

Il metabolismo primordiale: geni e genomi

1. Introduzione e conoscenze attuali

Matteo Brilli

2. Meccanismi di evoluzione

Marco Fondi

Tutte le forme di Vita

Tempo

Ultimo
antenato
comune

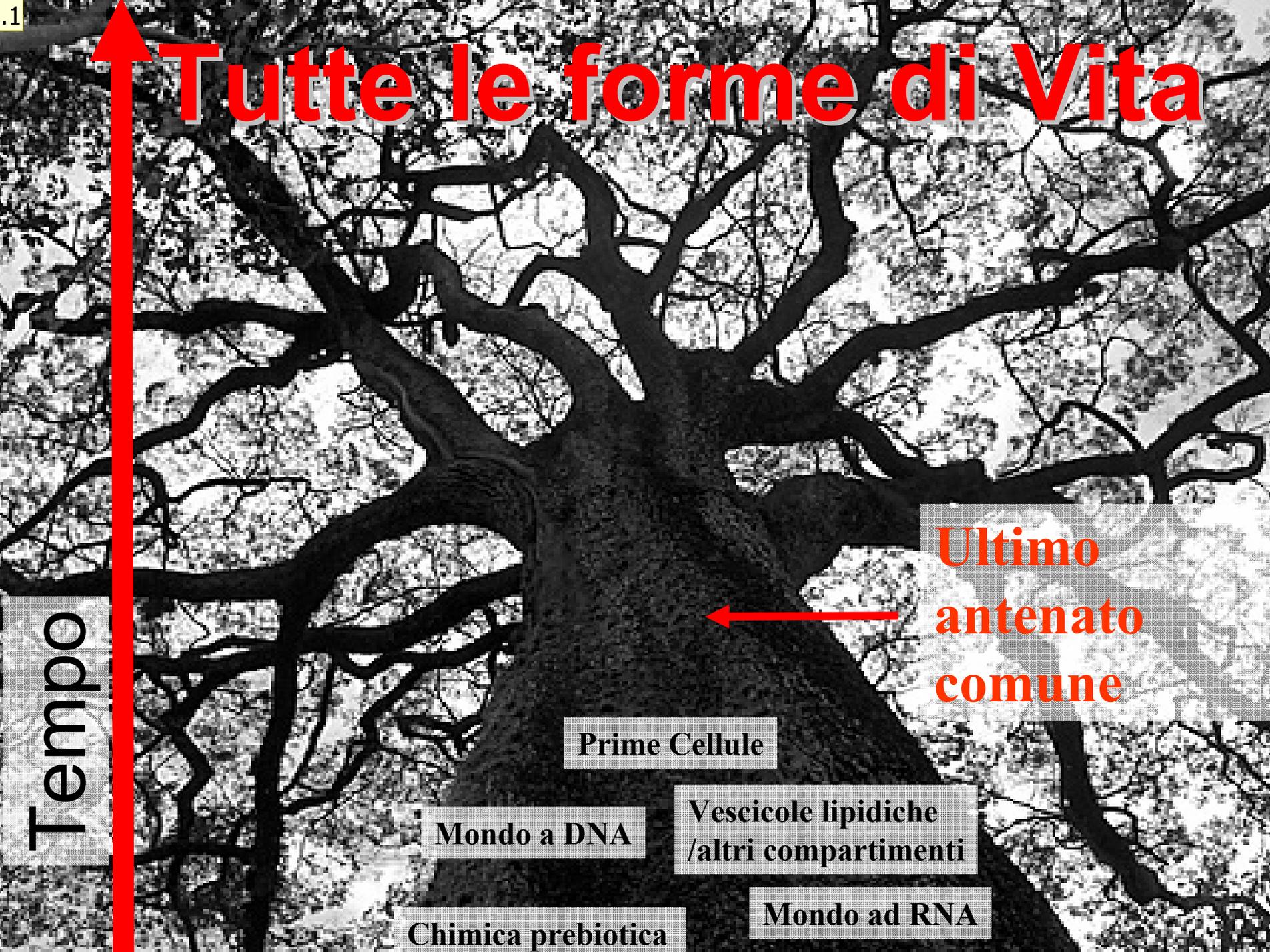
Prime Cellule

Mondo a DNA

Vescicole lipidiche
/altri compartimenti

Chimica prebiotica

Mondo ad RNA



.1

Le sorprendenti somiglianze che caratterizzano tutte le forme di vita note, e che riguardano i più fondamentali processi che si svolgono all'interno della cellula, indicano una derivazione comune per tutti gli organismi viventi. Questo significa che l'uomo, il lievito ed il batterio E. coli condividono fra loro e con tutte le altre forme di Vita almeno un antenato comune. Come è già stato detto, tale antenato viene indicato con il nome di Ultimo Antenato Comune Universale, che in inglese viene reso brevemente con l'acronimo LUCA.

Appare evidente all' stesso tempo che le forme di Vita attuali sono caratterizzate da enormi diversità

