Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
121° (2003), Vol. XXVII, t. I, pp. 7-22

CECILIA SACCONE *

La Genomica comparata: una sfida della moderna Biologia **

Sommario - I risultati della Moderna Biologia, in particolare della Genomica, hanno confermato che la cellula eucariotica, è una chimera formata da elementi provenienti da organismi procarioti diversi. Essa possiede ancora oggi più di un sistema genetico; oltre al genoma principale racchiuso nel nucleo, un genoma mitocondriale e, negli organismi che posseggono cloroplasti, anche un genoma cloroplastico.

I sistemi genetici degli organelli, mitocondriale e cloroplastico, pur con un esiguo patrimonio di informazioni, persistono nell'evoluzione perché partecipano a funzioni cellulari di importanza fondamentale che vanno al di là delle loro funzioni specifiche.

Nei metazoi il genoma mitocondriale, estremamente ridotto, si presta a studi di base e ad applicazioni pratiche. In particolare, essendo stato completamente sequenziato in molti organismi può essere usato come sistema modello per gli studi di genomica comparata ed evoluzione molecolare nell'era post genomica nella quale siamo entrati.

Comunque è con il sequenziamento dei genomi nucleari che la Biologia Molecolare ha iniziato un'affascinante sfida per la conoscenza dei processi di base della materia vivente e soprattutto per le sue applicazioni nei più svariati settori, dalla Salute pubblica, all'Agroalimentare, Ambiente e altri.

Lo studio è basato essenzialmente sulla Genomica Comparata, una chiave per comprendere l'unicità della materia vivente insieme alla sua straordinaria diversità.

* Socio dell'Accademia. Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Bari e Sezione territoriale di Bari, Istituto Tecnologie Biomediche, Via Orabona 4, CNR, 70126 Bari, saccone@area.ba.cnr.it

** Prolusione per l'inaugurazione del 221° Anno Accademico, Roma 16 aprile 2003. «Salone Borromini» Biblioteca Vallicelliana, Piazza della Chiesa Nuova 18, Roma.

INTRODUZIONE

Circa 20 anni dopo la scoperta della «doppia elica del DNA», di cui quest'anno celebriamo il cinquantenario, con la possibilità di sequenziare rapidamente gli acidi nucleici, inizia l'era detta Genomica. Il sequenziamento permette di conoscere la struttura primaria degli acidi nucleici, in altri termini come le unità fondamentali di essi, o nucleotidi, si susseguono nelle molecole.

Genomi completi, piccoli, medi e grandi, sono così stati sequenziati sia in organismi semplici che estremamente complessi, tra cui l'uomo.

- EUCARIOTI – 19
- PROCARIOTI – 104
  - archea 15
  - batteri 89
- ORGANELLI – 397

Tab. I – Genomi completamente sequenziati.

Come mostrato in Tabella I, conosciamo oggi la struttura primaria di un centinaio di genomi batterici, di alcune centinaia di genomi di organelli, cloroplasti e mitocondri e di una decina di genomi nucleari di eucarioti (altri sono ancora in completamento).

L'era Genomica è ancora agli albori e subito viene annunciato l'inizio di un'era detta Post-Genomica che stiamo attualmente vivendo nei suoi molteplici aspetti.

La Post-Genomica nasce dalla esigenza di usare approcci multidisciplinari di natura diversa per poter gestire, analizzare e quindi utilizzare l'enorme mole di dati creata dalla disponibilità di un gran numero di sequenze con relative informazioni circa la loro struttura, funzione, espressione, regolazione ed evoluzione.

Nasce così la Bioinformatica che si propone di conservare, annotare ed analizzare l'informazione genetica, dapprima con le Banche Dati dette «primarie» di DNA e Proteine e quindi con Banche Dati sempre più specializzate, con sofisticati algoritmi e software per l'analisi dei dati e altri strumenti informatici. Oggi la Bioinformatica viene considerata, insieme ad altri approcci matematico-statistici parte della Biologia Computazionale, una nuova branca «in silico» della Biologia che sta producendo nuove figure professionali altamente specializzate (Fig. 1).

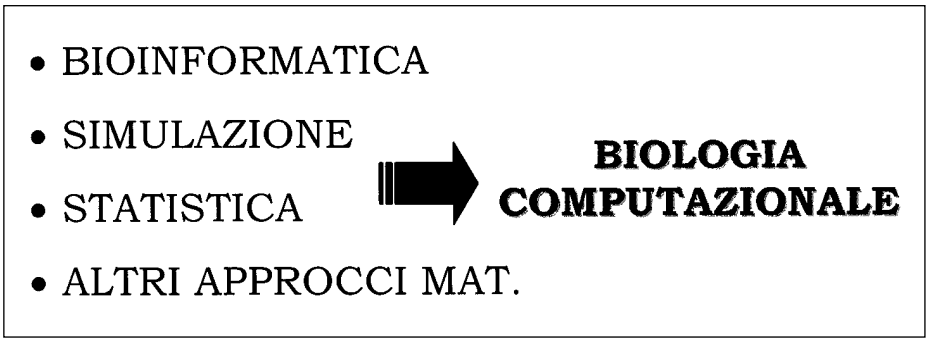

Fig. 1 – Biologia Computazionale.

Insieme all'approccio «in silico» è necessario introdurre per la validazione, l'approccio classico, «in vivo» e «in vitro» della Biologia sperimentale. Solo così è possibile ottenere nuove ed importanti informazioni. Grazie a tale strategia «globale» comincia ad essere possibile studiare i meccanismi fondamentali della materia vivente come «Systems Biology» in cui i singoli componenti del sistema possono essere modificati, perturbati, integrati per una risposta mirata (Fig. 2).

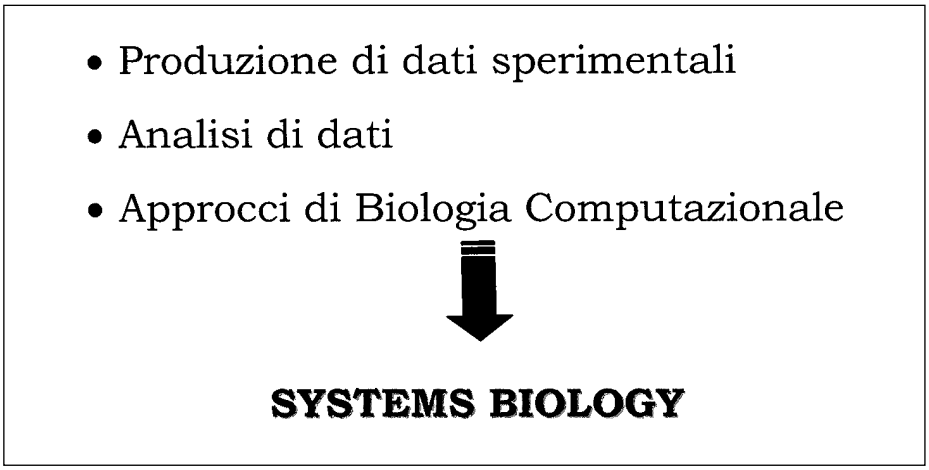

Fig. 2 – Biologia dei sistemi.

