

Relazione di Biologia Molecolare 2

Quali organismi modello si possono usare per studiare la fotosintesi? Quanti hanno il genoma sequenziato? Che banche dati sono disponibili su questi organismi?

Un organismo modello è una specie studiata per comprendere particolari fenomeni biologici, in quanto le nuove conoscenze acquisite da essi possono essere applicate a grandi linee agli altri organismi. Ciò è dovuto al fatto che molti dei principi biologici fondamentali, come le vie metaboliche, di regolazione e di sviluppo, ed i geni che le codificano, si mantengono attraverso l'evoluzione.

Il primo organismo modello impiegato in esperimenti rigorosi per la comprensione dell'ereditarietà è certamente stato il *Pisum sativum* di Gregor Mendel. Esso infatti rispondeva a specifiche esigenze d'incrocio controllato, rapido sviluppo di nuove generazioni, prole numerosa, chiari caratteri fenotipici alternativi e disponibilità di numerose varietà.

Spesso gli organismi modello vengono scelti in base alla loro capacità di essere adattabili a manipolazioni sperimentali. Di solito vengono preferite specie con breve ciclo cellulare e facilità d'uso di tecniche per manipolazione genetica, favorendone così il sequenziamento del genoma.

Per lo studio della fotosintesi vengono in particolare modo utilizzati due organismi modello, l'uno, *Synechocystis*, è un cianobatterio, l'altro, *Chlamydomonas reinhardtii* è un'alga eucariote unicellulare.

I cianobatteri, talvolta impropriamente chiamati alghe azzurre, alghe verdi-azzurre o Cianofee, sono probabilmente i più antichi organismi capaci di fare fotosintesi, utilizzando la luce per ossidare l'ossigeno e generare elettroni da usare per la fissazione del carbonio. Al contrario delle piante, sono in grado di sfruttare un più ampio spettro di lunghezze d'onda della luce, grazie ai diversi pigmenti fotosintetici; alcuni di questi donano alle cellule anche la caratteristica colorazione blu (per la presenza di ficocianina) o rossa (per la ficoeritrina). Tutto ciò consente ai cianobatteri di sopravvivere con successo anche in condizioni di scarsa luminosità, come ad esempio nelle profondità marine o in ecosistemi acquatici caratterizzati da forte corrente.

Il phylum dei cianobatteri è antico circa 3,5 miliardi di anni e si sono evoluti a partire da cloroplasti, mantenendo la caratteristica di cellule singole anche se si possono trovare riuniti in colonie o in associazioni simbiotiche con altri organismi. Possono essere ritrovati praticamente in ogni angolo del Pianeta, in quanto hanno imparato ad adattarsi e sopravvivere in un vasto campo di condizioni, ed il loro metabolismo e condizioni di crescita sono estremamente flessibili.

Una piccola curiosità è che nel Parco Nazionale di Yellowstone vivono cianobatteri che utilizzano cicli giorno-notte: di giorno effettuano la fotosintesi clorofilliana e di notte la fissazione dell'azoto. Questa caratteristica è, ad oggi, considerata unica.

Per ottenere molte informazioni generali sui cianobatteri è utile interrogare il sito web Cyanosite (<http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/index.html>), che fornisce la possibilità di accedere a numerosi link contenenti, per esempio, immagini, protocolli sperimentali, tassonomia, informazioni "storiche" ed anche recenti novità nel loro studio. Conoscenze più specifiche specie per specie di numerosi Archaea ed Eubacteria possono essere ottenute dal server Genome Channel (<http://compbio.ornl.gov/channel/index.html>).

Synechocystis sp. PCC6803 è un cianobatterio ampiamente usato nello studio della fotosintesi. È in grado di effettuare crescita fototropica durante le ore di luce grazie alla fotosintesi e crescita eterotropa grazie alla glicolisi e alla fosforilazione ossidativa nelle ore di buio. Ciononostante, il suo apparato fotosintetico è molto simile a quello delle piante.

