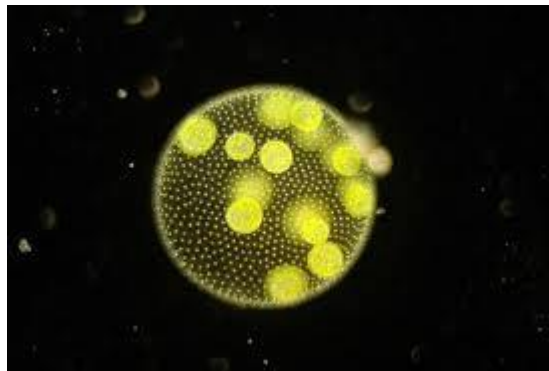


## VOLVOX

### Caratteristiche

Volvox è un'alga verdemulticellulare a forma di sfera cava, che contiene da 500 fino ad oltre 50 000 cellule, di cui molte sono cellule somatiche, biflagellate e di piccole dimensioni, e poche (da 2 a 50) cellule riproduttive chiamate gonadi, grandi e prive di motilità. Tutte le cellule sono immerse in una matrice gelatinosa; in particolare le cellule somatiche sono collegate da sottili filamenti citoplasmatici, in modo che il battito dei flagelli sia coordinato, risultando così nel tipico moto a sfera rotante. Le cellule somatiche contengono, oltre ai flagelli, uno stigma, due vacuoli contrattili alla base dei flagelli e un cloroplasto; hanno forma sferica, ovoidale o stellata. Le cellule riproduttive sono in genere confinate ad un polo della cellula, dove si dividono per formare nuove colonie, inizialmente piccole e protette dalla parentale.



### Classification:

**Empire** Eukaryota

**Kingdom** Plantae

**Subkingdom** Viridaeplantae

**Phylum** Chlorophycophyta

**Class** Chlorophyceae

**Order** Volvocales

**Family** Volvocaceae

**Genus** Volvox

### Un po' di storia

Nonostante Volvox fu osservato per la prima volta da Van Leeuwenhoek nel 1700, solo negli anni '60 del 1900, quando il gruppo di Richard Starr scoprì un medium in cui l'organismo potesse crescere e riprodursi, esso divenne un organismo modello. A partire dal 1970, Starr riuscì a mettere in cultura diverse specie di Volvox, concludendo infine che quella che meglio si prestava ad essere organismo modello era *V. carteri* dal Giappone. Molti studi condotti su Volvox riportati negli ultimi 30 anni hanno utilizzato la linea di *V. carteri* selezionata da Starr: sarà questa la linea cui si farà riferimento durante il corso della tesina.

### Modalità riproduttiva

Nonostante *V. carteri* abbia la possibilità di riprodursi sessualmente in modo indotto (il che può essere utilizzato per condurre studi di genetica mendeliana), in natura il ciclo sessuale non è finalizzato alla riproduzione, ma alla produzione di forme diploidi dormienti simili a spore. Nei periodi di siccità, quando gli stagni in cui *V. carteri* normalmente vive si asciugano, le cellule somatiche dell'organismo secernono un feromone, che induce le gonadi a differenziarsi in uova o spermatozoi, a seconda che appartengano a un tipo sessuale femminile o maschile. Gli spermatozoi vengono rilasciati da sacchetti di sperma, i quali si differenziano dalle androgonadi. Questo accade anche nelle altre specie dioiche del genere Volvox. Nelle specie ermafrodite, invece, uova e spermatozoi vengono entrambi prodotti da un singolo individuo. In tutti i tipi di specie, lo zigote prodotto a seguito di fertilizzazione sviluppa una spessa parete eventualmente contenente spine. In presenza di condizioni favorevoli, lo zigote germina e dà origine per meiosi a individui aploidi maschili e femminili.