Matteo Brilli; 16/12/2007

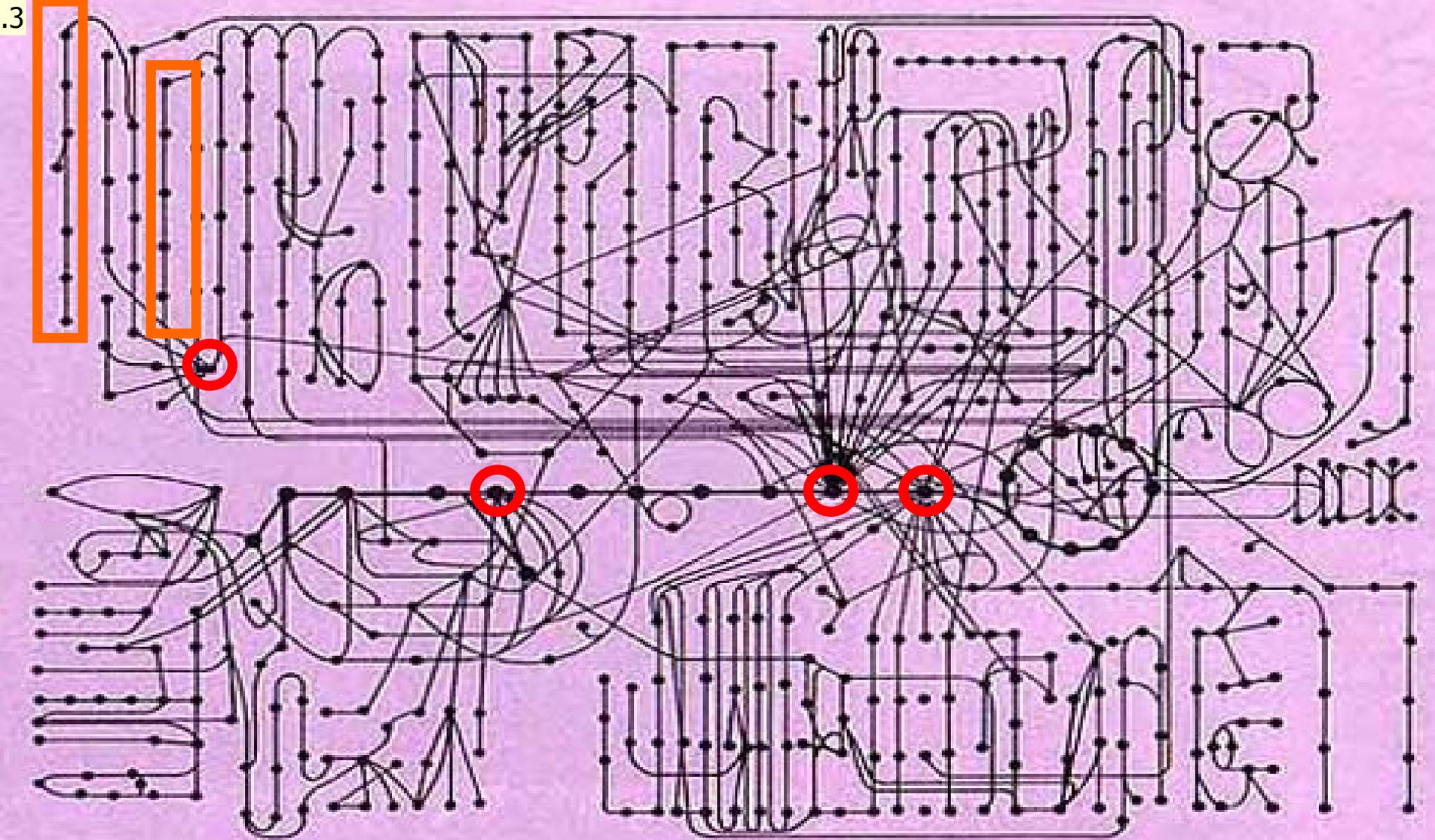


.2

le somiglianze riguardano infatti i processi molecolari che hanno luogo nella cellula e che sono stati tramandati nel corso del tempo di generazione in generazione e su cui si sono innestate le numerose differenze che riscontriamo oggi. Alcuni processi metabolici sono comuni a tutte le forme di Vita, e si può quindi assumere che si siano originati in tempi molto antichi.

Ma che cosa è il metabolismo?

Matteo Brilli; 16/12/2007



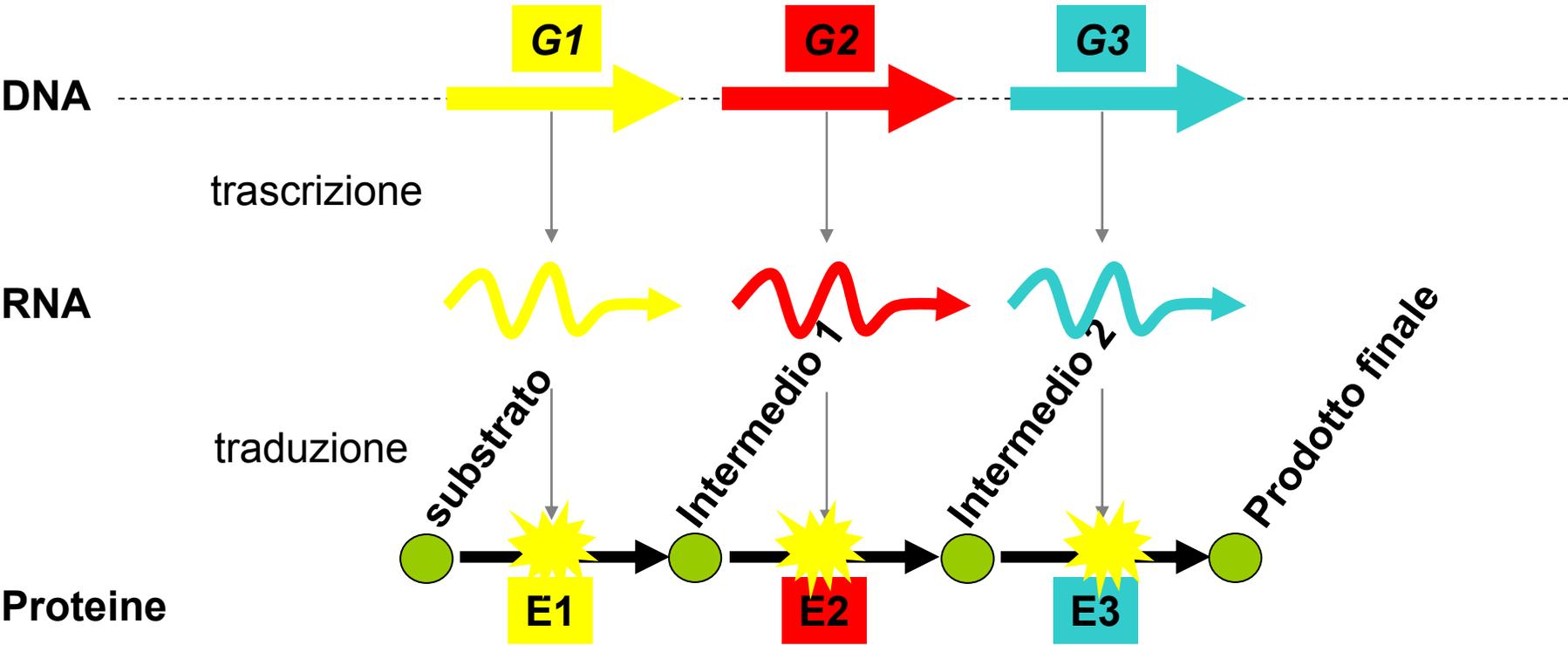
Il metabolismo è l'insieme delle reazioni chimiche e fisiche (**vie metaboliche**) che avvengono in un organismo o in una sua parte. Queste trasformazioni della materia sono reversibili e sono legate a variazioni della condizione energetica.

