve affrontare il problema dell'evoluzione della resistenza ai pesticidi negli insetti e in altri organismi dannosi. Allo stesso modo, in medicina si affronta il problema di rispondere alla rapidità del potenziale evolutivo di batteri e virus patogeni (FIG. 18.1). (Cambiamenti evolutivi significativi si verificano in tempi brevi in insetti, batteri ed altri organismi con cicli vitali brevi). La ricerca medica utilizza i principi dell'evoluzione per predire se è in atto una rapida evoluzione in ceppi di agenti influenzali, in modo da poter produrre il vaccino per l'influenza dell'anno successivo. Anche i ricercatori che si occupano dello sviluppo di strategie terapeutiche efficaci per l'AIDS devono conoscere l'evoluzione del virus che ne è responsabile (HIV), sia all'interno che

tra gli organismi ospiti.

La gestione della conservazione delle specie rare e a rischio di estinzione utilizza i principi della genetica di popolazioni. La rapida evoluzione di batteri e funghi nei suoli contaminati è utilizzata nel biotrattamento , in cui i microrganismi sono utilizzati per ripulire i siti di accumulo di sostanze altamente nocive. L'evoluzione ha anche applicazioni che vanno oltre la biologia, come ad esempio certi programmi di computer che utilizzano algoritmi che mimano la selezione naturale nei sistemi biologici.

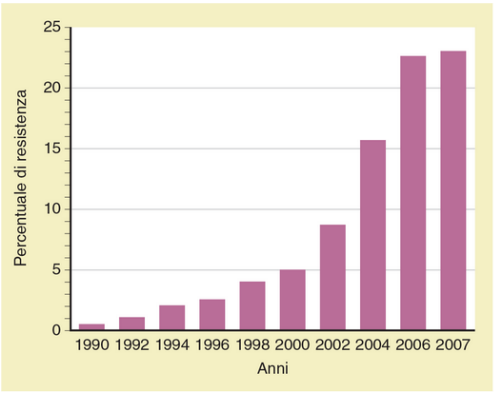



FIGURA 18-1 *Evoluzione dell'antibiotico resistenza alla ciprofloxacina in E. coli*
I dati riportati in figura mostrano un progressivo aumento della resistenza al trattamento antibiotico in pazienti con sangue o liquido cerebrospinale infettato da E. coli. I dati provengono da pazienti inglesi, gallesi e nord irlandesi e sono stati raccolti tra il 1997 d il 2000. (Fonte: Livermore D. "Zietgeist of resistance." The Journal of Antimicrobial Chemotherapy , Vol. 60, 159-161, 2007. Con il permesso di Oxford University Press).

**Verifica**
- Che cos'è l'evoluzione?
- Gli individui si evolvono? Spiegate la vostra risposta.

## 18.2 I CONCETTI SULL'EVOLUZIONE PRIMA DI DARWIN

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

2. Discutere lo sviluppo storico della teoria dell'evoluzione.

Benché il nome di Darwin venga normalmente associato all'evoluzione, alcuni concetti in merito all'evoluzione risalgono a molti secoli prima di Darwin. Aristotele (384-322 a.C.) riconobbe l'evidenza di affinità naturali tra gli organismi. Questo lo condusse a classificare tutti gli esseri viventi a lui noti in una "Scala della Natura", che andava dagli organismi estremamente semplici ai più complessi. Concettualmente, immaginava gli organismi viventi come esseri imperfetti "che tendevano a raggiungere uno stato di maggior perfezione". Questo concetto è stato interpretato da alcuni storici del pensiero scientifico come il precursore della teoria dell'evoluzione, benché Aristotele fosse vago sulla natura di questo "movimento verso la perfezione" e per certo non propose che il processo evolutivo fosse guidato dalla selezione naturale. Inoltre, la moderna teoria evolutiva ora ammette che l'evoluzione non spinge al raggiungimento di stati di maggior perfezione, e neanche necessariamente verso una maggiore complessità.

Molto prima di Darwin, sono stati scoperti fossili inglobati nelle rocce. Alcuni di essi corrispondevano a parti di specie familiari, mentre altri erano fortemente dissimili da qualsiasi specie conosciuta. I fossili sono stati trovati spesso in contesti insoliti. Per esempio, fossili di invertebrati marini (animali marini privi di colonna vertebrale) sono stati trovati in rocce sedimentarie in alta montagna. Leonardo da Vinci (1452-1519) è stato tra i primi a interpretare correttamente il significato di questi ritrovamenti, come resti di animali esistiti in epoche precedenti ed in seguito estinti.

Il naturalista francese Jean Baptiste de Lamarck (1744-1829) fu il primo scienziato a proporre che gli organismi vanno incontro a cambiamenti nel tempo come risultato di alcuni fenomeni naturali piuttosto che dell'intervento divino. Secondo Lamarck, un cambiamento ambientale poteva determinare un'alterazione nel comportamento di un organismo, che cominciava ad usare di più alcuni organi o parti del corpo e di meno altri. Attraverso varie generazioni, un dato organo (o parte del corpo) sarebbe aumentato di dimensioni se usato molto, oppure si sarebbe rimpicciolito e sarebbe eventualmente sparito se usato poco. Egli pensò anche che gli organismi potessero trasmettere alla propria discendenza i caratteri acquisiti durante la loro vita. Per esempio, Lamarck ipotizzò che il lungo collo della giraffa si fosse evoluto quando gli antenati della giraffa, dotati di un collo corto, per nutrirsi delle foglie poste più in alto sugli alberi, cominciarono a stirare e quindi ad allungare il proprio collo. La prole di queste giraffe primitive ereditò quindi colli più lunghi, che subirono un ulteriore allungamento nel tempo. Questo processo, ripetuto per numerose generazioni, avrebbe dato luogo ai lunghi colli delle attuali giraffe. Egli pensava, inoltre, che tutte le forme viventi fossero pervase da una forza vitale che le spingeva ad evolvere verso una maggiore complessità e "perfezione" nel tempo.

Il meccanismo evolutivo proposto da Lamarck era alquanto differente da quello proposto in seguito da Darwin. Tuttavia, l'ipotesi di Lamarck rimase una spiegazione ragionevole dell'evoluzione fino alla

riscoperta delle basi dell'ereditarietà di Mendel agli inizi del XX secolo. A quel punto, le idee di Lamarck furono notevolmente screditate.

**Verifica**

- Perché Aristotele è legato al primo pensiero evoluzionistico?
- Quali erano le idee di Jean Baptiste de Lamarck sull'evoluzione?

## 18.3 DARWIN E L'EVOLUZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Spiegare le quattro premesse dell'evoluzione per selezione naturale come proposte da Charles Darwin.
4. Paragonare la moderna teoria sintetica dell'evoluzione con la teoria originale di Darwin sull'evoluzione.

Darwin, figlio di un celebre medico, fu mandato a studiare medicina, all'età di 15 anni, all'Università di Edimburgo. Poiché non trovava adatti a sé gli studi in medicina, si trasferì all'Università di Cambridge a studiare teologia. Durante quel periodo, divenne il pupillo del reverendo John Henslow, che era un professore di botanica. Henslow incoraggiò l'interesse di Darwin per la natura. Poco dopo aver ricevuto il diploma, Darwin si imbarcò come "naturalista" sul brigantino H.M.S. Beagle che stava iniziando una crociera di 5 anni intorno al mondo per preparare le carte di navigazione per la flotta britannica.

Il *Beagle* lasciò Plymouth, in Inghilterra, nel 1831, discese la costa orientale e risalì quella occidentale del Sud America ( FIG. 18-2 ). Mentre gli altri membri dell'equipaggio disegnavano le coste ei porti, Darwin ebbe l'opportunità di studiare gli animali, le piante, i fossili e le formazioni geologiche di entrambe le coste e delle regioni interne, aree che non erano state esplorate in maniera approfondita. Egli raccolse e catalogò migliaia di campioni di piante ed animali e prese nota delle sue osservazioni, informazioni che si sarebbero rivelate essenziali per lo sviluppo della sua teoria.

Il Beagle trascorse circa due mesi presso le Isole Galapagos, 965 chilometri ad ovest dell'Equador, dove Darwin continuò le sue osservazioni e la raccolta di campioni. Egli paragonò gli animali e le piante delle Galapagos con quelli del continente sudamericano. Fu particolarmente impressionato dalle loro somiglianze e si chiese perché gli organismi delle Galapagos dovessero somigliare di più a quelli del Sud America piuttosto che a quelli provenienti da altre isole di diverse parti del mondo. Comunque, benché ci fossero similarità tra le specie delle Galapagos e quelle sudamericane, si riscontravano anche delle spiccate differenze. C'erano differenze riscontrabili persino tra i rettili e gli uccelli di isole adiacenti. Darwin si domandò come mai queste isole remote presentassero una tale diversità biologica. In seguito al suo rientro in patria, ponderò queste osservazioni e tentò di formulare una spiegazione adeguata per la distribuzione delle specie tra le isole.

FIGURA 18-2 *Il viaggio dell'HMS Beagle*
Il viaggio di 5 anni iniziò a Plymouth, Inghilterra (stella), nel 1831. Le osservazioni fatte da Darwin sulle Isole Galàpagos (occhio di bue ), a largo della costa occidentale del sud America, sono state la base per spiegare come una popolazione di organismi possa cambiare nel tempo.

Darwin si basò su molteplici osservazioni quando considerò come le specie potessero essersi originate. Malgrado il lavoro di Lamarck, la visione dominante alla metà dell'Ottocento era che la Terra fosse troppo giovane perché gli organismi potessero essere significativamente diversi dalla prima volta in cui erano apparsi. Agli inizi del XIX secolo, comunque, i geologi avanzarono l'ipotesi che le montagne, le valli e altre caratteristiche fisiche della superficie terrestre non avessero avuto origine nella loro forma presente, ma che si fossero sviluppate lentamente durante un lungo periodo di tempo a causa di lenti processi geologici di vulcanismo, sollevamento, erosioni e glaciazioni. Darwin, durante il suo viaggio, aveva con sé l'opera *Principles of Geology*, pubblicata dal geologo Charles Lyell nel 1830, e la lesse attentamente. Lyell fornì a Darwin un importante concetto — cioè che il lento andamento dei processi geologici, ancora in atto al giorno d'oggi, indicava che la Terra era estremamente antica.

Altre importanti informazioni che influenzarono Darwin venivano dal fatto che allevatori e agricoltori erano stati in grado di ottenere numerose varietà di animali domestici in poche generazioni. Questo era stato ottenuto scegliendo alcuni tratti e facendo riprodurre solo gli individui che presentavano le caratteristiche desiderate, una procedura nota come selezione artificiale, Gli allevatori, per esempio, avevano prodotto

numerose varietà canine— levrieri, dalmata, alani e pechinesi, per citarne solo alcuni —attraverso la selezione artificiale.
Molte varietà di piante erano state create attraverso la selezione artificiale. Per esempio, il cavolo cappuccio, i broccoli, i cavoletti di Bruxelles, i cavolfiori, la verza, i ravizzoni e i cavoli rapa sono tutti prodotti vegetali appartenenti alla stessa specie, *Brassica oleracea* (FIG. 18-3). Tutti e sette sono stati prodotti dall'allevamento selettivo del cavolo selvatico, una pianta fogliosa originaria dell'Europa e dell'Asia. Iniziando più di 400 anni fa, alcuni agricoltori selezionarono artificialmente piante di cavolo selvatico che presentavano foglie sovrapposte. Con il tempo, queste foglie divennero così prominenti che le piante, che avevano un aspetto simile agli odierni cavoli, divennero distinguibili dal loro antenato rappresentato dal cavolo selvatico. Altri agricoltori selezionarono caratteristiche diverse del cavolo selvatico, dando luogo ad altre modificazioni. Per esempio, il cavolo rapa fu prodotto selezionando a favore dell'allargamento del fusto, adatto al deposito di sostanze di riserva, mentre i cavoletti di Bruxelles selezionando per gemme ascellari ingrandite. Così, gli uomini sono responsabili dell'evoluzione della Brassica oleracea in 7 diversi prodotti vegetali. Darwin era a conoscenza della selezione artificiale e immaginò che un processo selettivo simile potesse verificarsi in natura. Quindi, Darwin utilizzò la selezione artificiale come modello quando sviluppò il concetto di selezione naturale.

Le idee di Thomas Malthus (1766-1834), un prete ed economista inglese, ebbero un'altra importante influenza su Darwin. Malthus sottolineò, nell'*opera An Essay on the Principle of Population as It Affects the Future Improvement of Society*, pubblicata nel 1798, che la crescita delle popolazioni non è sempre desiderabile— una visione contraria all'opinione più diffusa a quell'epoca. Egli osservò che le popolazioni hanno la capacità di ingrandirsi geometricamente (1→2→4→8→16) e quindi di esaurire le risorse alimentari, le quali hanno la capacità di aumentare solo in modo aritmetico (1→2→3→4→5).. Nel caso degli esseri umani, Malthus sostenne che il conflitto tra crescita di popolazioni e disponibilità alimentari generasse fame, malattie e guerre, le quali avrebbero costituito un freno per la crescita delle popolazioni.

FIGURA 18-3 *Selezione artificiale in Brassica oleracea*
Una gemma terminale ingrandita (la "testa") è stata selezionata nel cavolo cappuccio (in basso a sinistra), infiorescenze a grappolo nei broccoli (in alto a sinistra) e nel cavolfiore (centrale a destra), gemme ascellari nei cavoletti di Bruxelles (centrale in basso), foglie in cavolo verde (in alto a destra) e verza (in basso a destra), e steli nel cavolo rapa (al centro).

L'idea di Malthus che vi è un costante e forte controllo sulla crescita della popolazione umana ha influenzato le spiegazioni di Darwin sull'evoluzione. Gli anni trascorsi da Darwin ad osservare le abitudini degli animali e delle piante lo introdussero al concetto di lotta per l'esistenza descritto da Malthus. Dalle sue osservazioni, Darwin ricavò che in questa lotta le variazioni favorevoli tendevano ad essere conservate, mentre quelle non favorevoli tendevano ad essere eliminate.

Ciò avrebbe come risultato l'adattamento all'ambiente, una modificazione evolutiva che aumenta le probabilità di sopravvivenza di un organismo e il suo successo riproduttivo. L'accumulo di modificazioni avrebbe potuto causare, infine, l'origine di una nuova specie. Il tempo era la sola cosa richiesta per l'origine di nuove specie e i geologi dell'epoca, incluso Lyell, avevano fornito prove che la Terra era abbastanza antica perché vi fosse stato il tempo necessario per il verificarsi del processo evolutivo.

Darwin aveva elaborato alla fine un formidabile meccanismo dell'evoluzione, quello della selezione naturale, in cui gli organismi meglio adattati avevano maggiori probabilità di sopravvivere e dare origine alla generazione successiva. Come risultato della selezione naturale, la popolazione cambia nel tempo; la frequenza dei caratteri favorevoli aumenta nelle generazioni successive, mentre i caratteri svantaggiosi diventano scarsi o scompaiono. Darwin trascorse i 20 anni successivi formulando le sue teorie sulla selezione naturale, accumulando un immenso numero di prove a favore della sua teoria e confrontandosi con altri scienziati.

Mentre Darwin ponderava le sue idee, Alfred Russell Wallace (1823-1913), un naturalista inglese che studiò le piante e gli animali dell'Arcipelago Malese per 8 anni, allo stesso modo era stato colpito dalla diversità delle specie e dalla peculiarità della loro distribuzione. Egli scrisse un breve saggio sull'argomento e lo inviò a Darwin, allora biologo di fama mondiale, per avere la sua opinione. Darwin vi riconobbe la propria teoria e realizzò che Wallace era giunto in maniera indipendente alla sua stessa conclusione — che l'evoluzione si verifica per selezione naturale. Gli amici di Darwin lo convinsero a presentare lo scritto di Wallace insieme al riassunto del suo lavoro, che Darwin aveva preparato e fatto pervenire ad alcuni amici già alcuni anni prima. Entrambi i lavori furono presentati nel luglio del 1858 al congresso londinese della Società Linneana. Il libro monumentale di Darwin, *L'origine delle specie mediante selezione naturale*, o La

conservazione di razze favorite nella lotta per la vita, fu pubblicato nel 1859. Il libro di Wallace, *Contributo alla teoria della selezione naturalE*, fu pubblicato nel 1870, otto anni dopo il suo rientro dall'Arcipelago Malese.

## Darwin propose che l'evoluzione avvenisse per selezione naturale

Il meccanismo proposto da Darwin di evoluzione attraverso la selezione naturale consiste di quattro osservazioni sulla natura: variabilità, sovrapproduzione, limiti alla crescita della popolazione ovvero lotta per la sopravvivenza e successo riproduttivo differenziale.

1. Variabilità . Gli individui di una popolazione mostrano una grande variabilità rispetto ai loro caratteri ( FIG. 18-4 ). Ogni individuo ha una combinazione unica di caratteristiche, come le dimensioni, il colore e la capacità di tollerare condizioni ambientali sfavorevoli e resistere a certi parassiti e infezioni. Alcuni caratteri migliorano le probabilità di sopravvivenza di un organismo e il suo successo riproduttivo, mentre altri no. È importante ricordare che la variabilità necessaria per l'evoluzione mediante la selezione naturale è genetica e può essere trasmessa alla prole. Sebbene Darwin riconoscesse l'importanza per l'evoluzione dell'ereditabilità delle variazioni, egli non conosceva nulla dei meccanismi genetici dell'ereditarietà.
2. Sovrapproduzione . La capacità riproduttiva di ogni specie causa la sua crescita in modo esponenziale nel corso del tempo. Una femmina di rana depone circa 10.000 uova, mentre una femmina di merluzzo ne depone addirittura 40 milioni! In entrambi i casi, tuttavia, soltanto due discendenti all'incirca sopravvivono fino al momento di riprodursi. Ad ogni generazione, ogni specie ha la capacità di produrre più discendenti di quanti possano sopravvivere.
3. Limiti alla crescita della popolazione, o lotta per l'esistenza . A disposizione di una popolazione c'è solo una limitata quantità di cibo, acqua, luce, spazio per crescere ed altre risorse e, di conseguenza, gli organismi competono gli uni con gli altri per l'accesso a queste risorse limitate. Poiché ci sono più individui di quanti l'ambiente ne possa sostentare, non tutti sopravvivranno fino a riprodursi. Altri limiti rispetto alla crescita della popolazione includono predatori, organismi patogeni e condizioni climatiche avverse.
4. Successo riproduttivo differenziale . Gli individui in possesso delle combinazioni di caratteri più favorevoli (quelle che li rendono meglio adattati al loro ambiente) hanno maggiori probabilità di sopravvivere e di riprodursi. Poiché la prole tende ad essere simile ai propri genitori, la generazione successiva presenta i tratti ereditabili dei genitori. Il successo riproduttivo è la chiave della selezione naturale: gli individui meglio adattati sono quelli con il maggior successo riproduttivo, mentre gli individui con caratteristiche meno favorevoli muoiono prematuramente o producono prole meno numerosa o meno vitale.

FIGURA 18-4 *Variabilità genetica nel boa smeraldo arboricolo*
Questi serpenti, tutti della stessa specie ( Corallus caninus ), sono stati fotografati in una piccola area della foresta della Guiana Francese. Molte specie di serpenti presentano una considerevole variabilità nella colorazione e nei motivi cromatici.

Nel tempo, si può accumulare un sufficiente numero di cambiamenti tra popolazioni separate geograficamente (spesso caratterizzate da ambienti lievemente diversi) tale da dare origine a nuove specie. Darwin notò che i fringuelli delle Galàpagos sembravano essersi evoluti proprio in questo modo. Le 14 specie sono strettamente imparentate e discendono tutte da un antenato comune — un'unica specie proveniente dal continente sudamericano da 2 a 3 milioni di anni fa (i parenti più stretti dei friguelli delle Galapagos sono piccoli uccelli che si nutrono di semi, noti come *grassquit*, che vivono nella parte occidentale del Sud-America). Nel corso di tale periodo di 2-3 milioni di anni, il numero delle isole è aumentato, il clima è cambiato e si è verificata l'evoluzione delle forme di vita vegetali e delle risorse nutritive. Le varie isole appartenenti a questo arcipelago hanno mantenuto gruppi di fringuelli isolati gli uni dagli altri, in modo tale da consentire loro di divergere fino alla formazione di 14 specie separate in risposta ai cambiamenti delle condizioni (FIG. 18-5).

A partire dagli inizi degli anni '70 del secolo scorso, Peter Grant, Rosemary Grant e i loro colleghi hanno documentato la selezione naturale nei fringuelli delle Galàpagos nel loro ambiente naturale. Come esempio del processo evolutivo in atto, si consideri il fringuello del suolo dal becco appuntito (*Geospiza difficilis*) . Questa specie vive su diverse isole, e ciascuna popolazione ha evoluto un becco di forma e dimensioni particolari, in dipendenza del cibo disponibile sull'isola in cui vive.

Riesamineremo i fringuelli delle Galàpagos nei capitoli successivi. Nel Capitolo "Cambiamenti evolutivi nelle popolazioni", sarà descritto uno studio a lungo termine condotto da Peter Grant, Rosemary Grant e colleghi sulla microevoluzione dei fringuelli delle Galàpagos nel caso in cui la siccità alteri le riserve di cibo;

tale studio ha dimostrato che le variazioni ambientali possono guidare la selezione naturale. Nel Capitolo 54, sarà descritto lo *spostamento dei caratteri* nei fringuelli delle Galàpagos, un aspetto dell'ecologia evolutiva.

## La teoria sintetica dell'evoluzione combina la teoria di Darwin con la genetica

Una delle premesse su cui Darwin basò la sua teoria dell'evoluzione per selezione naturale è che gli individui trasmettano i propri caratteri alla generazione successiva. Ma, Darwin non fu in grado di spiegare *come* questo si verificasse o *perché* gli individui variassero all'interno di una popolazione. Come discusso nel Capitolo 11 , benché fosse contemporaneo di Gregor Mendel, che illustrò i princìpi di base dell'ereditarietà, Darwin apparentemente non era a conoscenza del lavoro di Mendel, che non fu riconosciuto dalla comunità scientifica fino agli inizi del XX secolo.

**(a)** Il fringuello dei cactus (*Geospiza scandens*) si nutre delle parti carnose dei cactus, come i fiori, e ha un lungo becco appuntito.

**(b)** Il grande fringuello di terra (*Geospiza magnirostris*) ha un becco molto possente, tipo schiaccia-noci, adatto a rompere e mangiare semi grossi e dal guscio duro.

**(c)** Il fringuello canoro (*Cherthidia olivacea*) ha un becco sottile adatto a mangiare insetti.

**(d)** Il fringuello picchio (*Camarhynchus pallidus*) estrae insetti dalle cortecce e dalle fessure usando spine, ramoscelli o anche foglie morte.

FIGURA 18-5 *Tre specie di fringuelli delle Galàpagos* Darwin dedusse che questi uccelli derivano da una comune popolazione ancestrale di uccelli del sud America che si nutrivano di semi. La variabilità nei loro becchi è il risultato dell'adattamento a diversi tipi di cibo.

Negli anni fra il 1930 e il 1940, i biologi unirono i princìpi della genetica con la teoria di Darwin sulla selezione naturale così da sviluppare una spiegazione unificata dell'evoluzione, nota come neo-darwinismo , o sintesi moderna o teoria sintetica dell'evoluzione. (*Sintesi* in questo contesto indica la combinazione di parti di un certo numero di teorie precedenti per formularne una unica). Alcuni dei fondatori della teoria sintetica dell'evoluzione sono stati il genetista russo Theodosius Dobzhanski, il genetista ed esperto di statistica britannico Ronald Fisher, il genetista britannico J.B.S. Haldane, il biologo britannico Julian Huxley, il tassonomista tedesco Ernst Mayr, il paleontologo statunitense George Gaylord Simpson, il botanico statunitense G. Ledyard Stebbins e il genetista statunitense Sewell Wright.

Oggi, la teoria sintetica dell'evoluzione sta incorporando le conoscenze in continua espansione di genetica (che di per sè fornisce prove inconfutabili del processo evolutivo), sistematica, paleontologia, biologia dello sviluppo, etologia ed ecologia. La teoria sintetica spiega l'osservazione fatta da Darwin sulla variazione tra la prole in termini di mutazioni o cambiamenti nel DNA, come le sostituzioni di nucleotidi. In altre parole, la mutazione fornisce la variabilità genetica su cui la selezione naturale agisce nel corso della evoluzione. La teoria sintetica dell'evoluzione, che enfatizza la genetica di popolazioni come aspetto cruciale dell'evoluzione, è stata ben accettata fin dalla sua prima formulazione. Essa ha dominato il pensiero e la ricerca dei biologi impegnati in diverse aree ed ha comportato un enorme accumulo di prove scientifiche a supporto dell'evoluzione per selezione naturale.

La maggior parte dei biologi non solo accetta i princìpi di base della teoria sintetica dell'evoluzione, ma cerca anche di comprendere meglio i processi casuali dell'evoluzione. Per esempio, qual è il ruolo del caso nell'evoluzione? Quanto rapidamente evolvono nuove specie? Queste domande sono derivate in parte da una rivalutazione dei reperti fossili e in parte dalle scoperte sugli aspetti molecolari dell'ereditarietà. Queste analisi critiche sono parte integrante del processo scientifico, poiché stimolano ulteriori osservazioni e sperimentazioni, contemporaneamente alla riesaminazione delle precedenti osservazioni. La scienza è un processo in continua evoluzione e non è escluso che informazioni raccolte nel futuro possano portare alla modifica di alcune parti della teoria sintetica dell'evoluzione.

Ora considereremo uno dei maggiori problemi sull'evoluzione attualmente affrontati dai biologi: gli effetti relativi della casualità e della selezione naturale sull'evoluzione.

## I biologi studiano l'effetto della casualità sull'evoluzione

Se fossimo capaci di ripetere il processo evolutivo partendo con organismi simili, esposti a condizioni ambientali simili, otterremmo gli stessi risultati? In altre parole, si originerebbero gli stessi cambiamenti per azione della selezione naturale? Oppure, gli organismi sarebbero molto diversi per effetto della casualità? Parecchi esempi recenti di evoluzione in atto suggeriscono che la casualità non sia così importante come la selezione naturale.
Una specie di moscerino della frutta (*Drosophila subobscura*) presente in Europa occupa aree tra la Danimarca e la Spagna. È stato notato che i moscerini del nord hanno ali più grandi di quelli del sud ( FIG. 18-6 ). La stessa specie fu accidentalmente introdotta separatamente in Nord e Sud America alla fine degli anni '70. Dieci anni più tardi, si osservò che non vi era alcuna differenza nella dimensione delle ali tra i moscerini presenti nelle varie aree del Nord America. Tuttavia, 20 anni più tardi i moscerini del Nord

America mostrarono le stesse differenze delle ali osservate tra il nord e il sud dell'Europa. (Non è ancora noto perché le ali più grandi si evolvano nelle aree del nord, mentre quelle più piccole in quelle del sud).

Lo studio dell'evoluzione di un pesce noto come *spinarello* proveniente da tre laghi del Canada ha prodotto risultati molto simili a quelli dei moscerini. Dati molecolari indicano che i laghi, al momento della loro formazione (e cioè parecchie migliaia di anni fa), fossero popolati dalla stessa specie ancestrale. (L'analisi del DNA mitocondriale degli spinarelli presenti nei tre laghi è risultata a sostegno dell'ipotesi dell'antenato comune). Attualmente, in ogni lago vi sono due specie che si sono evolute da un progenitore comune: una specie è più grande e si nutre di invertebrati sul fondo del lago, mentre l'altra è più piccola e si nutre di plancton sulla superficie. I membri delle due specie all'interno di ogni lago non si incrociano, ma gli individui della specie più grossa di un lago, in cattività, si incrociano con quelli simili di un altro lago. Lo stesso possono fare gli individui della specie più piccola.

FIGURA 18-6 *Dimensioni delle ali nelle femmine del moscerino della frutta*
Le femmine del moscerino della frutta ( Drosophila subobscura ) del Nord Europa hanno ali più grandi di quelle dei moscerini del sud. Sono mostrati due moscerini: uno della Danimarca ( a destra ) e l'altro della Spagna ( a sinistra ). Lo stesso quadro evolutivo è rapidamente emerso in Nord America dopo l'introduzione accidentale di D. subobscura.

Quindi, per l'evoluzione, la selezione naturale sembra essere un agente molto più importante della casualità. Se il caso fosse stato il fattore principale ad influenzare la direzione dell'evoluzione, l'evoluzione dei moscerini non sarebbe avvenuta allo stesso modo nei due continenti, così come l'evoluzione dei pesci nei tre laghi. Tuttavia, l'esistenza di numerosi esempi a sostegno dell'importanza della selezione naturale nell'evoluzione non implica necessariamente che gli eventi casuali debbano essere sottovalutati nel loro ruolo di fattori che dirigono i cambiamenti evolutivi. I sostenitori del ruolo della casualità pensano che il caso sia più importante nell'evoluzione dei gruppi tassonomici principali (macroevoluzione) piuttosto che nell'evoluzione delle popolazioni (microevoluzione). Potrebbe anche essere plausibile che gli effetti degli eventi casuali sui processi evolutivi siano semplicemente più difficili da dimostrare rispetto a quelli della selezione naturale.

**Verifica**

- Che cos'è la selezione naturale?
- Perché soltanto le variazioni ereditabili sono importanti nel processo evolutivo?
- Quale parte della sua teoria Darwin non fu in grado di spiegare? In che modo la teoria sintetica dell'evoluzione colma questa lacuna?

## 18.4 LE PROVE A SOSTEGNO DELL'EVOLUZIONE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

5. Riassumere le prove a favore dell'evoluzione ottenute dai ritrovamenti fossili.
6. Definire la biogeografia e riassumere in che modo la distribuzione degli organismi supporti l'evoluzione.
7. Riassumere le prove a favore dell'evoluzione ottenute dall'anatomia comparata.
8. Spiegare brevemente come la biologia dello sviluppo e la biologia molecolare forniscano indicazioni per la comprensione del processo evolutivo.
9. Fornire un esempio di come possa essere verificata sperimentalmente un'ipotesi evolutiva.

Una gran quantità di dati sperimentali è a supporto dell'evoluzione, incluse osservazioni derivanti da reperti fossili, biogeografia, anatomia comparata, biologia molecolare e biologia dello sviluppo. In più, le possibilità di verificare sperimentalmente le ipotesi evolutive sono aumentate. Nell'insieme, queste prove confermano la teoria secondo la quale la storia della vita sulla Terra si sarebbe svolta attraverso il processo dell'evoluzione.

### I reperti fossili forniscono forti dimostrazioni a sostegno dell'evoluzione

Forse la conferma più diretta dell'evoluzione deriva dalla scoperta, dall'identificazione e dall'interpretazione dei fossili , che rappresentano i resti o le tracce lasciate, in genere in rocce sedimentarie, da organismi antichi. (Il termine fossile deriva dalla parola latina *fossilis*, che significa "qualcosa che viene riportato alla luce"). Una roccia sedimentaria si forma per accumulo e solidificazione di particelle prodotte dalla disgregazione di rocce più vecchie, come quelle vulcaniche. Le particelle di sedimento, che solitamente si depositano sul fondo di fiumi, laghi ed oceani, si accumulano e nel tempo formano strati distinti (FIG. 18-7). In una stratificazione di rocce non perturbate, lo strato più vecchio è in fondo e quello più recente in alto. Lo studio degli strati di sedimentazione, che include composizione, organizzazione e correlazione tra

diverse localizzazioni, permette di posizionare nella corretta sequenza gli eventi registrati nelle rocce.

I reperti fossili mostrano una progressione dal più primitivo organismo unicellulare agli odierni organismi pluricellulari (vedi Tabella 21.1 ), a dimostrazione del fatto che la vita si è evoluta nel corso del tempo. Per esempio, i paleontologi (gli scienziati che studiano i fossili) hanno descritto e classificato circa 300.000 specie di fossili, ed altre ne vengono continuamente scoperte.

Benché molti fossili siano conservati in rocce sedimentarie, alcuni resti più recenti si sono eccezionalmente ben conservati immersi in paludi, bitume, ambra (antica resina vegetale) o ghiaccio ( FIG. 18-8 ). Per esempio, i resti di un mammuth peloso congelato nei ghiacci della Siberia per 25.000 anni si sono così ben conservati da consentire l'analisi di parte del suo DNA.

Solo pochi degli organismi che muoiono diventano fossili. La formazione e il mantenimento di un fossile richiedono che un organismo venga sepolto in condizioni che rallentino o prevengano il processo di decomposizione. Questo è molto probabile che avvenga se un organismo è velocemente ricoperto da sedimenti costituiti da fini particelle di terra sospese in acqua. In questo modo, i resti di organismi acquatici possono rimanere intrappolati in stagni, pianure di fango, barriere di sabbia o delta fluviali. Resti di organismi terrestri che vivevano in pianure alluvionali possono anche essere stati coperti da sedimenti portati dall'acqua o, se l'organismo viveva in una regione arida, da sabbia trasportata dal vento. Col tempo, i sedimenti si induriscono trasformandosi in rocce sedimentarie, mentre i resti degli organismi sono sostituiti da minerali, così da preservare molti dettagli delle loro strutture, persino a livello cellulare.

I reperti fossili non sono campioni casuali della vita passata, ma quelli maggiormente rappresentati sono organismi acquatici e quelli che sono vissuti nei pochi habitat terrestri favorevoli alla formazione dei fossili. Sono stati trovati relativamente pochi fossili di organismi di foreste pluviali, per esempio, poiché i loro resti si decompongono in maniera estremamente rapida sul suolo della foresta, prima quindi che si verifichi il processo di fossilizzazione. Un'altra ragione per questa disomogeneità tra i reperti fossili è che gli organismi con parti corporee dure, come ossa e conchiglie, hanno maggiori probabilità di dare origine a fossili rispetto a quelli con parti del corpo molli. Inoltre, le rocce di diversa datazione sono esposte in maniera differente sulla superficie terrestre; rocce di una certa età sono più accessibili ai paleontologi per lo studio dei fossili rispetto a rocce di età differente.

Per la natura del processo scientifico, la scoperta di ogni fossile rappresenta un "test" indipendente della teoria dell'evoluzione. Se uno di questi test fallisse la teoria dovrebbe essere modificata per adattarsi alla prova esistente. Per esempio, la scoperta di resti fossili umani (*Homo sapiens*) nelle rocce precambriane, che risalgono a più di 570 milioni di anni, renderebbe falsa la teoria dell'evoluzione nella sua proposizione attuale. Comunque, le rocce precambriane esaminate contengono solo fossili di organismi semplici, come alghe e piccoli organismi dal corpo molle, che si pensa si siano evoluti precocemente nella storia della vita. Il più antico fossile di *Homo sapiens* con caratteristiche anatomiche moderne non compare tra i reperti prima di circa 195.000 anni fa (vedi Capitolo 22 ).