Per tale approccio ambizioso abbiamo bisogno della Genomica Comparata. La materia vivente è caratterizzata da un alto grado di unicità ma anche di straordinaria diversità che appunto si manifesta nelle molteplici forme di vita e nelle molteplici specie di organismi che popolano la nostra terra.

Paragonare per comprendere. È noto che, a parte alcune sorprendenti intuizioni, il pensiero umano generalmente procede attraverso processi di «analogia» ed «omologia». La disponibilità di genomi diversi, con componenti simili, ma non eguali, con sistemi di regolazione specifici, può gettare molta luce sulla fisiologia e quindi patologia dei meccanismi biologici.

Paragonare per applicare. È chiaro che vogliamo conoscere per procedere ad applicazioni utili all'Uomo. Anche sotto questo aspetto la comparazione è indispensabile. In particolare è indispensabile conoscere i limiti dell'uso di animali «modello».

Ma come paragonare Genomi completi, oggetti che sono così differenti tra loro?

I genomi sono formati da regioni codificanti e regioni non codificanti.

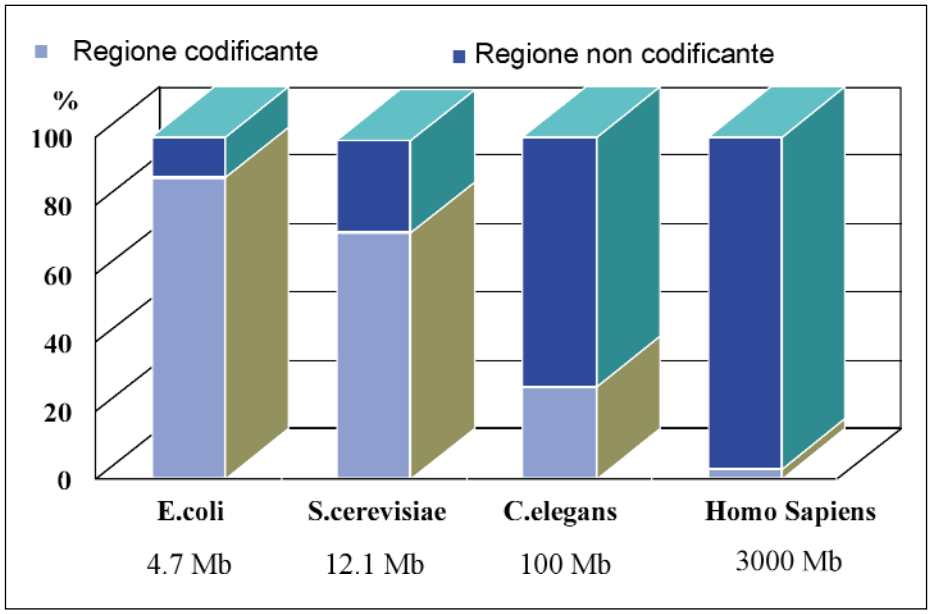

Fig. 3 – Regioni codificanti e non codificanti in alcuni genomi completamente sequenziati.
E.coli = Eschezichia Coli (Batterio) S.cerevisiae = Saccharonyces Cerevisiae (Lievito)
C.elegans = Caenorhabditis elegans (Nematode)

Nella Figura 3 viene mostrata la diversa proporzione di regione codificante e non codificante presente in alcuni genomi appartenenti ad organismi diversi. È chiaro che i genomi più complessi hanno un sempre maggiore grado di ridondanza che riguarda soprattutto la parte non codificante il cui significato è ancora oggetto di discussione. Infatti vi sono due opposte teorie per quanto riguarda il materiale genetico presente in eccesso. La prima teoria conferisce ad esso un ruolo importante nel cosiddetto «fenotipo». La seconda teoria considera tale materiale essenzialmente «inutile».

Se la sfida della Genomica Comparata è aperta, ci chiediamo: come procedere?

La materia vivente è assistita, nella sua sopravvivenza, da una grande, fondamentale proprietà: l'evoluzione.

Solo attraverso l'evoluzione e la comprensione dei suoi meccanismi potremo progredire nella conoscenza e quindi nell'applicazione.

In questa presentazione vi parlerò dei miei studi di evoluzione molecolare compiuti su genomi completi [Saccone, C. and Pesole, G., 2003], iniziando da un genoma piccolo al quale ho dedicato molta parte del mio sforzo lavorativo ed intellettuale. Il genoma è quello mitocondriale [Saccone, C., 1994], indispensabile per la sopravvivenza delle cellule eucariotiche capaci di respirare e quindi anche di quelle della specie *Homo sapiens sapiens*, a cui tutti noi apparteniamo. Ritengo sia molto interessante considerare questo piccolo genoma da un lato come sistema modello per lo studio di ben più complesse entità, e dall'altro come macromolecola capace di condizionare la vita stessa, la sopravvivenza e l'evoluzione degli eucarioti viventi. Successivamente accennerò brevemente ad alcune proprietà e all'evoluzione di una parte del genoma nucleare, la parte codificante e ridondante contenente le cosiddette famiglie geniche.

Origine dei mitocondri

Tutti gli organismi viventi si possono classificare in due grandi gruppi: procarioti ed eucarioti. I primi hanno una struttura semplice, con il materiale genetico, o DNA, non ricoperto da proteine e immerso nel citoplasma; i secondi hanno invece una struttura compartimentalizzata. Il DNA è racchiuso nel nucleo, mentre il citoplasma contiene strutture membranose, più o meno sviluppate ed organelli, tra cui appunto i mitocondri. Questi ultimi devono il loro nome a colui che per la prima volta li osservò al microscopio ottico dove appunto apparivano come «corpuscoli membranosi» (dal greco *mitos condrion*). Tra gli anni 50 e 60 i mitocondri vennero isolati dalle cellule e si poté così delucidare le loro funzioni in dettaglio.