.3

leggi...esso è dunque formato da vie metaboliche, che possiamo vedere come i moduli che compongono la rete metabolica. differenti vie metaboliche possono essere interconnesse a livello di particolari intermedi chimici o enzimi. clic

Matteo Brilli; 16/12/2007

Via metabolica, uno schema

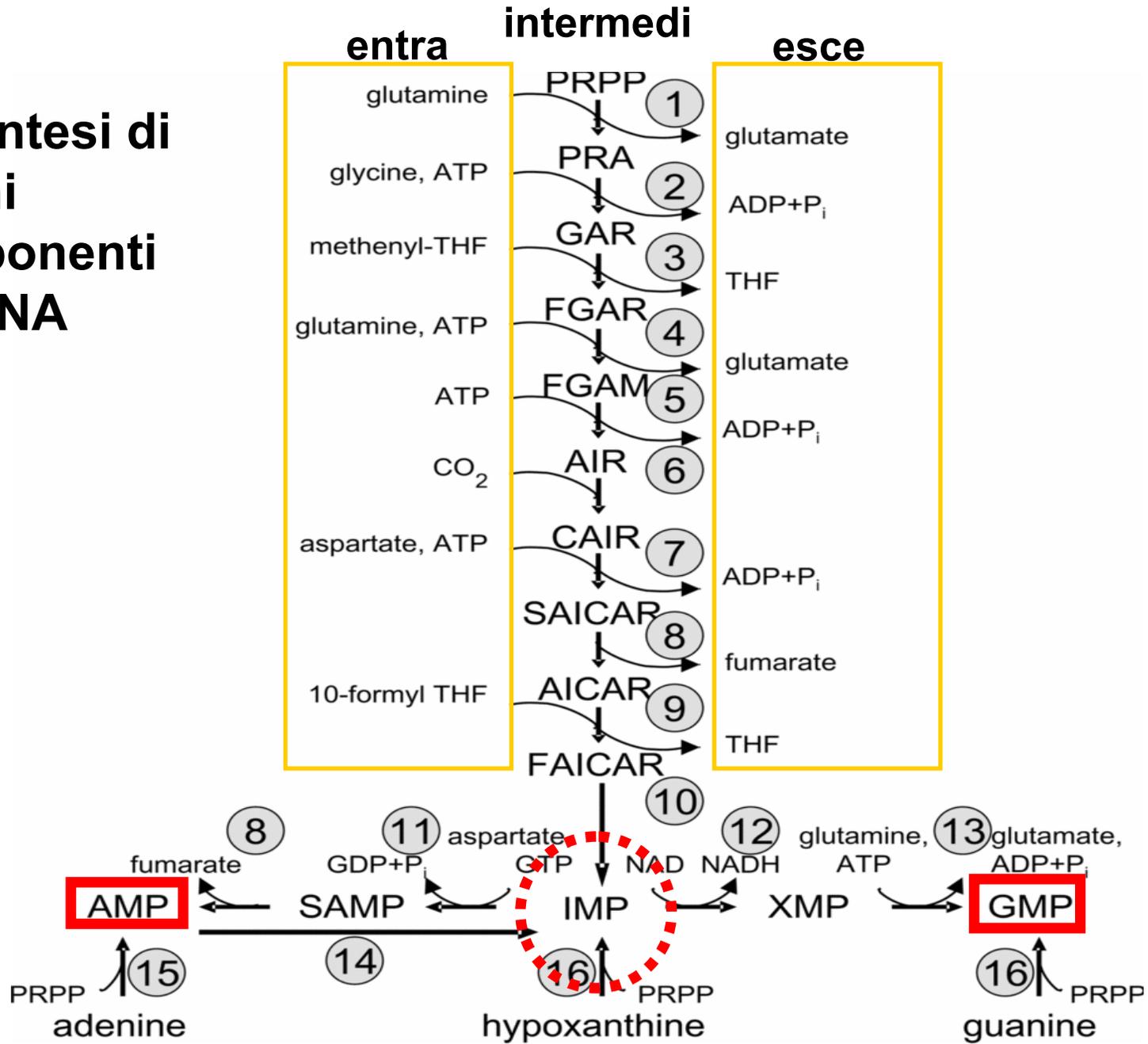


.4

Una via metabolica è un processo attraverso il quale un certo composto chimico viene modificato per produrne un altro o decomposto per produrre energia e mattoni elementari da riutilizzare nei normali processi cellulari (come aminoacidi e proteine).
Nell'esempio riportato, i tre geni G1-G3 vengono trascritti e poi tradotti dando luogo ad una serie di enzimi che operando in modo seriale, uno dopo l'altro, producono un certo prodotto finale dal substrato iniziale, attraverso tre passaggi. Per mostrare un caso reale...