FIGURA 18-7
*Strati esposti di roccia sedimentaria nel letto fossile di Burgess Shale*
Questo sito, nelle Montagne Rocciose canadesi, si è formato circa 500 milioni di anni fa quando una valanga di fango seppellì e preservò un varietà di forme animali marine inusuali.

I fossili forniscono testimonianza di antichi organismi e consentono di capire anche dove e quando essi siano vissuti. Usando fossili di organismi provenienti da diversi periodi geologici, possono a volte essere desunte le linee filogenetiche (relazioni evolutive) che hanno originato le forme di vita moderne. In molti casi, i fossili forniscono una prova diretta dell'origine di nuove specie da altre preesistenti, incluse le forme di transizione.

### I fossili di transizione documentano l'evoluzione delle balene

Un problema che ha interessato i biologi per più di un secolo è rappresentato dalla comprensione di come le balene e gli altri cetacei si siano evoluti dai mammiferi terrestri. Tra gli anni '80 e '90, i paleontologi hanno scoperto molti fossili intermedi riferibili alla linea evolutiva delle balene, che documentano la loro transizione dalla terra al mare.
Fossili di *Ambulocetus natans*, un cetaceo vissuto 50 milioni di anni fa, scoperti in Pakistan, presentano molte caratteristiche delle balene moderne, insieme a zampe posteriori e piedi (FIG. 18-9a). (Le balene moderne non hanno zampe posteriori, sebbene presentino un cinto pelvico *vestigiale* e le strutture ossee

delle zampe posteriori. Le strutture vestigiali saranno discusse più avanti nel capitolo). Le ultime vertebre dell'*Ambulocetus* erano molto flessibili, permettendogli un movimento dorso-ventrale (su e giù) sia nel nuoto che nei tuffi, come nelle balene moderne. Oltre a nuotare, questi antenati delle balene si muovevano anche sulla terraferma, probabilmente come fanno oggi i leoni di mare.
*Rodhocetus* è un fossile trovato in rocce relativamente recenti del Pakistan (FIG. 18-9b). Le vertebre del Rodhocetus erano ancora più flessibili di quelle di *Ambulocetus natans*, permettendogli durante il nuoto un potente movimento dorso-ventrale. È possibile che il Rodhocetus sia stato totalmente acquatico.
Circa 40 milioni di anni fa, si è quindi completata la transizione delle balene dalla terra al mare. Il fossile egiziano Basilosaurus , una balena di quel periodo, aveva il corpo affusolato come le balene moderne (FIG. 18-9c). Il Basilosaurus manteneva le vestigia dei suoi antenati terrestri, come una coppia di ridotte strutture ossee delle zampe posteriori, disgiunte però dallo scheletro. La riduzione delle strutture ossee delle zampe posteriori è continuata fino ad oggi. La moderna balena presenta un cinto pelvico vestigiale e le strutture ossee delle zampe posteriori contenute nel corpo (FIG. 18-9d).

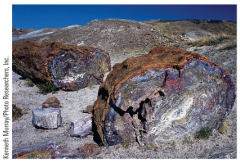
## Possono essere usati vari metodi per determinare l'età dei fossili

Poiché gli strati di roccia sedimentaria si trovano naturalmente secondo la sequenza della loro deposizione, con gli strati più recenti sulla sommità di quelli più vecchi, in genere i fossili sono datati sulla base della loro collocazione relativa all'interno della roccia sedimentaria. Comunque, eventi geologici verificatisi dopo la formazione delle rocce possono aver cambiato la disposizione degli strati rocciosi. I geologi identificano specificamente le rocce sedimentarie non solo dalla loro composizione in strati, ma anche da caratteristiche, come il contenuto in minerali, e dalla presenza dei resti fossili di certi organismi, detti fossili indice, che caratterizzano uno strato specifico in ampie aree geografiche. I fossili indice sono fossili di organismi che sono esistiti per un tempo geologico relativamente breve, ma che si sono conservati come fossili in gran numero. Con questa informazione, i geologi possono organizzare in ordine cronologico gli strati rocciosi e i fossili che essi contengono e identificare strati comparabili provenienti da località molto lontane tra loro.

Gli isotopi radioattivi, detti anche radioisotopi, presenti in una roccia costituiscono uno strumento per una stima accurata della sua età (vedi Capitolo 2 ). I radioisotopi emettono radiazioni invisibili. Mentre un radioisotopo emette radiazioni, il suo nucleo si trasforma nel nucleo di un elemento diverso attraverso un processo detto decadimento radioattivo . Per esempio, il nucleo radioattivo dell'uranio-235 decade nel tempo in piombo-207.

Bruce S. Lieberman/University of Kansas

**(a)** Sebbene alcuni fossili contengano tracce di materiale organico, tutto ciò che rimane di questo fossile di medusa vecchio di 500 milioni di anni è questa impronta nella roccia.


Kenneth Murray/Photo Researchers, Inc.

**(b)** Legno pietrificato proveniente dal Parco Nazionale della Petrified Forest in Arizona, che consiste di alberi che furono sepolti e quindi impregnati da minerali. I ceppi di legno sono stati rinvenuti quando gli strati di roccia fangosa in cui erano stati sepolti si sono erosi.

Alfred Pasieka/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.

**(c)** Un insetto (moscerino) incluso in ambra circa due milioni di anni fa.

A. J. Copley/Visuals Unlimited

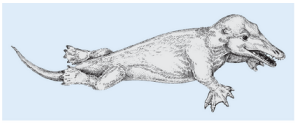
**(d)** Impronta fossile di antichi echinodermi chiamati *crinoidi*. Essa si è formata quando i crinoidi si decomposero, lasciando uno stampo che più tardi si è riempito con minerali presenti in soluzione.

Scott Berner/Visuals Unlimited

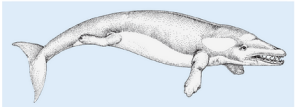
**(e)** Orme di dinosauro, ognuna della lunghezza di 75-90 cm, danno indicazioni sulla postura, l'andatura e il comportamento di questi animali estinti.

←FIGURA 18-8
*I fossili si formano in modi diversi*

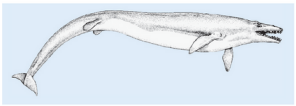
FIGURA 18-9→
*Fossili intermedi nell'evoluzione delle balene*
I biologi ipotizzano che l'antenato delle balene avesse quattro zampe, come mostrato nella ricostruzione delle forme intermedie di balena basata su reperti fossili. I fossili indicano che le ossa dell'anca, nelle forme intermedie di balena corrispondono a quelle degli odierni ippopotami, bovini, maiali e cammelli. Le figure non sono in scala. a-c : Adattato per gent. conc. da Fig. 2 pagg. 260-261 in D. J. Futuyma, Science on Trail: The Case for Evolution , Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, 1995).



**(a)** *Ambulocetus natans*, una forma di transizione fra le balene moderne e i loro antenati terrestri, possedeva una serie di evidenti caratteristiche delle balene, pur mantenendo le zampe posteriori dei suoi antenati tetrapodi.



**(b)** Il più recente *Rodhocetus* aveva vertebre flessibili che gli permettevano, durante il nuoto, un potente movimento dorso-ventrale.



**(c)** *Basilosaurus* era affusolato e possedeva piccole zampe posteriori non funzionali.

**(d)** *Balaenoptera*, la moderna balenottera azzurra, contiene vestigia della pelvi e delle ossa degli arti immerse nel corpo.

Ogni radioisotopo possiede la propria caratteristica velocità di decadimento. Il periodo di tempo richiesto affinché metà degli atomi di un radioisotopo si trasformi in un elemento diverso è noto come la sua emivita (FIG. 18-10). I radioisotopi differiscono significativamente per le loro emivite. Per esempio, l'emivita dello iodio-132 è di sole 2,4 ore, mentre l'emivita dell'uranio-235 è di 704 milioni di anni. L'emivita di un particolare isotopo è costante e non è influenzata dalla temperatura, dalla pressione o da qualsiasi altro fattore ambientale.
L'età di un fossile viene stimata misurando il rapporto tra l'isotopo radioattivo originario e il suo prodotto di decadimento. Per esempio, l'emivita del potassio-40 è di 1,3 miliardi di anni; ciò vuol dire che in 1,3

miliardi di anni metà del potassio radioattivo decade nel suo prodotto di decadimento, l'argon-40. L'orologio radioattivo comincia a funzionare quando la roccia solidifica. Inizialmente a roccia contiene del potassio, ma non contiene argon. Dato che l'argon è un gas, sfugge dalla roccia calda appena formata; quando però il potassio decade nella roccia fredda e solidificata, l'argon si accumula nella sua struttura cristallina. Se il rapporto potassio-40/argon-40 è di 1:1, la roccia ha 1,3 miliardi di anni.

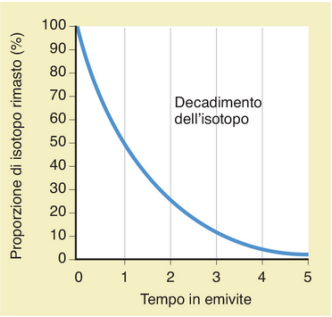



FIGURA 18-10 *Decadimento di un radioisotopo*
Al tempo zero, l'orologio radioattivo comincia a funzionare. A questo punto, il campione è composto interamente dal radioisotopo. Dopo una emivita, solo il 50% del radioisotopo è ancora presente. Durante ogni emivita successiva, metà del radioisotopo rimanente è convertito nel/i prodotto/i di decadimento.

Sono diversi i radioisotopi utilizzati per la datazione dei fossili. Tra essi il potassio-40 (emivita 1,3 miliardi di anni), l'uranio-235 (704 milioni di anni) e il carbonio-14 (5730 anni). Altri radioisotopi, ma non il carbonio-14, vengono utilizzati per datare le rocce in cui si trovano i fossili. Il carbonio-14 viene invece utilizzato per datare qualunque residuo derivato da resti carboniosi, come legno, ossa o gusci. Quando è possibile, l'età dei fossili viene verificata in modo indipendente, usando due o più isotopi.
Il carbonio-14, che è continuamente prodotto nell'atmosfera da azoto-14 (per effetto della radiazione cosmica), decade successivamente ad azoto-14. Poiché la formazione e il decadimento del carbonio-14 si verificano a velocità costanti, il rapporto tra carbonio-14 e carbonio-12 (il più abbondante e stabile isotopo del carbonio) è costante nell'atmosfera. Poiché ogni organismo assorbe carbonio dall'atmosfera sia direttamente (per fotosintesi) che indirettamente (consumando organismi fotosintetizzanti), il suo rapporto carbonio-14/carbonio-12 è lo stesso dell'atmosfera. Quando un organismo muore, non assorbe più carbonio e di conseguenza la quantità di carbonio-14 nei suoi resti declina con il procedere del decadimento del carbonio-14 ad azoto-14. A causa della relativa brevità della sua emivita, il carbonio-14 è uno strumento molto utile per datare fossili di 50.000 anni o meno ed è particolarmente utile per la datazione di siti archeologici.

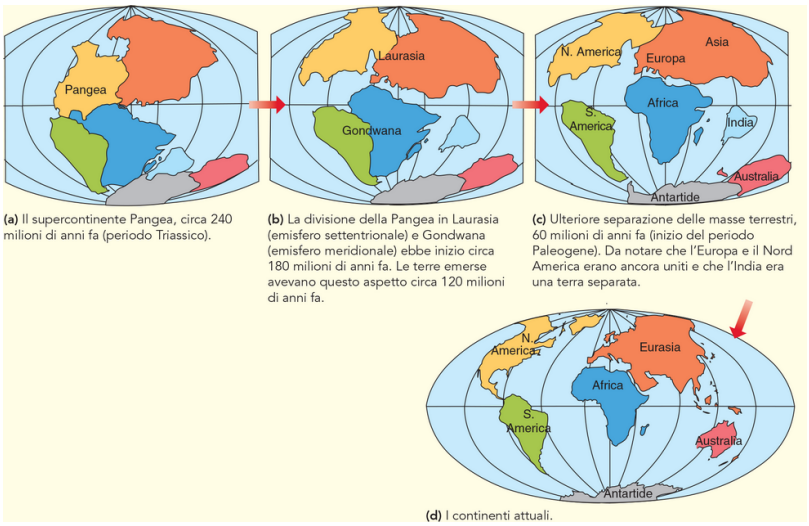
## La distribuzione di animali e piante è un elemento a sostegno dell'evoluzione

Lo studio della distribuzione geografica, passata e presente, degli organismi è detta biogeografia . La distribuzione geografica degli organismi ne influenza l'evoluzione. Darwin si interessava di biogeografia e cercò di capire perché le specie che abitano isole in mezzo all'oceano tendono ad essere simili a specie presenti sulla più vicina terraferma, anche se l'ambiente è diverso, ma non sono simili a specie presenti su isole in altre parti del mondo.
Darwin studiò le piante e gli animali di due gruppi di isole aride — le Isole di Capo Verde, a circa 640 kilometri ad ovest di Dakar, in Africa, e le Isole Galàpagos, a 960 km dall'Equador, in Sud America. Su ciascun gruppo di isole, le piante e gli animali terrestri erano indigeni (nativi), ma quelli di Capo Verde erano simili a specie del continente africano e quelli delle Galàpagos a quelle sudamericane. Le similarità tra le specie delle Galàpagos e quelle del Sud America erano particolarmente sorprendenti, considerando che le Galàpagos sono asciutte e rocciose, mentre la più vicina parte del Sud America è umida e ha una lussureggiante foresta pluviale. Darwin concluse che le specie dal continente vicino erano migrate o erano state portate sulle isole, dove si erano successivamente adattate al nuovo ambiente e con il tempo si erano evolute formando nuove specie.
Se l'evoluzione non fosse un fattore coinvolto nella distribuzione delle specie, ci aspetteremmo di trovare che una particolare specie possa sopravvivere ovunque. D'altra parte, la distribuzione geografica degli organismi oggi esistenti ha senso nel contesto dell'evoluzione. Per esempio, l'Australia, che è stata un continente separato per milioni di anni, ha organismi peculiari: ha popolazioni di mammiferi "ovovivipari" (monotremi) e di mammiferi provvisti di marsupi (marsupiali) che non sono presenti altrove. Duecento milioni di anni fa, l'Australia e gli altri continenti erano uniti in un'unica grande distesa di terre emerse. Nel corso di milioni di anni, il continente australiano si è gradualmente separato dagli altri. I monotremi e i marsupiali australiani hanno continuato a prosperare e a diversificarsi. L'isolamento dell'Australia ha anche evitato che i mammiferi placentati, che comparvero più tardi in altre aree, potessero entrare in competizione con monotremi e marsupiali. In altre zone del mondo in cui comparvero i mammiferi placentati, la maggior parte dei monotremi e dei marsupiali si è estinta.
Considereremo ora come la geologia dinamica della Terra ha influenzato la biogeografia e l'evoluzione.

### La storia geologica della Terra è correlata alla biogeografia e all'evoluzione

Nel 1915, lo scienziato tedesco A. Wegener, che aveva notato una corrispondenza fra la forma geografica del Sud America e dell'Africa, propose che tutte le terre emerse fossero state un tempo unite in un unico supercontinente, che chiamò Pangea ( FIG. 18-11a ). Inoltre, suggerì che la Pangea successivamente si fosse

divisa e che le diverse parti si fossero separate con un processo noto come deriva dei continenti . Wegener non conosceva alcun meccanismo che potesse avere causato questo fenomeno e così la sua idea rimase largamente ignorata.
Negli anni ’60, si accumularono prove scientifiche in grado di spiegare la teoria della deriva dei continenti. La crosta terrestre è composta da sette grosse placche (oltre ad alcune più piccole) che galleggiano sul mantello, che è lo strato in massima parte solido della Terra posizionato sotto la crosta e sopra al core. A causa della sua temperatura più elevata, la roccia solida del mantello è più plastica della roccia solida della crosta soprastante. Le masse terrestri sono situate su alcune di queste placche. Quando le placche si muovono, i continenti cambiano la loro posizione relativa ( FIG. 18-11b, c, d ). Il movimento delle placche è definito tettonica a placche.



**(a)** Il supercontinente Pangea, circa 240 milioni di anni fa (periodo Triassico).
**(b)** La divisione della Pangea in Laurasia (emisfero settentrionale) e Gondwana (emisfero meridionale) ebbe inizio circa 180 milioni di anni fa. Le terre emerse avevano questo aspetto circa 120 milioni di anni fa.
**(c)** Ulteriore separazione delle masse terrestri, 60 milioni di anni fa (inizio del periodo Paleogene). Da notare che l’Europa e il Nord America erano ancora uniti e che l’India era una terra separata.
**(d)** I continenti attuali.

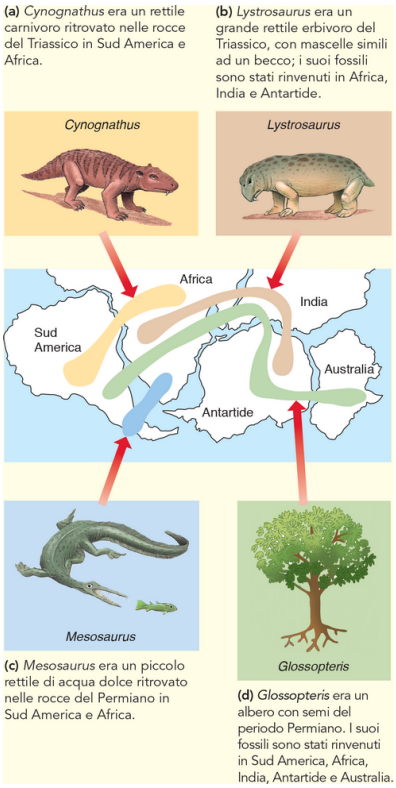
**PUNTO CHIAVE** I geologi ipotizzano che la rottura della Pangea sia stata solo l’ultima di una serie di rotture e collisioni continentali che si sono verificate sin dall’inizio della storia della Terra.

FIGURA 18-11
*La deriva dei continenti*

Qualsiasi area in cui le placche si incontrano rappresenta un luogo di intensa attività geologica. In queste regioni, i terremoti e i vulcani sono molto comuni; S. Francisco, nota per i terremoti, e il vulcano Mount Saint Helens sono situati dove si incontrano due placche. Se le masse terrestri sono localizzate ai bordi di due placche adiacenti, si possono formare delle montagne. L’Himalaya si è formata quando la placca con l’India si è spostata verso quella con l’Asia. Quando le placche si avvicinano, a volte una può infilarsi sotto all’altra in un processo noto come subduzione , mentre quando si allontanano, tra di loro si forma una dorsale di lava. L’Oceano Atlantico è diventato più largo a causa della zona di espansione della lava, lungo la dorsale medio-atlantica.
Il fatto che i continenti fossero una volta uniti e si siano quindi separati è utile per spiegare alcuni aspetti della biogeografia ( FIG.18-12 ). Allo stesso modo, la deriva dei continenti ha svolto un importante ruolo nell’evoluzione dei diversi organismi. Quando la Pangea si è formata, durante il tardo Permiano, ha permesso la riunione di specie terrestri che si erano evolute separatamente, portando alla competizione e all’estinzione di alcune. La vita marina ha subito degli effetti negativi, in parte perché l’unione dei continenti in un’unica grande massa ha ridotto l’entità delle coste. (Poiché le acque costiere sono poco profonde, esse sono ricche di specie marine).
Approssimativamente 180 milioni di anni fa, la Pangea si è separata in parecchie masse terrestri. Quando i continenti hanno iniziato ad allontanarsi, le popolazioni sono diventate geograficamente isolate, sono state esposte a diverse condizioni ambientali e hanno iniziato a divergere seguendo diverse vie evolutive. Come risultato, le piante, gli animali e gli altri organismi presenti nei continenti prima uniti (per esempio Sud America e Africa) si sono differenziati. La deriva continentale ha anche causato graduali cambiamenti nelle correnti oceaniche e atmosferiche, che hanno profondamente influenzato la biogeografia e l’evoluzione degli organismi. (Ulteriori nozioni sulla biogeografia sono date nel Capitolo 56 ).

## L’anatomia comparata di specie correlate mette in evidenza delle somiglianze

Paragonando i dettagli strutturali di caratteristiche trovate in organismi diversi ma affini da un punto di vista filogenetico, si evidenzia una somiglianza di base delle strutture. Queste caratteristiche, derivate dalle stesse strutture corporee presenti in un antenato comune, sono dette caratteristiche omologhe (o caratteri omologhi), e tale condizione è nota come omologia . Per esempio, si considerino gli arti dei mammiferi. Il braccio umano, la zampa anteriore di un gatto, la pinna anteriore di una balena e l’ala di un pipistrello, benché apparentemente risultino abbastanza diversi, in realtà hanno disposizioni simili di ossa, muscoli e nervi. La FIGURA 18-13 mostra il confronto delle rispettive strutture scheletriche. Ognuna ha una osso singolo (l’omero) nella parte dell’arto più vicina al tronco, seguito da due ossa (radio e ulna) dell’avambraccio, un gruppo di ossa (carpali) nel polso e un numero variabile di dita (metacarpali e falangi). Questa similarità è particolarmente sorprendente perché braccia, zampe anteriori, pinne e ali sono usate in modi diversi, per funzioni diverse e non c’è alcuna necessità meccanica per la quale essi debbano essere simili. Organizzazioni simili di parti dell’arto anteriore sono evidenti nei rettili ancestrali e negli anfibi e anche nei primi pesci che emersero dall’acqua passando sulla terraferma centinaia di milioni di anni fa ( Fig. 32-17 ).




**PUNTO CHIAVE** Il fatto che i continenti un tempo fossero uniti spiega la distribuzione unica di certi fossili di piante ed animali

FIGURA 18-12
*Distribuzione dei fossili nei continenti che erano uniti durante i periodi Permiano e Triassico (286-213 milioni di anni fa)*

Le foglie sono un esempio di carattere omologo per quanto riguarda le piante. In molte specie di piante, le foglie si sono modificate per funzioni diverse dalla fotosintesi. La spina di un cactus e il viticcio di un pisello, benché abbastanza diversi nell'aspetto, sono omologhi perché entrambi sono foglie modificate ( FIG. 18-14 ). La spina protegge il tessuto succulento del fusto del cactus, mentre il viticcio, che si arrotola intorno ad un oggetto dopo che è avvenuto il contatto, aiuta a sostenere lo stelo rampicante della pianta di pisello. Queste similarità strutturali di base in organi usati in modi diversi sono proprio il risultato atteso di una comune origine evolutiva. La struttura di base presente in un progenitore comune è stata modificata in modi diversi per assolvere a differenti funzioni con l'evolversi dei numerosi discendenti.

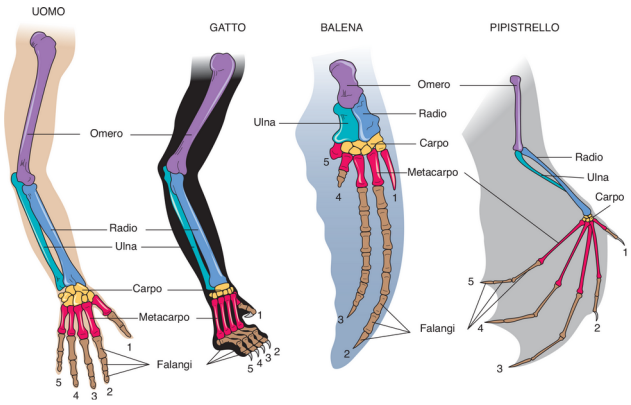



FIGURA 18-13 *Omologia delle strutture negli animali*
Il braccio umano, la zampa anteriore del gatto, la pinna della balena e l'ala del pipistrello hanno una similarità strutturale di base poiché sono tutti derivati da un comune progenitore. Le cinque dita sono numerate in ogni disegno.

Non tutte le specie con caratteristiche "simili" derivano da un antenato comune. Talvolta, condizioni ambientali simili risultano nell'evoluzione di adattamenti simili. Questa evoluzione indipendente di strutture simili in organismi filogeneticamente lontani è nota come evoluzione convergente . Oritteropi, formichieri e pangolini sono esempi eccellenti di evoluzione convergente ( FIG. 18-15 ). Essi sono molto simili, sia nello stile di vita che nell'aspetto generale: hanno tutti artigli forti e affilati per scavare nidi di formiche e di termiti e musi allungati con lingue lunghe e sottili per catturare questi insetti. Oritteropi, formichieri e pangolini si sono evoluti a partire da tre ordini di mammiferi filogeneticamente molto lontani. Vedi la Fig. 32-28 , che mostra diversi esempi di evoluzione convergente in mammiferi placentati e marsupiali).
Caratteristiche che non sono omologhe, ma che semplicemente hanno funzioni simili in organismi filogeneticamente distanti tra loro, sono dette caratteristiche omoplastiche (o caratteri omoplastici). L'acquisizione indipendente di tali similarità in specie diverse per evoluzione convergente, e non in virtù di un antenato comune, è detta omoplasia[2].
[[2]Un termine più antiquato, e meno preciso, che alcuni biologi ancora utilizzano a proposito dei caratteri non omologhi con funzione simile è analogia.]

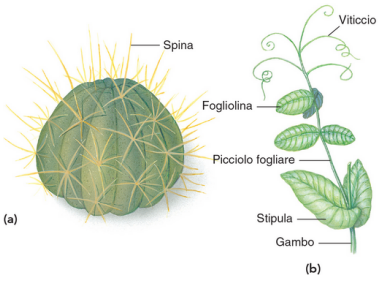



FIGURA 18-14 *Omologia nelle piante*
(a) Le spine del cactus ( Ferocactus wislizenii ) sono foglie modificate, così come (b) i viticci del pisello ( Pisum sativum ). Le foglie del pisello sono composte e le foglioline terminali sono modificate in viticci che sono spesso ramificati.

Per esempio, le ali di animali in grado di volare, lontani da un punto di vista filogenetico, come insetti e uccelli, sono caratteristiche omoplastiche che si sono evolute nel tempo per realizzare la comune funzione del volo, anche se presentano differenze in molti aspetti fondamentali. Le ali degli uccelli non sono altro che arti anteriori modificati sostenuti da ossa, mentre le ali degli insetti si sono evolute da appendici simili alle branchie presenti negli antenati acquatici degli insetti.

(a) L'oritteropo (*Orycteropus afer*) è originario dell'Africa centrale, meridionale e orientale.

(b) Un formichiere gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) presso un nido di termiti. Il formichiere è nativo dell'America Latina, dal sud del Messico al nord dell'Argentina.

(c) Il pangolino (*Manis crassicaudata*) è originario dell'Africa e del sud e sud-est dell'Asia.

FIGURA 18-15 *Evoluzione convergente*
Tre mammiferi lontani da un punto di vista filogenetico che hanno sviluppato adattamenti indipendenti per nutrirsi di formiche e termiti in ambienti simili di prateria/foresta in parti diverse del mondo.

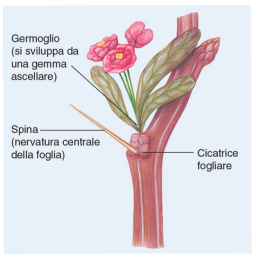
Le spine, che sono foglie modificate, e gli aculei, che sono fusti modificati, sono un esempio di omoplasia nelle piante. Spine e aculei sono molto simili superficialmente, ma sono caratteri omoplastici che si sono evoluti per risolvere la necessità comune della difesa dagli erbivori ( FIG. 18-16 ).
Come l'omologia, l'omoplasia offre un sostegno cruciale per l'evoluzione. I caratteri omoplastici sono di interesse evolutivo poiché dimostrano che organismi derivanti da differenti progenitori possono adattarsi in modi simili a simili esigenze ambientali.
L'anatomia comparata rivela l'esistenza di strutture vestigiali . Molti organismi contengono organi o parti di organi che sono apparentemente non funzionali e degenerati, spesso di dimensioni ridotte o mancanti di parti essenziali. Le strutture vestigiali sono ciò che rimane di strutture più sviluppate che erano presenti e funzionali negli organismi progenitori. Nel corpo umano, sono considerate vestigiali più di 100 strutture, inclusi l'appendice, il coccige (ossa della coda fuse), i denti del giudizio (terzi molari) e i muscoli che muovono le orecchie. Le balene e i pitoni hanno zampe posteriori vestigiali ( FIG. 18-17 ); i maiali hanno dita vestigiali che non toccano terra; gli uccelli non volatori hanno ossa delle ali vestigiali; infine, molti animali scavatori ciechi presentano occhi vestigiali non funzionali.
La presenza occasionale di una struttura vestigiale è da attendersi mentre una specie si adatta a cambiare modo di vita. Alcune strutture diventano molto meno importanti per la sopravvivenza e molte finiscono per diventare vestigiali. Quando una struttura non conferisce più un vantaggio selettivo, in genere diventa più piccola e, con il passar del tempo, perde in parte o completamente la sua funzione. Poiché la presenza di strutture vestigiali è in genere non dannosa per l'organismo, la pressione selettiva per eliminarle è debole e la presenza della struttura vestigiale può essere riscontrata in molte delle generazioni successive.

## Il confronto molecolare tra organismi fornisce prove a favore dell'evoluzione

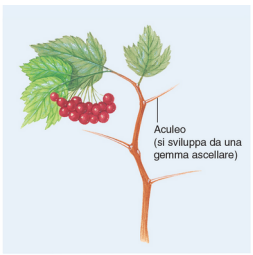
I fossili, la biogeografia e l'anatomia comparata hanno fornito Darwin di importanti strumenti per comprendere la storia evolutiva della vita. Oggi, somiglianze e differenze tra organismi a livello biochimico o molecolare forniscono ulteriori convincenti dimostrazioni delle relazioni evolutive. Tra queste va inclusa l'universalità del codice genetico e la conservazione delle sequenze proteiche e nucleotidiche del DNA

### Il codice genetico è praticamente universale

Gli organismi devono le loro particolari caratteristiche ai tipi di proteine che posseggono, che a loro volta sono determinate dalle sequenze dei nucleotidi nei loro mRNA, come specificato nell'ordine dei nucleotidi del corrispondente DNA. Un'ulteriore prova che tutti gli organismi viventi sono imparentati tra loro viene dall'universalità del codice genetico. (Va rilevato, tuttavia, che ci sono alcune piccole differenze nel codice genetico. Ad esempio, il codice genetico del DNA mitocondriale mostra differenze rispetto al DNA nucleare).
Come è stato spiegato nel Capitolo 13 , il codice genetico specifica una tripletta (una sequenza di 3 nucleotidi nella molecola di DNA) che codifica per un particolare codone (una sequenza di 3 nucleotidi nell'mRNA) che codifica per un particolare aminoacido in una catena polipeptidica. Per esempio, "AAA" nel codice del DNA ha il significato di "UUU" in quello dell'mRNA, che codifica per l'aminoacido fenilalanina in organismi diversi come il gambero, l'uomo, i batteri e i tulipani. In realtà, "AAA" codifica per la fenilalanina in tutti gli organismi esaminati finora.




(a) Una spina del crespino giapponese (*Berberis thunbergii*) è una foglia modificata. (In questo esempio, la spina per la verità è la nervatura centrale della foglia originaria, che è stata perduta).




(b) Gli aculei del biancospino (*Crataegus mollis*) sono steli modificati che si sviluppano da gemme ascellari.

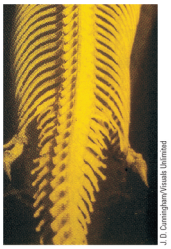
FIGURA 18-16
*Omoplasia nelle piante*

L'universalità del codice genetico — nessun altro codice è stato trovato negli organismi viventi — è una prova convincente che gli organismi sono derivati da un comune progenitore ancestrale. Il codice genetico è stato mantenuto e trasmesso lungo tutti i rami dell'albero dell'evoluzione fin dalla sua origine in qualche forma di vita estremamente primitiva (ma vincente).

## I cambiamenti evolutivi sono registrati nelle proteine e nel DNA

Migliaia di comparazioni di sequenze proteiche e di DNA derivate da varie specie sono state effettuate durante gli ultimi 30 anni.

(a) Un pitone africano delle rocce (*Python sebae*).

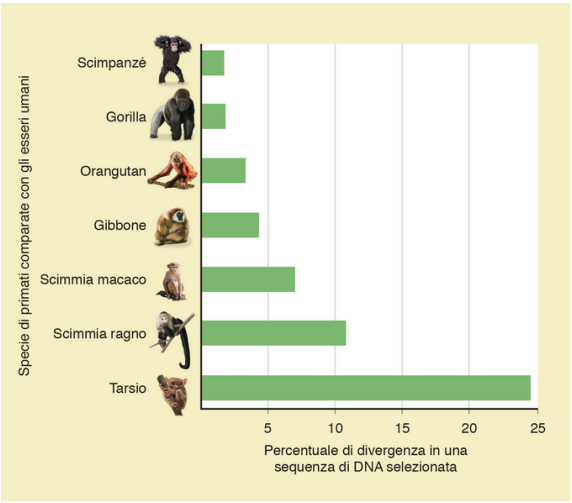


(b) Particolare dello scheletro di un pitone che mostra le strutture ossee delle zampe posteriori.

Inoltre, l'esplosione delle informazioni di sequenza (è stato sequenziato l'intero genoma di più di 1000 specie) comincia a fornire una grande quantità di informazioni evolutive grazie alla possibilità di confronto tra interi genomi. In molti casi, le correlazioni basate sulle sequenze sono in accordo con i primi studi che basavano le correlazioni evolutive sulle somiglianze di struttura tra organismi viventi e sui dati di fossili di organismi estinti.

FIGURA 18-17 *Strutture vestigiali*
Tutti i pitoni posseggono vestigia di ossa delle zampe posteriori immerse nel corpo.