Fu scoperto che la principale funzione di questi organelli è la produzione di energia attraverso processi ossidativi; inoltre essi sono sede anche di molte altre importanti vie metaboliche cellulari (Fig. 4). Nella membrana interna del mitocondrio sono presenti complessi enzimatici per il trasporto di H^+ ed elettroni all'ossigeno, con formazione di acqua e contemporanea formazione di molecole di ATP, accumulatore energetico cellulare. Nei procarioti (o batteri) le stesse funzioni si svolgono a livello della membrana della cellula.

Dallo studio della struttura, funzione, morfologia, proprietà biochimiche e fisiologiche, dei mitocondri e del loro materiale genetico, fu subito suggerita un'ipotesi sulla loro origine, esplicitata nella teoria endosimbiontica: i mitocondri, come i cloroplasti, discendono da eubatteri. Questa teoria è stata recentemente modificata rispetto alla sua formulazione originaria.

La versione originaria, detta ipotesi seriale e avanzata da Margulis nel 1971, postulava un'origine della cellula eucariotica in due fasi (Fig. 5a): dapprima

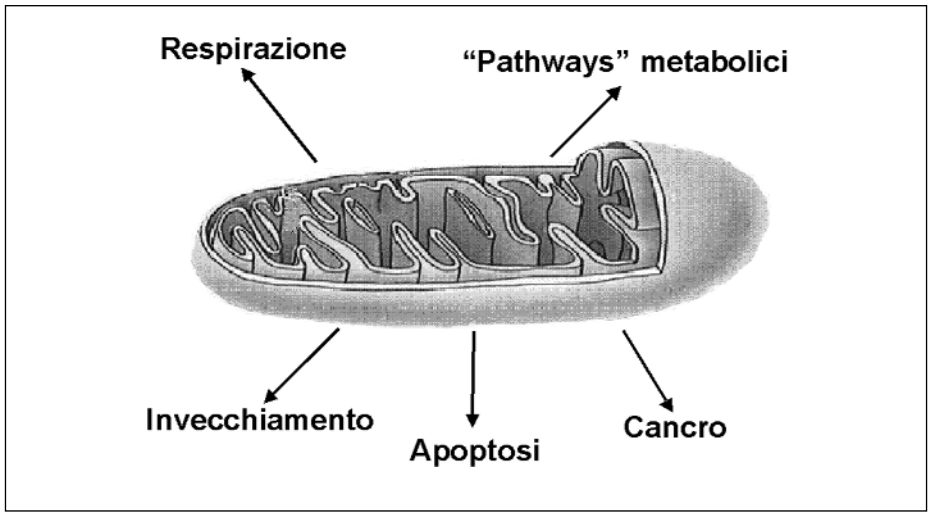

Fig. 4 – Il mitocondrio: struttura e funzioni.

avrebbe avuto origine il nucleo da un archeobatterio, poi sarebbe cominciato il rapporto simbiontico con il progenitore eubatterico del moderno mitocondrio. Secondo tale teoria gli archeozoi, eucarioti privi di mitocondri, sarebbero alla base dell'albero degli eucarioti in quanto precedenti alla formazione degli organelli.

La nuova versione, detta ipotesi dell'idrogeno [Martin, W. and Muller, M., 1998; Muller, M. and Martin, W., 1999], postula la creazione simultanea del nucleo eucariotico e degli organelli, tramite fusione di un archeobatterio metanogenico richiedente idrogeno (ospite) ed un alfa-protobatterio (simbionte) capace di produrre idrogeno (Fig. 5b). Tale teoria si basa su una serie di osservazioni, in particolare:

a) la natura chimerica del nucleo eucariotico, nel quale alcuni geni derivano chiaramente dagli archeobatteri, mentre altri dagli eubatteri;

b) la presenza di geni simili a quelli mitocondriali nel genoma nucleare degli archeozoi (eucarioti privi di mitocondri), che suggerisce una perdita, in una fase successiva, dei mitocondri da parte di questi organismi;

c) i risultati dell'analisi filogenetica che non pongono tutti gli archeozoi alla base dell'albero (ad es. *Entamoeba histolica*);

d) la discendenza comune degli idrogenosomi e dei mitocondri, possedendo i primi un genoma capace di codificare proteine simili a quelle mitocondriali.

Secondo entrambe le versioni della teoria, il proto-eubatterio (endosimbionte putativo) avrebbe ceduto gran parte del materiale genetico al nucleo lasciandone solo una piccola frazione compartimentalizzata negli organelli. Tale sistema si sarebbe poi evoluto in modi diversi portando alla situazione attuale in cui troviamo una grande varietà di strutture genomiche presenti nelle varie linee evolutive. Non

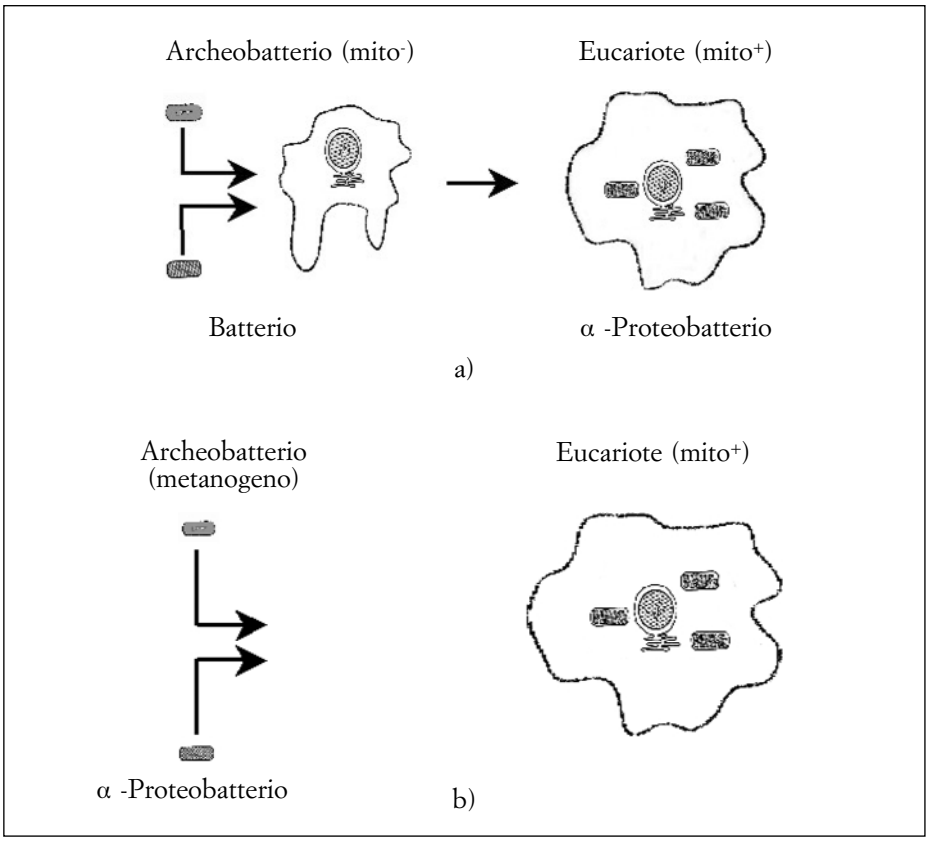

Fig. 5 – Ipotesi sull'origine endosimbiontica del mitocondrio: a) ipotesi seriale in due fasi, b) ipotesi dell'idrogeno.