Matteo Brilli; 16/12/2007

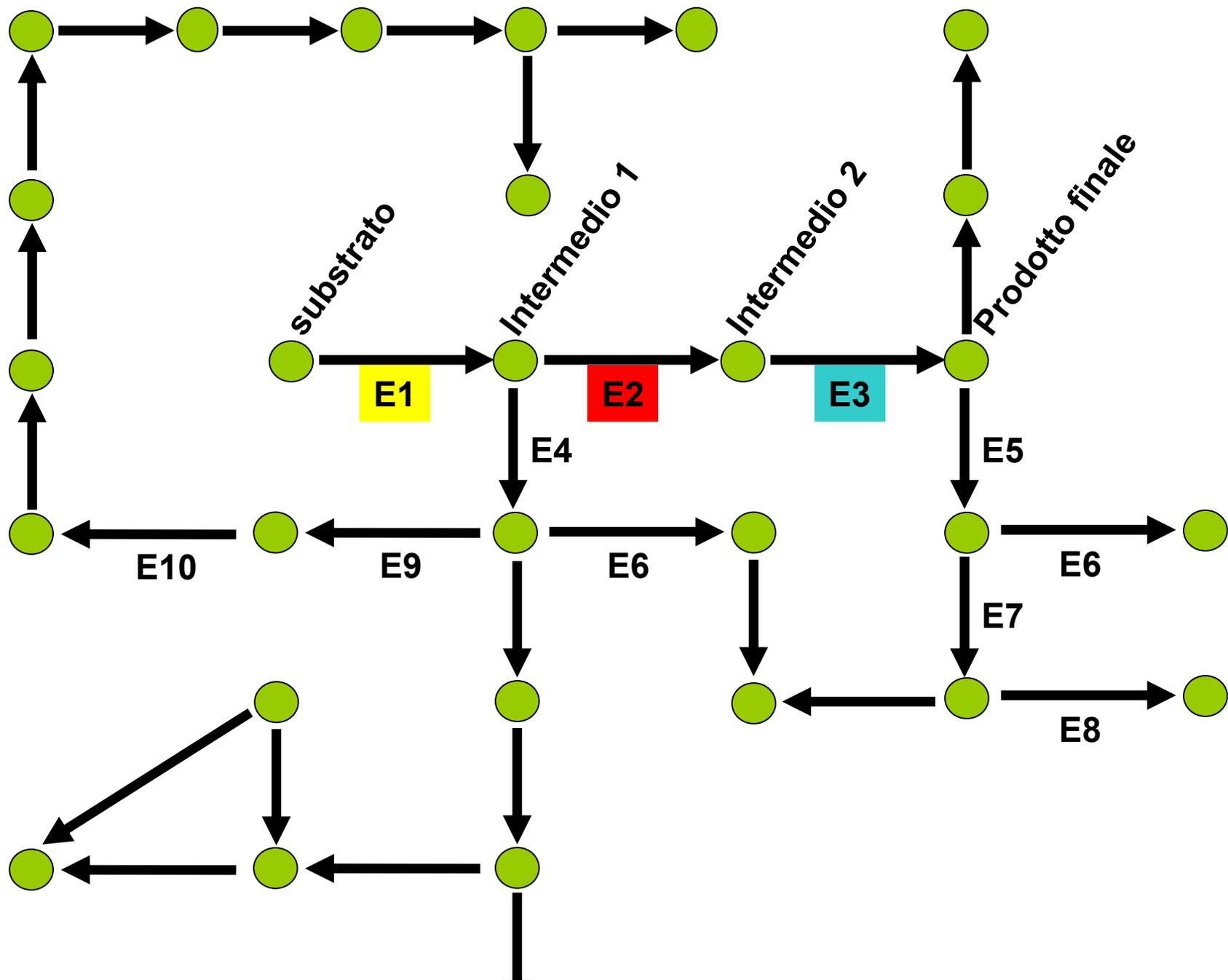
Es. Biosintesi di alcuni componenti del DNA



.5

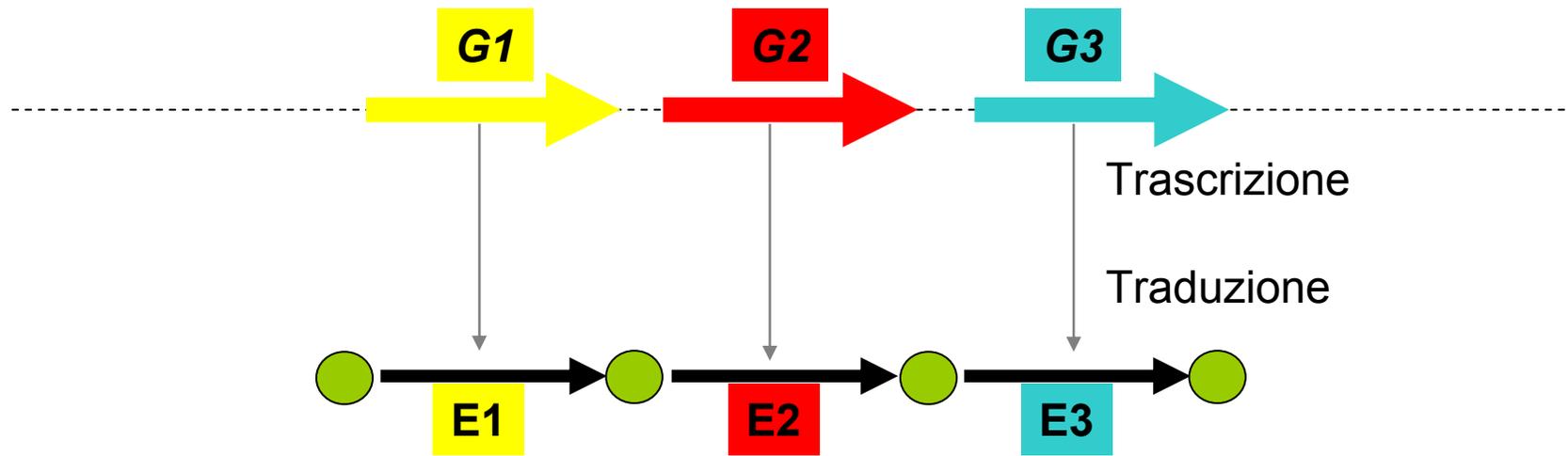
possiamo fare l'esempio della via metabolica per la produzione di alcuni componenti del DNA, AMP e GMP. nello schema si mostra anche ciò che entra ed esce dalla via metabolica, che necessita di quasi 20 enzimi. Rispetto allo schema precedente, si osserva una minore linearità, e soprattutto la biforcazione finale, mediante la quale da un unico composto (IMP) si possono ottenere l'AMP o il GMP.