Lo studio delle sequenze aminoacidiche in proteine ottenute da specie diverse ha messo in evidenza grandi somiglianze e alcune differenze specifiche. Anche organismi che sono lontanamente imparentati tra loro, come gli esseri umani, i moscerini della frutta, i girasoli e i lieviti, hanno alcune proteine in comune, come il citocromo c , che fa parte della catena di trasporto degli elettroni della respirazione aerobica. Per sopravvivere, tutti gli organismi aerobi hanno bisogno di proteine respiratorie con la stessa struttura di base e la stessa funzione del citocromo c del loro antenato comune. Di conseguenza, non tutti gli aminoacidi che conferiscono le caratteristiche strutturali e funzionali al citocromo c sono liberi di cambiare. Ogni mutazione che cambi la sequenza aminoacidica in siti di importanza strutturale della molecola del citocromo c sarebbe pericolosa, e la selezione naturale dovrebbe aver evitato che simili mutazioni fossero trasmesse alle generazioni successive. Comunque, nel corso della lunga ed indipendente storia evolutiva dei diversi organismi, le mutazioni hanno portato alla sostituzione di molti aminoacidi in corrispondenza di siti meno importanti della molecola del citocromo c . Maggiori sono le differenze nella sequenza aminoacidica della molecola del citocromo c , più precocemente si pensa sia avvenuta la divergenza evolutiva degli organismi in esame.
Poiché le sequenze aminoacidiche delle proteine sono "scritte" nel DNA, le differenze nelle sequenze aminoacidiche dimostrano in modo indiretto la natura e il numero di corrispondenti cambiamenti delle coppie di basi del DNA che devono essersi verificati durante l'evoluzione. Naturalmente, non tutto il DNA codifica per proteine (si pensi agli introni e ai geni per gli RNA transfer). Il sequenziamento del DNA, con cui viene determinato l'ordine delle basi nel DNA sia delle regioni codificanti proteine che di quelle non codificanti proteine, è utile nella determinazione delle relazioni evolutive.
Generalmente, si pensa che le specie ritenute più affini sulla base di altre prove scientifiche presentino un maggior numero di sequenze nucleotidiche di DNA in comune. Usando, per esempio, i dati di sequenza di DNA illustrati nella FIGURA 18-18 , si può concludere che l'essere vivente filogeneticamente più prossimo agli esseri umani è lo scimpanzé (poiché il suo DNA ha la più bassa percentuale di divergenza nella sequenza esaminata). (L'evoluzione dei primati è trattata nel Capitolo 22 ).




In alcuni casi, i dati molecolari competono con le tradizionali idee sull'evoluzione, basate sulla comparazione strutturale tra specie viventi e/o sullo studio di scheletri fossili. Consideriamo mammiferi che possiedono zoccoli con un numero pari di dita, come maiali, cammelli, alci, antilopi, bovini e ippopotami. Le balene sono prive di dita e, tradizionalmente, non erano classificate come artiodattili.

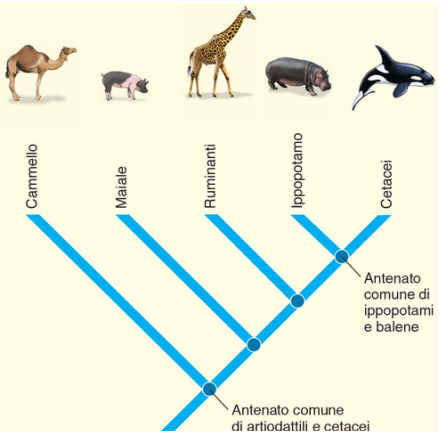
FIGURA 18-18 Differenze nelle sequenze nucleotidiche del DNA come prova delle relazioni evolutive.
Il confronto dello stesso gene in organismi diversi offre una finestra sull'evoluzione. Nella figura sono messe a confronto le sequenze della regione non-codificante del gene della beta-globina di uomo ed altri primati. I biologi evoluzionisti cominciano ad estendere questo tipo di confronti passando da uno o pochi geni ad interi genomi.

La FIGURA 18-19 raffigura un cladogramma o albero filogenetico per balene e alcuni mammiferi ungulati basato su risultati molecolari. Questi cladogrammi — diagrammi che mostrano linee di discendenza — si possono derivare da differenze nucleotidiche in una data sequenza di DNA. Questo diagramma suggerisce che le balene sono più strettamente imparentate agli ippopotami che a qualsiasi altro ungulato. I rami corrispondenti a balene e ippopotami si sono separati abbastanza recentemente, come dimostrato dalla stretta somiglianza delle loro sequenze di DNA. Al contrario, i cammelli, che posseggono sequenze di DNA

più divergenti rispetto a quelle delle balene, si sono separati dalle balene molto prima degli ippopotami. I dati molecolari indicano che le balene e gli ippopotami posseggono un antenato comune recente.
Le prove molecolari che legano le balene con i mammiferi artiodattili hanno spinto a riesaminare i primi fossili di balena. Come i moderni mammiferi artiodattili, anche i reperti fossili più antichi di balena mostravano appendici con un numero pari di dita. I fossili di balena mostrano anche un particolare tipo di osso della caviglia (chiamato doppia puleggia) che hanno anche gli ippopotami ed altri ungulati.

## La biologia dello sviluppo aiuta a spiegare gli schemi evolutivi

Già dal 1975 i biologi sostenevano che cambiamenti nella regolazione dell'espressione genica, particolarmente nei geni coinvolti nello sviluppo corporeo, erano responsabili delle differenze tra specie evolutivamente vicine. Oggi ci sono molte osservazioni a sostegno dell'idea che i cambiamenti regolativi — cioè nel modo in cui i geni vengono accesi e spenti durante lo sviluppo — aiutino a spiegare la diversità delle forme in specie con patrimonio genetico simile. Mutazioni nei geni che regolano lo sviluppo spesso determinano enormi differenze nelle strutture corporee (vedi Fig. 17.12 ).
Come si siano allungati i serpenti e come abbiano perso i loro arti è una questione che ha a lungo intrigato i biologi evoluzionisti. La biologia dello sviluppo, particolarmente a livello molecolare, sta fornendo risposte a questi quesiti. In molti casi, i cambiamenti evolutivi, come la perdita degli arti nei serpenti, avvengono come risultato di cambiamenti nei geni che influenzano la corretta serie di eventi dello sviluppo. Nel pitone, ad esempio, la perdita degli arti e l'allungamento del corpo sono associati a mutazioni in diversi geni Hox che influenzano l'espressione dello schema corporeo e la formazione degli arti in una grande varietà di animali (vedi la discussione sui raggruppamenti di geni Hox nel Capitolo 17 ). Apparentemente, gli arti non si sviluppano perché i tessuti embrionali del pitone non rispondono a segnali interni che ne inducono l'allungamento.
I genetisti dello sviluppo della Harvard Medical School e della Princeton University stanno studiando gli aspetti dello sviluppo alla base delle diverse forme del becco nei fringuelli delle Galàpagos. Essi hanno determinato che un gene che codifica per un'importante molecola segnale, la proteina 4 per la morfogenesi dell'osso (BMP4), influenza lo sviluppo dello scheletro cranio-facciale negli uccelli. Il gene per BMP4 viene attivato precocemente ed è espresso a livelli maggiori nelle specie di fringuelli che presentano becchi più grandi e più spessi piuttosto che nei fringuelli con becchi più piccoli.
Le osservazioni scientifiche dimostrano inequivocabilmente che lo sviluppo in animali diversi è controllato dagli stessi geni. Queste similitudini genetiche riflettono una comune storia evolutiva. Per esempio, tutti i vertebrati hanno quadri simili di sviluppo embrionale che indicano la condivisione di un antenato comune. Muscoli segmentati, tasche (branchie) faringee, cuore tubulare senza parte destra e sinistra, un sistema di arterie noto come archi aortici e molte altre caratteristiche sono presenti negli embrioni di tutti i vertebrati. Tutte queste strutture sono necessarie e funzionali nello sviluppo del pesce; i piccoli muscoli segmentati dell'embrione del pesce diventano i muscoli segmentati del pesce adulto, utilizzati per nuotare. Le tasche branchiali si rompono in superficie per formare le fessure branchiali. Il cuore del pesce adulto rimane indiviso e pompa sangue verso le branchie che si sviluppano in associazione con gli archi aortici.
Poiché nessuna di queste caratteristiche embrionali è presente negli adulti di rettili, uccelli e mammiferi, perché queste strutture persistono nei loro embrioni? L'evoluzione è un processo conservativo, e la selezione naturale agisce su qualche cosa che è già apparso, piuttosto che iniziare dal niente. L'evoluzione di nuove caratteristiche spesso non richiede la comparsa di nuovi geni dello sviluppo, ma al contrario si basa su modificazioni di geni che già esistono (vedi la discussione sul preadattamento nel Capitolo "Speciazione e macroevoluzione"). Si pensa che i vertebrati terrestri si siano evoluti da antenati simili ai pesci; di conseguenza, essi condividono alcune caratteristiche dello sviluppo precoce, ancora presenti nei pesci odierni. In questi vertebrati, l'accumulo di cambiamenti genetici nel corso del tempo ha modificato il piano di sviluppo di base del corpo, mantenuto nello sviluppo dei pesci ( FIG. 18-20 ).




**PUNTO CHIAVE** Questo diagramma ramificato, detto cladogramma , mostra delle ipotetiche relazioni evolutive. Gli organismi riportati nella figura condividono un antenato comune.
*Adattato da Nikaido, M., et al. "Phylogenetic Relationships among Cetartiodactyls Based on Insertions of Short and Long Interspersed Elements: Hippopotamuses Are the Closest Extant Relatives of Whales". Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol. 96, 31 Agosto 1999.*

FIGURA 18-19 *Cladogramma delle balene e dei loro parenti viventi più stretti*
Le differenze tra le sequenze di DNA di un gruppo selezionato di mammiferi suggerisce che gli ungulati, come ippopotami e giraffe, siano i parenti prossimi delle balene. L'ippopotamo è probabilmente il parente vivente più stretto delle balene e degli altri cetacei. I nodi ( cerchietti ) rappresentano punti di ramificazione in cui una specie si separa in due o più linee evolutive. (I ruminanti sono mammiferi come bovini, pecore e giraffe, con uno stomaco a più compartimenti che masticano il materiale vegetale rigurgitato per aumentarne la digeribilità).

## Le ipotesi evolutive possono essere verificate sperimentalmente

I biologi stano ideando un numero sempre maggiore di esperimenti fantasiosi, spesso in condizioni naturali, per verificare ipotesi evolutive. David Reznick dell'Università della California di Santa Barbara e John Endler dell'Università James Cook in Australia, per esempio, hanno studiato l'evoluzione in popolazioni di guppy (pesce tropicale d'acqua dolce) in Venezuela e a Trinidad, piccola isola dei Caraibi meridionali. Reznick ed Endler hanno osservato che diversi ruscelli ospitano quantità e tipi diversi di pesci predatori di guppy. I pesci predatori, che si cibano dei guppy di maggiori dimensioni, sono presenti in tutti i ruscelli di bassa quota; le aree di intensa pressione predatoria sono dette *habitat ad alta predazione*. I predatori sono spesso esclusi da zone a monte o a valle per la presenza di rapide o di cascate. Le aree al di sopra di tali barriere sono note come *habitat a bassa predazione* perché ospitano solo una specie di piccoli pesci predatori.

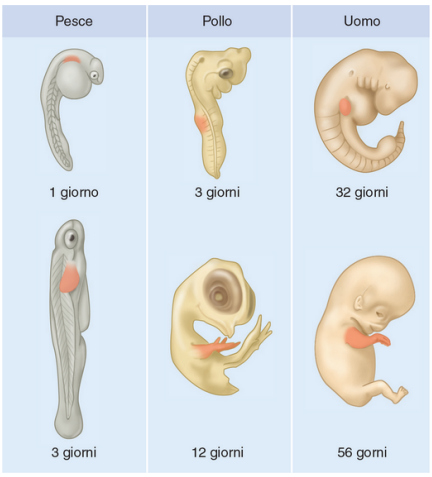



FIGURA 18-20
*Sviluppo delle pinne nei pesci, delle ali ne pollo e delle braccia nell'uomo*
Pesci, polli e uomo hanno geni straordinariamente conservati. Sebbene le prime fasi embrionali di questi organismi siano molto simili, le aree colorate in arancione seguono degli schemi di sviluppo molto diversi che portano alla formazione di pinne, ali e braccia. (Le figure non sono in scala).

Le differenze di predazione sono correlate con molte differenze nei guppy, inclusi la colorazione del maschio, il comportamento e caratteristiche note come caratteristiche della *storia biologica* (discusse più approfonditamente nel Capitolo 53 ), che comprendono l'età e le dimensioni alla maturità sessuale, il numero di piccoli deposti ad ogni evento riproduttivo, la taglia della prole e la frequenza di riproduzione. Per esempio, guppy adulti sono più grandi in ruscelli a quote più alte e più piccoli in ruscelli a quote inferiori.
I predatori determinano veramente l'evoluzione di queste differenze? Reznick e i suoi colleghi hanno verificato questa ipotesi evolutiva conducendo esperimenti in condizioni naturali nell'isola di Trinidad. Sfruttando le cascate, che prevengono lo spostamento a monte dei guppy e/o dei predatori, hanno spostato o i guppy o i loro predatori al di sopra di tali barriere naturali. Per esempio, guppy da un habitat ad alta predazione sono stati introdotti in un habitat a bassa predazione trasferendoli al di sopra di una cascata, in una zona priva sia di altri guppy che di predatori di grandi dimensioni. La sola specie ittica presente in questa zona di ruscello prima dell'introduzione era il pesce che preda occasionalmente i guppy di piccole dimensioni.
Undici anni dopo, gli sperimentatori hanno catturato femmine adulte dal sito di introduzione (a bassa pressione predatoria) e dal sito di controllo al di sotto della cascata (habitat ad alta pressione predatoria). Hanno allevato queste femmine in laboratorio e hanno confrontato le storie biologiche delle generazioni da esse derivate. I discendenti dei guppy introdotti nell'habitat a bassa pressione predatoria sono diventati sessualmente maturi ad una età più avanzata e a una taglia più grande rispetto ai discendenti di guppy raccolti dal sito di controllo al di sotto della cascata ( FIG. 18-21 ). Essi hanno anche dato origine a una prole meno numerosa ma di dimensioni maggiori. I pesci introdotti sono quindi andati incontro ad una storia evolutiva che li ha resi simili a pesci che sono normalmente presenti in questi habitat a bassa pressione predatoria. Questo e studi simili hanno anche dimostrato che i predatori hanno giocato un ruolo attivo nell'evoluzione di altri caratteri, come il numero medio di piccoli prodotti durante il ciclo vitale di una femmina (fecondità), la colorazione dei maschi e il comportamento.
Rapidi processi di evoluzione, nell'ordine di anni, sono stati osservati in diversi organismi come ad esempio, lumache marine, mitili, insetti, lucertole, conigli selatici. Questi ed altri esperimenti ed osservazioni dimostrano che l'evoluzione non è solo reale ma, sta succedendo anche adesso, guidata da forze selettive come la predazione, che possono essere manipolate sperimentalmente. Darwin affermò erroneamente che l'evoluzione è così graduale che gli uomini non possono rendersene conto. Come Jonathan Weiner, autore di The Beak of the Finch: A Story of Evolution in Our Time , ha scritto "Darwin non conosceva la forza della sua stessa teoria. Sottostimò enormemente il potere della selezione naturale. La sua azione non è né rara né lenta. Porta a un'evoluzione quotidiana e oraria, tutto intorno a noi, e noi possiamo vederla".

## Verifica

- Come vengono datati i fossili?
- Come mai i fossili del Mesosaurus , un rettile estinto incapace di nuotare in mare aperto, si trovano nelle regioni meridionali sia dell'Africa che del Sud America?
- In che modo i caratteri omologhi ed omoplastici possono fornire prove a favore dell'evoluzione?

- In che modo la biologia dello sviluppo fornisce prove a sostegno di un antenato comune per vertebrati tanto diversi come rettili, uccelli,maiali ed esseri umani?
- In che modo le preferenze dei predatori guidano l'evoluzione delle dimensioni nei guppy?

**ESPERIMENTO CHIAVE**

PORSI DOMANDE CRITICHE: La selezione naturale si può osservare in una popolazione naturale?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: Una popolazione naturale risponderà in modo adattativo alle variazioni ambientali.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Maschi e femmine di guppy provenienti da un ruscello con predatori maggiormente orientati su guppy adulti di grandi dimensioni come prede ( istogrammi marroni ) furono trasferiti in un ruscello in cui i predatori preferivano giovani e adulti di piccole dimensioni come prede.
RISULTATI E CONCLUSIONI: Dopo 11 anni, i discendenti dei guppy che erano stati trasferiti ( istogrammi rosa ) erano diventati di taglia significativamente più grande dei loro progenitori. Questo indicava che i guppy più grandi presentavano un vantaggio selettivo nel nuovo ambiente.
Dati utilizzati con il permesso dell'autore, da Reznick, D.N., et al. "Evaluation of the Rate of Evolution in Natural Populations of Guppies ( Poecilia reticulata )". Science , Vol. 275, 28 Mar. 1997

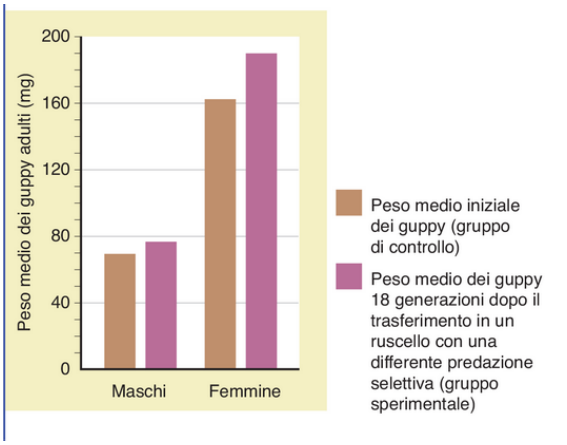



FIGURA 18-21
*L'esperimento di D. N. Reznick sull'evoluzione dei guppy*

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

18.1

1. Dare una definizione di evoluzione .
   - L'evoluzione è l'accumulo di cambiamenti ereditari nel tempo all'interno di una popolazione. L'evoluzione è il concetto unificante della biologia, perché unisce tutti i campi delle scienze della vita in un unico corpo di conoscenze.

18.2

2. Discutere lo sviluppo storico della teoria dell'evoluzione.
   - Jean Baptiste de Lamarck fu il primo scienziato a proporre che gli organismi andassero incontro, nel tempo, a cambiamenti derivanti da fenomeni naturali piuttosto che dall'intervento divino. Lamarck pensava che gli organismi fossero pervasi da una forza vitale che li spingeva a cambiare in modo da assumere una sempre maggiore complessità nel tempo. Egli riteneva anche che gli organismi potessero trasmettere alla progenie le caratteristiche acquisite nel corso della loro vita.
   - Le osservazioni fatte da Charles Darwin durante il suo viaggio sull'H.M.S. Beagle hanno rappresentato la base della sua teoria dell'evoluzione. Darwin cercò di spiegare le sue osservazioni sulle somiglianze tra gli animali e le piante delle aride Isole Galàpagos e delle umide terre del Sud America.
   - Darwin fu influenzato dalla selezione artificiale , con la quale si ottengono molte varietà di piante ed animali domestici in poche generazioni. Darwin applicò le idee di Malthus sulla crescita naturale della popolazione umana alle popolazioni naturali. Egli fu anche influenzato dall'idea, portata avanti da Lyell ed altri geologi, che la Terra fosse molto antica.

18.3

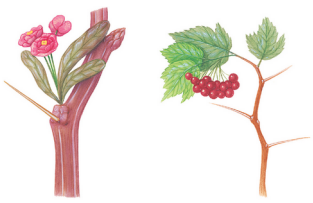
3. Spiegare le quattro premesse dell'evoluzione per selezione naturale come proposte da Charles Darwin.
   - Charles Darwin ed Alfred Wallace proposero, in modo indipendente, la teoria dell'evoluzione per selezione naturale , che si basa su quattro osservazioni. (1) Esiste una variabilità genetica tra gli individui di una popolazione. (2) La capacità riproduttiva di ogni specie è tale che le sue popolazioni crescono di numero in maniera geometrica nel tempo. (3) Gli organismi competono gli uni con gli altri per le risorse necessarie alla vita, come cibo, spazio vitale, acqua e luce. (4) La prole con la combinazione più vantaggiosa di caratteri è quella con le maggiori probabilità di sopravvivenza e di riproduzione, così da trasmettere le proprie caratteristiche genetiche alla generazione successiva.
   - La selezione naturale dà luogo ad adattamenti , cambiamenti evolutivi che aumentano le probabilità di sopravvivenza e di successo riproduttivo in un particolare ambiente. Nel tempo, in popolazioni geograficamente separate si possono accumulare cambiamenti

sufficienti ad originare nuove specie.

4. Paragonare la moderna teoria sintetica dell'evoluzione con la teoria originale di Darwin sull'evoluzione.
    - La sintesi moderna , o teoria sintetica dell'evoluzione, combina la teoria darwiniana dell'evoluzione per selezione naturale con la genetica moderna, per spiegare perché esista variabilità tra gli individui di una popolazione e come le specie si adattino al proprio ambiente.
    - La mutazione fornisce la variabilità genetica su cui la selezione naturale agisce durante l'evoluzione.

18.4

5. Riassumere le prove a favore dell'evoluzione ottenute dai ritrovamenti fossili.
    - Prove dirette dell'evoluzione sono fornite dai fossili , i resti o le tracce di antichi organismi. Gli strati delle rocce sedimentarie si trovano nella loro sequenza di deposizione, con gli strati più recenti in alto e quelli più antichi in basso. I fossili indice caratterizzano uno specifico strato in aree geografiche molto grandi. I radioisotopi presenti in una roccia forniscono una misura accurata della sua età.
6. Definire la biogeografia e riassumere in che modo la distribuzione degli organismi supporti l'evoluzione.
    - La biogeografia , la distribuzione geografica degli organismi, influenza la loro evoluzione. Zone che si sono separate dalle altre parti del mondo da lungo tempo presentano organismi che si sono evoluti in isolamento e sono perciò distintivi di tali aree.
    - Una volta i continenti erano uniti a formare un supercontinente. La deriva dei continenti , che ha causato la separazione delle diverse masse terrestri, ha svolto un ruolo importante nell'evoluzione.
7. Riassumere le prove a favore dell'evoluzione ottenute dall'anatomia comparata.
    - I caratteri omologhi hanno similarità strutturali di base, anche se le strutture possono essere utilizzate in modi diversi, poiché derivano dalla stessa struttura presente in un antenato comune. I caratteri omologhi indicano la presenza di affinità evolutive tra gli organismi che li possiedono.
    - I caratteri omoplastici hanno funzioni simili in organismi abbastanza diversi e lontani. I caratteri omoplastici dimostrano l' evoluzione convergente , in cui organismi con progenitori diversi si adattano in modo simile di fronte a simili richieste ambientali..
    - Le strutture vestigiali sono resti non funzionali o degenerati di strutture presenti e funzionali in organismi ancestrali. Le strutture possono occasionalmente diventare vestigiali qualora una specie sviluppi adattamenti ad uno stile di vita diverso.
8. Spiegare brevemente come la biologia dello sviluppo fornisca indicazioni per la comprensione del processo evolutivo.
    - I dati molecolari a sostegno dell'evoluzione includono l'universalità del codice genetico e la conservazione delle sequenze aminoacidiche nelle proteine e delle sequenze di nucleotidi nel DNA.
    - I cambiamenti evolutivi sono spesso il risultato di mutazioni in geni che controllano la corretta sequenza di eventi durante lo sviluppo. Lo sviluppo in animali differenti è controllato dagli stessi tipi di geni, ad indicare che questi animali hanno una storia evolutiva comune.
    - L'accumulo di cambiamenti genetici dal momento in cui gli organismi si sono separati, o hanno preso vie evolutive diverse, ha modificato il piano di sviluppo negli embrioni dei vertebrati più complessi.
9. Fornire un esempio di come possa essere verificata sperimentalmente un'ipotesi evolutiva.
    - Reznick ed Endler hanno studiato gli effetti dell'intensità di predazione sull'evoluzione delle popolazioni di guppy, sia in laboratorio che in natura. Tali esperimenti sono un mezzo potente per i ricercatori per verificare i processi alla base della selezione naturale.



**AUTO VERIFICHE**

1. Su quale dei seguenti concetti si basa l'evoluzione? (a) Gli organismi condividono un'origine comune; (b) nel tempo gli organismi si sono differenziati da un antenato comune; (c) le parti corporee di un animale possono cambiare durante la sua vita e questi cambiamenti acquisiti possono essere trasmessi alla generazione successiva; (d) a e b; (e) a, b e c.
2. L'evoluzione è l'accumulo di cambiamenti genetici nel corso del tempo all'interno di _____ (a)

Individui; (b) popolazioni; (c) comunità; (d) a e b; (e) a e c.

3. Darwin propose che l'evoluzione potesse essere spiegata dal successo riproduttivo differenziale degli organismi dovuto alla variabilità naturalmente esistente tra essi. Darwin definì questo concetto: (a) coevoluzione; (b) evoluzione convergente; (c) selezione naturale; (d) selezione artificiale; (e) omoplasia.
4. Quale delle seguenti affermazioni è falsa? (a) Darwin fu il primo a fornire prove convincenti dell'evoluzione biologica; (b) Darwin fu il primo a proporre che gli organismi cambiassero nel corso del tempo; (c) Wallace sviluppò indipendentemente da Darwin la stessa teoria; (d) la teoria di Darwin si basa su quattro osservazioni del mondo naturale; (e) gli studi di Darwin sulle Galàpagos influenzarono la sua idea dell'evoluzione.
5. La teoria sintetica dell'evoluzione: (a) si basa sulla sequenza dei fossili negli strati rocciosi; (b) usa la genetica per spiegare la fonte di variazioni ereditarie essenziali alla selezione naturale; (c) fu proposta originariamente dagli antichi Greci; (d) considera l'influenza della distribuzione geografica degli organismi sulla loro evoluzione; (e) è rinforzata dalle omologie che sono spiegate da antenati comuni.
6. L'evoluzione delle dimensioni del becco nelle varie specie di fringuelli delle Galàpagos è associata con: (a) il loro canto; (b) la loro dieta; (c) le loro dimensioni corporee; (d) i loro predatori; (e) nessuna delle precedenti.
7. I resti fossili: (a) si trovano in genere nelle rocce sedimentarie; (b) a volte appaiono frammentari; (c) sono relativamente completi quelli di organismi di foreste pluviali, ma incompleti quelli di organismi acquatici; (d) a e b; (e) a, b e c.
8. Nella _____l'agente selettivo è l'ambiente, mentre nella _____l'agente selettivo è l'uomo. (a) Selezione naturale; evoluzione convergente; (b) mutazione; selezione artificiale; (c) omoplasia; omologia; (d) selezione artificiale; selezione naturale; (e) selezione naturale; selezione artificiale.
9. Oritteropo, formichiere e pangolino sono solo lontanamente correlati, ma sono simili in struttura e forma come risultato di: (a) omologia; (b) evoluzione convergente; (c) biogeografia; (d) strutture vestigiali; (e) selezione artificiale.
10. Le specie delle isole Galàpagos: (a) sono simili a quelle delle isole di uguale latitudine; (b) sono simili a quelle del continente sudamericano; (c) sono identiche a quelle delle isole di uguale latitudine; (d) sono identiche a quelle del continente sudamericano; (e) sono simili a quelle dei continenti africano e sudamericano.
11. Cambiamenti in alcuni dei geni che regolano _____ sono spesso responsabili dell'evoluzione di nuove caratteristiche e forme in una popolazione. (a) La formazione dei fossili; (b) le strutture vestigiali; (c) lo sviluppo; (d) la biogeografia; (e) l'adattamento.

## PENSIERO CRITICO

1. CONNESSIONE EVOLUTIVA. L'uso di modelli animali, come il topo, per la ricerca e i test biomedici per le malattie umane si basa sull'assunzione che tutti gli organismi condividono un antenato comune. Su quale osservazione si basa questa assunzione?
2. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Quali adattamenti deve possedere un animale per nuotare nell'oceano? Perché organismi geneticamente diversi come balene, che sono mammiferi, e squali, che sono pesci, hanno forme così simili?
3. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Il feto umano è ricoperto da peli molto fini, la lanugine, che viene persa prima o poco dopo la nascita. Anche nei feti di scimpanzé e di altri primati è presente questa peluria, che però non scompare. Spiegate queste osservazioni in base a quello che avete imparato in questo capitolo.
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Charles Darwin una volta disse: "Non è la specie più forte quella che sopravvive, né la più intelligente, ma la più capace di rispondere al cambiamento". Spiegate che cosa volesse intendere.
5. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Scrivete un breve paragrafo che spieghi ciascuna delle seguenti affermazioni:
    a) La selezione naturale seleziona tra gli individui di una popolazione quelli meglio adattati alle condizioni ambientali presenti. Non garantisce la sopravvivenza in presenza delle future condizioni ambientali.
    b) Gli individui non evolvono, ma le popolazioni sì.
    c) Gli organismi che esistono oggi lo devono al fatto che i loro progenitori possedevano caratteristiche che hanno consentito loro e alla loro prole di prosperare.
    d) A livello molecolare, l'evoluzione si verifica con la sostituzione di un nucleotide con un altro.
    e) Si dice che all'interno di una popolazione si è verificata l'evoluzione quando è possibile

rilevare al suo interno dei cambiamenti genetici misurabili.

6. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Sebbene la maggior parte delle salamandre abbia quattro zampe, alcune specie che vivono in acque basse mancano delle zampe posteriori ed hanno zampe anteriori poco sviluppate ( vedi fotografia ). Sviluppa un'ipotesi che spieghi l'esistenza di salamandre senza zampe basandoti sul meccanismo darwiniano di evoluzione per selezione naturale. Come potresti testare la tua ipotesi?

Suzanne L. Collins and Joseph T. Collins/Photo Researchers, Inc.

7. ANALISI DEI DATI. Quale dei primati nella Figura 18-18 è più lontanamente imparentato con l'uomo? Spiegate la vostra risposta.
8. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Gli agricoltori si trovano spesso ad affrontare un problema di difficile soluzione, noto anche come "trappola dei pesticidi" o pesticide treadmill , in quanto il costo dell'utilizzo di pesticidi aumenta poiché i pesticidi devono essere applicati con maggior frequenza o a dosaggi maggiori perché la loro efficacia tende a diminuire progressivamente. Sulla base di quello che hai imparato in questo capitolo proponi una spiegazione del perché i pesticidi perdono la loro efficacia.

## Articolo IV. Virus e agenti subvirali 19

Verso la fine del 1800, i botanici stavano cercando la causa del mosaico del tabacco, una malattia in grado di arrestare la crescita della pianta di tabacco e di conferire alle foglie un aspetto punteggiato a mosaico. Essi scoprirono che la malattia poteva essere trasmessa alle piante sane semplicemente imbrattando le loro foglie con un estratto di piante infette. Nel 1892, Dmitri Ivanowsky, un botanico russo, dimostrò che l'estratto risultava infetto anche dopo essere stato passato in filtri che riuscivano a trattenere qualunque batterio allora conosciuto. Qualche anno dopo, nel 1898, il suo lavoro fu approfondito da Martinus Beijerinck, un microbiologo olandese. Apparentemente ignaro del lavoro di Ivanowsky, egli fornì indipendentemente una prova che l'agente che causava il mosaico del tabacco possedeva molte delle caratteristiche degli esseri viventi. Egli ipotizzò che questo agente infettivo potesse riprodursi solo all'interno di una cellula vivente e lo denominò *virus* (parola che in latino significa "veleno"). Il virus del mosaico del tabacco è stato il primo virus a essere riconosciuto.

All'inizio del XX secolo, gli scienziati scoprirono degli agenti infettivi capaci di causare malattie negli animali o di uccidere i batteri. Proprio come gli agenti responsabili del mosaico del tabacco, questi patogeni passavano attraverso i filtri che trattenevano i batteri allora conosciuti, ed erano così piccoli da non essere visibili al microscopio ottico. Curiosamente, essi non potevano crescere in coltura in laboratorio in assenza di cellule vive. Lo sviluppo del microscopio elettronico negli anni '30 ha permesso di vedere i virus per la prima volta.
La maggior parte dei virus che infettano animali, piante e batteri sono stati identificati durante la seconda metà del XX° secolo. I virus causano malattie delle piante e molti sono responsabili della perdita di miliardi di dollari di raccolto ogni anno. Probabilmente vi saranno note alcune delle molte malattie virali umane, tra cui l'influenza, il vaiolo, la rosolia (morbillo tedesco), la parotite, la rabbia, la polio, l'herpes, e la forma acquisita della sindrome di immunodeficienza umana (AIDS, vedi figura).

I virus sono i microrganismi più abbondanti sulla terra ed influenzano molti processi ecologici. Per esempio, i virus causano la morte di una gran quantità di biomassa marina ogni giorno contribuendo in modo significativo al riciclaggio dei nutrienti. I virus si adattano all'ambiente evolvendo. Influenzano anche la biodiversità di altri organismo. I virus possono trasferire i loro geni nel materiale genetico dei loro ospiti. Possono anche trasferire geni eucarioti da un organismo all'altro superando le barriere tra specie.

In questo capitolo, ci occuperemo della diversità e delle caratteristiche dei virus, dei procarioti e dei più piccoli viroidi e prioni. Essi non rappresentano un gruppo naturale di organismi strettamente imparentati, ma vengono trattati in un unico capitolo per comodità.

# 19.1 LO STATO E LA STRUTTURA DEI VIRUS

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Confrontare un virus con una cellula vivente.
2. Descrivere la struttura di un virus.

Un virus è un agente infettivo molto piccolo costituito da un core di acido nucleico e dipendente per la sua sopravvivenza da un ospite vivente. Lo studio dei virus è definito virologia e coloro che studiano i virus sono definiti virologi . Molti biologi considerano i virus particelle non viventi in quanto non hanno una struttura cellulare e non possono né svolgere le attività metaboliche né replicarsi in modo autonomo. Essi non possiedono i componenti necessari per effettuare la respirazione cellulare e per sintetizzare proteine o altre molecole.
I virus hanno sufficienti informazioni genetiche per costringere la cellula ospite a replicare il loro stesso acido nucleico e per prendere il controllo dei meccanismi di traduzione e di trascrizione della cellula ospite. I virus sono parassiti intracellulari obbligati , il che significa che possono sopravvivere soltanto usando le risorse di una cellula ospite . I virus infettano ogni tipo di organismo inclusi batteri, archea, protisti, piante, funghi ed animali. Alcuni virus infettano perfino altri virus. Anche i virus evolvono per selezione naturale; per questa ragione molti biologi pensano che i virus siano la frontiera della vita, anche se rappresentano una forma di vita molto semplice.

### I virus sono molto piccoli

I virus sono molto piccoli: la maggior parte ha dimensioni comprese tra i 20 e i 300 nm. ( Un nanometro è un millesimo di micrometro). Il poliovirus ha un diametro di circa 30 nm (grosso modo le dimensioni di un ribosoma). Quasi un milione di essi, messi in fila indiana, coprirebbero una distanza di soli 2,5 cm. Virus più grandi, come il poxvirus che causa il vaiolo, possono arrivare a 300 nm di lunghezza e 200 nm di larghezza. Il più grande virus conosciuto è il Mimivirus, con un diametro di almeno 400 nm, le dimensioni di un piccolo batterio (micoplasma). Il Mimivirus, scoperto nel 2003, infetta le amebe (protisti).