solo la dimensione del genoma sarebbe divenuta variabile negli organismi, ma in alcune linee evolutive si sarebbero generate caratteristiche del sistema genetico veramente peculiari, quali la deviazione dal codice genetico ed il processo di editing degli mRNA.

Nonostante i diversi percorsi seguiti dal trasferimento genico, il gruppo di geni mantenuti nell'organello appare più o meno costante. In sintesi possiamo affermare che i mitocondri possiedono un genoma in genere molto compatto che codifica due tipi di prodotti:

a) alcune componenti del macchinario di sintesi proteica, in particolare i tRNA, gli rRNA e, in alcuni organismi, anche alcuni geni per proteine ribosomiali;

b) geni per poche proteine, che, insieme ai prodotti codificati dal nucleo, formano i complessi macromolecolari coinvolti nelle più importanti funzioni dell'organello, quali la fosforilazione ossidativa [Saccone, C., 1999; Saccone, C., *et al.*, 1999].

RUOLO DEI MITOCONDRI NELL'EVOLUZIONE DELLA CELLULA EUCARIOTICA

Sebbene l'origine batterica dei mitocondri sia stata ampiamente accettata, sin dalla scoperta del sistema genetico mitocondriale nel 1965, i biologi si sono chiesti perché la cellula eucariotica debba possedere più di un genoma e perché il genoma dell'organello contenga informazioni per un numero così esiguo di prodotti, certamente inferiore a quelli richiesti per la sua stessa replicazione ed espressione. Le scoperte recenti stanno dimostrando che il sistema genetico del mitocondrio ha un ruolo di primo piano per la cellula eucariotica, ben oltre l'espletamento della fosforillazione ossidativa. Questo spiegherebbe l'enigma su esposto. Pertanto lo studio dell'evoluzione e della struttura dei genomi mitocondriali assume un interesse sempre crescente.

La perdita progressiva di geni dall'eubatterio primitivo è fortemente giustificata da un principio fondamentale di genetica delle popolazioni, il cosiddetto «Muller ratchet» («l'ingranaggio di Muller») secondo il quale in genomi asessuati, come quelli degli organelli, vi sarebbe un accumulo molto rapido di mutazioni deleterie e subletali che non possono essere rimosse tramite ricombinazione. Inoltre il DNA dei plastidi e dei mitocondri è esposto a specie reattive dell'ossigeno (ROS) altamente mutagene divenendo così propenso a mutazioni molto frequenti che vanno a rafforzare il meccanismo del «Muller ratchet». Secondo tali proprietà, ci aspetteremmo l'estinzione del sistema genetico mitocondriale negli eucarioti. Quindi, perché il genoma mitocondriale continua invece ad esistere nella gran parte degli organismi eucariotici attuali? Diverse ipotesi sono state avanzate, tra le quali la più razionale è che lo stesso potenziale redox dell'organello debba regolare l'espressione dei geni coinvolti nel trasferimento degli elettroni. Inoltre, a causa della tossicità di alcune componenti mitocondriali, è necessario confinare tali prodotti nei compartimenti cellulari dove essi vengono sintetizzati.

Quale che sia la ragione, da un punto di vista evolutivo, il sistema genetico dell'organello è chiaramente soggetto ad una forte pressione selettiva e necessita, per la sua sopravvivenza, di strategie per rallentare o fermare il «Muller ratchet».

L'epistasi sinergica è stata suggerita come possibile meccanismo per ritardare il «Muller ratchet» nei genomi asessuati. Tale teoria suggerisce che le mutazioni deleterie consecutive, accumulate nel genoma, hanno un effetto sempre più nocivo per la vita dell'organismo sino ad un punto in cui le probabilità di fissazione della mutazione diventano nulle poiché non sarebbero compatibili con la sua sopravvivenza. Naturalmente poiché questo principio non è valido per le mutazioni neutre, l'evoluzione molecolare non si arresta, anche se l'ipotesi dell'epistasi predice il progressivo rallentamento della velocità di evoluzione. Questo non è tuttavia quanto avviene nei mitocondri animali [Moran, N.A., 1996; Allen, J.F. and Raven, J.A., 1996; Race, H.L., *et al.*, 1999; Kondrashov, A., 1994].

Un altro meccanismo atto a contrastare il «Muller ratchet» è l'introduzione di un «collo di bottiglia», ossia una riduzione del numero di mitocondri e, quindi, di

molecole di DNA mitocondriale che passano nella linea germinale. Questo meccanismo sarebbe sicuramente attivo nell'uomo ed in altri metazoi in cui è stato dimostrato che, a causa del collo di bottiglia, durante la maturazione degli oociti si riesce a riportare una popolazione di mitocondri avente diverso contenuto genetico (eteroplasmia) ad una condizione di omogeneità (omoplasmia). Molti autori hanno suggerito che tale collo di bottiglia è essenziale per mantenere la qualità del sistema genetico mitocondriale durante l'evoluzione. Bergstrom e Pritchard hanno sviluppato un modello matematico per esplorare come una variazione nell'entità delle costrizioni imposte dal collo di bottiglia influisca sull'evoluzione del mitocondrio sia a breve che a lungo termine. Tale modello ha evidenziato che il collo di bottiglia porta a prestazioni migliori del mitocondrio e, a lungo termine, agisce nel senso del rallentamento del «Muller ratchet» [Bergstrom, C.T. and Pritchard, J., 1998; Jansen, R.P. and de Boer, K., 1998; Morita, Y. and Tilly, J.L., 1999].