Matteo Brilli; 16/12/2007

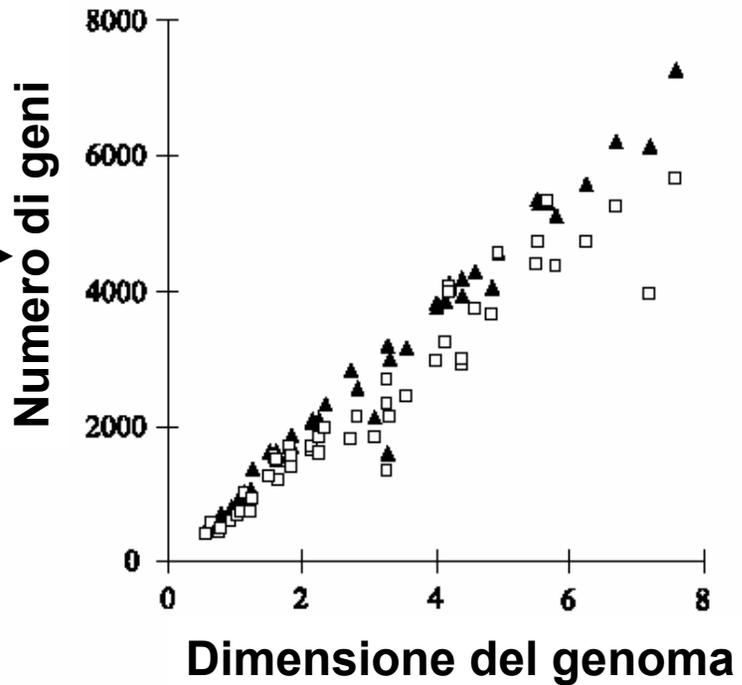


- .6 quindi una rappresentazione più veritiera può essere la seguente, con altre vie metaboliche che partono da intermedi della prima. si può quindi definire il metabolismo come...ta ta ta. il gradi di interconnessione fra vie metaboliche differenti determina un'enorme complessità del metabolismo reale,

Matteo Brilli; 16/12/2007



Correlazione
positiva con la
complessità del
metabolismo



.7

tornando alla nostra via metabolica schematica, si nota come vi sia una certa correlazione fra il metabolismo ed il contenuto genico di un organismo, clic, questo è stato dimostrato da molti studi di genomica comparativa che hanno messo in luce l'esistenza di una forte correlazione positiva fra complessità del metabolismo di una cellula e numero di geni che compongono il genoma. i progetti di sequenziamento

Matteo Brilli; 16/12/2007



Ultimo
antenato
comune



Stime b sulla comparazione di molti genomi e l'identificazione dei geni comuni a tutti indicano che il genoma dell'ultimo antenato comune era probabilmente

C.A. Ouzounis et al. / Research in Microbiology 157 (2006) 57–68

Campylobacter jejuni

Escherichia coli

Dimensioni relative dei genomi

- .8 hanno anche messo in luce che esistono notevoli differenze di dimensioni del genoma, ma soprattutto che esiste un certo numero di geni 'universali' ovvero che si trovano in tutti gli organismi o nella stragrande maggioranza di essi. In particolare, un lavoro recente ha utilizzato tale informazione per tentare di capire come potesse essere composto il genoma dell'ultimo antenato comune. esso doveva essere formato da un migliaio di geni circa. gli organismi attuali hanno un numero di geni che oscilla fra circa 500 in alcuni parassiti batterici, fino a molte migliaia, come nell'uomo ed in molte piante.

Matteo Brilli; 16/12/2007

Es. *Mesorhizobium loti* (6700 geni)

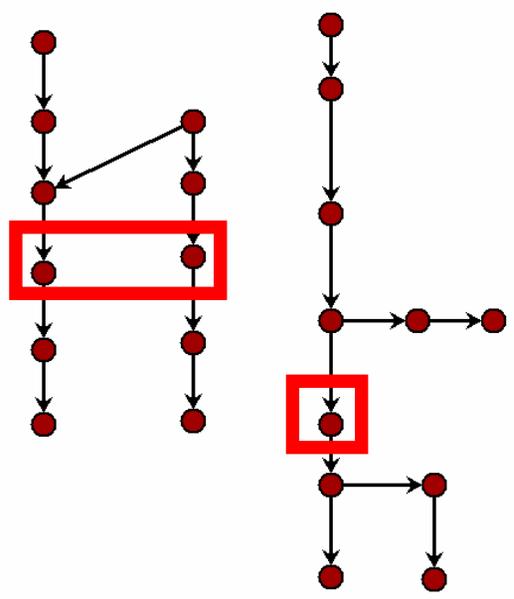
'Categorie' metaboliche	N geni
Translation, ribosomal structure and biogenesis	147
RNA processing and modification	0
Transcription	402
Replication, recombination and repair	228
Chromatin structure and dynamics	0
Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning	25
Nuclear structure	0
Defense mechanisms	59
Signal transduction mechanisms	157
Cell wall/membrane/envelope biogenesis	217
Cell motility	21
Cytoskeleton	0
Extracellular structures	1
Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport	82
Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	165
Energy production and conversion	257
Carbohydrate transport and metabolism	432
Amino acid transport and metabolism	526
Nucleotide transport and metabolism	66
Coenzyme transport and metabolism	162
Lipid transport and metabolism	160
Inorganic ion transport and metabolism	226
Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism	102
General function prediction only	703
Function unknown	431
Not Assigned	2175