Durante la fase attiva del suo ciclo vitale, invece, Volvox è aploide e si riproduce asessualmente. In *V. carteri* un ciclo asessuale inizia quando ciascuna gonade matura inizia una rapida serie di divisioni cellulari, alcune delle quali sono visibilmente asimmetriche e producono grandi cellule iniziali gonadiche e piccole cellule iniziali somatiche. L'embrione risultante contiene entrambi i tipi di cellule presenti nell'adulto, ma risulta essere rovesciato rispetto a quest'ultimo. L'embrione dovrà quindi andare incontro ad un processo simile alla gastrulazione e chiamato inversione, durante il quale le cellule somatiche subiscono delle modificazioni topologiche in modo da rivolgere i flagelli verso l'esterno della sfera, non più verso l'interno come nell'embrione.

L'intero ciclo asessuale dura 48 ore quando è sincronizzato con un'adeguata alternanza luce – buio.



A seguito dell'inversione, sia la sfera giovanile che quella adulta aumentano in dimensioni a causa della deposizione di grandi quantità di una matrice extracellulare a base di glicoproteine. Durante questo processo, la sfera giovanile digerisce la matrice della sfera parentale che la tiene legata a sé, liberandosi da essa. Contemporaneamente, le cellule somatiche della sfera parentale vanno incontro a morte.

### **Volvox è un modello in studi sull'origine evolutiva della multicellularità**

Volvox si presta per studi sull'origine evolutiva della multicellularità per due motivi: innanzitutto perché rappresenta il discrimen tra colonia di cellule e organismo multicellulare, in secondo luogo perché, dal momento che la famiglia delle Volvocaceae, cui appartiene anche l'unicellulare *Chlamydomonas*, è monofiletica, l'analisi genetica di Volvox permette di individuare i geni coinvolti nella multicellularità. Per quanto riguarda il primo punto, si può dire che Volvox sia un organismo multicellulare, per quanto basilare, più che una colonia di cellule, perché ne possiede la caratteristica principale: è formato, infatti, da due tipi specializzati di cellule che cooperano e occupano una posizione relativa precisa all'interno dell'organismo. Inoltre, le connessioni funzionali tra cellule somatiche sono talmente forti che la loro separazione ne causa la morte; ciò non avviene normalmente in colonie cellulari, dove l'associazione è volta più ad aumentare la possibilità di proliferare, piuttosto che a determinare la sopravvivenza degli individui coinvolti.

Ciò che tuttavia conferma Volvox come organismo pluricellulare è la presenza di cellule specializzate per la riproduzione, dalle quali per divisione originano tutte le cellule di un individuo; infatti, né le cellule somatiche né le cellule gonadiche si dividono indipendentemente. Ciò che è interessante notare è che i geni coinvolti nel determinare la generazione di due tipi cellulari a partire da uno solo potrebbero in qualche modo essere alla base dell'evoluzione della multicellularità. Il confronto con l'unicellulare *Chlamydomonas*, appartenente alla stessa famiglia, è utile nell'individuazione di tale pathway evolutivo.

Qual è allora il programma genetico per la differenziazione germe-soma in *V. carteri*? In molti organismi filogeneticamente vicini a Volvox, tutte le cellule prima eseguono funzioni vegetative (tra le quali la motilità), e poi ridifferenziano e si riproducono asessualmente. Sembra che in Volvox questo programma genico ancestrale si sia evoluto in modo da generare entrambi i tipi di cellule da un unico tipo cellulare. Sono stati identificati 3 geni coinvolti: *gls*, che determina l'asimmetria della divisione; *regA*, che nelle cellule di piccole dimensioni agisce prevenendo lo sviluppo in direzione gonadica; *lag*, che nelle cellule di grandi dimensioni prevengono lo sviluppo in direzione somatica. È proprio la dimensione delle cellule a determinare l'attivazione differenziale di *gls* e *lag*.