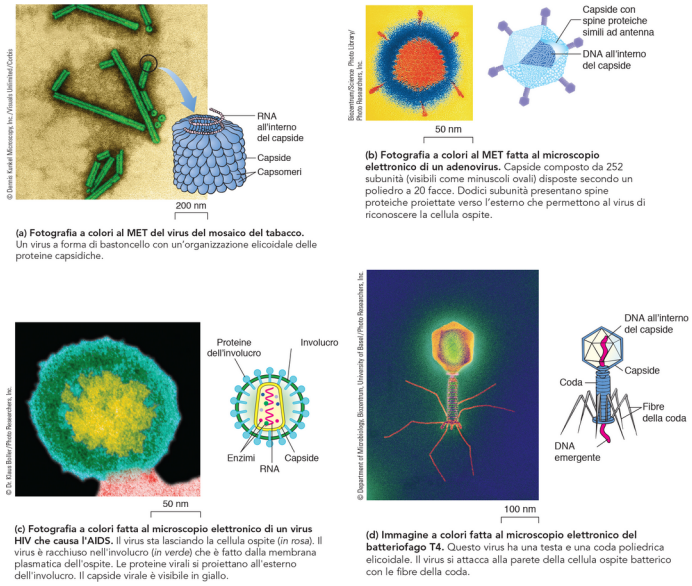
### Un virus consiste di un core di acido nucleico circondato da un rivestimento proteico

Il core, costituito da un acido nucleico, è circondato da un rivestimento proteico detto capside. I microbiologi definiscono *virione* la particella virale completa esterna alla cellula ospite. I virioni sono la forma nella quale i virus si spostano dalla cellula nella quale sono stati stati prodotti ad una nuova cellula ospite dove possono replicare il loro genoma. Comunque, qui useremo il termine virus in senso ampio, che comprende anche i virioni.
Un tipico virus contiene o acido desossiribonucleico (DNA) o acido ribonucleico (RNA), non entrambi. L'acido nucleico può essere a singolo filamento o a doppio filamento. Pertanto, un virus può avere o DNA a singolo filamento (ss) o a doppio filamento (ds), ovvero ssRNA o dsRNA. Come vedremo in seguito, il tipo di acido nucleico è importante per classificare i virus. Un tipico genoma virale contine da 5000 fino a 10000, o più, basi o paia di basi ( a seconda che si tratti di singolo o doppio filamento). I Minivirus sono un'eccezione. I ricercatori hanno sequenziato il genoma di Minivirus ed hanno rilevato che il loro DNA a doppio filamento contiene più di un milione di paia di basi. I Minivirus hanno anche sei RNA transfer.

### Il capside è un rivestimento proteico protettivo

La forma di un virus è determinata dall'organizzazione delle subunità proteiche, dette *capsomeri*, che costituiscono il capside. I capsidi virali sono generalmente di forma elicoidale, o poliedrica o una complessa combinazione di entrambe le forme. I virus elicoidali, come quello del mosaico del tabacco (TMV), appaiono come lunghi bastoncelli o filamenti ( FIG. 19-1a ). Il loro capside è un cilindro cavo costituito da proteine che formano un solco, nel quale si adatta l'RNA.

I virus poliedrici, come gli adenovirus (che sono la causa di numerose malattie nell'uomo, tra cui infezioni delle vie respiratorie), appaiono di forma sferica (FIG. 19-1b). I loro capsomeri sono disposti a formare triangoli equilateri. Il capside di un virus di grandi dimensioni può essere costituito da diverse centinaia di capsomeri. La struttura poliedrica più comune è l' *icosaedro*, una struttura con 20 facce identiche (ogni faccia è triangolare). Il virus dell'immunodeficienza umana (HIV) che causa la sindrome di immunodeficienza acquisita (AIDS) è un virus con involucro proteico le cui proteine si proiettano all'esterno come spine (FIG. 19-1c).
Alcuni virus hanno componenti sia elicoidali che poliedrici. I virus che infettano i batteri sono detti *batteriofagi* ("mangiatori di batteri") o *fagi* ( FIG. 19-1d ). Il fago T4, che infetta il batterio *Escherichia coli*, ha una "testa" poliedrica attaccata ad una "coda" elicoidale, forma comune nei batteriofagi. Molti fagi posseggono fibre della coda che si attaccano alla cellula ospite.




**(a) Fotografia a colori al MET del virus del mosaico del tabacco.** Un virus a forma di bastoncello con un'organizzazione elicoidale delle proteine capsidiche.

**(b) Fotografia a colori al MET fatta al microscopio elettronico di un adenovirus.** Capside composto da 252 subunità (visibili come minuscoli ovali) disposte secondo un poliedro a 20 facce. Dodici subunità presentano spine proteiche proiettate verso l'esterno che permettono al virus di riconoscere la cellula ospite.

**(c) Fotografia a colori fatta al microscopio elettronico di un virus HIV che causa l'AIDS.** Il virus sta lasciando la cellula ospite (*in rosa*). Il virus è racchiuso nell'involucro (*in verde*) che è fatto dalla membrana plasmatica dell'ospite. Le proteine virali si proiettano all'esterno dell'involucro. Il capside virale è visibile in giallo.

**(d) Immagine a colori fatta al microscopio elettronico del batteriofago T4.** Questo virus ha una testa e una coda poliedrica elicoidale. Il virus si attacca alla parete della cellula ospite batterico con le fibre della coda.

FIGURA 19-1 *La struttura dei virus*
Un virus consiste di DNA o RNA circondato da un involucro proteico detto capside. Il capside è costituito da subunità proteiche dette capsomeri. Alcuni virus hanno un involucro membranoso esterno che circonda il capside.

## Alcuni virus sono circondati da un involucro esterno

I virus circondati da un involucro membranoso esterno al capside sono definiti *virus con involucro*. Tipicamente, il virus acquisisce l'involucro, che è parte della membrana plasmatica della cellula ospite, nel momento in cui lascia la cellula ( FIG. 19-2 ). È interessante notare che, mentre si trova nella cellula ospite, il virus sintetizza alcune proteine e le inserisce nella membrana plasmatica della cellula. Pertanto, l'involucro virale è costituito da fosfolipidi e proteine della membrana plasmatica della cellula ospite ed anche da proteine peculiari prodotte dal virus stesso. Alcuni virus producono proteine dell'involucro che si estendono al di fuori di esso in forma di spine. Come sarà discusso in seguito, queste spine possono avere un ruolo molto importante nell'interazione del virus con la cellula ospite.

## Verifica

- Quali caratteristiche dei viventi sono assenti nei virus?
- Quali sono i componenti strutturali di un virus?

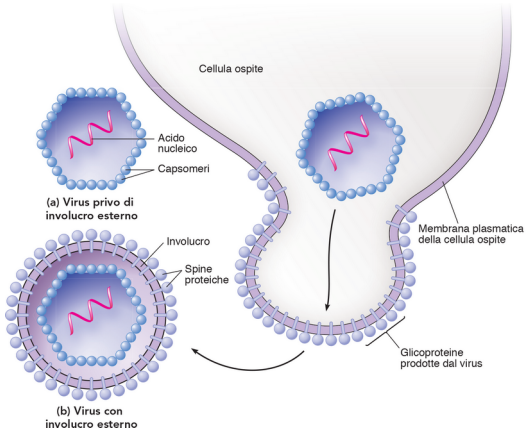



FIGURA 19-2 *Confronto tra un virus con e senza involucro esterno.*
Quando il virus abbandona la cellula ospite, la membrana plasmatica delle cellula ospite avvolge il virus costituendo l'involucro esterno che contiene anche proteine prodotte dal virus.

# 19.2 CLASSIFICAZIONE DEI VIRUS

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

3. Identificare tre caratteristiche usate per classificare i virus.

I virus rappresentano una sfida tassonomica in quanto non presentano le caratteristiche distintive degli organismi viventi (vedi Capitolo 1 ). Sono acellulari, non svolgono attività metaboliche e si riproducono utilizzando il metabolismo replicativo di cellule viventi. Non sintetizzano proteine e non hanno rRNA distintivi. Per queste ragioni, i virus non possono essere classificati in nessuno dei tre domini.

I virus possono essere classificati sulla base della loro gamma di ospiti , ovvero i tipi di organismi che infettano. La gamma di ospiti può essere rappresentata da batteri, alghe, protozoi, funghi, piante, invertebrati e vertebrati. Il Comitato Internazionale per la Tassonomia dei Virus (ICTV), un gruppo di virologi, stabilisce i criteri per la classificazione e la nomenclatura dei virus. L'ICTV ha classificato i virus in 5 ordini, 84 famiglie, 307 generi e più di 2000 specie sulla base della gamma di ospiti e altre caratteristiche. Il nome delle famiglie virali presenta il suffisso *viridae*. Da notare che questo sistema di classificazione non si basa su quello linneano tradizionale, in quanto i virus non vengono assegnati a domini, regni o phyla.
Il sistema Baltimore classifica i virus in base al tipo di acido nucleico, se questo sia a singolo o a doppio filamento, e in base a come è prodotto l'mRNA. Altri caratteri considerati sono la presenza di un involucro, le dimensioni e la forma del virus, e le modalità di trasmissione da un ospite all'altro.

**Verifica**

- Quali sono tre caratteristiche utilizzate per classificare i virus?

## 19.3 REPLICAZIONE VIRALE

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Definire i batteriofagi.
5. Confrontare il ciclo litico con quello lisogenico.

Come abbiamo già detto, i virus possono riprodursi, ma solo nell'ambiente complesso delle cellule ospiti viventi che infettano. Essi utilizzano le loro informazioni genetiche per costringere la cellula ospite a replicare il loro stesso acido nucleico e a produrre le proteine di cui necessitano. Essi, quindi, prendono il controllo dei meccanismi di traduzione e di trascrizione della cellula ospite.

### I batteriofagi sono virus che attaccano i batteri

Molte delle nostre conoscenze sui virus derivano dagli studi sui fagi , poiché essi possono essere facilmente coltivati in laboratorio su batteri viventi. Sono stati identificati più di 2000 fagi. I fagi sono tra i virus più complessi (vedi Fig. 19-1d ). La struttura più comune del batteriofago è costituita da una lunga molecola di acido nucleico (solitamente dsDNA) avvolta in una testa poliedrica. La maggior parte di essi presenta una coda, che può essere contrattile e può aiutare nella penetrazione nella cellula ospite.

Prima dell'avvento dei sulfamidici e degli antibiotici, i fagi venivano utilizzati in clinica per combattere le infezioni stbatteriche. Quindi, negli anni '40, essi furono abbandonati a favore degli antibiotici, più affidabili e facili da utilizzare. Ora, con il crescente e diffuso problema della resistenza batterica agli antibiotici, i fagi sono ritornati al centro dell'attenzione. Con le nuove conoscenze sui fagi e con le nuove tecnologie, parecchi gruppi di ricerca stanno studiando i fagi per determinare quale sia in grado di uccidere una determinata specie batterica. Alcuni gruppi di ricerca stanno modificando geneticamente i fagi, affinché i batteri sviluppino più lentamente una resistenza nei loro confronti.

I fagi potrebbero anche essere utilizzati per migliorare la sicurezza degli alimenti. Ad esempio, alcuni fagi possono uccidere ceppi letali di E. coli nei bovini. Questi batteri non provocano malattie nei bovini, ma possono causare malattia e morte in coloro che consumano hamburger poco cotti preparati con la carne infetta.

### I virus si riproducono solo all'interno delle cellule ospiti

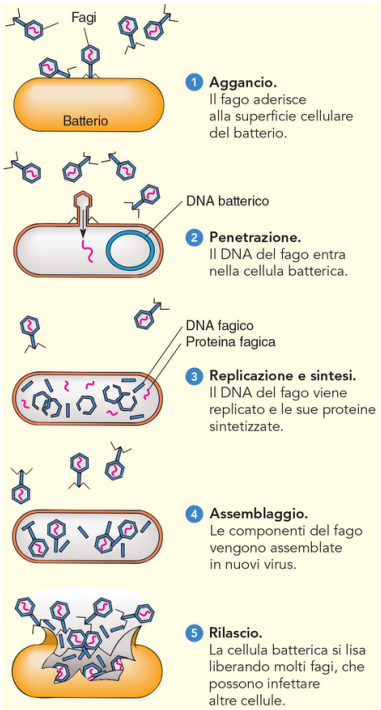
I virus infettano cellule stbatteriche, animali o vegetali in modo sostanzialmente simile. Qui focalizzeremo l'attenzione sull'infezione da parte di un fago, essendo questo processo meglio conosciuto. Il ciclo riproduttivo di un virus comincia quando esso prende contatto con una cellula ospite. Il virus tipicamente si attacca alla superficie della cellula. L'acido nucleico virale deve entrare nella cellula ospite per effettuare la sintesi dei componenti necessari alla sua riproduzione. Quindi, i componenti virali vengono assemblati e i virus sono rilasciati dalla cellula, pronti ad invadere altre cellule. Le due tipologie di riproduzione virale sono il ciclo litico ed il ciclo lisogenico.

#### Un ciclo riproduttivo litico distrugge la cellula ospite

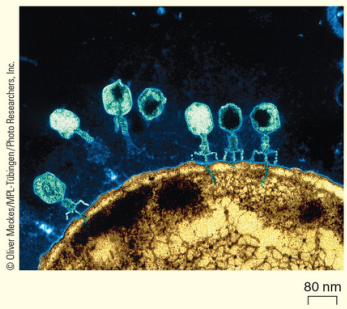
Nel ciclo litico , il virus lisa (distrugge) la cellula ospite. Quando il virus infetta una cellula ospite sensibile, esso forza l'apparato metabolico della cellula ospite a replicare le particelle virali. I virus caratterizzati da un ciclo litico sono detti virulenti , che significa che causano malattie e spesso la morte.
Le cinque fasi principali di una tipica riproduzione virale litica ( FIG. 19-3 ) sono:

5. Aggancio (o adesione). Il virus aderisce ai recettori posti sulla cellula ospite. Questo processo assicura che il virus infetti solo il suo specifico ospite.
6. Penetrazione. Il virus penetra attraverso la membrana plasmatica della cellula ospite ed entra nel citoplasma. Molti virus che infettano le cellule animali entrano intatti nella cellula ospite. Alcuni fagi iniettano solo il loro acido nucleico nel citoplasma della cellula ospite, mentre il capside resta all'esterno.
7. Replicazione e sintesi. Il genoma virale contiene tutte le informazioni necessarie per produrre nuovi virus. Una volta all'interno, il virus degrada l'acido nucleico dell'ospite e usa il macchinario molecolare della cellula ospite per replicare il proprio e produrre proteine virali. Molti farmaci antivirali interferiscono con la replicazione dell'acido nucleico virale.
8. Assemblaggio. I componenti virali neosintetizzati vengono assemblati per formare nuovi virus.
9. Rilascio. I virus assemblati vengono liberati all'esterno. Generalmente, enzimi litici prodotti dal fago durante gli stadi tardivi della replicazione distruggono la membrana plasmatica della cellula ospite.

Normalmente, il rilascio dei fagi avviene tutto in una volta e determina una rapida lisi cellulare, mentre i virus animali spesso vengono rilasciati lentamente, oppure gemmano dalla membrana plasmatica.




(a) La sequenza degli eventi in un'infezione litica.




(b) Immagine MET a colori intensificati di fagi che infettano un batterio, *Escherichia coli*.

**PUNTO CHIAVE** I virus si riproducono prendendo il controllo dell'apparato metabolico di una cellula ospite. Nel corso di un'infezione litica, la cellula ospite viene distrutta.

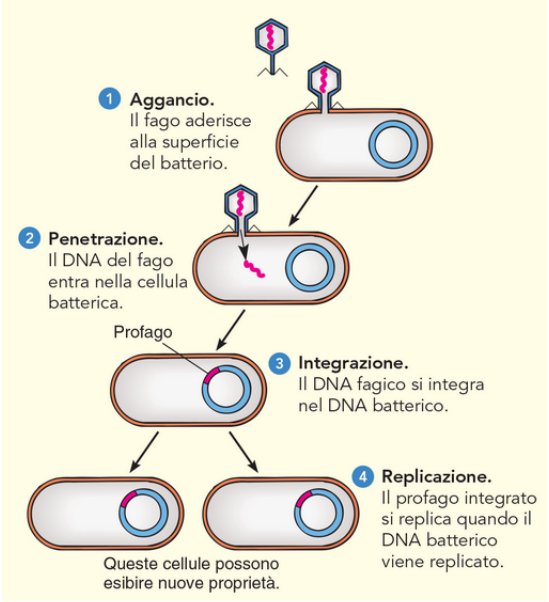
FIGURA 19-3 Il ciclo litico
In un ciclo litico il virus distrugge la cellula ospite.

I nuovi virus infettano altre cellule e il processo si ripete. Il tempo richiesto per la replicazione virale, dall'adesione al batterio alla liberazione di nuovi virus, varia da meno di 20 minuti a più di un'ora.
In che modo i batteri si proteggono dalle infezioni fagiche? Si ricordi dal Capitolo 15 che i batteri producono enzimi di restrizione che tagliano il DNA estraneo del fago. La cellula batterica protegge il proprio DNA modificandolo leggermente dopo la replicazione, in modo che gli enzimi di restrizione non riconoscano i siti che dovrebbero tagliare.

### Nel ciclo lisogenico i virus temperati integrano il loro DNA nel DNA dell'ospite

I virus temperati non sempre distruggono il loro ospite. In un ciclo lisogenico , il genoma virale di solito si integra e viene replicato con il DNA dell'ospite batterico e viene definito provirus , o profago . Quando il DNA batterico si replica, anche il profago si replica (FIG. 19-4). I geni che codificano le proteine strutturali virali possono essere repressi indefinitamente. Le cellule stbatteriche che contengono profagi vengono definite *cellule lisogeniche*. Alcune condizioni ambientali (per esempio, la luce ultravioletta o i raggi X) possono determinare la trasformazione di un virus temperato in un virus virulento, con conseguente distruzione della cellula ospite. Altre volte, i virus temperati possono mutare spontaneamente in virus litici.

Le cellule stbatteriche contenenti alcuni tipi di virus temperati possono manifestare nuove proprietà. Questo evento è definito conversione lisogenica . Un interessante esempio è dato dal batterio che causa la dift erite (*Corynebacterium diphtheriae*). Esistono due ceppi di questa specie, uno che produce la tossina (e causa la dift erite) e uno che non la produce. L'unica differenza tra i due ceppi è che il batterio che produce la tossina contiene uno specifico fago temperato. Il DNA del fago codifica la potente tossina che causa i sintomi della malattia. Allo stesso modo, il batterio che causa il botulismo (*Clostridium botulinum*), una grave intossicazione alimentare, è dannoso solo quando contiene il DNA di un certo profago che induce la sintesi della tossina.




**Verifica**

- Quali sono le cinque fasi di un ciclo litico? Disegnate un diagramma per illustrare la vostra risposta.
- In cosa il ciclo lisogenico differisce dal ciclo litico?

**PUNTO CHIAVE** In un'infezione lisogenica, i fagi temperati integrano il loro acido nucleico nel genoma dell'ospite senza distruggere la cellula ospite.

FIGURA 19-4 *Il ciclo lisogenico*
I fagi temperati integrano il loro acido nucleico nel DNA della cellula ospite, rendendola una cellula lisogenica.

# 19.4 MALATTIE VIRALI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Confrontare l'infezione virale di animali e piante e identificare specifiche malattie causate dai virus animali.
7. Descrivere il ciclo riproduttivo di un retrovirus, come il virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

Sir Peter Medawar, premio Nobel per la Medicina nel 1960, definì un *virus* come "un pezzo di cattive notizie avvolto in proteine". Virus patogeni sono responsabili di alcune gravi malattie come il vaiolo, la rabbia, l'influenza e l'AIDS. Ora sappiamo che la maggior parte dei virus noti non è patogena, ovvero non causa malattie. Qui focalizzeremo la nostra attenzione sull'infezione virale di piante ed animali.

### Alcuni virus infettano le cellule vegetali

I virus causano molte importanti malattie nelle piante e sono responsabili di ingenti perdite agricole e di una qualità inferiore dei raccolti. Le piante infette danno quasi sempre un raccolto inferiore.

**(a) Virus della screziatura del tulipano.** Il virus che provoca questa malattia, relativamente innocua, influenza la formazione del pigmento nei petali.

**(b) Foglie di pepe infettate dal virus del mosaico del tabacco.** La foglia è punteggiata in modo caratteristico da aree verde chiaro.

Le infezioni virali in genere non uccidono le piante, ma provocano la riduzione delle dimensioni della pianta e la comparsa di punteggiature, venature o screziature sulle foglie, sui fiori e sui frutti ( FIG. 19-5 ). La maggior parte di questi virus presenta il capside, ma è priva di un involucro. Il genoma della maggior parte dei virus delle piante è costituito da RNA a singolo filamento. A questi virus viene solitamente attribuito il nome in base al tipo di pianta che infettano e all'effetto che producono. Il virus del mosaico del tabacco è stato il primo ad essere scoperto.

FIGURA 19-5 I virus delle piante

Le malattie virali possono essere diffuse tra le piante dagli insetti, come afidi e cavallette, che si nutrono dei loro tessuti. A causa della spessa parete cellulare, i virus non possono entrare nelle cellule delle piante a meno che queste non siano danneggiate. I virus delle piante possono essere trasmessi anche da semi infettio per propagazione asessuata. Una volta che la pianta è infettata, il virus può diffondere in tutta la struttura vegetale passando attraverso i plasmodesmi (connessioni citoplasmatiche) che attraversano la parete cellulare delle cellule adiacenti (vedi Fig. 5-27 ).
Per molte di queste malattie non si conoscono rimedi, per cui è prassi comune bruciare le piante che sono state infettate. Alcuni agronomi stanno concentrando i loro sforzi, al fine di prevenire le malattie virali, sviluppando dei ceppi virus-resistenti delle piante di grande interesse agricolo.

### I virus causano gravi malattie negli animali

Centinaia di virus diversi infettano gli animali, compreso l'uomo. I virus degli animali sono responsabili del colera nei maiali, dell'aft a epizootica, del cimurro nel cane, dell'influenza e di alcuni tipi di tumore (come la leucemia felina e il cancro alla cervice). Altre malattie che colpiscono l'uomo, causate da virus, comprendono la varicella, l'herpes simplex (un tipo può causare anche l'herpes genitale), la parotite (orecchioni), la rosolia, il morbillo, la rabbia, le verruche, la mononucleosi infettiva, l'influenza, l'epatite virale e l'AIDS (TABELLA 19-1 e *Approfondimenti: Influenza ed altre malattie emergenti*). Molti di noi contraggono dalle due alle sei infezioni virali all'anno, tra cui il raffreddore comune.
Come discusso nel Capitolo 1 , l'epidemia del virus dell'influenza H1N1 del 2009 è stato affrontato con una rapida risposta dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), dal Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie degli USA (CDC), e da altre agenzie mondiali per la salute pubblica. Il controllo attento e la volontà dei paesi di condividere rapidamente informazioni hanno aiutato a minimizzare la diffusione di questa pandemia. Vaccini efficaci e protocolli di trattamento sono stati messi a punto rapidamente.
Le attività dell'uomo, inclusi fattori sociali come l'urbanizzazione, la facilità dei viaggi su scala planetaria, le guerre, contribuiscono alle epidemie e alla diffusione delle malattie infettive. Le condizioni di vita, compreso la stato sanitario, la nutrizione, lo stress fisico, il livello dell'assistenza sanitaria, le abitudini sessuali, sono tutti fattori importanti per la diffusione di malattie. Negli USA e in altri paesi sviluppati, le malattie infettive rappresentano tra il 4 e l'8% della cause di morte, mentre questa percentuale passa al 30-50% nei paesi in via di sviluppo. Pur avendo noi fatto molti progressi nella conoscenze sui virus e nell'epidemiologia, siamo preparati ad contenere un virus di particolare aggressività? Quanto siamo stati in grado di contenere il virus dell'AIDS che continua ad infettare ed uccidere milioni di persone ogni anno in tutto il mondo?
Dall'attacco terroristico del 11 settembre 2001, il bioterrorismo è stata una preoccupazione su scala

mondiale. Per bioterrorismo si intende l'uso di microrganismi o di tossine derivanti da organismi viventi che possono causare la morte di uomini, animali, o piante da cui l'uomo dipende. Terroristi potrebbero dare inizio ad epidemie di vaiolo, antrace, peste ed altre malattie potenzialmente fatali. (Si noti che l'antrace e la peste sono malattie batteriche, vedi Tabella 25-5 del Capitolo 25 ). La necessità di sviluppare nuovi efficienti trattamenti e nuovi vaccini per queste patologie è molto pressante.

### Molti virus dei vertebrati hanno cicli riproduttivi litici

La maggior parte dei virus non può sopravvivere a lungo fuori da una cellula ospite vivente e così la loro sopravvivenza dipende dal fatto di poter essere trasmessi da un animale all'altro. Tuttavia, la loro gamma di ospiti può essere alquanto limitata, in quanto l'attacco ad una cellula ospite è molto specifico. Il tipo di proteine d'aggancio presenti sulla superficie di un virus determina quale tipo di cellula esso può infettare. I siti recettoriali variano per ciascuna specie e, a volte, per ciascun tipo di tessuto. Così, la maggior parte dei virus umani può infettare solo l'uomo, poiché le proteine d'aggancio si combinano solo con i siti recettoriali presenti sulla superficie delle cellule umane. Il virus del morbillo e i poxvirus possono infettare molti tipi di tessuti, poiché le loro proteine d'attacco si combinano con i siti recettoriali di numerosi tipi cellulari. Al contrario, i poliovirus possono aderire solo a certi tipi di cellule, per esempio quelle dell'apparato digerente e i neuroni motori.

TABELLA 19-1 Alcuni virus che infettano i vertebrati

| Gruppo | Malattia causata | Caratteristiche |
|---|---|---|
| Virus a DNA con involucro | | |
| Poxvirus | Vaiolo, vaiolo bovino*, vaiolo delle scimmie, alcune malattie del pollame di rilevanza economica | **dsDNA**; virus grandi e complessi; si replicano nel citoplasma della cellula ospite |
| Herpesvirus | Herpes labiale (virus herpes simplex di tipo 1); herpes genitale, una malattia a trasmissione sessuale (virus herpes simplex di tipo 2); varicella e fuoco di S. Antonio (virus varicella-zoster); mononucleosi infettiva e linfoma di Burkitt (virus di Epstein-Barr) | **dsDNA**; virus da medi a grandi, dotati di involucro; si replicano nel nucleo della cellula ospite† |
| Virus a DNA senza involucro | | |
| Adenovirus | Malattie del tratto respiratorio (es., mal di gola, tonsilliti), congiuntiviti e malattie gastrointestinali sono causate da oltre 40 tipi di adenovirus nell'uomo; altre varietà infettano altri animali | **dsDNA**; si replicano nel nucleo dell'ospite |
| Papovavirus‡ | Verruche umane ed alcune malattie degenerative del cervello; alcuni causano il cancro, incluso quello della cervice | **dsDNA** |
| Parvovirus | Infezioni in cani, maiali, artropodi e roditori; gastroenteriti nell'uomo (trasmessi attraverso il consumo di molluschi infetti) | **ssDNA**; alcuni necessitano di un virus "helper" per moltiplicarsi |
| Virus a RNA con involucro | | |
| Togavirus | Rosolia (Morbillo tedesco) | **ssRNA** che può fungere da mRNA; gruppo ampio e diversificato di virus di media grandezza dotati di involucro; molti sono trasmessi dagli artropodi |
| Orthomyxovirus | Influenza nell'uomo e negli altri animali | **ssRNA** che funge da stampo per la sintesi di mRNA; virus di media grandezza spesso dotati di spine che si estendono all'esterno |
| Paramyxovirus | Morbillo e parotite nell'uomo; cimurro nei cani | **ssRNA**; simili agli Orthomyxovirus, ma un po' più grandi |
| Rhabdovirus | Rabbia | **ssRNA** |
| Coronavirus | Infezioni alle alte vie respiratorie; SARS | **ssRNA; i più grandi virus ad RNA noti** |
| Flavivirus | Febbre gialla; virus di West Nile; epatite C (la causa più comune di trapianto di fegato negli Stati Uniti) | **ssRNA** |
| Filovirus | Febbre emorragica, inclusa quella causata dal virus Ebola | **ssRNA** |
| Bunyavirus | Encefalite di St. Louis; sindrome polmonare da hantavirus (causata dal virus Sin Nombre, un hantavirus) | **ssRNA** |
| Retrovirus | AIDS; alcuni tipi di cancro | **ssRNA**; virus dotati della trascrittasi inversa per trascrivere l'RNA genomico in DNA; due molecole identiche di ssRNA |
| Virus a RNA senza involucro | | |
| Picornavirus | Poliomielite (poliovirus); epatite A (virus dell'epatite A); disturbi intestinali (enterovirus); raffreddore comune (rhinovirus); meningite asettica (coxsackievirus, echovirus) | **ssRNA** che può fungere da mRNA; gruppo diversificato di piccoli virus |
| Reovirus | Vomito e diarrea; encefalite | **dsRNA** |

Alcuni virus, come gli adenovirus, hanno fibre che fuoriescono dal capside, si pensa, per aiutare il virus ad aderire ai siti recettoriali complementari sulla superficie della cellula ospite. Altri virus, come quelli che causano l'herpes, l'influenza e la rabbia, sono circondati da un involucro lipoproteico con delle spine glicoproteiche che si estendono all'esterno, che facilitano l'aggancio alla cellula ospite. Anche il virus dell'influenza possiede spine bastoncellari che si proiettano dall'involucro. Le spine glicoproteiche si legano a specifici recettori presenti escl usivamente sulle cellule che formano il rivestimento interno del tratto respiratorio di certi vertebrati, tra cui uccelli selvatici e domestici, cavalli, maiali ed uomo. Il vaccino antinfluenzale impedisce l'attacco del virus stimolando gli anticorpi dell'ospite a ricoprire le spine che si proiettano dal virus.

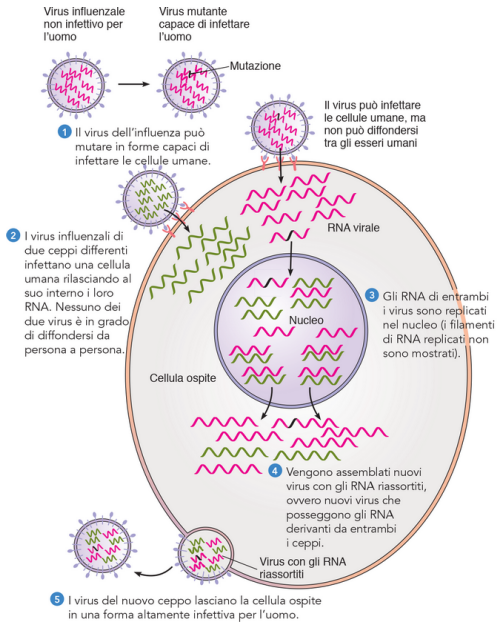
I virus hanno evoluto diverse modalità d'ingresso nelle cellule animali ( FIG. 19-6 ). Dopo l'adesione al recettore della cellula ospite, alcuni virus dotati di involucro si fondono con la membrana plasmatica della cellula animale. Il capside virale e l'acido nucleico vengono quindi rilasciati entrambi dentro la cellula. Altri virus entrano nella cellula ospite per endocitosi . In questo processo, la membrana plasmatica della cellula animale si introflette per formare una vescicola delimitata dalla membrana, che contiene il virus. L'endocitosi è vantaggiosa per il virus, in quanto la vescicola endocitotica lo veicola in profondità nel citosol.

**Approfondimenti**

INFLUENZA ED ALTRE MALATTIE EMERGENTI

Come fanno i nuovi ceppi influenzali a riemergere? Le malattie emergenti , quelle nuove per le popolazioni umane, come l'AIDS, la Sindrome respiratoria acuta (SARS), l'Ebola, l'encefalite equina orientale ed il virus West Nile, spesso compaiono improvvisamente. Le malattie riemergenti sono quelle che sono state quasi debellate ed improvvisamente ricompaiono in maniera non prevedibile, causando un'epidemia, talvolta in una nuova area geografica. Tuttavia, molte patologie familiari, come ad esempio l'influenza, la malaria, la tubercolosi, la polmonite batterica ed il vaiolo, continuano a colpire moltissime persone e talvolta ricompaiono in forme che risultano resistenti ai trattamenti farmacologici. I patogeni resistenti ai farmaci rappresentano una sfida continua per la salute pubblica e gli operatori sanitari.

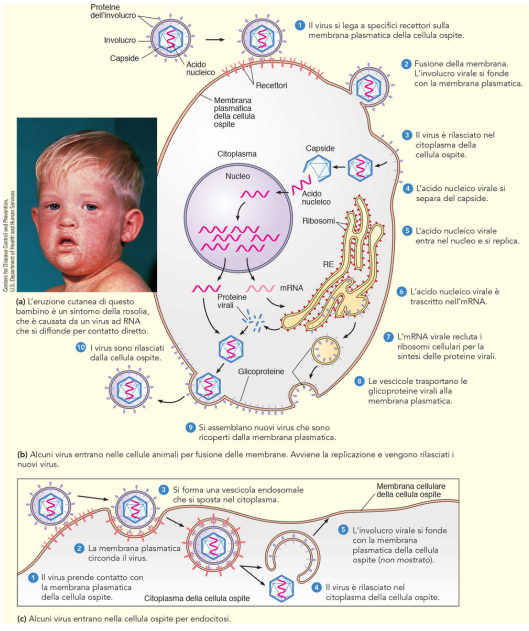
Storicamente, ceppi virali nuovi hanno causato la morte di tantissime persone. Ad esempio, nel 1918, un'epidemia influenzale causò la morte di oltre 20 milioni di persone in tutto il mondo. Pandemie di influenza si sono verificate anche nel 1957 e nel 1968. Ogni anno, nuovi ceppi di virus influenzali evolvono e




diventano infettivi. Se la nuova combinazione di geni virali non è nota al sistema immunitario dell'uomo ed ha la capacità di diffondersi facilmente, può verificarsi una pandemia. Secondo il Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie (CDC) l'influenza uccide cira 36.000 individui all'anno negli Stati Uniti. Tipicamente, i nuovi ceppi del virus dell'influenza aviaria (*Orthomyxovirus*) dapprima infettano principalmente gli uccelli e sono incapaci di diffondersi tra i mammiferi. Tuttavia, un virus del ceppo aviario può mutare e diventare virulento. Il virus aviario può anche scambiare geni con un virus che possiede i geni necessari per diffondersi tra i maiali e gli altri mammiferi. I maiali possono essere suscettibili sia ai ceppi aviari che a quelli umani del virus. All'interno del corpo del maiale, i virus possono scambiarsi geni, dando origine ad un virus capace di infettare l'uomo. Lo scambio di geni può anche verificarsi all'interno di un ospite umano, con la produzione di un ceppo virale capace di diffondersi da persona a persona (vedi figura). Il virus dell'influenza H1N1 si è evoluto in questo modo.