In molte specie animali, in particolare negli uccelli e nei mammiferi, è in atto un meccanismo particolare: l'atresia delle cellule germinali femminili. Questo meccanismo, collegato al collo di bottiglia genetico dei mitocondri, riduce la popolazione delle cellule germinali femminili ad una piccola porzione rispetto a quella presente nella vita fetale (nell'uomo, riduzione da 5 milioni di cellule alla 20ª settimana di gestazione ad 1 milione nel primo periodo prenatale). Tale processo, infatti, è stato recentemente interpretato come atto a prevenire il «Muller ratchet» e a preservare i mitocondri di qualità migliore necessari per la sopravvivenza della discendenza.

Alla fine del 1999, Krakauer e Mira hanno dimostrato che vi è una significante correlazione positiva fra il numero di individui generati e quello di mitocondri presenti nelle cellule germinali; le specie che hanno pochi discendenti forniranno meno mitocondri agli oociti. In questi casi, inoltre, vi è una correlazione negativa fra il numero di mitocondri e la porzione di follicoli che subiscono atresia. Tale fenomeno può essere spiegato considerando che per le specie con figliate esigue è fondamentale che ciascun individuo possa contare su mitocondri di qualità elevata dal momento che questi rappresenta una parte considerevole nello sforzo riproduttivo del genitore. Perez *et al.* hanno verificato l'ipotesi di Krakauer e Mira tramite la microiniezione di un piccolo numero di mitocondri negli oociti di topo; hanno osservato che l'iniezione di mitocondri purificati sopprime l'attivazione dell'apoptosi al 50%. Inoltre hanno osservato che la frequenza delle delezioni nel DNA mitocondriale degli embrioni umani è inferiore a quella degli oociti, il che suggerisce la selezione di oociti di qualità superiore per la fecondazione. I loro esperimenti sembrano concordare con la teoria di Krakauer e Mira, ciò nonostante gli autori argomentano che vi sono molte questioni ancora irrisolte e che altre funzioni devono essere prese in considerazione per comprendere il processo di atresia e, per di più, vedono un paradosso nelle conclusioni di Krakauer e Mira dal momento che se nelle cellule germinali vi è soltanto DNA mitocondriale sano, gli individui futuri dovrebbero essere privi di molecole mutate e, quindi, il processo di selezione

nella loro linea germinale sarebbe ridondante. La risposta di Krakauer e Mira è che la loro teoria intende spiegare la funzione evolutiva dell'atresia, cioè quella di eliminare le mutazioni lievemente deleterie dal mitocondrio, ritardando così il «Muller ratchet». Il persistere di un processo di atresia nell'evoluzione a lungo termine richiede che le cellule germinali con mitocondri sani siano vincenti in un processo che debba sfuggire all'apoptosi. Proprio questa sarebbe la funzione del collo di bottiglia: diminuire il numero di mitocondri sino ad un livello tale che la differenza funzionale fra le cellule appaia evidente. Se l'iniezione di mitocondri può inibire l'atresia, questo dimostra come la buona qualità dei mitocondri può influenzare il destino degli oociti [Krakauer, D.C. and Mira, A., 1999; Perez, G.I., 2000].

Tali dati provano la centralità del mitocondrio nell'evoluzione della cellula eucariotica e sono oggi supportati da molti studi sperimentali sul meccanismo di azione dei fattori apoptotici. L'apoptosi, forma di morte cellulare programmata caratterizzata da specifici cambiamenti morfologici e biochimici, serve sia a regolare il numero di cellule che come difesa, eliminando le cellule danneggiate. Il processo di apoptosi può essere molto sommariamente e schematicamente suddiviso in fasi: la prima consiste nel ricevere lo stimolo (ad esempio un calo ormonale, un danno genotossico, la presenza di sostanze tossiche e/o fattori di stress); successivamente ha luogo la trasduzione del segnale tramite molecole intercellulari; quindi vi è la fase di attivazione durante la quale target cellulari multipli vengono attivati dalle proteasi a cisteina (caspasi) e dalle nucleasi; infine vi è la fase distruttiva in cui la cellula viene disgregata. I mitocondri sembrano avere un ruolo di primo piano nell'esecuzione dell'apoptosi, contribuendo a questo processo tramite la distruzione della catena per il trasporto degli elettroni, che causa l'alterazione del potenziale elettrochimico di membrana ed un calo nella produzione di ATP, ed il rilascio di attivatori delle caspasi quali il citocromo-c ed i fattori inducenti l'apoptosi (Apoptosis inducing factors – AIF) [Green, D. and Kroemer, G., 1998; Green, D.R. and Reed, J.C., 1998; Mignotte, B. and Vayssiere, J.L., 1998; Susin, S.A. *et al.*, 1998].

L'interesse per il mitocondrio ed il suo sistema genetico trova nuova validità in tale scenario acquisendo una prospettiva ben più ampia che coinvolge il destino dell'intera cellula eucariotica e non soltanto quello di un suo organello.

Evoluzione del DNA mitocondriale di metazoi e biodiversità

Una delle proprietà più notevoli del DNA mitocondriale è quello di essere ereditato per via materna; la madre trasferisce il suo DNA mitocondriale alla prole, sia femminile che maschile, ma quest'ultima non è in grado di trasmetterlo alla sua progenie (Fig. 6).

Per la proprietà di essere ereditato per via materna e per la sua incapacità a ricombinare, il DNA mitocondriale è la molecola di elezione negli studi di evoluzione molecolare. Le relazioni filogenetiche fra organismi, ottenute basandosi su dati morfologici, sono state molto spesso stravolte dai risultati ottenuti usando sequenze genomiche. La Figura 7 mostra infatti la differenza fra un albero di