.9

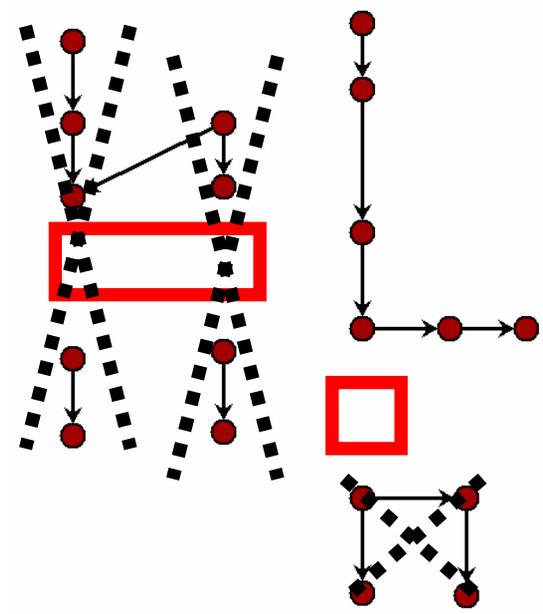
ad esempio nel genoma del batterio Mloti sono stati identificati almeno 6700 geni, la maggior parte dei quali sono stati inclusi in almeno una categoria metabolica, anche se rimangono molti geni di cui non sia nota la funzione o il processo metabolico di appartenenza. L'antenato universale comune aveva invece, come detto, soltanto un migliaio di geni, per cui dobbiamo chiederci che cosa succede alla rete metabolica se iniziamo a rimuovere geni

Matteo Brilli; 16/12/2007

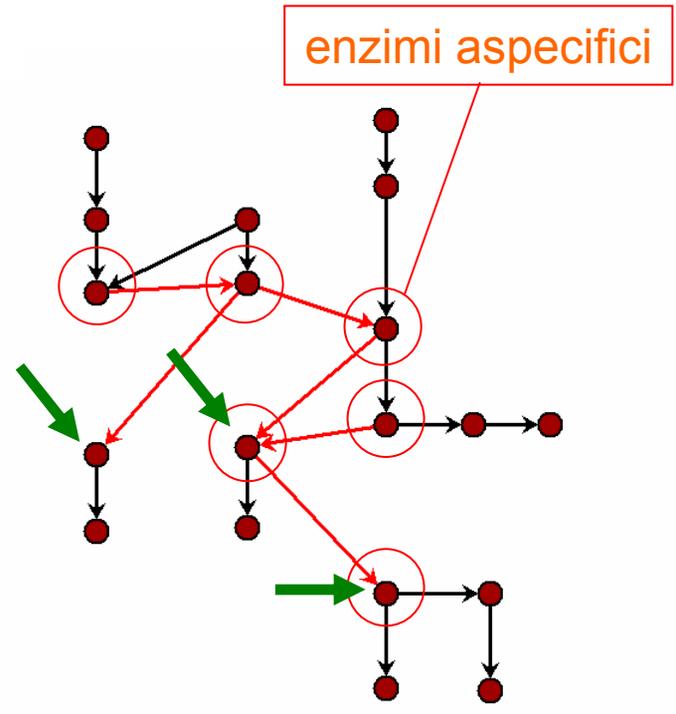
Metabolismo Ancestrale



Rete metabolica attuale



Rete metabolica disconnessa



Rete metabolica ancestrale altamente interconnessa

.10

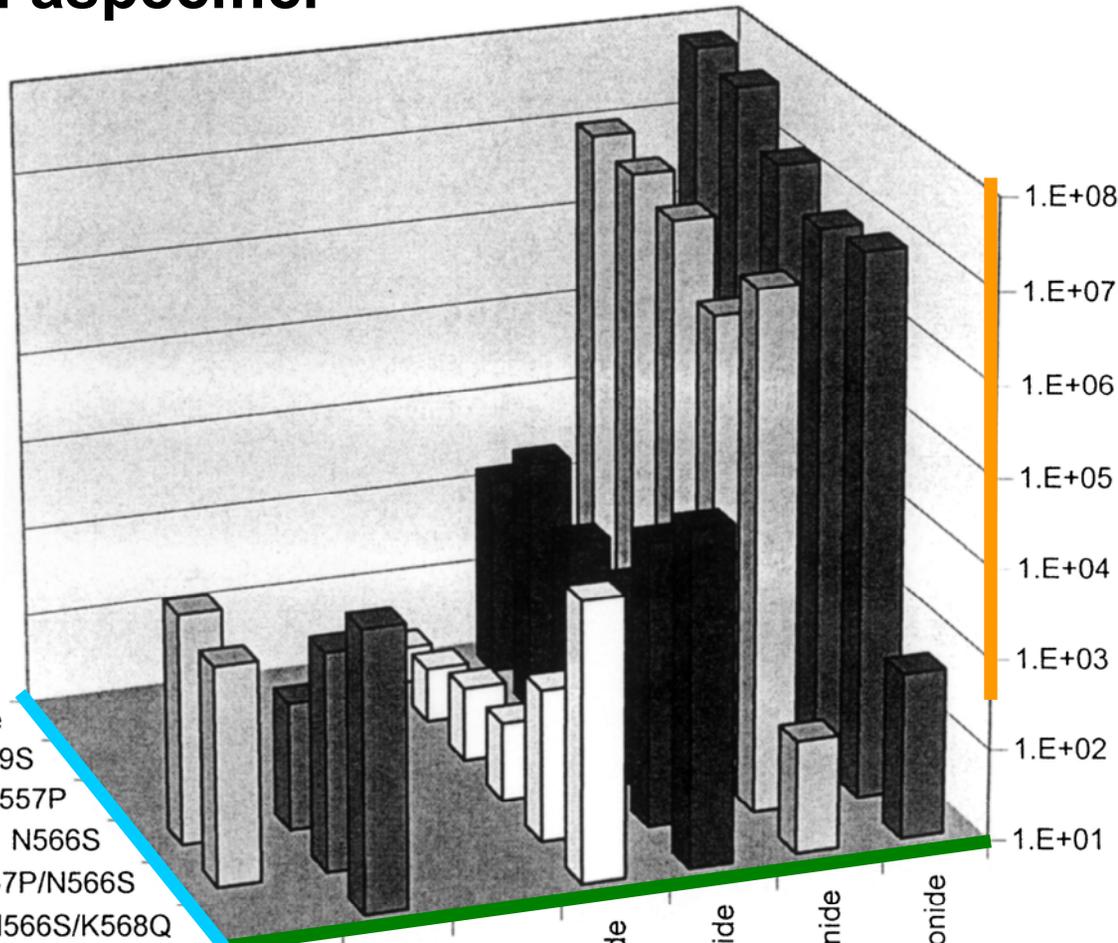
l'eliminazione di anche pochi geni determina la scomparsa di alcune vie metaboliche e quindi è stato suggerito che LUCA fosse piuttosto semplice come assetto metabolico. In alternativa, la visione che preferiamo, prevede che in tempi remoti esistessero nella cellula degli enzimi relativamente aspecifici, che erano cioè capaci di utilizzare substrati differenti, anche se probabilmente erano capaci di svolgere la catalisi con notevole lentezza se comparati agli enzimi attuali che nella maggioranza dei casi sono caratterizzati da un'estrema specificità di substrato ed un'alta velocità della reazione. In tempi remoti inoltre, come suggerito dall'ipotesi del brodo primordiale e dall'esperimento di Stanley Miller, doveva essere importante l'afflusso di nutrienti dall'esterno; questo avrebbe supportato un metabolismo relativamente inefficiente. Dai tempi remoti delle prime forme di vita cellulari ad oggi siamo dunque passati da una situazione con metabolismo relativamente inefficiente e piuttosto povero, ad una in cui specialmente le cellule batteriche, sono capaci di prodursi la maggior parte delle sostanze che richiedono per il loro ciclo vitale. Quale fu la spinta evolutiva all'acquisizione di nuove capacità metaboliche ed al loro perfezionamento? ed anche, di pari importanza, quali furono i processi molecolari che hanno permesso questa evoluzione?