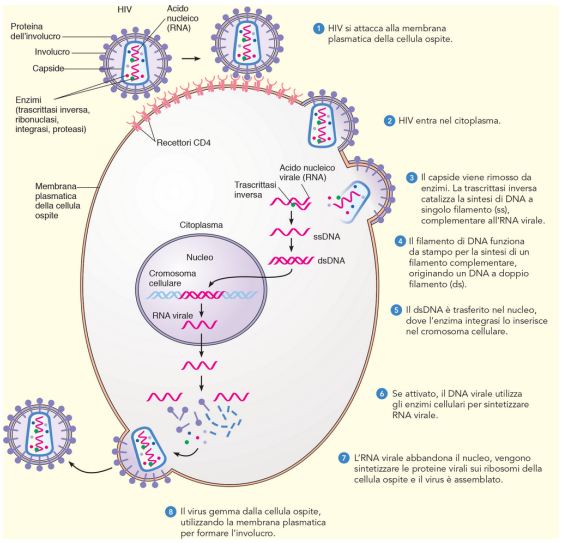
Un virus dell'influenza, come H1N1, si evolve accumulando mutazioni; i suoi RNA si riassortiscono nel corpo di uccelli, maiali ed esseri umani. Alla fine, diventa virulento.

Nei virus animali a DNA, la sintesi del DNA e delle proteine virali è simile a quella che la cellula ospite normalmente attua per il proprio DNA e la propria sintesi proteica. Nella maggior parte dei virus a RNA, la trascrizione avviene con l'aiuto di un RNA polimerasi RNA-dipendente.
I retrovirus , virus a RNA, utilizzano una DNA polimerasi, chiamata trascrittasi inversa , per trascrivere il genoma a RNA in un DNA intermedio ( FIG. 19-7 ). Questo DNA viene integrato nel DNA dell'ospite da un enzima fornito dal virus. Le copie dell'RNA virale vengono sintetizzate quando il tratto di DNA virale incorporato viene trascritto dalla RNA polimerasi della cellula ospite. Il virus del l'im mu nodeficienza umana (HIV) , causa dell'AIDS, è un retrovirus. Anche alcuni virus che causano tumori sono dei retrovirus. Dopo che i geni sono stati trascritti, vengono sintetizzate le proteine strutturali virali. Viene prodotto il capside e vengono assemblate le nuove particelle virali. I virus che non possiedono un involucro esterno fuoriescono per lisi cellulare. La membrana plasmatica si rompe, rilasciando le particelle virali. I virus con involucro acquisiscono i loro involucri lipoproteici portando con sé un frammento della membrana plasmatica mentre lasciano la cellula infettata (vedi Figg. 19-6b e 19-7 ).




**PUNTO CHIAVE** I virus entrano nelle cellule animali dalla fusione della membrana o per endocitosi.

FIGURA 19-6 *I virus causano malattie negli animali*




**PUNTO CHIAVE** I retrovirus utilizzano la trascrittasi inversa per trascrivere i loro RNA in DNA; il DNA virale si inserisce nel DNA dell'ospite. Quando viene attivato, il DNA virale utilizza enzimi dell'ospite per trascrivere l'RNA virale.

FIGURA 19-7 *Il ciclo vitale dell'HIV, il retrovirus che causa l'AIDS*
L'HIV infettale cellule T helper, cellule specializzate del sistema immunitario dell'ospite. Il virus si attacca a recettori proteici, noti come CD4, sulla membrana plasmatica della cellula ospite. L'HIV contiene due molecole di RNA a singolo filamento identiche.

Le proteine virali danneggiano la cellula ospite in modi diversi. Queste proteine possono alterare la permeabilità della membrana plasmatica oppure inibire la sintesi degli acidi nucleici o delle proteine dell'ospite. I virus a volte danneggiano o uccidono le cellule ospiti a causa del loro numero eccessivo. Un poliovirus può produrre 100.000 nuovi virus in una singola cellula ospite!

### I virus diventano rapidamente resistenti ai farmaci antivirali

Gli antibiotici sono specifici per combattere i batteri, per cui non uccidono i virus. Comunque, sono stati sviluppati diversi farmaci antivirali. La maggior parte di essi inibisce la replicazione di numerosi virus a DNA e ad RNA. L'Amantadina è utilizzata principalmente per curare l'influenza. Il farmaco inibisce la penetrazione o la denudazione dell'acido nucleico virale. Tuttavia, di recente alcuni ceppi di virus influenzali sono diventati resistenti all'Amantadina, forse a causa dell'uso del farmaco nel mangime del pollame in alcune aree dell'Asia.
Un gruppo più nuovo di farmaci antivirali, che include il Tamiflu, inibisce la neuraminidasi, un enzima virale necessario per l'uscita del virus dalla cellula ospite. Nel 2008 il Centro USA di Prevenzione e Controllo delle Patologie scoprì che l'11% delle persone colpite dalla forma più comune di influenza avevano contratto dei ceppi resistenti al Tamiflu. Nel 2009 il 99% degli individui affetti da influenza erano affetti da ceppi resistenti al Tamiflu! Si pensa che un singola mutazione spontanea conferisca questa resistenza. Altri farmaci antivirali sono in fase di sperimentazione clinica. Alcuni inibiscono l'attacco del virus alla cellula ospite, mentre altri interferiscono con la replicazione dell'acido nucleico virale.

**Verifica**

- In che modo i virus infettano le cellule vegetali?
- Quali sono i meccanismi mediante i quali i virus penetrano nelle cellule animali?
- In che modo i virus danneggiano le cellule animali?
- In che modo i retrovirus, come l'HIV, si replicano?

## 19.5 EVOLUZIONE DEI VIRUS

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

8. Tracciare l'origine evolutiva dei virus secondo le attuali ipotesi e descrivere le recenti ricerche sull'evoluzione dei polidnavirus.

Da dove vengono i virus? L'ipotesi più accettata attualmente ritiene che i virus siano, con ogni probabilità, dei frammenti di acido nucleico "fuggiti" da un organismo cellulare. Secondo l' ipotesi dell'origine cellulare i virus potrebbero essersi originati come elementi genetici mobili, come i *trasposoni* (vedi Capitolo 13 ) o come i *plasmidi* (piccoli frammenti circolari di DNA, discussi nei Capitoli 15 e 25). Questi frammenti potrebbero essersi spostati da una cellula ad un'altra, attraverso membrane cellulari danneggiate.

In accordo con questa ipotesi, alcuni potrebbero essersi originati da cellule animali, altri da cellule vegetali e altri ancora da cellule batteriche. La loro diversa provenienza può spiegare perché i virus siano specie-specifici; forse essi infettano solamente quelle specie che sono strettamente correlate agli organismi da cui hanno avuto origine. Questa ipotesi è avvalorata dalla somiglianza genetica tra il virus ed il suo ospite — somiglianza più stretta di quella tra un virus ed un altro.

L' *ipotesi della coevoluzione* suggerisce, invece, che i virus siano comparsi precocemente durante la storia della vita, ancora prima della divergenza dei tre domini. Le prove che avvalorano questa ipotesi derivano dalla similarità, trovata recentemente, della struttura proteica di alcuni capsidi virali ed anche dalla similarità genetica tra alcuni virus che infettano archeobatteri ed altri che infettano batteri. I biologi molecolari hanno suggerito che è molto improbabile che queste similarità si siano evolute indipendentemente, suggerendo così che i virus si siano evoluti molto precocemente. Tuttavia, i virus sono parassiti, completamente dipendenti dagli ospiti. Come sarebbe possibile spiegare la loro esistenza prima dell'evoluzione dei loro ospiti?

Secondo l'*ipotesi regressiva* i virus si sarebbero evoluti da piccole cellule indipendenti che erano parassiti delle cellule più grandi. I geni per essi non necessari, come ad esempio quelli per la sintesi proteica, sarebbero man mano andati persi durante l'evoluzione. Questa ipotesi è supportata da determinati batteri (clamidie e rickettsie) che sono in grado di riprodursi solo all'interno di cellule dei loro ospiti (vedi Tabella 25-4 ). L'ipotesi regressiva è supportata dai dati sui Mimivirus. I ricercatori che hanno sequenziato il genoma del Mimivirus hanno riportato che esso è più grande dei genomi di 20 diversi batteri ed

archeobatteri. Inoltre, a differenza degli altri virus, il Mimivirus possiede geni che codificano per componenti della sintesi proteica. I ricercatori hanno suggerito che questo grande virus si sia evoluto da un antenato più complesso e che abbia gradualmente perso alcuni dei geni necessari per la sintesi proteica. Questa ipotesi potrebbe spiegare in che modo i virus possano essere esistiti prima dell'evoluzione dei loro ospiti.

Studi recenti sull'origine dei polidnavirus contribuiscono alla nostra conoscenza sull'evoluzione virale. I polidnavirus sono particelle che consistono di multipli DNA circolari a doppio filamento raccolti all'interno di un capside proteico ed un involucro. Ogni DNA circolare contiene una parte del genoma virale. Questi virus si trovano nelle cellule ovariche di molte specie di vespe parassite. La particolarità dei polidnavirus sta nel fatto che il loro DNA circolare non contiene i geni necessari a produrre le proteine per la replicazione virale. Questi geni sono invece presenti nel genoma delle vespe così che i virus si possono replicare solo nelle cellule ovariche delle vespe.

Le vespe iniettano in alcuni tipi di bruchi le loro uova insieme alle quali vengono iniettati anche i polidnavirus. Questi ultimi producono delle tossine che interferiscono con le difese immunitarie e con lo sviluppo del bruco. Le uova delle vespe crescono e schiudono all'interno del bruco di cui si nutrono.

I biologi si interrogano se i polidnavirus siano effettivamente dei virus o siano invece parti del genoma della vespa. Un'ipotesi alternativa potrebbe essere che milioni di anni fa un virus abbia infettato le vespe. Il genoma del virus si integrò in quelli delle vespe e perse la capacità di inserirsi nelle particelle virali. Al suo posto si inserì il DNA delle vespe. Leggi l'esperimento chiave riportato in FIGURA 19-8 per capire quale e avviene con l'aiuto di un RNA polimerarca di Jean-Michel Drezen, Annie Bézier a collaboratori.

Indipendentemente da come abbiano avuto origine e da come essi continuino ad evolvere, i virus sono oggi presenti in gran numero e svolgono un ruolo importante nell'evoluzione. Essi mutano continuamente, producendo tanti nuovi alleli. Si replicano rapidamente, ed alcuni dei loro geni vengono incorporati nei genomi delle cellule ospiti, un esempio di trasferimento genico orizzontale. Di fatto, i virus potrebbero rappresentare una importante fonte di nuovi geni per le loro cellule ospiti.

**Verifica**

- Quale delle ipotesi presentate ritieni spieghi meglio l'origine dei virus? Perché?
- Perché si parla di mutualismo a proposito del rapporto tra polidnavirus ed alcune specie di vespe?

## 19.6 AGENTI SUBVIRALI

**OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO**

9. Confrontare satelliti, viroidi e prioni.

Gli agenti subvirali sono più piccoli e più semplici dei virus, ed includono i satelliti, i viroidi e i prioni.

### I satelliti dipendono dai virus helper

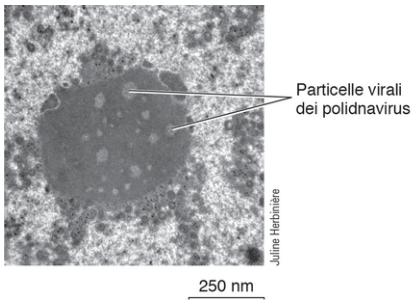
I satelliti sono agenti subvirali che dipendono da un virus helper per la co-infezione della cellula ospite. I satelliti, che possono essere a DNA o RNA, non sono in grado di replicarsi in assenza di un virus helper. Dopo che un satellite codifica per le proteine necessarie al suo rivestimento proteico, viene chiamato virus satellite. L'agente che causa l'epatite D è un satellite che si può riprodurre solo se è presente anche il virus dell'epatite B.
Sputnik è un satellite che infetta i Minivirus che, a loro volta, infettano un'ameba. Sputnik dipende dal macchinario di replicazione e assemblaggio messo in piedi dai Minivirus. Alcuni ricercatori definiscono Sputnick un virofago .
I viroidi sono i più piccoli patogeni conosciuti

Nel 1971, Th eodor Otto Diener, un patologo vegetale, scoprì nelle patate un agente infettivo che chiamò viroide . Da allora ne sono state identificate più di 30 specie. Un viroide è molto più piccolo di un virus ed è privo di rivestimento proteico e di proteine associate che lo aiutino nella duplicazione. Ciascun viroide è formato da un filamento molto corto di RNA nudo (solo 250-400 nucleotidi), che funge da stampo e viene copiato dalla RNA polimerasi dell'ospite. I viroidi sono estremamente resistenti al calore ed alle radiazioni ultraviolette grazie al ripiegamento del proprio RNA in una forma altamente condensata.
Sono stati identificati molti viroidi che causano malattie nelle piante, incluso il viroide delle patate, delle

mele, degli avocado e dei pomodori. I viroidi causano una crescita stentata o distorta delle piante e talvolta ne causano la morte. Per esempio, la malattia chiamata cadang-cadang ha causato la morte di 30 milioni di palme da cocco nelle Filippine. I viroidi sono trasmessi da polline o semi infettati.
I viroidi si trovano generalmente nel nucleo delle cellule ospiti e sembrano interferire con la regolazione genica. I biologi molecolari hanno ipotizzato che i viroidi abbiano sequenze complementari alle sequenze geniche dei loro ospiti e possano silenziare geni essenziali per l'ospite. Secondo questa ipotesi, l'RNA a singolo filamento del viroide replica, formando un RNA a doppio filamento, che è tagliato dai sistemi di difesa della pianta generando piccoli RNA interferenti (siRNA, descritti nel Capitolo 13 ). A questo punto gli siRNA del viroide fanno sì che le ribonucleasi dell'ospite taglino selettivamente gli mRNA dell'ospite con sequenza a loro complementare. Tale effetto causa l'inattivazione degli mRNA dell'ospite e il silenziamento dei geni corrispondenti. I viroidi, di per sè, sono insensibili al meccanismo di silenziamento dell'RNA.

## I prioni sono particelle proteiche

Stanley Prusiner, professore di neurologia e biochimica alla Scuola di Medicina dell'Università della California, a San Francisco, iniziò i suoi studi sui prioni all'inizio degli anni '70, motivato dalla morte di un paziente per la malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD, una patologia cerebrale degenerativa). Egli osservò che l'agente infettivo non veniva alterato dalle radiazioni (che provocano tipicamente mutazioni a livello degli acidi nucleici) e che non era possibile dimostrare la presenza di DNA o RNA in queste particelle. Nel 1982, egli chiamò questo agente infettivo prione , cioè "particella proteica infettiva".




**ESPERIMENTO CHIAVE**

*PORSI DOMANDE CRITICHE*: Qual è l'origine del polidnavirus?
SVILUPPARE UN'IPOTESI: I polidnavirus si sono evoluti da un antico virus che ha infettato le vespe.
EFFETTUARE ESPERIMENTI: Annie Bèzier, Jean-Michel Drezen e colleghi hanno cercato nel genoma delle vespe geni che fossero correlati a quelli del virus. I ricercatori hanno analizzato il DNA di tre specie diverse di vespe e li hanno confrontati con i database pubblici in cui erano depositate le sequenze nucleotidiche di tutti gli organismi studiati, compresi i virus.

FIGURA 19-8 *Esplorazione dell'evoluzione dei polidnavirus*
L'immagine al microscopio elettronico a trasmissione mostra delle particelle di polidnavirus nel nucleo di una cellula in un ovaio di vespa. Le particelle di polidnavirus sono localizzate alla periferia della regione elettrondensa che si ritiene sia la "fabbrica virale".

RISULTATI E CONCLUSIONI:
I ricercatori hanno identificato 22 geni negli ovari delle vespe in cui vengono prodotte le particelle virali. Questi geni sono presenti nel genoma delle vespe e assomigliano a geni chiave dei nudivirus, una famiglia di virus degli insetti. I ricercatori hanno scoperto che molti di questi geni codificano per proteine che compongono i polidnavirus. I geni in questione sono conservati in diverse specie di vespe che hanno polidnavirus.
I ricercatori sono arrivati alla conclusione che i polidnavirus si sono evoluti da un nudivirus che ha infettato le vespe milioni di anni fa. Nel tempo il genoma virale si è incorporato nel genoma della vespa così che ora le proteine necessarie alla replicazione virale sono parte del genoma della vespa e i virus si possono replicare solo negli ovari delle vespa. Allo stesso tempo, le vespe dipendono dai virus in quanto questi sono in grado di deprimere le difese immunitarie dei bruchi, permettendo alle larve delle vespe di crescere nei bruchi. Quindi, si può dire che tra vespe e polidnavirus si sia evoluto un rapporto mutualistico.
I ricercatori pensano che i polidnavirus agiscano da vettori di DNA trasportando pezzi di DNA all'interno dei bruchi. Non è escluso che una migliore comprensione di questo meccanismo possa avere applicazioni cliniche.
Fonte: Bézier, Annie, et al., "Polydnaviruses of Braconid Wasps Derive from an Ancestral Nudivirus." Science , Vol. 323, No. 5916, Feb. 13, 2009, pp. 926-930

L'ipotesi di Prusiner, secondo la quale potrebbe esistere un patogeno in grado di trasferire informazioni in assenza di acidi nucleici, andava contro tutti i dogmi biologici universalmente accettati. Ciononostante, Prusiner ed altri ricercatori hanno continuato a studiare i prioni e i loro risultati si sono dimostrati in accordo con l'ipotesi avanzata. Nel 1997, Prusiner è stato insignito del premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina per aver scoperto i prioni, un nuovo principio biologico di infezione.

Prusiner ed altri ricercatori hanno dimostrato che gli animali posseggono un gene che codifica una proteina costituita da 208 aminoacidi, detta PrP. Questa proteina è normalmente innocua, partecipa a livello dei

neuroni al trasporto del rame e potrebbe svolgere un ruolo nel senso dell'olfatto. La forma normale della proteina si trova sulla superficie delle cellule encefaliche e di molti altri tipi cellulari. Recentemente i ricercatori hanno scoperto che le proteine prioniche normali interagiscono con i peptidi associati alla malattia di Alzheimer.
A volte, però, la proteina PrP modifica la sua conformazione, trasformandosi in una proteina insolubile che causa malattia. La proteina ripiegata in modo errato è il prione. Mutazioni nel gene che codifica la proteina PrP aumentano il rischio che la proteina si ripieghi in modo anomalo e diventi un prione. Il prione, a sua volta, in qualche modo induce altre molecole di PrP a ripiegarsi nella forma patogena ( FIG. 19-9 ). Sembra che i prioni si aggreghino e si accumulino a livello encefalico ed in alcuni altri tessuti, causando seri danni.

I prioni sono presenti a livello encefalico in pazienti affetti da encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE). Questo gruppo di malattie degenerative ad esito letale, identificate negli uccelli e nei mammiferi, sono dette TSE perché l'encefalo di soggetti infetti presenta zone vuote, assumendo un aspetto simile a quello di una spugna. Le TSE sono sotto certi aspetti simili alle malattie virali. Tuttavia, c'è un lungo periodo di latenza (circa 5 anni nei bovini e fino a 10 anni nell'uomo) tra il momento in cui si contrae l'infezione e quello in cui compaiono i sintomi della malattia. Inoltre, le TSE si sono rivelate molto difficili da curare. I topi che, attraverso tecniche di ingegneria genetica, sono stati privati del gene che codifica per la proteina prionica, sono immuni all'infezione da TSE.

La patologia prionica conosciuta da più tempo è lo scrapie di ovini e caprini. Una volta infettati, gli animali perdono la coordinazione, diventano irritabili e soffrono di pruriti così forti che si procurano delle lesioni strappandosi la lana o il pelo. Negli anni '90 del secolo scorso, l'encefalopatia spongiforme bovina (BSE), popolarmente nota come "morbo della mucca pazza", diventò epidemica tra i bovini del Regno Unito.

Più di 150 persone morirono a causa di una malattia che sembrava essere una variante umana della BSE, fornendo la prova che la malattia era trasmissibile dai bovini all'uomo. Questa malattia umana è detta vCJD, in quanto è una variante della CJD, che è causata dalla trasformazione delle proteine PrP in prioni. L'agente infettivo, isolato da tessuti neuronali umani infettati, sembra essere simile al prione che causa lo scrapie nelle pecore. In diversi paesi, sono state istituite nuove regolamentazioni per la salvaguardia dei prodotti alimentari. La trasmissione da uomo a uomo è stata correlata con il trapianto di organi e la trasfusione di sangue infetto.

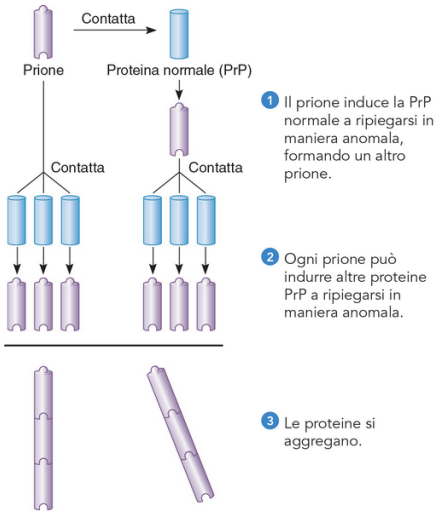



FIGURA 19-9 *Un modello della modalità di espansione di una popolazione di prioni*
I prioni prendono contatto con le normali proteine PrP e le inducono a ripiegarsi in maniera anomala, diventando a loro volta prioni. Ogni nuovo prione può quindi prendere contatto con altre molecole di PrP ed indurle a ripiegarsi in maniera anomala, espandendo in tal modo la popolazione di prioni. I prioni possono formare ammassi per aggregazione.

Recentemente, la malattia cronica consuntiva , correlata al morbo della mucca pazza, si è diffusa nelle popolazioni di cervi ed alci nel Nord America. Sono in corso degli studi volti a determinare se questo agente sia in grado di infettare il bestiame e l'uomo.
Come i virus, i prioni mostrano notevole variabilità. Oggi, si sa che esistono diversi ceppi di prioni. Tali ceppi possono differire per la conformazione delle loro proteine, per le loro proprietà o per le malattie che causano. I prioni differiscono dai virus nel fatto che possono originarsi spontaneamente, molto probabilmente in seguito a mutazioni. I ricercatori stanno cercando un modo per bloccare la formazione dei prioni e per stimolare le cellule a distruggerli. La diagnosi precoce è un punto critico, per cui si sta cercando di sviluppare un test sul sangue che permetta di rilevare la malattia prionica.

## Verifica

- Che differenza c'è tra viroidi e prioni?
- Sotto quali aspetti i viroidi e i prioni differiscono dai virus?

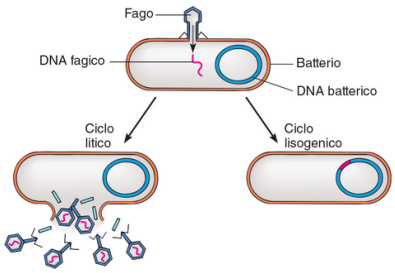
## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

19.1

1. Confrontare un virus con un organismo cellulare.
   - Un virus è un piccolo agente infettivo costituito da un core di acido nucleico e dipendente da una cellula vivente per la sua sopravvivenza. I virus contengono gli acidi nucleici necessari per produrre copie di se stessi, ma per riprodursi devono invadere cellule viventi e prendere il controllo del loro macchinario metabolico.
2. Descrivere la struttura di un virus.
   - Un virus è una particella costituita da un genoma a DNA o RNA circondato da un rivestimento proteico, detto capside. Alcuni virus presentano un involucro esterno.

19.2

3. Identificare tre caratteristiche utilizzate per classificare i virus.
   - I virus sono classificabili in base alla gamma di ospiti, ai tipi di organismi che infettano, al tipo di acido nucleico che contengono, e se l'acido nucleico è a filamento singolo o doppio filamento. Altri fattori da utilizzare per classificare i virus includono la dimensione e la forma, la presenza di un involucro e il metodo di trasmissione da ospite ad ospite.




19.3

4. Caratterizzare i batteriofagi.
   - I fagi ( batteriofagi ) sono virus che infettano i batteri. Essi in genere sono costituiti da una lunga molecola di dsDNA ripiegata all'interno di una testa poliedrica
5. Confrontare un ciclo litico con un ciclo lisogenico.
   - In un ciclo litico , il virus distrugge la cellula ospite. Le cinque fasi di un ciclo litico sono: l' adesione alla cellula ospite; la penetrazione dell'acido nucleico virale nella cellula ospite; la replicazione dell'acido nucleico virale; l' assemblaggio dei componenti neosintetizzati in nuovi virus; il rilascio dalla cellula ospite.
   - I virus temperati non sempre uccidono il loro ospite. In un ciclo lisogenico, il genoma virale viene replicato insieme al DNA dell'ospite.
   - L'acido nucleico di alcuni fagi si integra nel DNA batterico e viene quindi chiamato profago . Le cellule batteriche contenenti profagi sono dette cellule lisogeniche. Nella conversione lisogenica , le cellule batteriche contenenti alcuni virus temperati esibiscono nuove proprietà.

19.4

6. Confrontare l'infezione virale di animali e piante ed identificare specifiche malattie causate dai virus.
   - La maggioranza dei virus che infettano le piante sono virus a ssRNA senza involucro. Essi possono essere trasmessi grazie a insetti che fungono da vettori. I virus si diffondono in tutta la pianta attraverso i plasmodesmi.
   - I virus penetrano nelle cellule animali per fusione con la membrana o per endocitosi. All'interno della cellula ospite, viene replicato l'acido nucleico virale, vengono sintetizzate le proteine e vengono assemblati nuovi virioni che sono poi rilasciati dalla cellula. Tra le malattie causate dai virus a DNA, vi sono il vaiolo, l'herpes, le infezioni respiratorie e i disturbi gastrointestinali. I virus ad RNA sono responsabili di influenza, infezioni delle alte vie respiratorie, AIDS ed alcuni tipi di cancro.
7. Descrivere il ciclo riproduttivo di un retrovirus, come il virus dell'immunodeficienza umana (HIV).
   - I retrovirus , come l'HIV, utilizzano la trascrittasi inversa per trascrivere il loro RNA genomico in un intermedio a DNA, che si integra nel DNA dell'ospite. Successivamente, vengono sintetizzate le copie dell'RNA virale.

19.5

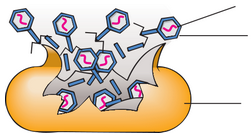
8. Dissertare sull'origine evolutiva dei virus secondo le ipotesi attuali e descrivere le recenti ricerche sull'evoluzione dei polidnavirus.
   - Secondo l' ipotesi cellulare i virus potrebbero essere frammenti di acidi nucleici "fuggiti" da cellule animali, vegetali o batteriche.
   - Secondo l'ipotesi della coevoluzione i virus si sarebbero evoluti prima della divergenza tra i tre domini. I biologi che sostengono questa ipotesi ritengono improbabile che le caratteristiche di similarità tra i virus che infettano gli archeobatteri e quelli che infettano i batteri si siano evolute due volte.
   - Secondo l'ipotesi regressiva i virus si sarebbero evoluti da cellule indipendenti, parassiti di cellule più grandi.
   - Recenti ricerche suggeriscono che i polidnavirus si siano evoluti da virus che infettavano le vespe. Sono diventati partner mutualistici con i loro ospiti vespa.

19.6

9. Confrontare i satelliti, i viroidi e i prioni.
    - Satelliti, viroidi e prioni sono più piccoli dei virus. I satelliti si riproducono solo con l'aiuto di virus helper. I viroidi sono fatti da un breve sequenza di RNA a singola elica senza involucro proteico. Molti viroidi causano malattie nelle piante. I prioni causano le encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) .

## AUTOVERIFICHE

1. Il genoma di un virus è costituito da: (a) DNA; (b) RNA; (c) prioni; (d) DNA e RNA; (e) DNA o RNA.
2. Il capside di un virus è costituito da: (a) subunità proteiche; (b) acidi nucleici; (c) lipidi elicoidali; (d) un involucro carboidratico; (e) RNA e lipidi.
3. I virus che uccidono la cellula ospite sono: (a) lisogenici; (b) litici; (c) viroidi; (d) profagi; (e) temperati.
4. Disponete le fasi elencate di seguito nella corretta sequenza della riproduzione virale. 1. Penetrazione 2. Assemblaggio 3. Replicazione 4. Adesione Rilascio (a) 1, 2, 3, 4, 5 (b) 5, 2, 3, 4, 1 (c) 4, 1, 3, 2, 5 (d) 4, 1, 2, 3, 5 (e) 3, 1, 2, 4, 5.
5. Nella conversione lisogenica: (a) le cellule batteriche possono esibire nuove proprietà; (b) la cellula ospite muore; (c) i prioni talvolta si trasformano in viroidi; (d) la trascrittasi inversa trascrive il DNA in RNA; (e) i virus litici diventano temperati.
6. I tipi di organismi che un determinato virus può infettare costituiscono il/la suo/a: (a) assemblaggio; (b) coorte di commensali; (c) gamma di ospiti; (d) gamma di profagi; (e) ciclo di restrizione.
7. Virus delle piante (a) tipicamente causano una rapida morte delle piante infette, (b) sono soprattutto retrovirus, (c) vengono uccisi dagli antibiotici, (d) sono trasmessi per tutto il corpo della pianta per mezzo degli insetti, (e) possono essere trasmessi da una generazione alla successiva attraverso semi infetti.
8. Quando un virus si inserisce in una cellula animale per fusione della membrana (a) il rivestimento virale si fonde con la membrana plasmatica della cellula ospite, (b) il capside rimane intatto fino a quando il virus è rilasciato dalla cellula ospite, (c) si forma una vescicola endosomale, (d) il DNA virale si replica nel citoplasma ospite, (e) il rivestimento virale si fonde con la membrana nucleare della cellula ospite.
9. Organizzate la seguente lista di eventi nella corretta sequenza di un ciclo retrovirale 1. dsDNA integrato nel DNA dell'ospite, 2. proteine virali sintetizzate nei ribosomi dell'ospite, 3. il DNA virale usa gli enzimi dell'ospite per trascrivere l'RNA virale, 4. la trascrittasi inversa catalizza la sintesi di ssDNA, 5. sintesi del filamento complementare di DNA (a) 5, 2, 1, 3, 4 (b) 5, 2, 3, 4, 1 (c) 4, 5, 1, 3, 2 (d) 4, 1, 2, 3, 5 (e) 2, 1, 3, 4, 5
10. In accordo con l'ipotesi dell'origine cellulare, i virus (a) sono comparsi prime della divergenza dei tre domini, (b) vengono da elementi genetici mobili ed hanno avuto origine multipla, (c) si sono evoluti da cellule vegetali, (d) sono pezzi di acidi nucleici sfuggiti a cellule di organismi viventi, d) si sono evoluti da cellule parassite di cellule più grandi
11. I prioni: (a) consistono di una corta catena di RNA priva di un rivestimento proteico; (b) sono proteine mal ripiegate; (c) causano diverse malattie nelle piante; (d) sono la causa di diverse malattie emergenti importanti; (e) sono costituite da proteine che stimolano l'RNA dell'ospite a produrre DNA.
12. Cosa illustra il seguente diagramma? Completatelo.



## PENSIERO CRITICO

1. In che modo i genomi virali differiscono da quelli delle cellule vegetali o animali?
2. Per cosa differiscono viroidi e prioni? In che modo sono entrambi differenti dai virus?
3. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Discutere la coevoluzione degli organismi che sono partner mutualistici. Suggerimento: è possibile utilizzare l'esempio di polidnavirus. (Si veda la discussione e Esperimento chiave sui polidnaVirus).
4. CONNESSIONE EVOLUTIVA. Storicamente, i biologi pensavano che i virus, data la loro semplice struttura, si fossero evoluti prima degli organismi pluricellulari. Più tardi, hanno guadagnato favore le ipotesi che i virus siano "scappati" dalle cellule. Recentemente, i microbiologi hanno di nuovo suggerito che i virus si siano evoluti molto precocemente nella storia della vita. Basandovi su ciò che avete imparato sui virus, argomentate a favore di una di tali ipotesi.
5. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Qual è la sfida continua che il virus dell'influenza presenta agli scienziati ed ai professionisti della sanità pubblica? Come possono affrontare questa sfida?

# Articolo V. Batteri e archeobatteri 20

I procarioti (batteri ed archeobatteri) abitano il nostro pianeta da più di 3,5 miliardi di anni, a differenza degli eucarioti che sono apparsi circa 1,5-1,6 miliardi di anni fa. Circa la metà della biomassa, cioè l'insieme della materia vivente presente sulla Terra, è costituita da microrganismi, prevalentemente procarioti e funghi. Al contrario, le piante e gli animali rappresentano, rispettivamente, circa il 35% e il 15% della biomassa del nostro pianeta.

Il microscopista olandese Anton van Leeuwenhoek scoprì i batteri ed altri microrganismi nel 1674, mentre osservava una goccia d'acqua di lago attraverso una lente di vetro. Negli ultimi anni del 1800, molti microrganismi — batteri, protozoi e funghi — furono identificati come patogeni , cioè agenti in grado di provocare malattie (vedi fotografia). Sebbene i batteri siano responsabili di molte malattie dell'uomo, tra cui le infezioni delle vie respiratorie e le intossicazioni alimentari, solamente una piccola minoranza di specie è patogena. Infatti, i batteri svolgono un ruolo essenziale nella biosfera come decompositori, scindendo le molecole organiche nei loro componenti più semplici. I procarioti, insieme ai funghi, sono i riciclatori della natura. Senza questi microrganismi, tutto il carbonio, l'azoto, il fosforo e lo zolfo resterebbero legati ai rifiuti e ai resti di piante ed animali, e non sarebbero disponibili per la sintesi di nuove cellule ed organismi.

Alcuni procarioti sono produttori capaci di effettuare la fotosintesi. Altri trasformano l'azoto atmosferico in ammoniaca e quindi in nitrati, la forma in cui l'azoto può essere assimilato dalle piante (vedi FIG. 55-8 ). La fissazione dell'azoto consente a piante ed animali (che si nutrono di piante) di fabbricare molecole essenziali contenenti azoto, come proteine ed acidi nucleici.