È stato isolato per la prima volta nel 1968 e da allora si è distinto per la grande adattabilità alla trasformazione; esso è in grado di trasformarsi spontaneamente, integrando nel proprio genoma DNA esogeno mediante ricombinazione omologa.

Fatto forse ancor più significativo è che *Synechocystis sp. PCC 6803* è stato il primo organismo fotosintetico di cui è stato sequenziato l'intero genoma. Nel 1996, il Dr. Satoshi Tabata ed i suoi collaboratori presso il Kazusa DNA Research Institute completarono la sequenza genomica di questo organismo e resero disponibile le informazioni ottenute nel sito web CyanoBase (<http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase>).

Da allora sono stati creati numerosi mutanti privi di specifici geni ed analizzati. Per esempio, *Synechocystis* è usato per studiare la sintesi di pigmenti (carotenoidi e clorofille) e la loro regolazione, il metabolismo del carbonio, la respirazione e numerosi altri processi. Come già accennato prima, le informazioni ottenute non sono utili solo per la comprensione della fisiologia dei cianobatteri, ma anche per gli altri organismi quali le piante.

Inoltre, la disponibilità dell'intero genoma ha aperto le strade alla predizione genica, nonché all'annotazione delle loro funzioni e delle corrispondenti proteine. Alcune informazioni sui percorsi metabolici sono invece disponibili sul sito <http://www.genome.ad.jp/kegg/metabolism.html>.

Altri database in cui è possibile ottenere informazioni su *Synechocystis sp. PCC 6803* o sui cianobatteri:

- SynechoNET: Database specializzato di interazioni proteina-proteina del cianobatterio *Synechocystis sp. PCC 6803*. Mostra le interazioni sia tra domini sia tra più proteine, oltre che informazioni di topologia transmembrana.
- CyanoBase: CyanoBase fornisce un modo semplice di accedere alle sequenze e a tutte le annotazioni di dati sulle strutture dei genomi dei cianobatteri. Questo database è stato originariamente sviluppato da Makoto Hirosawa, Takakazu Kaneko e Satoshi Tabata, e la versione corrente di CyanoBase è stata sviluppata e mantenuta da Yasukazu Nakamura, Takakazu Kaneko, e Satoshi Tabata presso il Kazusa DNA Research Institute.
- STRING: STRING è un database di interazioni note e previste. Le interazioni proteina-proteina includono associazioni dirette (fisiche) ed indirette (funzionali), derivate da quattro fonti: contesto genomico, esperimenti High-throughput, co-espressione (conservata) e precedenti conoscenze. Il database attualmente contiene 1.513.782 proteine di 373 specie. In particolare, la banca dati fornisce le interazioni per *Synechocystis sp. PCC 6803*.

**Qualche dato sul genoma di
*Synechocystis sp. PCC6803***

Totale di molecole di DNA:	1
Dimensioni totali del genoma:	3573470 bp
Numero totale di basi codificanti:	3099321 bp
Numero di basi G+C:	1705269 bp
Geni totali:	3166
Geni codificanti proteine:	3166
Ipotetici geni conservati:	702
Geni per tRNA:	41
Geni per rRNA:	6

Chlamydomonas reinhardtii, spesso chiamata *lievito verde*, dal momento che è fotosintetica, è un'alga eucariote unicellulare, di circa 10 µm di diametro, che si muove servendosi di due flagelli (lunghi anch'essi circa 10 µm). È molto presente nel suolo e nei bacini di acqua dolce. Presenta una parete cellulare, un ampio cloroplasto ed un *occhio* (il pirenoide) sensibile alla luce. In genere le

varie specie di *Chlamydomonas* possono essere coltivate in un terreno minimo in presenza di luce (per avviare la fotosintesi). Se viene somministrato acido acetico, possono crescere anche al buio.