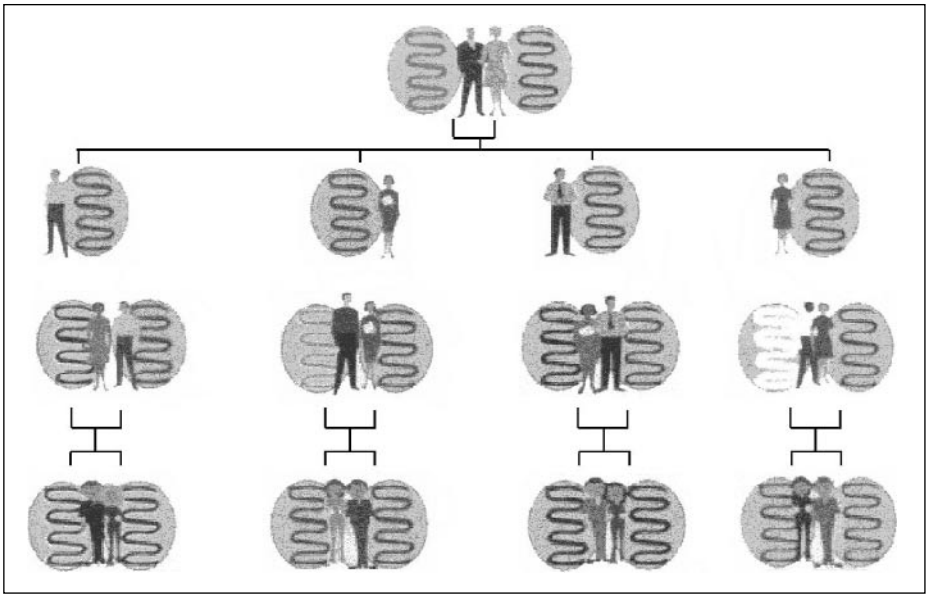

Fig. 6 – Ereditarietà del DNA mitocondriale.

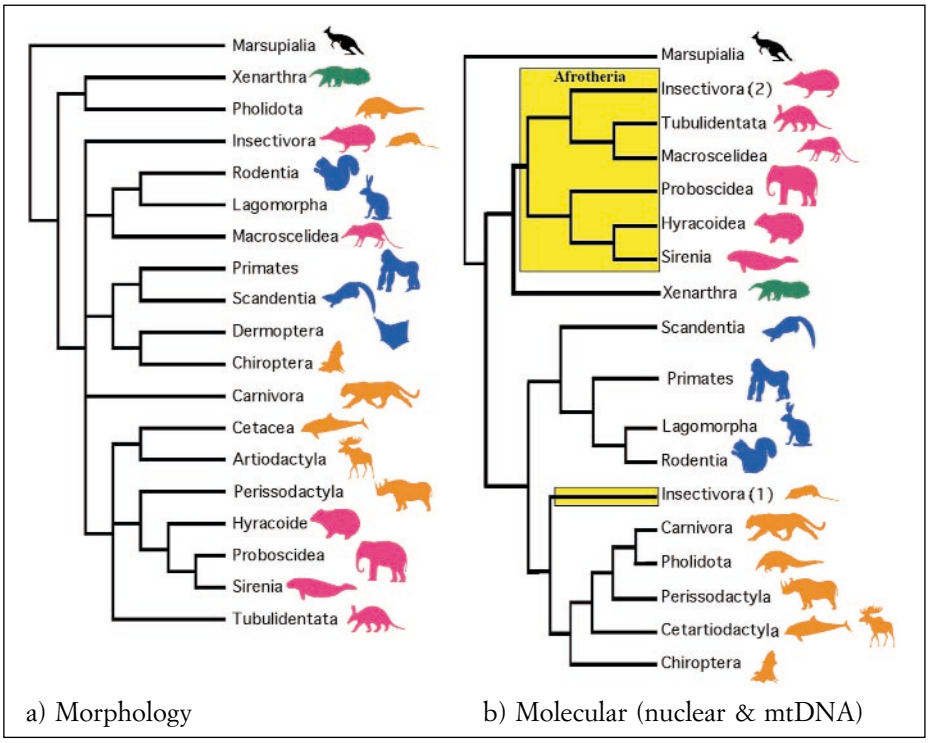

Fig. 7 – Confronto di alberi filogenetici ottenuti su dati morfologici e molecolari.
a) Novacek N.J. (1992), Mammalian phylogeny: shaking the tree. *Nature*, 379:333-335.
b) Madsen O., Scally M., *et al.*, (2001), Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. *Nature* 409 (6820):610-614.

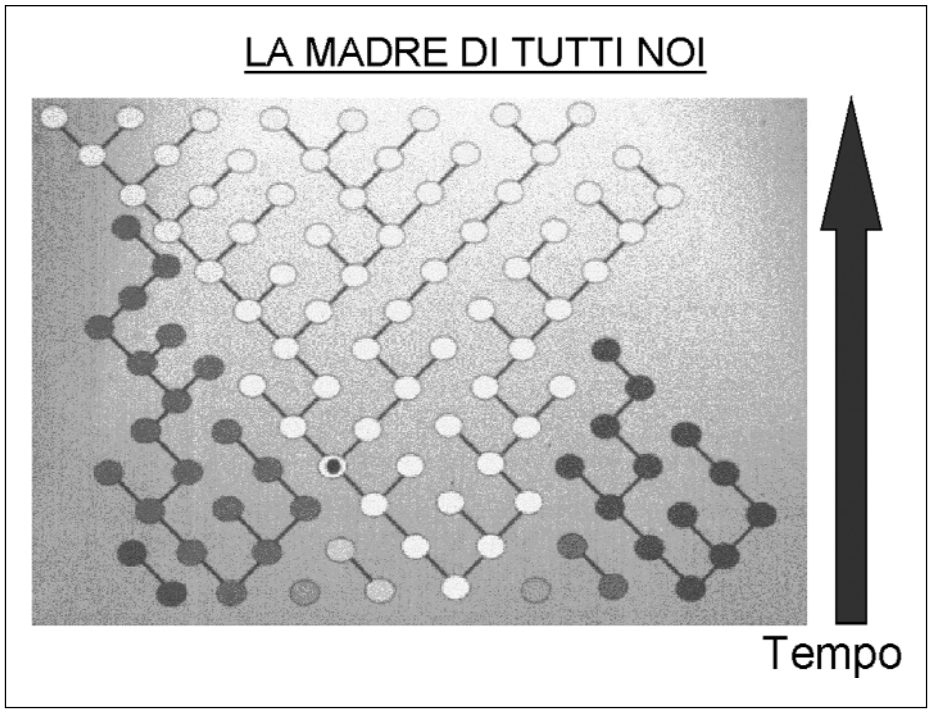

Fig. 8 – La madre di tutti noi in una rappresentazione grafica.

mammiferi basato su dati morfologici ed uno basato su dati molecolari: le «sorprese» non mancano.