### **Altri studi in cui Volvox è organismo modello**

Volvox carteri è anche organismo modello in studi sul controllo genetico e citologico della morfogenesi, sull'induzione del ciclo sessuale da parte del ferormone, sull'individuazione di enzimi inducibili da esso codificati (es. arylsulfatasi) utili nella costruzione di sistemi gene-reporter.

## Risorse bioinformatiche

**PLAZA** è una risorsa per la genomica comparativa delle piante, che riunisce dati genomici prodotti da svariati progetti di sequenziamento. Integrando dati sulla sequenza delle piante e strumenti per la comparazione, Plaza fornisce una valida piattaforma online per eseguire analisi evolutiva ed estrazione dei dati all'interno del lineage delle piante verdi (*Viridiplantae*).

Nella Homepage (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/>), Plaza mostra un albero filogenetico con radice, dal quale si può accedere alle informazioni riguardanti l'organismo di interesse cliccando sul nome del suo taxon. Nel caso di *Volvox carteri*, comparirà una overview con alcune informazioni sull'organismo e dei link. Il link Source ci riconduce alla sezione *Volvox* del sito della DOE JGI (DOE Joint Genome Institute), istituto che si occupa della caratterizzazione di piante e microbi al fine di ideare carburanti di nuova generazione; oltre a più accurate informazioni, questa pagina comprende una sezione Pubblicazioni. Tornando alla overview di Plaza (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/organism/view/Volvox+carteri>) e cliccando su NCBI link, entriamo nel portale NCBI Taxonomy Browser: qui si trovano le informazioni più utili in campo bioinformatico. Compaiono 3 link a schede di tre differenti specie di *Volvox*: [Volvox carteri f. kawasakiensis](#), [Volvox carteri f. nagariensis](#) e [Volvox carteri f. weismannia](#). Vengono fornite informazioni prevalentemente di tipo filogenetico e tassonomico, quali l'ID tassonomico, il lineage e, cliccando sul nome dell'organismo nella sezione External Information Resources (NCBI LinkOut), una scheda contenente una descrizione tassonomica più dettagliata tratta da AlgaeBase. Solo per [Volvox carteri f. nagariensis](#) vengono fornite informazioni sul genoma, sotto la sezione Genome Information; sono qui riportati il nome del centro di sequenziamento (che in questo caso è ancora DOE JGI), e il numero di EST e WGS (Whole Genome Shotgun, genoma o sequenze cromosomiche incompleti, sequenziati attraverso la strategia whole genome shotgun). Cliccando sul numero relativo al tipo di sequenze, è possibile visualizzarle in formato FASTA (o in altri formati).

### STRUMENTI FORNITI DA PLAZA

#### **STRUMENTI: EVOLUZIONE GENOMICA E RICERCHE DI COLINEARITA'**

**Synteny Plot** (Analyze on the Menu bar → Synteny Plot). Riporta l'organizzazione genica locale per geni omologhi all'interno di una famiglia. È possibile scegliere di visualizzare 5, 10 o 15 geni fiancheggiando il locus della famiglia genica selezionata (window size). Famiglie geniche sono evidenziate con lo stesso colore, mentre la forma della freccia ne indica la tipologia. Per fare un esempio, si digiti HOM000704, ID di una famiglia genica di proteine con attività nucleasica e fosforilasi, all'indirizzo <http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/synteny/index>. Le stringhe di geni sono raggruppate in modo da mostrare gli *omologhi posizionali*, ovvero le stringhe con disposizioni simili di geni attorno alla famiglia genica selezionata. Nel menu a tendina Options, tuttavia, è possibile cambiare la modalità di raggruppamento (clustering), oltre che la modalità di visualizzazione dei filamenti, la window size, e le specie coinvolte.

Cliccando sulle frecce, si ottengono il nome del gene e della specie sotto Information nel box a destra. Cliccando sul nome del gene, si visualizzano informazioni quali il filamento e il cromosoma su cui esso si trova, la tipologia (es. elemento trasponibile, sequenza codificante) e la struttura genica (in disegno). Il Toolbox permette di accedere ad utili strumenti quali skyline (per trovare colinearità del gene con regioni all'interno del genoma della stessa specie o di altre specie), ATV applet trees, Jalview, BLAST (per lanciare la sequenza contro il database PLAZA o il database protein di NCBI).