Matteo Brilli; 16/12/2007

Enzimi aspecifici

enzimi mutanti

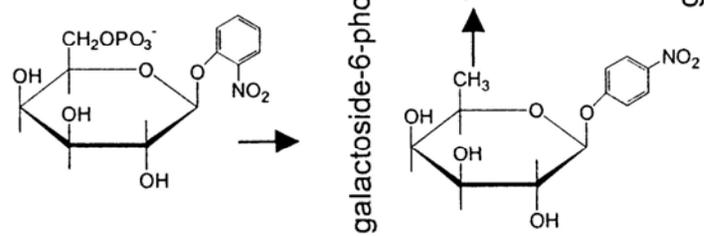
- wild-type
- T509S
- S557P
- N566S
- T509A/D531E/S557P/N566S
- T509A/S557P/N566S/K568Q



Velocità



Substrati differenti



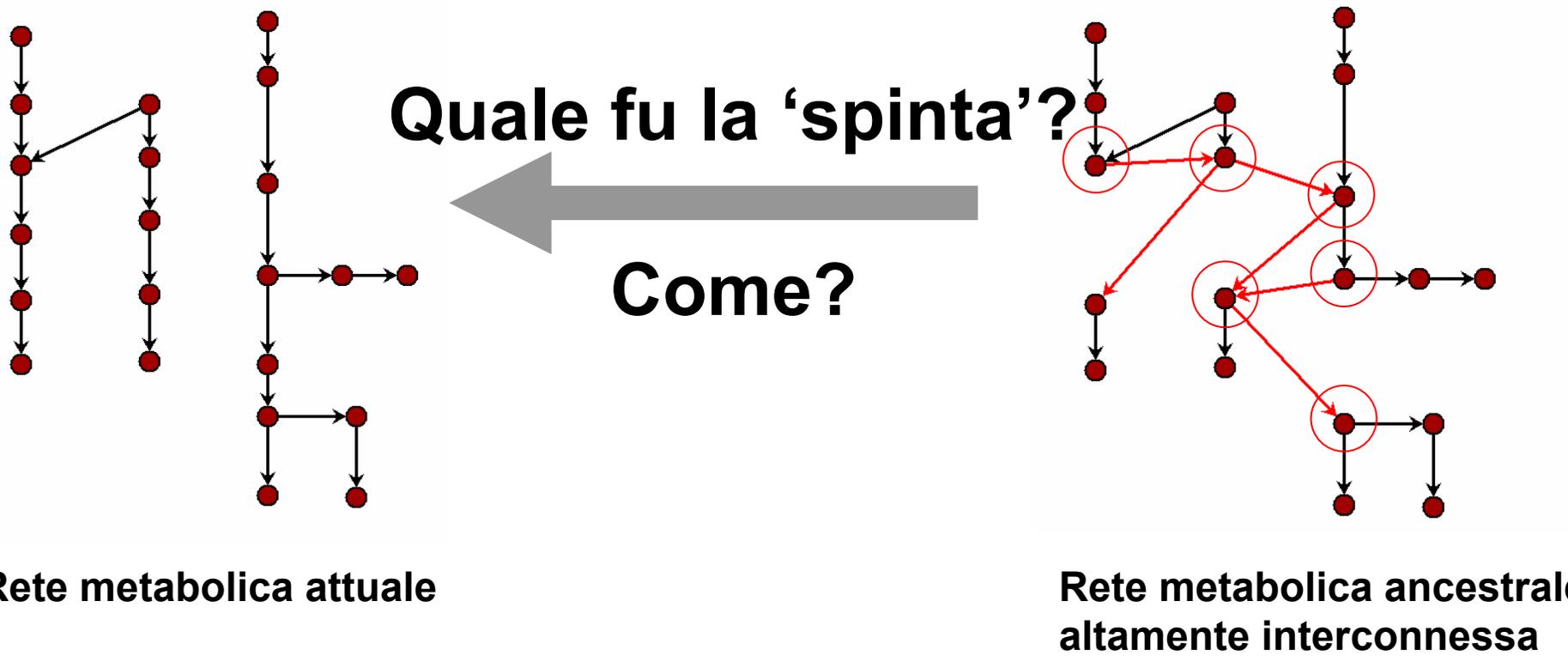
function

.11

L'idea dell'esistenza di enzimi aspecifici che potessero supportare più vi metaboliche in contemporanea, anche se in modo inefficiente, è supportata dall'esistenza di enzimi moderni dotati della stessa capacità ed anche dalla facilità con cui si ottengono enzimi ad attività modificata in seguito a piccole mutazioni genetiche. ta ta ta