Un aspetto che da sempre attrae la nostra attenzione e interesse è quello relativo alla specie a cui apparteniamo, l'*Homo sapiens sapiens*, e che, anche involontariamente, poniamo sempre in cima alla scala biologica. Desideriamo, in altri termini, conoscere noi stessi, capire le basi molecolari della diversità umana. Anche il DNA mitocondriale si è mostrato di grande utilità in questo campo. Usando il DNA mitocondriale si è potuti risalire all'origine dell'uomo moderno. Lo schema dell'eredità matroclina del mitocondrio porta tutti gli individui ad un unico progenitore ancestrale [Vigilant, L. *et al.*, 1991]. Considerando la probabilità del 50% che una donna abbia figlie femmine, si può affermare che ad ogni generazione viene perso il 50% delle linee mitocondriali. Andando a ritroso, dunque, si giunge ad un unico punto di coalescenza, a quella che è stata la madre di tutti noi, vale a dire la Eva mitocondriale detta nera perché di origine africana (Fig. 8), ma la cui datazione resta insoluta. I dati riportati in letteratura oscillano in un intervallo molto ampio (fra circa 100.000 e 800.000 anni) [Saccone, C., 1999]; in realtà, l'aspetto quantitativo degli studi di evoluzione molecolare e di biodiversità richiede

una migliore conoscenza dei processi e meccanismi di evoluzione e lo sviluppo di modelli matematici e metodi statistici.

Da quanto esposto risulta chiaro che, anche se piccolo, il DNA mitocondriale è prezioso. Esso subisce cambiamenti, che sono alla base dell'evoluzione, a velocità abbastanza elevata ma non può essere toccato in regioni che sono responsabili di funzioni vitali. Se ciò accade abbiamo ben precise patologie. Mutazioni del DNA mitocondriale sono state collegate a numerose patologie, ma anche ritrovate in pazienti affetti da malattie neurodegenerative quali l'Alzheimer ed il morbo di Parkinson, nonché in tessuti tumorali ed anche in malattie quali il diabete mellito. Cambiamenti che alterano la funzione mitocondriale sono anche coinvolti nell'invecchiamento [Di Mauro, S. and Wallace, D.C., 1993; Wallace, D.C. *et al.*, 1998; Cottrell, D.A. *et al.*, 2000].

EVOLUZIONE DEL GENOMA NUCLEARE: LE FAMIGLIE GENICHE.

Come ho precedentemente accennato, gran parte del materiale genetico del nucleo è ridondante (Fig. 3), cioè presente in copie multiple, non identiche tra loro. In particolare i geni o porzioni (o anche la totalità) del genoma possono venire duplicati; quindi le copie duplicate divergono nell'evoluzione, generando nouvi prodotti con funzioni specifiche, o dando origine a pseudogeni, oppure talvolta esse vengono perdute.

Per la parte codificante del genoma si creano le cosiddette famiglie geniche, cioè gruppi di geni, strutturalmente simili ma con funzioni e/o destino diverso.

Le famiglie geniche, nei vari organismi, talvolta anche in quelli strettamente correlati, hanno un numero di componenti diversi a cui verosimilmente corrispondono funzioni diverse.

Tra vertebrati ed invertebrati, ad esempio, le relazioni tra i membri delle famiglie geniche può essere: un solo gene negli invertebrati e più di un gene nei vertebrati (*one to many*) oppure un certo numero di geni negli invertebrati e un numero diverso nei vertebrati (*many to many*).

La grande sfida è comprendere le funzioni dei singoli membri delle varie famiglie in ogni organismo al fine di svelare le innovazioni generate con la duplicazione. Questo è ovviamente molto importante ai fini applicativi per capire funzioni specifiche o correggere disfunzioni.

Anche per questo problema può aiutarci l'indagine evolutiva.

Nella Figura 9 sono riportati due esempi di evoluzione di famiglie geniche. In particolare l'evoluzione della famiglia della p53 e quella dei geni della porina [Saccone, C. *et al.*, 2003; Saccone, C. *et al.*, 2002].

Nel primo caso abbiamo una relazione *one to many,* nel secondo *many to many.* Le funzioni dei singoli membri sono studiate attivamente con tecnologie avanzate. Per la famiglia della p53, certamente una delle più famose proteine aventi un ruolo centrale nel ciclo cellulare, apoptosi e cancerogenesi, le conoscenze progrediscono rapidamente.