Cominciamo questo capitolo con la descrizione della struttura di batteri ed archea per poi discutere la riproduzione e l'evoluzione dei procarioti. Descriveremo alcuni degli adattamenti nutrizionali e metabolici di questi organismi, e successivamente discuteremo la filogenesi dei due domini dei procarioti. Presenteremo una visione d'insieme dell'impatto dei procarioti su ecologia, tecnologia e commercio. Alla fine del capitolo discuteremo batteri e patologie.

## 20.1 LA STRUTTURA DI BATTERI E ARCHEOBATTERI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

1. Descrivere la struttura e le forme comuni delle cellule procariotiche.
2. Mettere a confronto la parete batterica dei gram-positivi e dei gram-negativi.
3. Descrivere i movimenti dei procarioti, e la struttura del flagello nei batteri.

A differenza di virus, viroidi e prioni, che sono costituiti solo da acidi nucleici e/o proteine, i procarioti sono organismi cellulari. Si ricordi dai Capitoli 4 e 23 che la struttura cellulare dei procarioti è sostanzialmente diversa da quella delle cellule degli altri organismi viventi. La maggior parte dei microbiologi assegna i procarioti a due domini: Archaea e Bacteria.
La maggior parte delle cellule procariotiche ha dimensioni molto piccole. Generalmente, il loro diametro è compreso tra 0,5 e 1,0 m m e la loro lunghezza tra 1,0 e 5,0 m m. Il loro volume cellulare è solo un millesimo di quello di una piccola cellula eucariotica e la loro lunghezza circa un decimo. Quasi tutti i procarioti sono unicellulari, anche se alcuni formano colonie o filamenti caratterizzati dalla presenza di cellule specializzate.

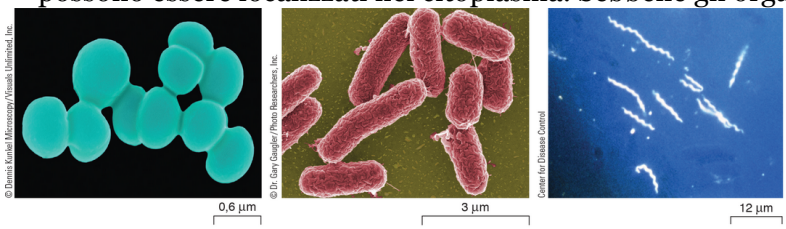
### I procarioti presentano diverse forme comuni

I procarioti hanno due forme principali: sferica e bastoncellare. I procarioti di forma sferica, conosciuti con il nome di cocchi , si presentano in forma unicellulare in alcune specie e in gruppi di cellule indipendenti in altre ( FIG. 20-1a ). Le cellule possono essere raggruppate in coppie (*diplococchi*), in lunghe catene (*streptococchi*) o in aggregati irregolari simili a grappoli d'uva (*stafilococchi*). I procarioti bastoncellari, noti come bacilli , possono apparire come singoli bastoncelli o come lunghe catene ( FIG. 20-1b ). Alcuni procarioti hanno una forma elicoidale. Se l'elica è rigida, il procariote è chiamato spirillo ( FIG. 20-1c ); se l'elica è flessibile, è detto spirocheta . Uno spirillo a forma di virgola è detto vibrione. Alcuni archeobatteri hanno forma inusuale, ad esempio triangolare o quadrata.

## Le cellule procariotiche sono prive di organelli circondati da membrana

Si ricorda che le cellule procariotiche mancano degli organelli circondati da membrana tipici delle cellule eucariotiche. Così, queste cellule non hanno un nucleo, né mitocondri, né cloroplasti, né reticolo endoplasmatico, né complesso di Golgi, né lisosomi ( FIG. 20-2 ; vedi Capitolo 4 ). Benché la cellula procariotica sia priva di un nucleo circondato da membrana, essa possiede un' area nucleare , anche detta nucleoide , che contiene il DNA.

Il denso citoplasma di una cellula procariotica contiene ribosomi (più piccoli di quelli eucariotici) e granuli di riserva contenenti glicogeno, lipidi o composti fosforilati. Gli enzimi necessari per le attività metaboliche possono essere localizzati nel citoplasma. Sebbene gli organelli membranosi di tipo eucariotico siano assenti, in alcune cellule procariotiche la membrana plasmatica è introflessa in elaborate invaginazioni. Gli enzimi necessari per la respirazione e la fotosintesi possono trovarsi associati alla membrana plasmatica o alle sue introflessioni.




**(a) Cocci.** Fotografia colorata al microscopio elettronico a scansione (MES) di *Staphylococcus aureus*. Questo batterio causa infezioni della pelle e delle ferite, avvelenamento del cibo e sindrome da shock tossici.

**(b) Bacilli.** Immagine MES colorata di *Salmonella*. Questo batterio causa avvelenamenti del cibo.

**(c) Spirochete.** Immagine MES colorata di *Borrella burgdorferi*. Queste spirochete causano la malattia di Lyme trasmessa dalle zecche dei cervi.

FIGURA 20-1
*Forme comuni di procarioti*

**PUNTO CHIAVE** Diversamente dalle cellule eucariotiche, le cellule procariotiche non hanno un nucleo o altri organelli delimitati da membrana. Tipicamente esse contengono un'area nucleare con una singola molecola di DNA circolare.

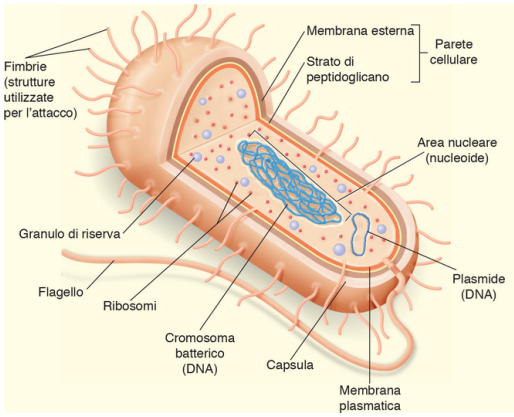


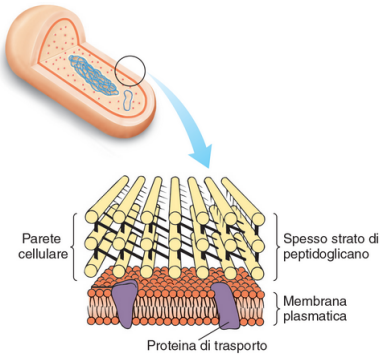

FIGURA 20-2 *Struttura di una cellula procariotica*
Questo bacillo è un batterio gram-negativo (discusso nel testo). Si noti l'assenza di un involucro nucleare che avvolga il DNA del batterio.

## La superficie della cellula è generalmente coperta da una parete cellulare

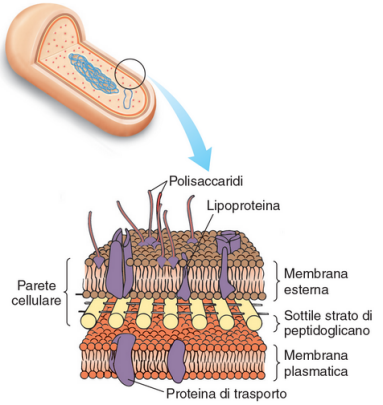
La maggior parte delle cellule procariotiche ha una parete cellulare che circonda la membrana plasmatica. La parete cellulare fornisce una struttura rigida che sostiene la cellula, ne mantiene la forma. Le cellule batteriche hanno un'elevata concentrazione di soluti e la parete impedisce che esplodano in condizioni ipotoniche (vedi Capitolo 5 ). La maggior parte dei batteri sembra essersi adattata all'ambiente ipotonico circostante. Quando si producono sperimentalmente forme prive di pareti, queste vanno tenute in soluzioni isotoniche per evitare che scoppino. Tuttavia, le pareti cellulari sono di poco aiuto quando il batterio si trova in un ambiente ipertonico, come avviene negli alimenti conservati ad elevate concentrazioni di zucchero o di sale. Ecco perché la maggior parte dei batteri cresce male nelle gelatine e nelle conserve di frutta, nel pesce sotto sale e in altri cibi così conservati.

La parete cellulare dei batteri è costituita da peptidoglicano, un polimero complesso composto da due tipi insoliti di zuccheri (amminozuccheri), legati a corti polipeptidi. Gli zuccheri e i polipeptidi sono legati per formare un'unica macromolecola che circonda l'intera membrana plasmatica. Il peptidoglicano è assente nella parete cellulare degli archeobatteri.

Le diverse composizioni della parete cellulare batterica sono di grande interesse per i biologi e di grande importanza clinica. Nel 1888, il medico danese Christian Gram mise a punto la colorazione di Gram. I batteri che assorbono e mantengono la colorazione al violetto di genziana sono classificati come grampositivi , mentre quelli che la perdono in seguito al trattamento con alcool sono detti gram-negativi . La parete dei batteri gram-positivi è molto spessa ed è formata principalmente da peptidoglicani. La parete cellulare di una cellula batterica gram-negativa è costituita da due strati, una sottile parete di peptidoglicano ed una spessa membrana esterna. Quest'ultima è simile alla membrana plasmatica, ma contiene polisaccaridi legati a lipidi ( FIG. 20-3 ).
La differenza tra batteri gram-positivi e gram-negativi è di grande importanza nel trattamento di alcune malattie. Ad esempio, l'antibiotico penicillina interferisce con la sintesi di peptidoglicano, rendendo così fragile la parete cellulare, da renderla iandeguata a proteggere efficacemente la cellula (vedi nel Capitolo 7 la discussione sui farmaci inibitori degli enzimi). Di conseguenza, la penicillina risulta più efficace contro i batteri gram-positivi.




**(a) Parete cellulare gram-positiva.** Uno spesso strato di molecole di peptidoglicano è tenuto insieme da aminoacidi.




**(b) Parete cellulare gram-negativa.** Un sottile strato di peptidoglicano è ricoperto da una membrana esterna.

## Alcuni batteri producono capsule o strati mucosi

Alcune specie di batteri producono una capsula , uno strato mucoso che circonda la parete cellulare. Lo strato mucoso è legato alla parete cellulare meno saldamente rispetto alla capsula. Questi strati esterni sono fatti di polisaccaridi e proteine.

Nelle specie che vivono libere, questo rivestimento esterno può fornire alla cellula un'ulteriore protezione contro la fagocitosi (vedi Capitolo 5 ) da parte di altri microrganismi. Nei batteri patogeni, la capsula o lo strato mucoso può proteggerle dalla fagocitosi da parte dei globuli bianchi (leucociti) dell'ospite. Per esempio, la capacità dello *Streptococcus pneumoniae* di causare la polmonite batterica dipende dalla presenza della capsula. Un ceppo di S. pneumoniae privo di capsula non provoca la malattia. I batteri utilizzano la loro capsula anche per attaccarsi a superfici come pietre, radici di piante o ai denti dell'uomo (provocando la comparsa della placca batterica).

## Alcuni procarioti hanno fimbrie o pili

Molti procarioti hanno appendici simili a capelli chiamati fimbrie . Le fimbrie sono fatte di proteine e sono più corte dei flagelli. I pili sono normalmente più lunghi delle fimbrie. Sulla superficie delle cellule ci sono meno pili e più fimbrie. I batteri usano fimbrie e pili per attaccarsi alla superficie della cellula, incluse le superfici delle cellule che infettano. Queste strutture proteiche aiutano anche i batteri ad aderire gli uni con gli altri. Alcuni pili allungati, chiamati *pili sessuali*, sono importanti per permettere il trasferimento del DNA da un batterio all'altro.

FIGURA 20-3 *Le pareti cellulari batteriche.*

## Alcuni batteri formano endospore

Quando l'ambiente diventa sfavorevole, ad esempio molto secco o povero di nutrimento, molte specie di batteri diventano dormienti. La cellula perde acqua e rimane quiescente finché l'acqua non diventa nuovamente disponibile. Altre specie formano cellule dormienti estremamente durevoli, chiamate endospore.

Dopo la formazione dell'endospora, la parete cellulare della cellula di origine si lisa per liberare l'endospora. La formazione delle endospore non rappresenta una modalità di riproduzione batterica; le endospore non sono comparabili alle spore riproduttive dei funghi e delle piante. Si forma un'unica endospora per cellula; quindi, il numero totale degli individui non aumenta. Non sono state trovate endospore in associazione con gli archeobatteri; questi producono degli enzimi unici sulla superficie cellulare, che li proteggono dal freddo, dal caldo e dalla disidratazione.

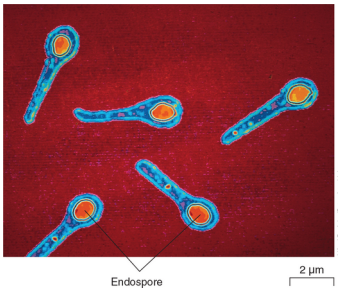



FIGURA 20-4 Le endospore Immagine MET a colori intensificati di Clostridium tetani, il batterio che causa il tetano. Ogni cellula batterica ( in blu ) contiene una sola endospora ( in arancio ), una cellula disidratata e resistente che si forma all'interno della cellula originaria.

Le endospore possono sopravvivere in ambienti molto secchi, caldi o ghiacciati, o quando il cibo è scarso ( FIG. 20-4 ). Alcune endospore sono così resistenti che possono sopravvivere per un'ora o più in acqua bollente o per centinaia di anni se congelate. Quando le condizioni ambientali ritornano ad essere favorevoli per la crescita, l'endospora germina, formando una cellula batterica in attiva crescita.

Parecchi tipi di batteri che formano endospore sono importanti da un punto di vista medico. Le endospore del *Bacillus anthracis*, il batterio che causa l'antrace, sono così resistenti che questo patogeno è diventato un problema come possibile agente per la guerra batteriologica. I batteri che causano il tetano (*Clostridium tetani*) e la cancrena gassosa (*C. perfringens*) normalmente penetrano nell'organismo insieme al terreno quando una persona presenta un taglio profondo o una ferita aperta. I pazienti possono anche essere esposti a queste gravi malattie quando gli strumenti chirurgici non sono ben sterilizzati, con conseguente sopravvivenza delle endospore.

## Molti tipi di procarioti sono mobili

Immaginate lo sforzo necessario per nuotare nella melassa? L'acqua ha, per i batteri, la stessa viscosità

relativa della melassa per l'uomo. La maggior parte dei batteri si muove grazie alla presenza di flagelli . Il numero e la posizione di questi rappresentano un dato importante per la classificazione di alcune specie batteriche.

La struttura del flagello dei procarioti è abbastanza diversa da quella dei flagelli degli eucarioti (vedi Capitolo 4 ). Il flagello batterico non è costituito da microtubuli. Esso è formato da tre parti: il corpo basale, l'uncino ed un filamento singolo ( FIG. 20-5 ). Il corpo basale è una struttura complessa che àncora il flagello alla parete cellulare tramite dei dischi appiattiti. L'uncino unisce il corpo basale al lungo filamento cavo che si estende nell'ambiente circostante.

Il corpo basale è il motore. Il batterio utilizza ATP per pompare protoni fuori dalla cellula. La diffusione di questi protoni nella cellula dà energia al motore, sostenendo il movimento rotatorio propulsivo del flagello. Così, il flagello produce un movimento rotatorio che spinge la cellula come un'elica spinge una barca sull'acqua. Il flagello ruota in senso antiorario, spingendo la cellula in avanti.
Anche gli archea sono provvisti di flagelli, ma più sottilli di quelli dei batteri. I biologi non sanno ancora la struttura del motore nei flagelli degli archea. Alcuni procarioti che mancano di flagelli si muovono per scivolamento.

Molti procarioti mostrano chemiotassi , il movimento in risposta a composti chimici presenti nell'ambiente. Ad esempio, i batteri si muovono verso il nutrimento, mentre si allontanano da certe sostanze chimiche dannose. Alcuni batteri si muovono anche l'uno verso l'altro.

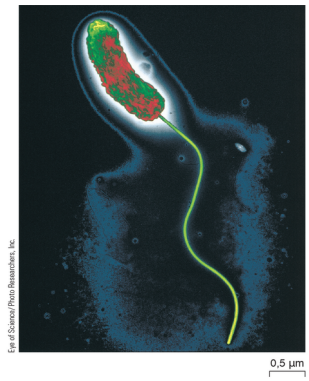
**Verifica**

- Sotto quali aspetti le cellule procariotiche differiscono dalle cellule eucariotiche?
- In cosa differiscono i batteri gram-positivi e gram-negativi? Perché questa differenza è importante?
- In cosa differisce un flagello batterico da un flagello di una cellula eucariote?

## 20.2 RIPRODUZIONE ED EVOLUZIONE DEI PROCARIOTI

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

4. Descrivere la riproduzione asessuata nei procarioti e riassumere i tre meccanismi (trasformazione, coniugazione e trasduzione) che possono portare alla ricombinazione genetica.
5. Indicare alcuni fattori specifici che contribuiscono alla rapida evoluzione dei batteri.




**(a) Immagine MET a colori intensificati di *Vibrio cholerae*.** Il batterio flagellato che causa il colera nell'uomo.

**(b) Struttura di un flagello batterico.** Il motore è il corpo basale, che è formato da una serie di piastre discoidali che ancorano il flagello alla parete cellulare e alla membrana plasmatica e

Il materiale genetico dei procarioti si trova nel citoplasma e non è circondato da un involucro nucleare. Nella maggior parte delle specie, esso è costituito da una singola molecola di DNA circolare. Se distesa completamente, questa molecola avrebbe una lunghezza all'incirca 1000 volte superiore a quella della cellula. Diversamente dai cromosomi eucariotici, il DNA procariotico ha poche proteine associate.

In aggiunta al DNA genomico, nella maggior parte dei batteri una parte limitata di informazione genetica può essere presente sotto forma di plasmidi , piccole molecole di DNA circolari. I plasmidi batterici spesso portano geni che codificano gli enzimi per il catabolismo, per gli scambi di materiale genetico e per la resistenza agli antibiotici. I plasmidi possono replicarsi indipendentemente dal DNA genomico (vedi Capitolo 15 ) o integrarsi in esso.

FIGURA 20-5
*I flagelli batterici*

### La riproduzione rapida contribuisce al successo dei procarioti

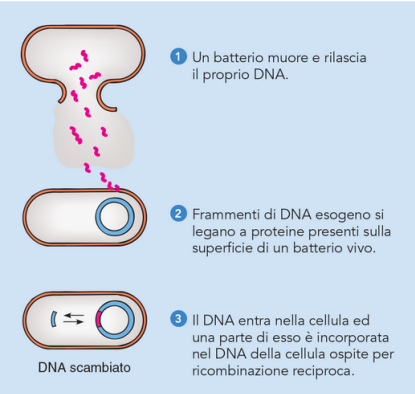
I procarioti sono organismi di grande successo in termini di numero e distribuzione. Il loro successo è in gran parte dovuto alla loro capacità di riprodursi rapidamente. I procarioti si riproducono asessualmente, in genere per scissione binaria , un processo mediante il quale una cellula si divide in due cellule figlie simili (vedi foto di apertura del capitolo e FIG. 10-12 ). Prima avviene la replicazione del cromosoma batterico circolare, poi si forma una parete trasversale per accrescimento sia della membrana plasmatica sia della parete cellulare.

La scissione binaria procede a notevole velocità. In condizioni ideali, alcune specie si dividono in meno di 20 minuti. A questo ritmo, se nulla intervenisse, un batterio darebbe origine a più di un miliardo di batteri nel giro di 10 ore! Fortunatamente, i batteri non possono riprodursi a questa velocità per molto tempo, perché devono affrontare il problema della mancanza di cibo o dell'accumulo di prodotti di scarto.

I batteri possono riprodursi asessualmente anche per gemmazione o per frammentazione. Nella gemmazione, la cellula produce una protuberanza, o gemma, che cresce, matura e infine si separa dalla cellula madre. Nella frammentazione (tipica di poche specie, ad esempio gli attinomiceti), le pareti cellulari si accrescono all'interno della cellula, che viene scissa in numerose cellule di nuova costituzione.

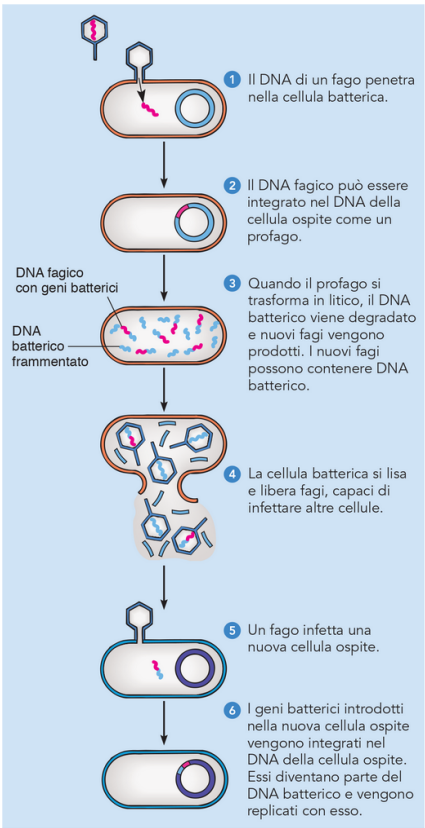
## I batteri trasferiscono l'informazione genetica

Sebbene la riproduzione sessuale, che coinvolge la fusione dei gameti, non avvenga nei procarioti, a volte si osserva uno scambio di materiale genetico tra i batteri e tra gli archeobatteri. Tale scambio di geni, o trasferimento genico , porta alla ricombinazione genetica. Il trasferimento genico orizzontale si verifica quando un organismo trasferisce materiale genetico ad un altro organismo che non appartiene alla sua prole. (Il trasferimento di materiale genetico dai genitori ai figli è detto *trasferimento genico verticale*). Il trasferimento genico tra i batteri avviene con tre meccanismi diversi: trasformazione, trasduzione e coniugazione.




←FIGURA 20-6 *La trasformazione*
In questo processo, DNA esogeno derivante da un batterio morto entra in un batterio ospite. Avviene uno scambio di DNA per ricombinazione.

FIGURA 20-7 *La trasduzione*→
In questo processo, un fago trasferisce il DNA batterico da un batterio ad un altro. La trasduzione è un importante mezzo di trasferimento genico orizzontale.




1. Quando i batteri muoiono, rilasciano il loro DNA, che può essere incorporato da altri batteri. Nella trasformazione , i frammenti di DNA (o di RNA) rilasciati da una cellula sono assunti da un'altra cellula. Il DNA deve legarsi a proteine presenti sulla superficie del batterio. Una volta all'interno della cellula batterica, parte del DNA è incorporato nel genoma dell'ospite per ricombinazione reciproca (avviene uno scambio di DNA) tra il nuovo DNA e il cromosoma dell'ospite ( FIG. 20-6 ). Si ricordi dal Capitolo 12 che Oswald T.Avery e colleghi identificarono nel DNA l'agente che trasformava le cellule batteriche nel corso dei loro esperimenti e dimostrarono che il DNA è la base chimica dell'ereditarietà.

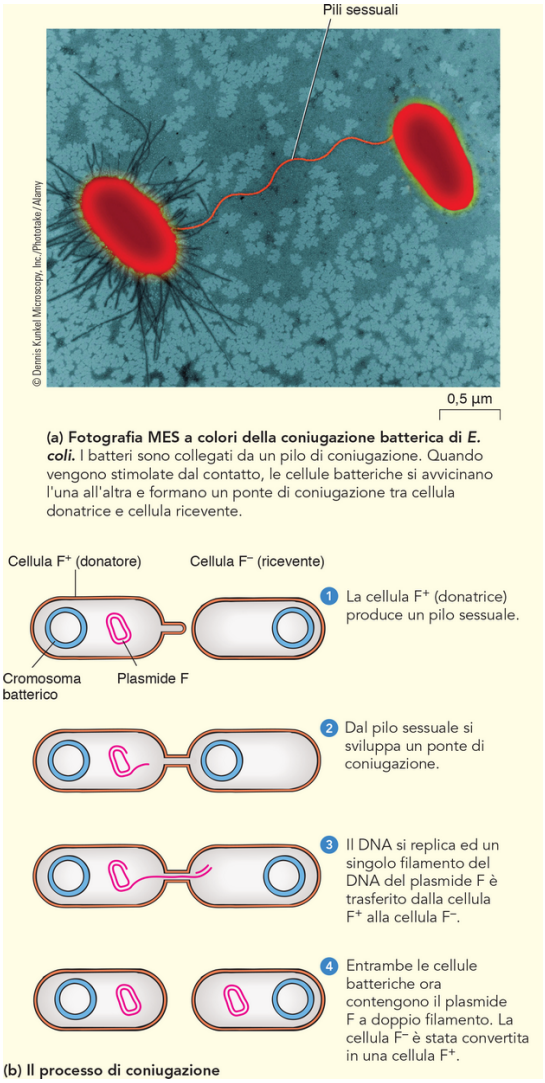
DNA estraneo può anche essere incorporato in forma di plasmidi. Quando ciò avviene, il DNA non va incontro a ricombinazione, ma resta in forma di plasmide separato dal cromosoma batterico.

2. Nel secondo processo di trasferimento genico, la trasduzione, i geni batterici sono trasportati da una cellula batterica ad un'altra tramite un batteriofago ( FIG. 20-7 ). Normalmente, un fago contiene soltanto il proprio DNA. Tuttavia, talvolta un fago incorpora parte del DNA batterico del suo ospite. Pertanto, quando il fago infetta un altro batterio, trasferisce quel DNA al nuovo ospite. Il cromosoma batterico di questo nuovo ospite diviene quindi una ricombinazione del suo DNA e del DNA di un altro batterio.
3. Nella coniugazione, due cellule con polarità di accoppiamento diversa si uniscono e il materiale genetico si trasferisce da una all'altra ( FIG. 20-8 ). Diversamente dalla trasformazione e dalla trasduzione, la coniugazione prevede il contatto tra due cellule.

La coniugazione è stata studiata ampiamente nel batterio *Escherichia coli*. In una popolazione di E. coli vi sono cellule donatrici, o cellule F +, che possiedono DNA trasmissibile alle cellule riceventi , o cellule F – . Le cellule F + posseggono una sequenza di DNA, nota come fattore F (F sta per fertilità), che è necessaria perché un batterio funga da donatore durante la coniugazione. Il fattore F, che è costituito da circa 20 geni, può trovarsi in forma di plasmide o far parte del DNA del cromosoma batterico.

I geni del fattore F codificano enzimi essenziali per il trasferimento del DNA. Alcuni di essi codificano per i

pili sessuali, lunghe estensioni simili a peli che si proiettano dalla superficie cellulare. Il pilo sessuale riconosce e lega la superficie di una cellula F–, formando un ponte di coniugazione citoplasmatico tra le due cellule. Il plasmide F si replica e il DNA è trasferito dal batterio donatore a quello ricevente attraverso il ponte di coniugazione. I plasmidi F possono contenere anche altri tipi di geni, inclusi quelli che conferiscono resistenza agli antibiotici.




## Nelle popolazioni batteriche l'evoluzione procede rapidamente

I batteri si riproducono rapidamente per scissione binaria, cosicché le mutazioni vengono trasmesse velocemente di generazione in generazione e, di conseguenza, anche gli effetti della selezione naturale divengono evidenti rapidamente. I batteri che presentano qualche vantaggio trasmettono rapidamente alle generazioni successive i geni che ne favoriscono la sopravvivenza.

FIGURA 20-8 *La coniugazione*
Nella coniugazione, un batterio donatore trasferisce DNA plasmidico ad un batterio ricevente.

Il trasferimento genico orizzontale contribuisce notevolmente alla rapida evoluzione dei procarioti. L'acquisizione di nuovo DNA e la ricombinazione genetica sono importanti fonti di diversificazione ed adattamento. Il nuovo DNA introdotto nel genoma di un batterio rappresenta nuova materia prima per l'evoluzione. I nuovi geni subiscono mutazioni e sono sottoposti alle forze della selezione naturale. I cambiamenti nel materiale genetico sono trasferiti alle generazioni successive attraverso la scissione binaria. I cambiamenti che risultano adattativi possono diffondersi rapidamente nelle popolazioni batteriche successive. Recenti studi forniscono prove che la ricombinazione genetica sia un meccanismo importante anche nell'evoluzione degli archeobatteri.

### Verifica

- Quali sono le modalità di riproduzione dei batteri? Quali meccanismi portano al trasferimento genico?
- In che modo la trasduzione ha contribuito a favorire la rapida evoluzione delle popolazioni batteriche?
- Quali eventi hanno luogo durante la coniugazione batterica?

# 20.3 ADATTAMENTI NUTRIZIONALI E METABOLICI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

6. Descrivere le modalità principali con cui i procarioti si nutrono e catturano l'energia, e confrontare la diversa richiesta di ossigeno.

Sulla base delle *due principali modalità di ottenimento dei nutrienti*, i procarioti sono classificati come eterotrofi o come autotrofi. Molti procarioti sono eterotrofi , cioè ricavano atomi di carbonio dai composti organici di altri organismi. Alcuni batteri sono autotrofi , cioè producono le loro molecole organiche utilizzando come fonte di carbonio l'anidride carbonica.

Sulla base delle *due principali modalità di cattura dell'energia*, i procarioti sono classificati come chemiotrofi o come fototrofi. I chemiotrofi ottengono energia dai composti chimici. I fototrofi catturano l'energia luminosa. Più di tre miliardi di anni fa i primi batteri svilupparono la capacita di sfruttare la luce del sole come fonte di energia. I primi fototrofi usarono l'idrogeno solforato per ridurre il biossido di carbonio (anidride carbonica) rilasciando zolfo come prodotto di scarto. Circa 2,7 miliardi di anni fa, la capacità di usare l'acqua, invece dell'idrogeno solforato, per ridurre l'anidride carbonica ha dato origine ai primi cianobatteri. Come prodotto di scarto fu rilasciato ossigeno. Quando consideriamo la fonte di carbonio e la fonte di energia possiamo classificare i procarioti in quattro gruppi principali ( Capitolo 20 ).

Quando si considerano sia la fonte di carbonio sia la fonte di energia, i procarioti possono essere classificati

in quattro gruppi principali:

1. I fotoautotrofi , come i cianobatteri, utilizzano l'energia luminosa per sintetizzare i composti organici a partire da anidride carbonica ed altri composti inorganici.
2. Anche i chemioautotrofi utilizzano l'anidride carbonica come fonte di carbonio, ma non utilizzano la luce solare come fonte di energia. Invece, essi ottengono energia mediante l'ossidazione di composti inorganici, come l'ammoniaca (NH 3 ) e l'acido solfidrico (H 2 S).
3. I fotoeterotrofi , come i batteri purpurei non sulfurei, ottengono il carbonio da altri organismi, ma utilizzano la clorofilla ed altri pigmenti fotosintetici per catturare l'energia luminosa. .
4. La maggior parte dei procarioti è rappresentata da chemioeterotrofi , che dipendono dalle molecole organiche sia per il carbonio che per l'energia. Molti di loro sono decompositori a vita libera (talvolta chiamati saprotrofi ), che ottengono carbonio ed energia dalla materia organica morta. Alcuni chemioeterotrofi sono patogeni, e ricavano il loro nutrimento dagli organismi che infettano e danneggiano i loro ospiti causando malattie. Altri batteri eterotrofi procurano un vantaggio ai loro ospiti, ad esempio producendo vitamine essenziali.

## La maggior parte dei procarioti necessita di ossigeno

Siano essi eterotrofi o autotrofi, la maggior parte dei batteri ha un metabolismo aerobico , in quanto richiede ossigeno atmosferico per la respirazione cellulare. Molti batteri sono anaerobi facoltativi , cioè possono usare ossigeno per la respirazione cellulare se è disponibile, ma conducono il metabolismo anaerobicamente se necessario. Altri batteri sono anaerobi obbligati e possono sostenere un metabolismo energetico solo anaerobicamente. Essi respirano utilizzando come accettori finali di elettroni molecole diverse dall'ossigeno, per esempio il solfato ( SO 4 2– ), il nitrato ( NO 3 – ) o il ferro ( Fe 2+ ). Alcuni anaerobi obbligati, inclusi certi archeobatteri, vanno incontro alla morte se esposti anche a basse concentrazioni di ossigeno.

**TABELLA 20-1** Modalità di ottenimento dei nutrienti e di cattura dell'energia

| Modalità di nutrimento | Fonte di energia | Fonte di carbonio | Esempi di organismi |
|---|---|---|---|
| Autotrofo | | | |
| Fotoautotrofo | Luce solare | $CO_2$ | Cianobatteri; batteri purpurei sulfurei |
| Chemioautotrofo | Composti inorganici (ad es., $NH_3$, $H_2S$, $Fe^{2+}$) | $CO_2$ | Alcuni proteobatteri; la maggior parte degli archeobatteri, ad esempio metanogeni, alofili estremi |
| Eterotrofo | | | |
| Fotoeterotrofo | Luce solare | Composti organici | Batteri non sulfurei, purpurei e verdi |
| Chemioeterotrofo | Composti organici | Composti organici | Decompositori che vivono liberi; la maggior parte dei batteri patogeni |

## Alcuni batteri fissano e metabolizzano l'azoto

Tutti gli organismi hanno bisogno di azoto per poter produrre proteine ed acidi nucleici. Alcuni batteri (per esempio alcuni cianobatteri) ed archea (per esempio metanogeni) possono ridurre l'azoto atmosferico in ammoniaca. Il processo si chiama fissazione dell'azoto . L'ammoniaca prodotta dalla fissazione dell'azoto è convertita in ioni ammonio (NH 4 +). I batteri che fissano azoto possono usare questa semplice forma di azoto per produrre componenti organici.

Certi batteri convertono ammoniaca o ioni ammonio in nitrito ( NO 2 – ), mentre altri convertono nitrito in nitrato ( NO 3 – ). Questo processo, chiamato nitrificazione , converte l'azoto in una forma che può essere usata da piante e funghi. Gli animali ottengono azoto dai composti organici quando mangiano altri organismi. Come discuteremo più avanti, tutti gli altri organismi, in ultima analisi, dipendono per la loro sopravvivenza dal processo di fissazione dell'azoto e dalla nitrificazione operata dai procarioti (vedi Capitolo 55 ).

## Verifica

- Come ottengono energia i chemioeterotrofi?
- Qual è la differenza tra anaerobi facoltativi e anaerobi obbligati? In che modo entrambi differiscono dagli aerobi?
- In che modo i batteri ottengono l'azoto necessario per la produzione di aminoacidi e acidi nucleici?