Ritornando alla scheda Synteny Plot e cliccando sull'ID della famiglia genica sotto la sezione Gene Family, vengono invece visualizzate una Overview sulla famiglia genica e un Toolbox. L'Overview consiste di una breve scheda e di un grafico a torta che mostrano il numero di subfamiglie geniche e la loro distribuzione all'interno delle specie in cui il gene query risulta essere presente; da qui è anche possibile scaricare le sequenze geniche o proteiche. Cliccando su una fetta del grafico, vengono visualizzate informazioni riguardanti i geni appartenenti alla famiglia genica di interesse in un preciso organismo tra quelli presenti. Il Toolbox ci dà la possibilità di visualizzare la disposizione dei geni sui cromosomi di una specie di interesse utilizzando Whole Genome Mapping, di ottenere delle note funzionali con GO, di fare allineamenti multipli e di vedere l'albero filogenetico. Mi soffermo brevemente sulla funzionalità [View genome wide](#)

[organization](#) . Cliccando su questo link e selezionando [View Genome Mapping](#) si apre la scheda relativa ad *Arabidopsis lyrata*, che io ho scelto per portare un esempio. Interessante notare che cliccando sopra la linea rappresentante uno dei geni presenti in *A. lyrata* e appartenente alla famiglia HOM000704, se ne ottiene una scheda informativa. **WGMapping** è raggiungibile anche con il percorso Analyze on the Menu bar → WGMapping.

**Skyline plot** (Analyze on the Menu bar → Skyline plot). Fornisce una overview di regioni colineari intra- e inter- specifiche. Naturalmente, selezionare solo l'organismo per il quale è stato fornito il locus query significa visualizzare le regioni duplicate all'interno del genoma. Analizziamo alcune funzionalità di questo strumento digitando PT01G16600, id di un locus genico dell'organismo *Populus trichocarpa*, all'indirizzo <http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/collinearity/index> . Nel menu Options sulla destra è possibile scegliere la lunghezza in nucleotidi della regione visualizzata attorno al locus query (da un minimo di 50 nucleotidi fino all'intero cromosoma). Cliccando sull'ID del gene si visualizza una scheda simile a quella già descritta precedentemente per lo strumento Synteny plot.

**WGDotplot** (Analyze on the Menu bar → WGDotplot). Riporta rappresentazioni grafiche di sequenze colineari inter- o intra-specifiche a seconda di come se ne impostino i parametri. È possibile visualizzare uno standard dotplot o un dotplot circolare. Cliccando su una specifica cella dello standard dotplot, è possibile ottenere una visualizzazione più dettagliata della colinearità tra i due cromosomi selezionati. Un plot circolare riporta tutte le regioni colineari all'interno di una singola specie; dal momento che viene omessa la colinearità del genoma con se stesso, vengono evidenziate in modo più dettagliato le regioni colineari al suo interno. Provando ad utilizzare questo strumento contro il genoma di *Volvox*, appare chiaro come due sole regioni mostrino colinearità ([http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/dotplot/circle\\_plot2/2/fs/vca](http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/dotplot/circle_plot2/2/fs/vca) ). Per ottenere un plot circolare inter-specifico, usare il pulsante Add extra organism (scorrere fino a fine pagina del precedente link).

**Ks-graphs** (Analyze on the Menu bar → Ks-graphs). Permette di sovrapporre più grafici di colinearità. È possibile confrontare genomi di organismi diversi o le sequenze genomiche dello stesso organismo con diverso ks value (probabilità di sostituzioni sinonime per sito sinonimo) per ogni esperimento.