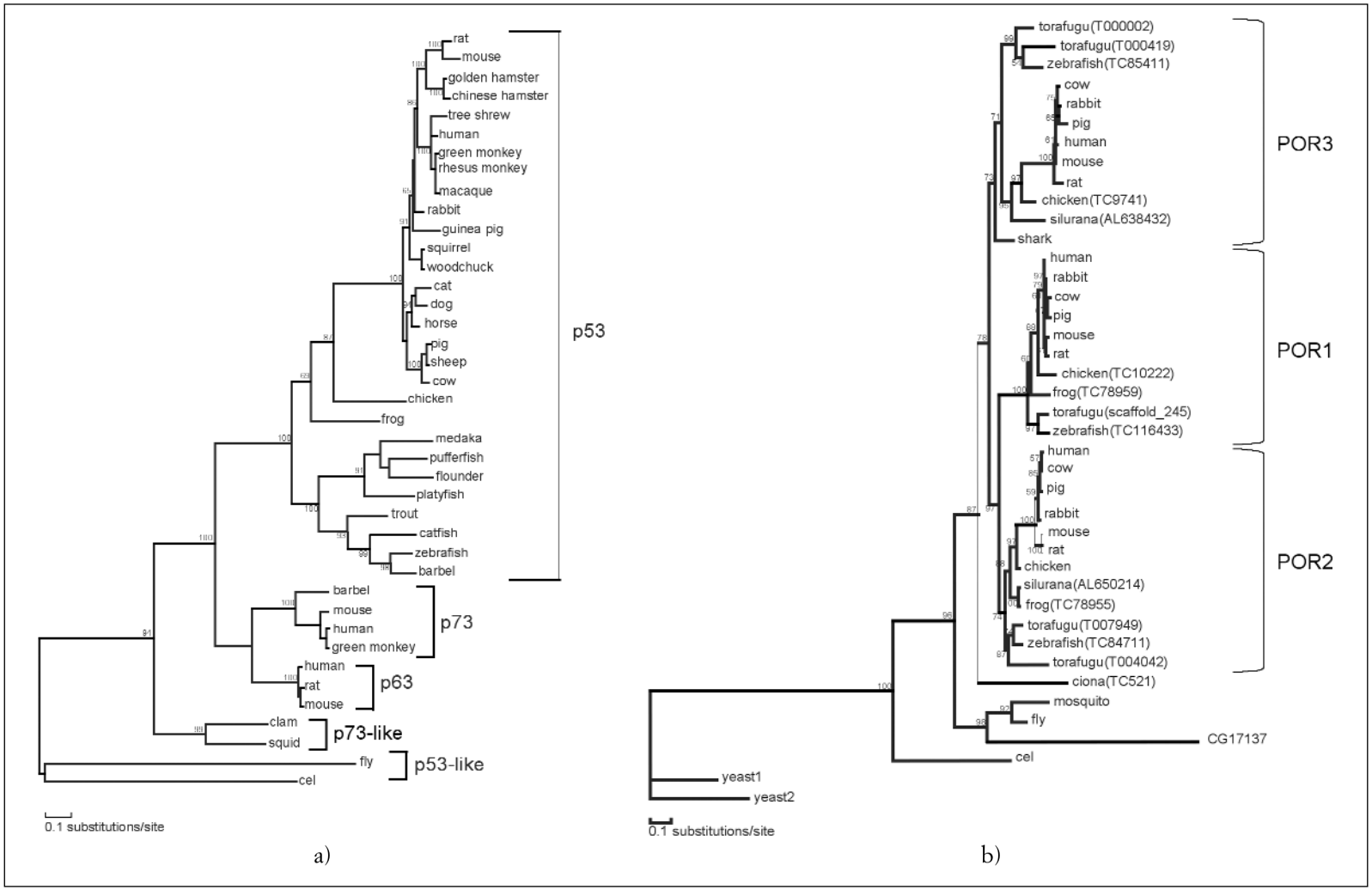

Fig. 9 – Evoluzione di famiglie geniche. a) Famiglia di p53. b) Famiglia della porina.
Saccone *et al.*, Molecular Clock and Gene Function, 2003, *J. Mol. Evol.*, in press.

Conclusioni

La Genomica e la Post-Genomica sono alla loro infanzia. Tuttavia esse richiedono un enorme sforzo, direi in una duplice direzione. Da un lato la comprensione teorica dei meccanismi di base della materia vivente in cui l'evoluzione molecolare gioca un ruolo fondamentale. Dall'altro un approccio multidisciplinare con nuove tecnologie per generare nuovi dati e nuove ipotesi, che poi ovviamente richiedono di essere validate. Tutto ciò è largamente basato sull'indagine comparativa.

La Biologia diviene forse più complessa ma certamente affascinante: la sfida è aperta!

Ringraziamenti

Progetto Strategico Genetica Molecolare, legge 449/97; Centro di Eccellenza in Genomica Comparata (C.E.G.B.A.)

BIBLIOGRAFIA

Allen, J.F. and Raven, J.A., Free-radical-induced mutation vs redox regulation: costs and benefits of genes in organelles, *J. Mol. Evol.*, 1996, 42:482-492.

Bergstrom, C.T. and Pritchard, J., Germline bottlenecks and the evolutionary maintenance of mitochondrial genomes, *Genetics*, 1998, 149:2135-2146.

Cottrell, D.A., Blakely, E.L., Borthwick, G.M., Johnson, M.A., Taylor, G.A., Brierley, E.J., Ince, P.G. and Turnbull, D.M., Role of mitochondrial DNA mutations in disease and aging, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2000, 908:199-207.

Di Mauro, S. and Wallace, D.C., Il DNA mitocondriale in patologia umana, *Raven Press, Ltd., New York,* 1993.

Green, D. and Kroemer, G., The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria? *Trends Cell. Biol.*, 1998, 8:267-271.

Green, D.R. and Reed, J.C., Mitochondria and apoptosis, *Science*, 1998, 281:1309-1312.

Jansen, R.P. and de Boer, K., The bottleneck: mitochondrial imperatives in oogenesis and ovarian follicular fate, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1998, 145:81-88.

Kondrashov, A., Muller's ratchet under epistatic selection, *Genetics,* 1994, 136:1469-1473.

Krakauer, D.C. and Mira, A., Mitochondria and germ-cell death, *Nature*, 1999, 400:125-126.

Madsen O., Scally M., *et al.*, Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. *Nature*, 2001, 409(6820):610-14.

Margulis, L., Symbiosis and evolution, *Sci. Am.*, 1971, 225:48-57.

Martin, W. and Muller, M., The hydrogen hypothesis for the first eukaryote, *Nature*, 1998, 392:37-41.

Mignotte, B. and Vayssiere, J.L., Mitochondria and apoptosis, *Eur. J. Biochem.*, 1998, 252:1-15.

Moran, N.A., Accelerated evolution and Muller's ratchet in endosymbiotic bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1996, 93:2873-8.

Morita, Y. and Tilly, J.L., Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass, *Dev. Biol.*, 1999, 213:1-17.

Muller, M. and Martin, W., The genome of Rickettsia prowazekii and some thoughts on the origin of mitochondria and hydrogenosomes, *Bioessays*, 1999, 21:377-81. Review.

Novacek N.J., Mammalian phylogeny: shaking the tree. *Nature*, 1992, 379:333-35.

Perez, G.I., Trbovich, A.M., Gosden, R.G. and Tilly, J.L., Mitochondria and the death of oocytes, *Nature,* 2000, 403:500-501.

Race, H.L., Herrmann, R.G. and Martin, W., Why have organelles retained genomes? *Trends Genet.*, 1999, 15:364-370.

Saccone, C., The evolution of mitochondrial DNA, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1994, 4:875-881.

Saccone, C., Structure and evolution of metazoan mitochondrial genome, in *Frontiers of Cellular Bioenergetics*, (Papa, ed.), 1999, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Saccone, C., De Giorgi, C., Gissi, C., Pesole, G. and Reyes, A., Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system, *Gene*, 1999, 238:195-209.

Saccone C., Barone P.-O., D'Erchia A.M., D'Errico I., Pesole G., Sbisà E. and Tullo A., Molecular Strategies in Metazoan Genomic Evolution, *Gene*, 2002, 300:155-201.

Saccone, C. and Pesole, G., Handbook of Evolutionary Genomics, 2003, John Wiley & Sons Inc.

Saccone C., Caggese C., D'Erchia A.M., Lanave C., Oliva M. and Pesole G., Molecular Clock and gene function, *J. Mol. Evol.*, 2003 in press.

Susin, S.A., Zamzami, N. and Kroemer, G., Mitochondria as regulators of apoptosis: doubt no more, *Biochim. Biophys. Acta*, 1998, 1366:151-65.

Vigilant, L., Stoneking, M., Harpending, H., Hawkes, K. and Wilson, A.C., African populations and evolution of human mitochondrial DNA, *Science*, 1991, 253:1503-7.

Wallace, D.C., Brown, M.D., Melov, S., Graham, B. and Lott, M., Mitochondrial biology, degenerative diseases and aging, *Biofactors.*, 1998, 7:187-90.