# 20.4 LA FILOGENESI DEI DUE UOMINI PROCARIOTI

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

7. Par  Confrontare i tre domini: Bacteria, Archaea ed Eukarya.
8. Fare una distinzione tra i principali gruppi di archeobatteri sulla base della loro ecologia ed identificare i tipi specifici di archeobatteri appartenenti a questi gruppi.
9. Descrivere i principali gruppi di batteri discussi in questo capitolo (vedi TABELLA 20-4 ).

Al microscopio, la maggior parte dei procarioti appare simile per forma e dimensione. Tuttavia, utilizzando l'analisi di sequenza dell'RNA ribosomale 16S della subunità minore (SSU rRNA), Carl Woese e collaboratori hanno dimostrato che esistono fondamentalmente due gruppi diversi di procarioti (vedi Capitolo 23 ). Ciascun gruppo possiede " sequenze firma ", regioni dell'SSU rRNA che presentano sequenze nucleotidiche uniche. Queste differenze sono dovute al fatto che, dopo la loro separazione, le popolazioni di procarioti si sono diversificate ed hanno subìto mutazioni che hanno alterato le sequenze dell'RNA. Basandosi su tali analisi, Woese ha ipotizzato che i procarioti antichi si siano divisi molto presto nella storia della vita in due linee.

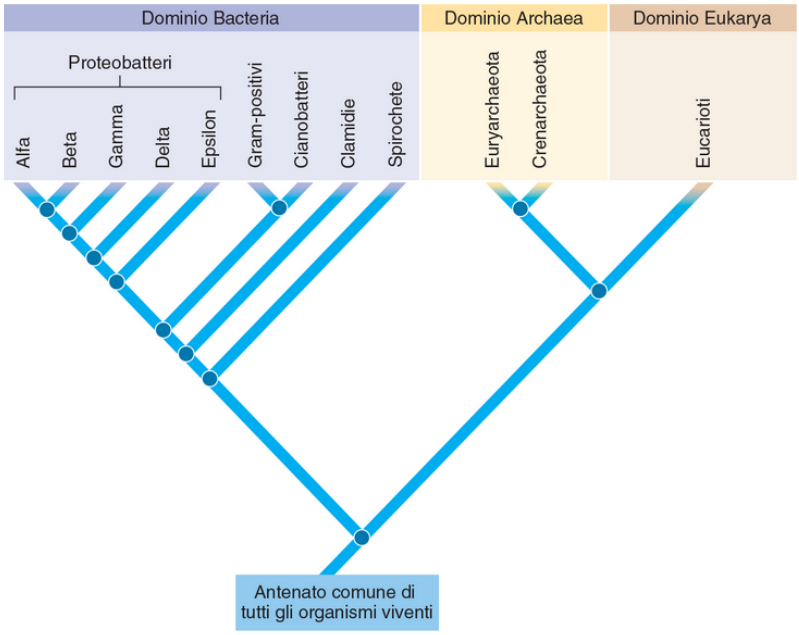



FIGURA 20-9
I tre domini Questo diagramma altamente semplificato riporta alcuni taxa rappresentativi dei domini Bacteria ed Archaea. Le relazioni evolutive sono basate sull'analisi delle sequenze nucleotidiche dell'rRNA. Ogniqualvolta si considerano dati aggiuntivi, queste relazioni vengono modificate.

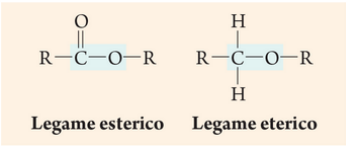
Sulla base del lavoro di Woese, i microbiologi classificano i discendenti odierni di queste due linee antiche in due domini: Archaea e Bacteria ( FIG. 20-9 ). Questi gruppi si pensa si siano differenziati da un antenato comune circa quattro miliardi di anni fa. Batteri ed archea sono stati gli unici organismi viventi sul nostro pianeta per circa due miliardi di anni. Pertando, archea e batteri hanno avuto molto tempo per evolvere ed adattarsi a tutti i tipi di ambiente. La loro diversità è sorprendente. Anche il trasferimento genico orizzontale ha contribuito a questa diversità. Come conseguenza del trasferimento di geni, talvolta tra specie evolutivamente lontane, il genoma di archea e batteri è, di fatto, un mix di geni di molti procarioti.

### Le caratteristiche chiave che distinguono i tre domini

Le caratteristiche chiave che distinguono gli archeobatteri dai batteri sono l'assenza del peptidoglicano nelle loro pareti cellulari e la struttura unica delle loro membrane cellulari. Nei fosfolipidi dei batteri e degli eucarioti, gli acidi grassi sono attaccati al glicerolo mediante *legami esterici*, mentre negli archeobatteri non sono presenti i componenti di acidi grassi. Invece, idrocarburi a catena ramificata (sintetizzati a partire da unità isoprenoidi) sono legati al glicerolo mediante *legami eterici* (Capitolo 20).

**TABELLA 20-2** Comparazione dei tre domini

| Caratteristiche | Bacteria | Archaea | Eukarya |
|---|---|---|---|
| Involucro nucleare | Assente | Assente | Presente |
| Organelli delimitati da membrane | Assenti | Assenti | Presenti |
| Cromosoma circolare | Presente (lineare in alcune specie) | Presente | Assente |
| Numero di cromosomi | Tipicamente uno (possono essere presenti anche plasmidi) | Tipicamente uno (possono essere presenti anche plasmidi) | Tipicamente molti |
| Istoni associati al DNA | Assenti | Presenti | Presenti |
| Peptidoglicano nella parete cellulare | Presente | Assente | Assente |
| Struttura dei lipidi nella membrana | Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterici | Idrocarburi a catena plasmatica ramificata legati al glicerolo attraverso legami eterici | Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterici |
| Dimensioni dei ribosomi | 70S* | 70S | 80S, ad eccezione di quelli di mitocondri e cloroplasti |
| RNA polimerasi | Una sola RNA polimerasi relativamente semplice | Diverse RNA polimerasi relativamente complesse | Diverse RNA polimerasi relativamente complesse |
| Traduzione | Inizia con la formilmetionina | Inizia con la metionina | Inizia con la metionina |
| Crescita sopra i 70°C | Sì | Sì | No |




L'assenza di un secondo atomo di ossigeno elettronegativo rende il legame eterico più forte di quello esterico. Questa struttura unica della membrana degli archeobatteri potrebbe contribuire alla loro capacità di sopravvivere e prosperare in ambienti inospitali.

Sotto certi aspetti, gli archeobatteri sono più simili agli eucarioti che ai batteri. Infatti, essi non possiedono la semplice RNA polimerasi presente nei batteri. Come negli eucarioti, il loro processo traduzionale inizia con la metionina, mentre nei batteri inizia con la formilmetionina (vedi Capitolo 13 ). Inoltre, diversi antibiotici che hanno effetto sui batteri non danneggiano né gli archeobatteri né gli eucarioti.
I batteri condividono anche alcuni caratteri (assenti negli archea) con gli eucarioti. Per esempio, come affermato precedentemente, sia i batteri che gli eucarioti hanno lipidi di membrana con legami esterici, mentre gli archea hanno lipidi di membrana con legami eterici. Alcuni microbiologi pensano che gli eucarioti siano il prodotto della fusione tra archea, che hanno fornito il macchinario trascrizionale e traduzionale, e batteri che hanno invece fornito gli enzini necessari al metabolismo energetico.

## La tassonomia degli archea e dei batteri cambia continuamente

La tassonomia dei procarioti si basa sempre più su dati molecolari, principalmente sul sequenziamento degli RNA e, più recentemente, di interi genomi. I gruppi che si sono separati precocemente hanno avuto più tempo per accumulare mutazioni nei propri SSU rRNA, per cui le loro sequenze nucleotidiche sono meno simili rispetto a quelle dei gruppi la cui divergenza è avvenuta più di recente. Tuttavia, alcuni microbiologi stanno sviluppando alberi filogenetici basati sull'intero genoma. Essi sostengono che ci sono probabilmente 1000 geni che codificano proteine per ogni gene che codifica un rRNA. Per questo, questi ricercatori preferiscono prendere in considerazione le proporzioni di geni (o di proteine) che i genomi di vari gruppi hanno in comune.
Benché la tassonomia dei procarioti sia controversa e in continuo cambiamento, sono stati classificate più di 7000 specie di procarioti. Gli autori del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, considerato da molti microbiologi il testo di riferimento, hanno diviso i gli Archaea in 2 phyla e i Bacteria in oltre 20 phyla sulla base dell'analisi dell'rRNA 16S.

## Molti archea vivono in ambienti inospitali

Il domino degli archea comprende due gruppi principali (phyla): *Crenarchaeota* ed *Euryarchea* ( Capitolo 20 ). Questa filogenesi è basata su sequenze del 16S rRNA e su informazioni di sequenza di interi genomi. La sistematica non ha ancora definito se i due gruppi sono phyla diversi o ranghi sistematici più alti; in quest'ultimo caso i rami di ogni gruppo potrebbe rappresentare dei phyla.
I Crenarchaeota comprendono principalmente termofili estremi, archea che vivono a temperature estremamente alte o basse. La temperatura ottimale per molti di questi è superiore agli 80°C. Questi archea normalmente crescono in ambienti caldi e talvolta acidi. È stata individuata una specie nelle calde sorgenti solforose del parco di Yellowstone, che vive a temperature vicine agli 80 °C e a valori di pH tra 1 e 2, il pH dell'acido solforico concentrato ( FIG. 20-10 a ). Altre specie abitano le aree vulcaniche sottomarine. Una specie, isolata dai soffioni delle profondità marine, cresce a temperature di 80-120°C. Al contrario, altri *Crenarchaeota* vivono in ambienti molto freddi (sotto 15°C). Alcuni vanno alla deriva nell'oceano e costituiscono una parte importante del plancton.

FIGURA 20-10
*Archeobatteri che abitano gli ambienti estremi*

© Mike Cavaroc/Alamy

**(a) Termofili estremi.** Colonie arancioni e gialle di termofili estremi prosperano nel Grand Prismatic Spring nel parco nazionale di Yellowstone in Wyoming, USA.

© Helen E. Eze / Biological Photo Service

**(b) Alofili estremi.** Le vasche per l'evaporazione dell'acqua marina nei pressi della baia di San Francisco sono colorate di rosa, arancio e giallo per l'elevato numero di alofili estremi che crescono in esse. I colori dipendono dai pigmenti presenti nelle membrane cellulari. Questi batteri sono innocui, e il sale che rimane in seguito all'evaporazione dell'acqua ha un valore commerciale.

Gli Euryarcheaeota includono anche molti archea che abitano ambienti estremi: metanogeni, alofili estremi e termofili estremi. I metanogeni sono un ampio gruppo eterogeneo che vive in ambienti privi di ossigeno, come le acque putride e gli acquitrini, e sono comunemente presenti nel tratto digerente dell'uomo e di altri animali. I metanogeni sono anaerobi obbligati, caratterizzati dalla produzione di gas metano a partire da composti carboniosi semplici. Essi sono molto importanti nel processo di riciclaggio dei composti organici derivati dagli organismi che vivono nelle paludi. I metanogeni che vivono nel tratto digerente dei bovini e di altri ruminanti producono metano che viene emesso dagli animali per ruttazione. Questi archeobatteri sono responsabili della produzione di oltre l'80% (più di 2 miliardi di tonnellate all'anno) del metano presente nell'atmosfera terrestre. Il metano è un importante gas-serra.
Gli alofili estremi sono eterotrofi che vivono in soluzioni sature di sali, come le acque saline del Mar Morto e del Gran Lago Salato (FIG. 20-10 b). Gli alofili estremi utilizzano la respirazione aerobica per produrre ATP. Tuttavia, essi svolgono anche una forma di fotosintesi in cui catturano l'energia solare grazie ad un pigmento porpora (*batteriorodopsina*, pigmento molto simile al pigmento rodopsina coinvolto nella visione animale).

*Nanoarchaeum* è un piccolo (400 nm) termofilo estremo che è oggi classificato come euryarchaeote. Questo microbo è uno dei più piccoli organismi cellulari identificati fino ad oggi. Ha anche uno dei più piccoli genomi conosciuti (500.000 nucleotidi). Nanoarchaeum vive adeso ad un altro archea e dipende dall'ospite per molti dei suoi processi metabolici.
Alcuni archeobatteri abitano anche ambienti con condizioni meno estreme; ad esempio, sono abbondanti nel terreno e nelle acque superficiali fredde dell'oceano vicino all'Antartide. I microbiologi suggeriscono che gli archeobatteri possano essere importanti nei cicli biogeochimici e nelle catene alimentari marine. Non sono stati identificati archeobatteri patogeni.

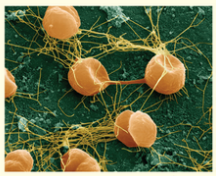
## I batteri sono i procarioti più noti

I batteri sono ampiamente distribuiti nell'ambiente e sono conosciuti dai microbiologi meglio degli archeobatteri. Qui sono considerati i cinque gruppi principali: proteobatteri (gram-negativi), i cianobatteri (gram-negativi), i batteri gram-positivi, le clamidie (gram-negativi) e le spirochete (gram-negativi). Tali gruppi sono descritti nella Capitolo 20 .

## Verifica

- Quali sono i due tipi di archeobatteri che abitano ambienti estremi?
- Quali sono le differenze tra i seguenti batteri (elencati nella TABELLA 20-4 ): (1) proteobatteri, (2) cianobatteri, (3) clamidie?

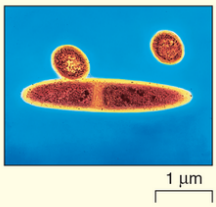
**Crenarchaeota**




Alcuni sono termofili estremi (prosperano a 70°C, alcuni addirittura al di sopra dei 100°C); altri sono psicrofilici (possono vivere a temperature inferiori a 15°C). Molti sono chemioautotrofi. Sono una componente importante del plancton nei mari freddi ricchi di ossigeno.

**Fotografia MES del *Pyrococcus furiosus*, un anaerobio che vive nella sabbia marina**
Questo metanogeno è altamente resistente alle alte temperature; il suo optimum di temperatura è circa 100°C. *Pyrococcus* cresce utilizzando zuccheri e piccoli peptidi come donatori di elettroni. LA DNA polimerasi di *P. firiosus* viene usata per l'amplificazione del DNA in PCR (*Polymerare Chain Reaction*) grazie alla sua stabilità ad alta temperatura ed alla sua accuratezza.

**Euryarchaeota**




Questo gruppo comprende metanogeni, alofili (non tutti estremi) ed acidofili. Alcuni termofili estremi sono inclusi in questo phylum.

**Immagine MET di un metanogeno (*Methanospirillium hungatii*) durante la divisione cellulare**
Altri due archeobatteri sono visibili in sezione trasversale. Quando non si dividono, questi archeobatteri hanno una forma a spirale.

TABELLA 20-3 I due gruppi di archeobatteri

**Proteobatteri (Gram-negativi)**

**Immagine MES di una colonia di *Escherichia coli***
*E. coli* sono proteobatteri gamma.

**Immagine MES del corpo fruttifero del mixobatterio *Stigmatella aurantiaca***
Le cellule quiescenti protettive all'interno dei corpi fruttiferi sono estremamente resistenti al calore e alla disidratazione. I mixobatteri sono proteobatteri delta.

Ampio gruppo diversificato di batteri gram-negativi. Sulla base delle sequenze dell'rRNA, il gruppo è suddiviso in cinque sottogruppi, detti alfa, beta, gamma, delta ed epsilon.

**Proteobatteri alfa**
Includono molti simbionti di piante ed animali, ed alcuni patogeni. I batteri del genere *Rhizobium* vivono simbioticamente nei noduli radicali delle leguminose (es., fagioli) e convertono l'azoto atmosferico in una forma utilizzabile dalle piante (fissazione dell'azoto). Le **rickettsie** sono piccolissimi batteri di forma bastoncellare. Alcune specie sono patogene per l'uomo ed altri animali; le malattie sono trasmesse attraverso il morso degli artropodi o il contatto con i loro escrementi. Esse includono il tifo (trasmesso da pulci e pidocchi) e la febbre delle Montagne Rocciose (trasmessa dalle zecche).

**Proteobatteri beta**
Vari gruppi diversificati, che comprendono i batteri del genere *Nitrosomonas*, che ossidano l'ammoniaca. I batteri patogeni di questo gruppo includono *Neisseria gonorrhoeae*, che causa la gonorrea.

**Proteobatteri gamma**
Comprendono gli **enterobatteri**, rappresentati da decompositori che vivono sui detriti vegetali, patogeni ed una varietà di batteri che vivono nell'organismo umano. Benché *Escherichia coli* viva normalmente nel tratto intestinale degli animali, alcuni ceppi possono provocare forme moderate o gravi di diarrea. Una specie di *Salmonella* infetta i cibi e produce una tossina che provoca una forma di avvelenamento alimentare; un'altra specie causa la febbre tifoide.

I **vibrioni** sono prevalentemente marini; alcuni sono bioluminescenti. *Vibrio cholerae* causa il colera.

Gli **pseudomonadi** sono eterotrofi che producono pigmenti non fotosintetici. Causano malattie in piante ed animali, compreso l'uomo.

I **batteri purpurei** sulfurei sono fotoautotrofi che non producono ossigeno.

**Proteobatteri delta**
Includono i **mixobatteri** (batteri mucillaginosi), che secernono un muco sul quale scivolano e si spostano. Se le sostanze nutritive si esauriscono, questi batteri si aggregano in strutture riproduttive pluricellulari peduncolate, dette corpi fruttiferi. Le cellule batteriche all'interno del corpo fruttifero entrano in uno stato di quiescenza. Quando le condizioni diventano favorevoli, le cellule quiescenti tornano attive.

**Proteobatteri epsilon**
Piccolo gruppo di batteri che vivono nel tratto digerente degli animali. *Helicobacter* può causare ulcere peptiche.

TABELLA 20-4 I principali gruppi di batteri

# TABELLA 20-5
# I principali gruppi di batteri

### Cianobatteri (gram-negativi)

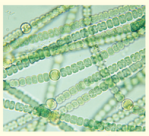



**Immagine al microscopio ottico di *Anabaena*, un cianobatterio filamentoso che fissa l'azoto**
La fissazione dell'azoto ha luogo nelle cellule tondeggianti, dette *eterocisti*.

I **clanobatteri** contengono clorofilla e sono gli unici procarioti che, come le piante e le alghe, svolgono la fotosintesi che genera ossigeno. I cianobatteri sono stati i primi organismi ad effettuare la fotosintesi che libera ossigeno; sono considerati molto importanti nell'evoluzione delle forme di vita perché la loro fotosintesi ha trasformato l'atmosfera della Terra da riducente, come era inizialmente, ad ossidante. I cloroplasti si pensa si siano evoluti da cianobatteri endosimbionti. Vivono in stagni, laghi, piscine, nel terreno umido, nei tronchi morti e nelle cortecce d'albero. Alcune specie formano filamenti; altre sono solitarie. Come produttori primari sono un'importante fonte di cibo per gli organismi marini e d'acqua dolce. Alcune specie hanno strutture speciali che fissano l'azoto.

### Batteri gram-positivi

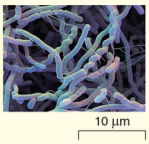



**Immagine MES di *Actinomycetes naeslundi*, un batterio del suolo che forma colonie filamentose**

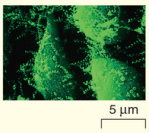



**Immagine MES di *Mycoplasma* su cellule fibroblastiche**

Gruppo estremamente diversificato. Seguono alcuni esempi.

Gli attinomiceti ricordano superficialmente i funghi. Ma contengono peptidoglicano nella loro parete cellulare, mancano di involucro nucleare e hanno altre caratteristiche tipiche dei procarioti. La maggior parte degli attinomiceti è saprofita e decompone materiale organico nel suolo. Alcuni sono anaerobi. Diverse specie del genere *Streptomyces* producono antibiotici come la streptomicina, l'eritromicina, il cloramfenicolo e le tetracicline. Alcuni attinomiceti provocano una grave malattie polmonare e altre infezioni nell'uomo e altri animali.

I **batteri acido-lattici** fermentano gli zuccheri, producendo acido lattico come principale prodotto finale. Vivono nel materiale vegetale in decomposizione, nel latte ed in altri prodotti caseari; sono responsabili del caratteristico gusto di yogurt, sottaceti, crauti ed olive verdi. Nell'uomo, fanno parte della normale flora batterica del cavo orale e della vagina.

I **micobatteri** sono bastoncelli sottili ed irregolari; contengono una sostanza cerosa nelle loro pareti cellulari. Una specie provoca la tubercolosi ed un'altra la lebbra.

Gli **streptococchi** vivono nella bocca e nel tratto digerente dell'uomo e di alcuni altri animali. Tra le specie dannose, vi sono quelle che provocano il mal di gola, la carie dentale, una forma di polmonite, la scarlattina e la febbre reumatica.

Gli **stafilococchi** vivono normalmente nel naso e sulla pelle. Sono patogeni opportunisti che causano malattie quando il sistema immunitario dell'ospite è compromesso. *Staphylococcus aureus* è responsabile dei foruncoli e di infezioni cutanee anche molto gravi; può infettare le ferite. Alcuni ceppi di *S. aureus* causano una forma di avvelenamento alimentare; altri ceppi provocano la sindrome da shock tossico (vedi Figura 25-14).

I **clostridi** sono anaerobi. Una specie causa il tetano, un'altra la cancrena gassosa. *Clostridium botulinum* può provocare il botulismo, un tipo di avvelenamento alimentare spesso letale.

I **micoplasmi** sono un gruppo di batteri privi di parete cellulare. Potrebbero essersi evoluti da batteri con pareti cellulari gram-positive. Vivono nel suolo e nelle acque di scarico; alcuni sono parassiti di piante o animali. Alcuni vivono nelle membrane mucose dell'uomo, ma generalmente non provocano malattie; una specie causa una forma lieve di polmonite batterica nell'uomo.

### Clamidie (gram-negativi)

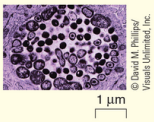



**Immagine MET di *Chlamydia trachomatis* in una cellula dell'ovidotto umano**

Le **clamidie** sono prive di peptidoglicano nella loro parete cellulare. Sono parassiti energetici, completamente dipendenti dall'ospite per l'ATP. Infettano quasi tutte le specie di uccelli e mammiferi. Un ceppo di *Chlamydia* causa il tracoma, la principale causa di cecità nel mondo. Le clamidie trasmesse per via sessuale sono la causa principale della malattia da infiammazione pelvica nelle donne.

### Spirochete (gram-negativi)

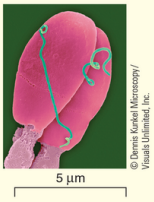



**Immagine al microscopio ottico di *Treponema pallidum*, la spirocheta che causa la sifilide**

Le **spirochete** sono batteri a spirale con pareti cellulari flessibili. Si muovono per mezzo di peculiari flagelli interni, detti *filamenti assiali*. Alcune specie sono a vita libera, mentre altre formano associazioni simbiotiche; alcune sono parassite. La spirocheta di maggiore rilevanza medica è *Treponema pallidum*, che causa la sifilide. La malattia di Lyme, una patologia dell'uomo e di alcuni altri animali, trasmessa dalle zecche, è causata da una spirocheta del genere *Borrelia*.

| Malattia | Patogeno | Epidemiologia/Commenti |
|---|---|---|
| Antrace | *Bacillus anthracis* | Colpisce più comunemente gli animali domestici, come il bestiame. Può essere trasmesso all'uomo da animali o da prodotti di animali infetti. Le endospore possono sopravvivere nel suolo per molti anni. L'antrace non si trasmette da persona a persona. L'infezione può verificarsi in tre forme: cutanea, per inalazione e gastrointestinale. |
| Botulismo | *Clostridium botulinum* | Si contrae consumando alimenti che contengono l'endotossina o attraverso ferite infette. Il botulismo infantile è causato dall'ingestione di endospore. Causa paralisi muscolare e può determinare la morte per blocco respiratorio. |
| Clamidia | *Chlamydia trachomatis* | Una delle più frequenti malattie a trasmissione sessuale negli Stati Uniti. Circa il 75% delle donne infette ed il 50% degli uomini infetti sono asintomatici. Se non trattata, l'infezione si diffonde e danneggia gli organi riproduttivi; può portare all'infertilità. Questo patogeno può anche infettare gli occhi ed è responsabile di milioni di casi di cecità in tutto il mondo ogni anno. |
| Colera | *Vibrio cholerae* | Si contrae consumando alimenti o acqua contaminati dal batterio. È comune nelle zone con acque impure ed inadeguati trattamenti delle acque di scarico. In batterio infetta l'intestino e può causare una grave diarrea. La rapida perdita di liquidi può portare alla disidratazione e alla morte. |
| Difterite | *Corynebacterium diphtheriae* | Si trasmette da persona a persona attraverso stretti contatti respiratori e fisici. È endemica nei paesi in via di sviluppo. Negli Stati Uniti non è più comune dagli anni '20, quando si rese disponibile il vaccino. Il batterio infetta il muscolo cardiaco e le vie respiratorie. |
| Tifo epidemico | *Rickettsia prowazekii* | È trasmesso da pidocchi del corpo infetti. Dopo un periodo di incubazione di 8-12 giorni, si sviluppano i sintomi, che includono febbre, forte emicrania, dolori muscolari e brividi. Dopo diversi giorni, compare un'eruzione cutanea. Circa il 40% dei pazienti non trattati muore. |
| Gonorrea | *Neisseria gonorrhoeae* | Comune malattia a trasmissione sessuale. |
| Malattia di Hansen (lebbra) | *Mycobacterium leprae* | Si pensa che possa essere trasmessa da persona a persona attraverso le secrezioni nasali. Questa malattia ha provocato la morte di 2 milioni di persone in tutto il mondo. Tipicamente, colpisce la pelle, i nervi e le membrane mucose. |
| Malattia di Lyme | *Borrelia burgdoferi* | È trasmessa all'uomo dal morso di zecche infette. I sintomi includono eruzioni cutanee, emicrania, febbre ed affaticamento. Se non trattata, l'infezione può diffondersi alle articolazioni, al cuore ed al sistema nervoso. |
| Ulcera peptica | *Helicobacter pylori* | L'ulcera peptica è una lesione nel rivestimento interno dello stomaco o del duodeno (parte superiore dell'intestino tenue). |
| Pertosse | *Bordetella pertussis* | È altamente trasmissibile da persona a persona. Causa violenti spasmi di tosse. È disponibile la vaccinazione. |
| Peste | *Yersinia pestis* | È trasmessa all'uomo da roditori, scoiattoli e gatti selvatici attraverso pulci infette. Se non trattata, può portare alla morte. Ha ucciso milioni di persone in Europa durante il Medioevo. |
| Polmonite | *Streptococcus pneumoniae* | È trasmessa da persona a persona. Ceppi di *S. pneumoniae* sono resistenti ad uno o più antibiotici comunemente utilizzati per il trattamento di questa infezione. L'incidenza è diminuita in seguito all'introduzione di un vaccino. |
| Salmonellosi | *Salmonella* sp. | È trasmessa all'uomo da polli, uova o altri alimenti contaminati. È trasmessa anche attraverso le feci di animali infetti, come lucertole, tartarughe, pulcini, uccelli, cani e gatti. I sintomi includono febbre, diarrea e mal di stomaco. |
| Tetano | *Clostridium tetani* | I batteri penetrano nell'organismo attraverso una ferita cutanea. Colpisce il sistema nervoso; causa blocco mandibolare, rigidità del collo, difficoltà di deglutizione, febbre e spasmi muscolari. È disponibile la vaccinazione. |
| Diarrea del viaggiatore | *Escherichia coli* enterotossigenico è la causa più comune | Si contrae consumando alimenti o acqua contaminati. Colpisce dal 30% al 50% dei viaggiatori nelle aree ad alto rischio (Centro e Sud America, Africa, Medio Oriente e gran parte dell'Asia). |
| Sifilide | *Treponema pallidum* | È una malattia a trasmissione sessuale che si trasmette attraverso il contatto diretto con una piaga da sifilide. Se non trattata, arriva a danneggiare cervello, fegato, ossa e milza, e può portare alla morte. |
| Tubercolosi | *Mycobacterium tuberculosis* | È trasmessa da persona a persona attraverso l'inalazione di aria contenente il patogeno. I sintomi includono affaticamento, tosse, febbre e perdita di peso. Non è comune negli Stati Uniti. Tuttavia, una forma resistente a molti farmaci costituisce una minaccia crescente. |
| Febbre tifoide | *Salmonella typhi* | È trasmessa da persona a persona attraverso la contaminazione fecale di alimenti o acqua. Il rischio massimo è a carico dei viaggiatori nei paesi in via di sviluppo, ma è disponibile il vaccino. I sintomi includono febbre alta, emicrania ed inappetenza. Se non trattata, può portare alla morte. |

# 20.5 L'IMPATTO DEI CROCARIOTI SU ECOLOGIA, TECNOLOGIA E COMMERCIO

## OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

10. Par Discutere il ruolo ecologico dei procarioti.
11. Discutere alcuni dei più importanti ruoli dei procarioti nel commercio e nella tecnologia.

I procarioti abitano virtualmente ogni ambiente della Terra e sono membri vitali delle biosfera. Essi influenzano gli altri organismi viventi sia direttamente sia indirettamente per il ruolo ecologico che svolgono. I procarioti producono azoto in una forma utilizzabile dagli altri organismi e rappresentano una riserva di nutrienti. Questi organismi microscopici riciclano nutrienti e giocano un ruolo fondamentale nel cicli biogeochimici.

### I procarioti stabiliscono relazioni con altri organismi

Essi interagiscono con gli altri organismi in molti modi. Una relazione intima tra membri di due o più specie è detta simbiosi . I partner di una relazione simbiotica sono detti simbionti . Le relazioni simbiotiche si originano per coevoluzione. Le tre forme di simbiosi sono il mutualismo, il commensalismo e il parassitismo.

Il mutualismo è una relazione simbiotica in cui entrambi i partner traggono un beneficio. Le mucche ed altri ruminanti hanno relazioni mutualistiche con batteri che vivono nel loro tratto digerente. I ruminanti sono privi degli enzimi che digeriscono la cellulosa, per cui forniscono ai batteri un ambiente ricco di nutrienti ed i batteri digeriscono la cellulosa per loro.

Alcuni studiosi stimano che nell'ambiente ricco di nutrienti dell'intestino umano vivano fino a 100.000 miliardi di batteri. Ad esempio, in cambio di nutrienti e di un posto per vivere, il *Bacteroides thetaiotaomicron* degrada carboidrati complessi indigeribili in zuccheri che il suo ospite umano può assorbire. Essi producono anche alcune vitamine che possono essere assorbite ed utilizzate dall'ospite. Questi batteri promuovono anche la proliferazione dei vasi sanguigni che migliora la funzionalità intestinale. È stato riportato che il B. thetaiotaomicron è capace di attivare specifici geni nelle cellule intestinali del l'ospite; sembra che questi batteri possano indurre la sintesi di un composto capace di uccidere i batteri con cui competono.

Nel commensalismo, uno dei partner trae un beneficio, mentre l'altro non è né danneggiato né avvantaggiato. Molti batteri che vivono nell'intestino umano sono commensali che si nutrono del cibo non utilizzato. Nel parassitismo, uno dei partner vive sopra o all'interno dell'altro. Il parassita trae un beneficio, mentre l' ospite è danneggiato. I batteri patogeni sono parassiti. I batteri patogeni non sono di solito considerati parassiti obbligati in quanto essi possono generalmente sopravvivere in altri modi.

### Alcuni tipi di batteri possono influenzare il corso evolutivo di altre specie

Il proteobatterio Wolbachia infetta numerosi invertebrati, inclusi insetti, ragni, crostacei e nematodi (vermi cilindrici). I Wolbachia vengono trasmessi di generazione in generazione attraverso le uova dei loro ospiti, cosicché gli ospiti di sesso maschile non risultano utili. Di conseguenza, questi parassiti riducono o eradicano i maschi dalla popolazione. In alcune specie di insetti, i maschi infetti possono riprodursi soltanto nel caso in cui si accoppino con femmine infettate dallo stesso ceppo di Wolbachia . In altre specie, questi parassiti trasformano gli insetti maschi in femmine. Alcune femmine infette si riproducono per partenogenesi (le loro uova si sviluppano senza essere state fecondate). Dal momento che influiscono sulla riproduzione dei loro ospiti, i Wolbachia ed altri parassiti dell'apparato riproduttore possono avere effetti sulla divergenza evolutiva di alcune specie e persino causarne l'estinzione. Wolbachia può influenzare l'evoluzione anche mediante trasferimento genico orizzontale.

### Molti batteri formano biofilm

Molti tipi di batteri che vivono in ambienti acquosi formano dense pellicole, dette biofilm , che aderiscono a superfici solide. I batteri presenti in un biofilm formano strati spessi fino a 200 μm. I batteri secernono una sostanza melmosa simile alla colla, ricca di polisaccaridi, e restano immersi in questa matrice. La maggior parte dei biofilm è costituita da numerose specie di batteri e può includere altri tipi di organismi, come funghi e protozoi. Sono state trovate prove di antichi biofilm in sedimenti di ambienti costieri marini risalenti a 3,5 miliardi di anni fa.

La placca dentale è un esempio familiare di biofilm ( FIG. 20.11 ) ed è costituita da diverse centinaia di tipi

differenti di batteri ed archea. Tali film si formano comunemente anche sulla superficie delle lenti a contatto e dei cateteri. Talvolta, si sviluppano su impianti chirurgici, come pacemaker e protesi articolari.

## I procarioti svolgono ruoli ecologici chiave

I batteri, in particolare gli attinomiceti e i mixobatteri, sono i più numerosi abitanti del suolo. Come descritto in precedenza in questo capitolo, i procarioti sono decompositori essenziali, chemioeterotrofi che degradano la materia organica morta e i prodotti di rifiuto, ed utilizzano i prodotti della decomposizione come fonte di energia. Mediante la degradazione dei composti organici, i procarioti riciclano molti nutrienti, inclusi l'azoto, l'ossigeno, il carbonio, il fosforo, lo zolfo ed altri elementi in tracce. (Una discussione sul ruolo dei batteri nei cicli biogeochimici, particolarmente quello dell'azoto, si trova nel Capitolo 55 ).

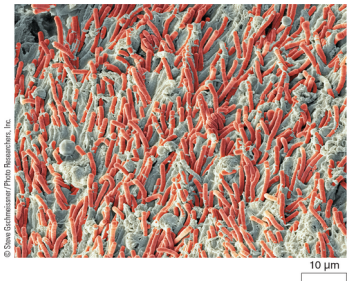



FIGURA 20-11 *Un biofilm familiare: placca dentale*
Fotografia MES colorata di una placca dentale che consiste di un film di batteri (in rosso) inseriti in una matrice di glicoproteine ( in blu ). I batteri nella placca possono produrre acidi che erodono lo smalto dei denti causando le carie dentali.