È un organismo aploide, con 17 piccoli cromosomi (per un genoma di circa 100 milioni di paia di basi). Presenta sono due tipi sessuali chiamati *mt(+)* e *mt(-)*, che possono fondere e formare uno zigote diploide. Lo zigote non è flagellato, ma rimane dormiente nel suolo: se viene esposto alla luce, può andare incontro alla meiosi, rilasciando quattro cellule aploidi flagellate, che riprendono la fase vegetativa. Ha una crescita molto rapida (una generazione dura circa 5 ore) ed in condizioni di crescita ottimali, la cellula può andare incontro anche a due o tre mitosi prima che le cellule figlie vengano rilasciate all'esterno della parete della cellula madre.

C.reinhardtii presenta caratteristiche molto simili a quelli dei lieviti (come *Saccharomyces cerevisiae*). La linea cellulare considerata *wild-type* per l'organismo è chiamata c137 ed è di tipo sessuale *mt+*. La sua origine non è certa, ma si crede che sia stata raccolta in un campo nel New England negli anni quaranta.

Sono noti molti mutanti di *C. reinhardtii*: sono infatti uno strumento utile per studiare un gran numero di processi biologici, come il movimento attraverso flagelli e la regolazione della loro lunghezza, la risposta della cellula agli stimoli luminosi, i meccanismi di riconoscimento tra due o più cellule, la regolazione dell'espressione genica, la formazione e l'eredità del cloroplasto, la risposta alle variazioni di concentrazione dei sali inorganici presenti ed anche alcuni processi produttivi. Per questi motivi, *C.reinhardtii* è un organismo modello che sta raccogliendo sempre più successo nella comunità scientifica.

Una prima parte del genoma sequenziato è stato diffuso nel febbraio 2003 dal *Joint Genome Institute* del Dipartimento dell'Energia americano. Sono disponibili le sequenze del genoma nucleare dell'organismo, quasi interamente completato, e quelle dei suoi mitocondri (~15.8 Kb) e dei cloroplasti (~200 Kb). È inoltre disponibile un grande numero di cDNA di sequenze espresse e di ESTs. Altre informazioni genetiche su *Chlamydomonas* sono presenti presso la *Duke University* negli USA.

Altre informazioni sul genoma sono state ottenute da un gruppo di biologi statunitensi del Carnegie Institution che hanno identificato la sequenza di aminoacidi dell'alga unicellulare *Chlamydomonas reinhardtii* e hanno messo a confronto i suoi 15mila geni con il genoma di piante e animali, incluso l'essere umano. Secondo i ricercatori, questa alga ha mantenuto molti geni che sono andati perduti sia nel regno vegetale che in quello animale durante l'evoluzione.

Comparando circa settemila proteine con sequenza aminoacidica simile, i ricercatori hanno trovato che nella *Chlamydomonas reinhardtii* il 35% dei geni sono in comune con piante ed esseri umani, mentre un ulteriore dieci per cento è comune solo agli uomini.

Esistono più siti web dedicati alla raccolta di link ed informazioni su questo organismo modello. Uno dei più importanti è Clamy Center (<http://www.chlamy.org/>) in grado di fornire informazioni genomiche, genetiche e bibliografiche, oltre che l'accesso a numerose altre risorse quali, per esempio, protocolli sperimentali, librerie di cDNA e BAC ed informazioni sui plasmidi.

Negli ultimi anni sono stati rivalutati altri organismi che potrebbero fungere da modelli per lo studio della fotosintesi, quali *Physcomitrella patens* e *Ceratodon purpureus*, entrambi delle briofite. Alcuni studi dimostrano l'utilità del muschio come organismo modello per la ricerca sulle piante della fotosintesi. I due muschi esaminati, *Physcomitrella patens* e *Ceratodon purpureus*, sono facilmente coltivabili attraverso la moltiplicazione vegetativa. Inoltre, i parametri fotosintetici esaminati in queste piante hanno indicato che l'attività fotosintetica dei due organismi sopra citati sono più simili alle piante vascolari che non a quelli di cianobatteri o alghe verdi.