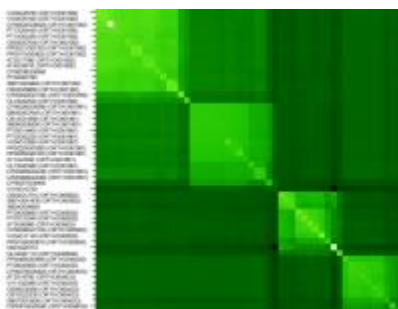
#### STRUMENTI: LOCALIZZAZIONE

**Functional cluster** (Analyze on the Menu bar → Functional Cluster). Permette di visualizzare la posizione e il contenuto di cluster funzionali su uno specifico cromosoma di un organismo scelto. Si clicchi sul sottostante link per avere l'overview del cromosoma 1 di *Volvox carterii* ottenuta con questo tool. [http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/functionalcluster/chrom\\_clusters/vca/C\\_Hunter](http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/functionalcluster/chrom_clusters/vca/C_Hunter) È possibile visualizzare determinati tipi di cluster funzionali impostando il parametro desiderato dal menu a tendina Go type, all'interno del box Options che compare sulla destra.

Un altro strumento utile al fine di localizzare geni è il già citato **WGMapping**.

#### STRUMENTI: EVOLUZIONE DI FAMIGLIE GENICHE

Tutti gli strumenti di seguito descritti sono disponibili nei Toolbox, e non dalla Menu bar.



**Similarity heatmap**. Utile per visualizzare similarità tra tutti i geni all'interno di una famiglia, al fine di controllare i raggruppamenti (cluster) o individuare sotto-gruppi. Il grado di similarità è indicato da tonalità diverse di verde: un verde più scuro sta a significare bassa similarità, mentre il bianco rappresenta il grado più alto di similarità.

**Orthologous gene tool.** Permette di ottenere geni ortologi di un gene query.

**Tree explorer.** Permette di visualizzare l'albero filogenetico di una famiglia genica. Il sottostante link, riconduce all'albero filogenetico della famiglia genica HOM000704, prima presa in considerazione.

[http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/gene\\_families/explore\\_trees/HOM000704](http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/gene_families/explore_trees/HOM000704)

### **ALGAEBASE**

<http://www.algaebase.org/>

AlgaeBase è un database di impostazione tassonomica e informativa riguardante alghe (terrestri e marine) e organismi d'acqua dolce. Digitando Volvox nella sezione Genus della Menu bar, viene visualizzata una scheda ([http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus\\_id=43497&-session=abv4:59BD3E3B1dc3621235ouO4163AF4](http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=43497&-session=abv4:59BD3E3B1dc3621235ouO4163AF4)) contenente la classificazione filogenetica di Volvox Linnaeus, alcune informazioni generiche sul genere, il numero delle specie correntemente accettate come unità tassonomiche (17 su 133) e links ad altre specie e subspecie di Volvox. Cliccando su questi ultimi, si aprono brevi schede riportanti la classificazione tassonomica della specie in questione. Compare in tutte una sezione NCBI nucleotide sequence, ma in nessuna scheda viene riportato il link ad NCBI; per questo motivo e per l'assenza di strumenti per l'analisi bioinformatica, reputo AlgaeBase uno strumento valido più dal punto di vista tassonomico che bioinformatico.

### **References**

1. "Molecular Biology of the Cell", 1994, Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and James D Watson. New York: [Garland Science](#); 1994.
2. Kirk, D.L. (1998). *Volvox: Molecular Genetic Origins of Multicellularity and Cellular Differentiation* (New York, Cambridge University Press).
3. Kirk, D.L. (2003). Seeking the ultimate and proximate causes of Volvox multicellularity and cellular differentiation. *Integr. Comp. Biol.* 43, 247–253.
4. David L. Kirk (*Current Biology* 2004 14:R599). Department of Biology, Campus Box 1229, Washington University, St. Louis, Missouri 63130, USA.
5. MetaMicrobe, <http://www.metamicrobe.com/volvox/>