L'azoto viene continuamente rimosso dal terreno da parte delle piante, da altri processi naturali e dalle attività antropiche, come l'agricoltura. Poiché la crescita delle piante dipende dalla disponibilità di azoto in forma utilizzabile, esso deve essere continuamente aggiunto al terreno. Parecchi tipi di batteri, inclusi i cianobatteri, trasformano l'azoto atmosferico in forme che possono essere utilizzate dalle piante (vedi Capitolo 20 ). Alcuni crenarcheoti marini effettuano la nitrificazione e possono essere importanti nel ciclo dell'azoto negli oceani.

I rizobi, batteri mobili che vivono nel terreno, formano associazioni mutualistiche con le radici delle leguminose, una grande famiglia che comprende importanti piante alimentari, come fagioli, piselli e arachidi. Le cellule vegetali infettate formano noduli simili a tumori in cui i batteri risiedono e fissano l'azoto (vedi FIG. 55-9 ). I batteri fissano l'azoto per la pianta, mentre la pianta fornisce ai batteri i composti organici, inclusi gli zuccheri necessari per la respirazione cellulare. Poiché molti terreni sono poveri di azoto, le leguminose che hanno instaurato associazioni mutualistiche con rizobi hanno un deciso vantaggio sulle altre piante. Quando le leguminose muoiono e vengono decomposte, l'azoto fissato è rilasciato nel terreno, arricchendolo.

Molti procarioti, come i cianobatteri, svolgono la fotosintesi utilizzando l'acqua come fonte di elettroni e producendo ossigeno. Nel corso di questo processo, essi fissano enormi quantità di anidride carbonica nelle molecole organiche.
I microbiologi stanno solo cominciando a svelare i misteri dell'ecologia dei procarioti. Ad esempio, i proteobatteri appartenenti al clade SAR11 sono tra gli organismi che riscuotono più successo sulla Terra. Pur essendo tra gli organismi più numerosi dell'Oceano Atlantico, fino al 2002 non si è riusciti a farli crescere in coltura, per cui molto poco si conosce del loro ruolo ecologico. Esistono prove della loro importanza nei cicli oceanici del carbonio, dell'azoto e dello zolfo.

## I procarioti sono utilizzati in numerosi processi commerciali e nella tecnologia

Alcuni tipi di microrganismi producono *antibiotici*, composti che limitano la competizione per i nutrienti inibendo o uccidendo gli altri microrganismi. A partire dagli anni '50, gli antibiotici sono diventati un importante strumento clinico che ha trasformato il trattamento delle malattie infettive. Ad oggi, sono disponibili circa 100 antibiotici clinicamente utili, di cui ogni anno ne vengono prodotte tonnellate. Le industrie farmaceutiche ottengono la maggior parte degli antibiotici da tre gruppi di microrganismi: un ampio gruppo di batteri gram-positivi del terreno, detti *attinomiceti*; i batteri gram-positivi del genere *Bacillus*; le muffe, eucarioti appartenenti al regno Fungi.

Grazie alla loro elevata velocità di riproduzione, i batteri rappresentano "fabbriche" ideali per la produzione di biomolecole. Essi sono utilizzati, attraverso tecniche di ingegneria genetica (vedi Capitolo 15 ), per la produzione di alcuni vaccini, dell'ormone della crescita, dell'insulina e di molti altri composti clinicamente importanti per l'uomo. La maggior parte dell'insulina utilizzata nel trattamento del diabete proviene da batteri geneticamente ingegnerizzati. I ricercatori sono in procinto di sviluppare batteri geneticamente modificati da utilizzare per la produzione di numerosi altri prodotti utili in campo medico ed agricolo.

Molti cibi e bevande sono ottenuti con l'ausilio della fermentazione microbica. I batteri lattici vengono utilizzati nella produzione di panna acida, yogurt, sottaceti, olive e crauti. Molti altri tipi di batteri sono

utilizzati per la produzione di formaggi. I batteri sono coinvolti anche nella lavorazione di carni fermentate, come il salame, e nella produzione dell'aceto, della salsa di soia, del cioccolato e di certe vitamine del gruppo B (la vitamina B 12 e la riboflavina). I batteri sono usati anche nella produzione di acido citrico, un composto aggiunto ai dolciumi e alla maggior parte delle bevande analcoliche.
I batteri sono utilizzati nel trattamento delle acque nere e nello smaltimento dei rifiuti solidi. Essi sono anche usati nel biotrattamento , un processo di risanamento delle aree contaminate attraverso l'esposizione a microrganismi capaci di demolire le sostanze tossiche, producendo metaboliti innocui come l'anidride carbonica e i cloruri ( FIG. 20-12 ). Ad oggi, più di 1000 specie tra batteri e funghi sono state utilizzate per bonificare numerose aree inquinate. Per esempio, batteri ed altri microrganismi vengono utilizzati quando si verificano fuoriuscite di petrolio per ossidare il petrolio in anidride carbonica. Microrganismi vengono anche utilizzati nel trattamento dei liquami per trasformare gli scarti in concime.
Anche gli archeobatteri hanno assunto una certa importanza economica. Ad esempio, alcuni dei loro enzimi sono stati aggiunti a detergenti industriali e di lavanderia per aumentarne l'efficacia a valori più elevati di temperatura e di pH. Un altro enzima è invece risultato utile all'industria alimentare per convertire l'amido del granturco in destrine.

Paul Rapson/Science Photo Library

FIGURA 20-12 *Biotrattamento*
Alcuni batteri si nutrono di petrolio o di altri prodotti di scarto che contaminano il suolo convertendo gli idrocarburi in anidride carbonica e acqua. Fotografia effettuata nei pressi di una raffineria di petrolio.

**Verifica**
- In che modo i batteri stabiliscono relazioni con altri organismi?
- Qual è la composizione del biofilm?
- Perché i procarioti sono ecologicamente importanti?
- Che cos'è il biotrattamento?

## 20.6 BATTERI E MALATTIA

### OBIETTIVO DI APPRENDIMENTO

12. Para Descrivere i ruoli svolti da Louis Pasteur e Robert Koch nella comprensione delle malattie infettive; elencare i postulati di Koch.
13. Identificare adattamenti che hanno contribuito al successo dei patogeni.

Alcune specie di procarioti si sono evolute insieme agli eucarioti e sono con essi interdipendenti. Tutte le piante e gli animali ospitano una popolazione di microrganismi, considerati il normale microbiota (o microflora) — cioè innocui batteri simbionti. Infatti, il numero di batteri normalmente presenti nel corpo umano (circa 700.000 miliardi di cellule) supera il numero delle stesse cellule umane (circa 70.000 miliardi di cellule). La presenza di alcune di queste popolazioni batteriche ostacola la proliferazione di microrganismi dannosi (inclusi altri batteri).

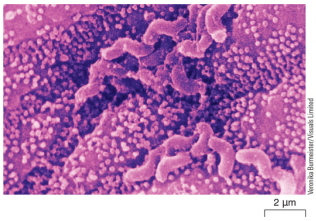
Una piccola percentuale di specie batteriche sono importanti patogeni di piante e animali. Alcuni dei normali batteri sono patogeni opportunisti, che causano malattie solo in certe condizioni. Per esempio, se il sistema immunitario è compromesso, i batteri opportunisti possono aumentare di numero e causare malattie. Alcune importanti malattie batteriche e i patogeni che le causano sono elencati nella Capitolo 20 . Nessun archea è stato dimostrato essere causa di malattia.

### Numerosi scienziati hanno contribuito alla comprensione delle malattie infettive

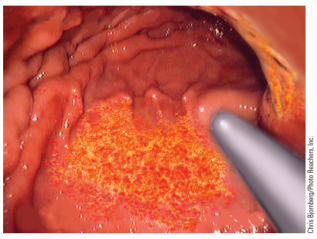
L'idea che alcuni agenti non noti fossero la causa di malattie è stata a lungo dibattuta prima che Leeuwenhoek, nel XVII secolo, scoprisse i microrganismi con il suo microscopio. Tuttavia, solo molto più tardi i ricercatori svilupparono gli strumenti e i metodi necessari per correlare i batteri con le malattie. Alla fine del diciannovesimo secolo, parecchi medici, microbiologi e chimici, indipendentemente, posero le fondamenta della microbiologia. Un chimico francese, Louis Pasteur, confutò l'idea prevalente della generazione spontanea, dimostrando che la sterilizzazione preveniva la crescita batterica. Pasteur, inoltre, mise a punto il vaccino contro la rabbia, dimostrando che le persone possono essere stimolate a sviluppare un'immunità contro le malattie.

Il fisico tedesco Robert Koch fu il primo a dimostrare chiaramente che i batteri sono causa di malattie infettive. Nel 1876, provò che il *Bacillus anthracis* era responsabile dell'antrace. Utilizzando il microscopio, egli osservò i batteri nel sangue e nella milza di pecore morte. I topi inoculati con il sangue delle pecore infettate mostrarono nel loro sangue la presenza di Bacillus anthracis. Inoltre, coltivò i batteri e dimostrò che nei topi inoculati con essi si sviluppava l'antrace.

Koch propose una serie di linee guida, oggi note come postulati di Koch , che sono ancora utilizzate per dimostrare che un particolare patogeno causa i sintomi specifici di una malattia: (1) il patogeno deve essere presente in tutti gli individui con quella malattia; (2) un campione di quel microrganismo, prelevato dall'individuo infetto, deve poter crescere in coltura; (3) quando un campione di una coltura pura è iniettato in un individuo sano, causa la stessa malattia; (4) il microrganismo può essere recuperato dall'individuo infettato sperimentalmente.




(a) Immagine MES di *Helicobacter pylori* adeso al rivestimento epiteliale dello stomaco.




(b) Ulcera peptica.

FIGURA 20-13 *Helicobacter pylori,* il batterio che causa le ulcere peptiche

## Numerosi adattamenti contribuiscono al successo dei patogeni

I patogeni possono entrare nel corpo con il cibo, con la polvere, con goccioline d'acqua o attraverso lesioni della pelle. Molte malattie sono trasmesse dagli insetti o attraverso il morso degli animali. Per provocare una malattia, un patogeno deve aderire ad uno specifico tipo di cellula, moltiplicarsi e produrre sostanze tossiche. L'adesione e la moltiplicazione possono avvenire solo quando il patogeno compete con successo con i normali batteri residenti e supera le difese dell'ospite contro l'invasione batterica.

L' Helicobacter pylori , la causa più comune di ulcere peptiche (ulcere dello stomaco e del duodeno), è un patogeno di grandissimo successo ( FIG. 20-13 ). È anche associato alla gastrite cronica (infiammazione dello stomaco) e al cancro dello stomaco (il secondo tipo più comune di cancro nel mondo). Si stima che l' Helicobacter pylori viva nel tratto intestinale del 40% degli adulti nei paesi sviluppati e dell'80% degli adulti nei paesi in via di sviluppo. Tra i suoi numerosi adattamenti, c'è la sua capacità di produrre intorno a sé uno schermo alcalino che lo protegge dagli acidi dello stomaco. Un altro contributo al suo successo è dato dai potenti flagelli utilizzati per la propulsione del patogeno attraverso lo spesso strato di muco che riveste internamente lo stomaco.

I patogeni producono una varietà di sostanze atte ad aumentarne il successo. Alcuni batteri producono esotossine, potenti veleni secreti dalla cellula o liberati quando la cellula viene distrutta. La tossina, e non la presenza dei batteri stessi, è responsabile della malattia. Come già ricordato, la difterite è causata da un batterio gram-positivo (*Corynebacterium diphtheriae*), reso lisogenico da un fago. La tossina della difterite uccide le cellule e causa infiammazione.

| Malattia | Patogeno | Epidemiologia/Commenti |
|---|---|---|
| Antrace | *Bacillus anthracis* | Colpisce più comunemente gli animali domestici, come il bestiame. Può essere trasmesso all'uomo da animali o da prodotti di animali infetti. Le endospore possono sopravvivere nel suolo per molti anni. L'antrace non si trasmette da persona a persona. L'infezione può verificarsi in tre forme: cutanea, per inalazione e gastrointestinale. |
| Botulismo | *Clostridium botulinum* | Si contrae consumando alimenti che contengono l'endotossina o attraverso ferite infette. Il botulismo infantile è causato dall'ingestione di endospore. Causa paralisi muscolare e può determinare la morte per blocco respiratorio. |
| Clamidia | *Chlamydia trachomatis* | Una delle più frequenti malattie a trasmissione sessuale negli Stati Uniti. Circa il 75% delle donne infette ed il 50% degli uomini infetti sono asintomatici. Se non trattata, l'infezione si diffonde e danneggia gli organi riproduttivi; può portare all'infertilità. Questo patogeno può anche infettare gli occhi ed è responsabile di milioni di casi di cecità in tutto il mondo ogni anno. |
| Colera | *Vibrio cholerae* | Si contrae consumando alimenti o acqua contaminati dal batterio. È comune nelle zone con acque impure ed inadeguati trattamenti delle acque di scarico. In batterio infetta l'intestino e può causare una grave diarrea. La rapida perdita di liquidi può portare alla disidratazione e alla morte. |
| Difterite | *Corynebacterium diphtheriae* | Si trasmette da persona a persona attraverso stretti contatti respiratori e fisici. È endemica nei paesi in via di sviluppo. Negli Stati Uniti non è più comune dagli anni '20, quando si rese disponibile il vaccino. Il batterio infetta il muscolo cardiaco e le vie respiratorie. |
| Tifo epidemico | *Rickettsia prowazekii* | È trasmesso da pidocchi del corpo infetti. Dopo un periodo di incubazione di 8-12 giorni, si sviluppano i sintomi, che includono febbre, forte emicrania, dolori muscolari e brividi. Dopo diversi giorni, compare un'eruzione cutanea. Circa il 40% dei pazienti non trattati muore. |
| Gonorrea | *Neisseria gonorrhoeae* | Comune malattia a trasmissione sessuale. |
| Malattia di Hansen (lebbra) | *Mycobacterium leprae* | Si pensa che possa essere trasmessa da persona a persona attraverso le secrezioni nasali. Questa malattia ha provocato la morte di 2 milioni di persone in tutto il mondo. Tipicamente, colpisce la pelle, i nervi e le membrane mucose. |
| Malattia di Lyme | *Borrelia burgdoferi* | È trasmessa all'uomo dal morso di zecche infette. I sintomi includono eruzioni cutanee, emicrania, febbre ed affaticamento. Se non trattata, l'infezione può diffondersi alle articolazioni, al cuore ed al sistema nervoso. |
| Ulcera peptica | *Helicobacter pylori* | L'ulcera peptica è una lesione nel rivestimento interno dello stomaco o del duodeno (parte superiore dell'intestino tenue). |
| Pertosse | *Bordetella pertussis* | È altamente trasmissibile da persona a persona. Causa violenti spasmi di tosse. È disponibile la vaccinazione. |
| Peste | *Yersinia pestis* | È trasmessa all'uomo da roditori, scoiattoli e gatti selvatici attraverso pulci infette. Se non trattata, può portare alla morte. Ha ucciso milioni di persone in Europa durante il Medioevo. |
| Polmonite | *Streptococcus pneumoniae* | È trasmessa da persona a persona. Ceppi di *S. pneumoniae* sono resistenti ad uno o più antibiotici comunemente utilizzati per il trattamento di questa infezione. L'incidenza è diminuita in seguito all'introduzione di un vaccino. |
| Salmonellosi | *Salmonella* sp. | È trasmessa all'uomo da polli, uova o altri alimenti contaminati. È trasmessa anche attraverso le feci di animali infetti, come lucertole, tartarughe, pulcini, uccelli, cani e gatti. I sintomi includono febbre, diarrea e mal di stomaco. |
| Tetano | *Clostridium tetani* | I batteri penetrano nell'organismo attraverso una ferita cutanea. Colpisce il sistema nervoso; causa blocco mandibolare, rigidità del collo, difficoltà di deglutizione, febbre e spasmi muscolari. È disponibile la vaccinazione. |
| Diarrea del viaggiatore | *Escherichia coli* enterotossigenico è la causa più comune | Si contrae consumando alimenti o acqua contaminati. Colpisce dal 30% al 50% dei viaggiatori nelle aree ad alto rischio (Centro e Sud America, Africa, Medio Oriente e gran parte dell'Asia). |
| Sifilide | *Treponema pallidum* | È una malattia a trasmissione sessuale che si trasmette attraverso il contatto diretto con una piaga da sifilide. Se non trattata, arriva a danneggiare cervello, fegato, ossa e milza, e può portare alla morte. |
| Tubercolosi | *Mycobacterium tuberculosis* | È trasmessa da persona a persona attraverso l'inalazione di aria contenente il patogeno. I sintomi includono affaticamento, tosse, febbre e perdita di peso. Non è comune negli Stati Uniti. Tuttavia, una forma resistente a molti farmaci costituisce una minaccia crescente. |
| Febbre tifoide | *Salmonella typhi* | È trasmessa da persona a persona attraverso la contaminazione fecale di alimenti o acqua. Il rischio massimo è a carico dei viaggiatori nei paesi in via di sviluppo, ma è disponibile il vaccino. I sintomi includono febbre alta, emicrania ed inappetenza. Se non trattata, può portare alla morte. |

Il botulismo, un tipo di avvelenamento alimentare che può provocare paralisi e talvolta la morte, deriva dall'ingestione di cibo in scatola mal conservato. Il botulismo è causato da un'esotossina liberata dal *Clostridium botulinum*, un batterio sporigeno gram-positivo. Durante il processo di inscatolamento, il cibo deve essere riscaldato a sufficienza per uccidere qualsiasi spora temperaturaresistente presente. Se ciò non accade, le endospore possono germinare. La risultante popolazione batterica cresce e rilascia un'esotossina così potente che un grammo potrebbe uccidere un milione di persone! Come numerose esotossine, quella che provoca il botulismo può essere inattivata dal calore. (Il cibo deve essere riscaldato a 80°C per 10 minuti o bollito per 3 o 4 minuti).
La tossina botulinica, denominata commercialmente Botox, viene utilizzata in quantità estremamente piccole per il trattamento di diverse condizioni che determinano spasmi (contrazioni muscolari involontarie). Poiché la Botox è una neurotossina che agisce paralizzando i muscoli, può anche attenuare le rughe del viso causate dalla contrazione dei muscoli sottostanti; tuttavia, i suoi effetti durano soltanto da tre ad otto mesi.
Le endotossine non sono secrete dai patogeni, bensì sono componenti della parete cellulare dei batteri gram-negativi. Questi composti colpiscono l'ospite solo quando vengono liberati in seguito alla morte dei batteri. Le endotossine si legano ai macrofagi e li stimolano a liberare sostanze che causano la febbre e altri sintomi dell'infezione. Diversamente dalle esotossine, che causano sintomi specifici, tutte le endotossine sembrano scatenare sintomi sistemici. Le endotossine non vengono distrutte dal calore.

## Molti batteri sono diventati resistenti agli antibiotici

I batteri mutano frequentemente e si riproducono rapidamente. Molti antibiotici agiscono sulla sintesi proteica. Ad esempio, la streptomicina e gli antibiotici ad essa correlati bloccano l'inizio della traduzione. Le tetracicline impediscono il legame degli aminoaciltRNA al sito A del ribosoma.

La resistenza ai farmaci può risultare da un accumulo di mutazioni nel DNA plasmidico o cromosomico. I plasmidi che contengono geni per la resistenza agli antibiotici sono detti fattori R . Essi posseggono geni per la resistenza ad uno specifico farmaco e per la trasmissione della resistenza ad altri batteri. Alcuni fattori R contengono diversi geni per la resistenza agli antibiotici, ciascuno dei quali è specifico per un farmaco diverso.
Ceppi di *Staphylococcus aureaus* (SA) resistenti alla meticiclina, conosciuti come MRSA , o resistenti alla vacomicina ( VRSA ), sono stati direttamente collegati al trasferimento orizzontale di geni per l'antibiotico-resistenza mediata da plasmidi. Si è stimato che l'1% della popolazione sana degli Stati Uniti è portatrice di MRSA ( FIG. 20-14 ). Questi "superbatteri" possono causare l'infezione di soggetti con le difese immunitarie compromesse. Il Centro degli Stati Uniti per il Controllo delle Malattie ha calcolato che MRSA è responsabile di 90.000 infezioni gravi ogni anno che causano la morte di circa 17.000 pazienti.
Il principale fattore che contribuisce allo sviluppo della resistenza agli antibiotici è l'uso eccessivo di questi farmaci. In qualsiasi popolazione batterica, è verosimile che vi siano almeno alcuni batteri che sono geneticamente resistenti ad un determinato antibiotico. I batteri che non sono resistenti vengono uccisi dall'antibiotico, mentre i batteri resistenti sopravvivono, si moltiplicano e danno origine ad una popolazione resistente. Si noti che questo è un comune esempio di selezione naturale attuale.

FIGURA 20-14 *Fotografia MES a colori di uno Staphylococcus aureus resistente alla meticillina (MRSA).* Questo batterio mostra anche un'aumentata resistenza alla vancomicina.

Di recente, è stato descritto un altro tipo di resistenza ai farmaci, che spiega come mai alcune infezioni, ad esempio quelle del tratto urinario, sono difficili da curare. Quando E. coli infetta la vescica, il sistema immunitario mette in atto una potente difesa. I batteri resistono all'attacco formando biofilm (discussi in precedenza). Ogni biofilm è circondato da una matrice ricca di polisaccaridi e da uno schermo protettivo. I batteri all'interno del biofilm risultano resistenti sia agli antibiotici che alle difese dell'ospite. Si stima che i batteri che crescono in un biofilm siano fino a 1000 volte più resistenti agli antibiotici dei batteri dello stesso tipo che non hanno formato un biofilm. All'interno dei biofilm, l'espressione genica differenziale e le mutazioni portano alla formazione di colonie batteriche diversificate. La strategia del biofilm spiega anche alcuni altri tipi di infezioni croniche o ricorrenti. Un'alta percentuale delle infezioni che si contraggono negli ospedali è attribuibile a biofilm.

**Verifica**

- Quali importanti ruoli svolgono i procarioti negli ecosistemi?
- Perché i postulati di Koch sono essenziali?

## SOMMARIO: CONCENTRARSI SUGLI OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO

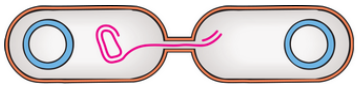
20.1

1. Descrivere la struttura e le forme comuni delle cellule procariotiche.
    - Le cellule procariotiche sono molto piccole e non posseggono organelli delimitati da membrana, come il nucleo e i mitocondri.
    - Le forme comuni delle cellule batteriche sono: sferica ( cocchi ); bastoncellare ( bacilli ); spiralata. I batteri a spirale includono gli spirilli , ad elica rigida, e le spirochete , ad elica flessibile.
2. Confrontare la parete cellulare dei batteri gram-positivi e gram-negativi.
    - La maggior parte dei batteri possiede pareti cellulari costituite da peptidoglicano . Le pareti dei batteri gram-positivi sono molto spesse e costituite principalmente da peptidoglicano. Le pareti dei batteri gram-negativi sono costituite da un sottile strato di peptidoglicano e da una membrana esterna somigliante ad una membrana plasmatica. Alcune specie di batteri producono una capsula o uno strato mucoso che circonda la parete cellulare.
    - Alcuni batteri possiedono appendici simili a capelli dette fimbrie . Anche i pili si estendono dalla superficie cellulare. Entrambi i tipi di appendici aiutano i batteri ad aderire tra loro oppure ad altre superfici, incluse le cellule che infettano.
3. Descrivere il movimento nei procarioti e la struttura del flagello batterico.
    - I flagelli batterici sono strutturalmente differenti da quelli eucariotici; ogni flagello è costituito da un corpo basale, un uncino ed un filamento, e produce un movimento rotatorio.

20.2

4. Descrivere la riproduzione asessuata nei procarioti e riassumere i tre meccanismi (trasformazione, coniugazione e trasduzione) che possono portare alla ricombinazione genetica.
    - Il materiale genetico di un procariote è costituito tipicamente da una molecola circolare di DNA e da uno o più plasmidi , frammenti circolari di DNA più piccoli.
    - I batteri si riproducono asessualmente per scissione binaria (la cellula si divide e forma due cellule figlie), per gemmazione (si forma una gemma che si separa dalla cellula madre) o per frammentazione (si formano pareti all'interno della cellula, che la dividono in tante cellule).
    - Nei batteri, il materiale genetico può essere scambiato tramite trasformazione, trasduzione o coniugazione. Nella trasformazione , una cellula batterica incorpora frammenti di DNA rilasciati da un'altra cellula. Nella trasduzione , un fago trasferisce il DNA batterico da una cellula all'altra. Nella coniugazione , un batterio donatore trasferisce DNA plasmidico ad un batterio ricevente.
5. Elencare fattori specifici che determinano la rapida evoluzione di batteri.
    - Tempi di riproduzione rapidi garantiscono che nuove mutazioni vengano trasmesse alle nuove generazioni. Il trasferimento genico orizzontale — per mezzo della trasformazione, della trasduzione e della coniugazione — è causa di una rapida evoluzione dei batteri.

20.3



6. Descrivere le modalità di nutrizione e cattura di energia e confrontare le richieste di ossigeno dei procarioti.
    - Molti batteri sono eterotrofi che ottengono energia e carbonio da altri organismi; alcuni sono autotrofi che sintetizzano le proprie molecole organiche a partire da composti semplici.
    - I chemioautotrofi ottengono energia da composti chimici, i fotoautotrofi ottengono l'energia dalla luce.
    - I fotoeterotrofi ottengono il carbonio da altri organismi, ma utilizzano la clorofilla ed altri pigmenti fotosintetici per catturare l'energia luminosa. La maggioranza dei batteri è costituita da chemioeterotrofi , molti dei quali sono decompositori a vita libera che ottengono sia carbonio che energia dalla materia organica morta.
    - La maggior parte dei batteri è aerobia , ovvero richiede ossigeno per la respirazione cellulare. Alcuni procarioti sono anaerobi facoltativi , che metabolizzano anaerobicamente quando necessario; altri sono anaerobi obbligati , che possono metabolizzare solo in condizioni anaerobie.
    - Alcuni batteri portano avanti la fissazione dell'azoto , cioè riducono l'azoto nell'atmosfera di ammoniaca. Altri batteri convertono l'ammoniaca in nitriti e nitrati, un processo chiamato nitrificazione .

20.4

7. Confrontare i tre domini: Bacteria, Archaea ed Eukarya.
    - I procarioti sono assegnati al dominio Bacteria e al dominio Archaea .
    - Diversamente da quelle dei batteri, le pareti cellulari degli archeobatteri non posseggono peptidoglicano. I meccanismi traduzionali degli archeobatteri somigliano molto di più a quelli degli eucarioti che non a quelli degli altri procarioti.
8. Fare una distinzione tra i due principali gruppi di archeobatteri ed identificare i tipi specifici di archea appartenenti a questi gruppi.
    - I Crenarchaeota comprendono prevalentemente termofili estremi , archea che possono vivere in ambienti estremamente caldi e talvolta acidi. Gli Euryarchaeota comprendono invece metanogeni, alofili estremi, ed alcuni termofili estremi. I metanogeni sono anaerobi obbligati che producono gas metano da composti semplici del carbonio. Gli alofili estremi vivono in ambienti con salinità elevatissime.
9. Descrivere i principali gruppi di batteri descritti in questo capitolo.
    - I principali gruppi di batteri includono i proteobatteri (gramnegativi), i cianobatteri (gram-negativi), i batteri gram-positivi, le clamidie (gram-negativi) e le spirochete (gram-negativi) (vedi TABELLA 20-4 ).

20.5

10. Discutere il ruolo ecologico dei procarioti.
    - Molti batteri sono simbionti di altri organismi. Il mutualismo è una relazione simbiotica in cui entrambi i partner traggono un beneficio. Nel commensalismo , un partner trae un beneficio, mentre l'altro non è né danneggiato né avvantaggiato. Nel parassitismo , il parassita trae un beneficio, mentre l'ospite è danneggiato. I batteri patogeni causano malattia, ma non sono considerati parassiti obbligati. Molti batteri formano biofilm , comunità di batteri ed altri microrganismi.
    - I procarioti giocano un ruolo ecologico fondamentale come decompositori e sono importanti nel riciclaggio dei nutrienti. Alcuni procarioti svolgono la fotosintesi.
11. Descrivere alcuni dei più importanti ruoli svolti dai procarioti nel commercio e nella tecnologia.
    - Alcuni batteri producono antibiotici. Abbiamo sviluppato la tecnologia per sfruttare alcuni batteri e produrre vaccini, insulina, ed altre importante sostanze. Utilizziamo i batteri per la produzione di molti alimenti compreso formaggio, yogurt, aceto, e cioccolato. Usiamo microrganismi anche per il trattamento dei liquami e per biotrattamento.

20.6

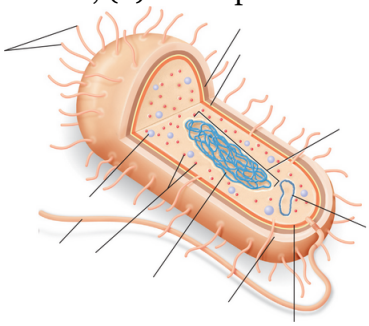
12. Descrivere il ruolo svolto da Louis Pasteur e Robert Koch nella comprensione delle malattie infettive; elencare i postulati di Koch.
    - Louis Pasteur ha dimostrato che la sterilizzazione previene la crescita batterica. I postulati di Koch sono una serie di linee guida sviluppate da Robert Koch per dimostrare che uno specifico patogeno provoca i sintomi della malattia specifica: (1) l'agente patogeno deve essere presente in ogni individuo con la malattia, (2) un campione del microrganismo preso dall'ospite malato può essere cresciuto in coltura pura, (3) un campione di coltura pura causa la malattia stessa quando iniettato in un ospite sano, e (4) il microrganismo può essere recuperato dall'ospite infettato sperimentalmente.
13. Identificare gli adattamenti che hanno contribuito al successo dei patogeni.
    - Alcuni batteri patogeni producono potenti veleni, chiamati esotossine ; altri producono endotossine , componenti velenosi delle loro pareti cellulari che vengono rilasciati nel momento in cui i batteri muoiono. Molti batteri sono diventati resistenti agli antibiotici. I plasmidi che contengono geni per la resistenza agli antibiotici sono detti fattori R . Vedi la TABELLA 20-5 per una descrizione di alcuni batteri patogeni.

## AUTOVERIFICHE

1. Il peptidoglicano è un composto chimico presente nelle pareti cellulari: (a) della maggior parte dei viroidi; (b) della maggior parte degli archeobatteri; (c) di tutti i procarioti; (d) della maggior parte dei batteri; (e) della maggior parte degli eucarioti.
2. I flagelli batterici: (a) sono omologhi a quelli degli eucarioti; (b) esibiscono un movimento rotatorio; (c) sono costituiti da un corpo basale e da nove coppie di microtubuli; (d) sono importanti nella trasduzione; (e) sono caratteristici dei batteri gram-positivi.
3. Le endospore: (a) sono prodotte da alcuni virus; (b) sono cellule estremamente durature; (c) sono comparabili alle spore riproduttive dei funghi e delle piante; (d) causano febbre ed altri sintomi nell'ospite; (e) sono estremamente vulnerabili all'infezione da parte di fagi.
4. Nella coniugazione: (a) due cellule batteriche di polarità di accoppiamento diverse si avvicinano e il

materiale genetico viene trasferito da una all'altra; (b) una cellula batterica sviluppa una gemma che si accresce e infine si separa dalla cellula madre; (c) frammenti di DNA liberati da una cellula distrutta vengono incorporati da un'altra cellula batterica; (d) un fago trasporta i geni batterici da una cellula batterica all'altra; (e) le pareti si accrescono nella cellula, che infine si divide in diverse nuove cellule.

5. La maggior parte dei batteri eterotrofiè costituita da: (a) chemioeterotrofi dotati di vita indipendente; (b) fotoautotrofi; (c) chemioautotrofi; (d) anaerobi facoltativi; (e) anaerobi obbligati.
6. I batteri autotrofi: (a) non richiedono l'ossigeno atmosferico per la respirazione cellulare; (b) fabbricano le loro molecole organiche da materiali semplici; (c) devono ottenere composti organici da altri organismi; (d) si nutrono di organismi morti; (e) producono endospore in presenza di livelli di ossigeno troppo bassi per una crescita attiva.
7. I batteri che crescono vigorosamente nelle ferite aperte è verosimile che siano: (a) chemioeterotrofi; (b) fotoautotrofi; (c) chemioautotrofi ; (d) endospore; (e) anaerobi obbligati.
8. Quali dei seguenti organismi non appartengono al dominio Archaea? (a) Batteri che producono metano da anidride carbonica e idrogeno; (b) termofili; (c) alofili; (d) batteriofagi; (e) batteri con parete priva di peptidoglicano.
9. I batteri rizobi: (a) sono utilizzati nella produzione di yogurt, (b) producono antibiotici; c) causano ulcerazioni peptiche; (d) sono patogeni che causano la sifilide; (e) stabiliscano una relazione mutualistica con le radici dei legumi per fissare azoto.
10. Robert Koch: (a) ha proposto delle linee guida che definivano per ogni patogeno specifici sintomi; (b) ha scoperto l'Helicobacter; (c) ha scoperto i microrganismi alla fine del 1600; (d) ha scoperto la generazione spontanea; (e) ha dimostrato che nell'uomo è possibile stimolare le difese immunitarie alle malattie.
11. A quale gruppo appartiene il batterio gram-positivo anaerobico che causa il botulismo? (a) Clostridi; (b) attinomiceti; (c) enterobatt eri; (d) spirochete; (e) streptococchi.
12. Etichettate il diagramma utilizzando la Figura 20-2 per controllare le risposte.



## PENSIERO CRITICO

1. Immaginate di aver scoperto un nuovo microrganismo. In seguito ad accurati studi, stabilite che debba essere classificato nel dominio Archaea. Quali caratteristiche vi hanno indotto a classificarlo così?
2. Come potrebbe essere alterata la vita sulla Terra se i procarioti venissero eliminati?
3. SCIENZA, TECNOLOGIA E SOCIETÀ. Il Centro per il Controllo del Malattie (CDC) considera l'antibiotico-resistenza uno dei problemi sanitari di maggior rilievo. Quali fattori contribuiscono a questo problema?
4. COLLEGAMENTI EVOLUTIVI. In che modo l'uso di antibiotici impone una pressione selettiva sui batteri?

EdiSES

€ 30,00

ISBN 978–88–7959–741–8

9 788879 597418