Matteo Brilli; 16/12/2007

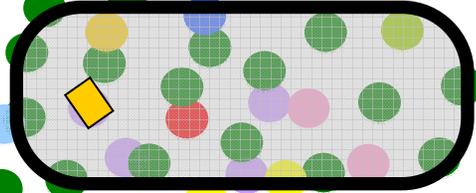
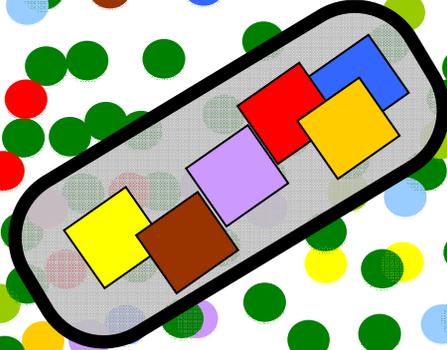
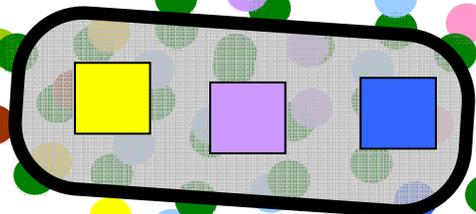
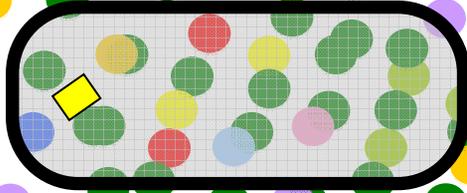
Metabolismo Ancestrale



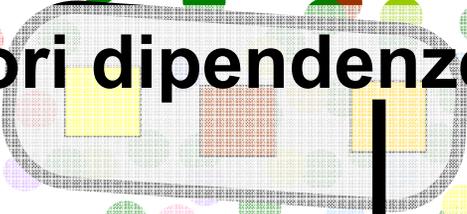
.12

le due domande fondamentali cui dobbiamo rispondere, riguardano le pressioni evolutive che promossero l'acquisizione di nuove capacità metaboliche ed i processi evolutivi che vi furono coinvolti in misura maggiore. Per quanto riguarda le prime, gli studi riguardanti le più probabili condizioni dell'ambiente primordiale in cui si originò la vita indicano una possibilità.

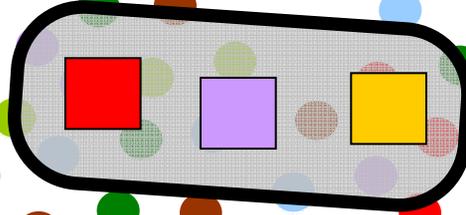
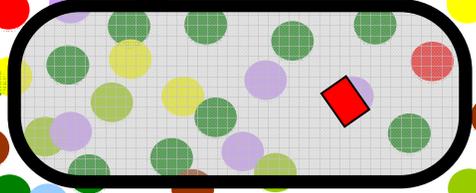
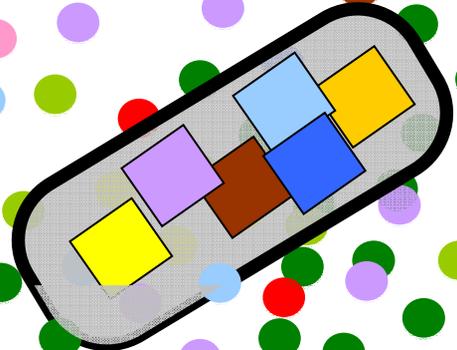
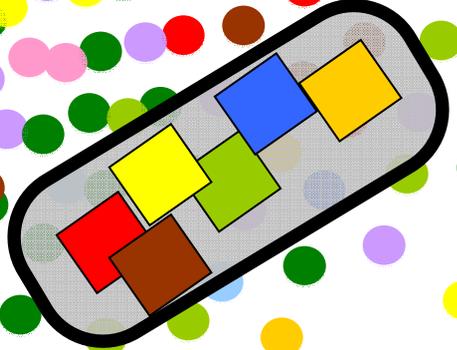
Matteo Brilli; 16/12/2007



Minori dipendenze dall'esterno



colonizzazione degli ambienti



.13

L'ambiente primordiale, sia che fosse un brodo primordiale del tipo ipotizzato nell'esperimento di Stanley Miller e nei libri di Oparin e Haldane oppure un ambiente circoscritto di tipo idrotermale come suggerito in tempi recenti, era probabilmente ricco di nutrienti e questo, come avevamo già visto, facilitava la sopravvivenza delle cellule primitive che erano eterotrofe. Le popolazioni cellulari ancestrali erano probabilmente eterogenee per capacità metaboliche e questo è rappresentato mediante l'utilizzo di quadrati di different colore, dove ciascun quadrato rappresenta una generica attività metabolica. Se dunque inizialmente l'abbondanza di nutrienti permetteva la sopravvivenza anche alle cellule metabolicamente carenti. Con il passare del tempo però la crescita delle cellule e l'intenso consumo di nutrienti portò ben presto alla diminuzione delle riserve. Questa situazione ebbe come effetto l'instaurarsi di una forte pressione selettiva che promosse la sopravvivenza di quelle varianti cellulari che avevano acquisito nuove capacità metaboliche.

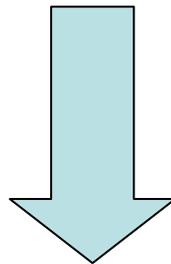
Una volta acquisite nuove capacità metaboliche, le cellule poterono iniziare a colonizzare i più disparati ambienti terrestri, questo processo rappresenta dunque un passaggio fondamentale nell'evoluzione dei viventi ed il dr. Fondi adesso parlerà degli eventi molecolari che stanno alla base dell'acquisizione di nuove attività metaboliche da parte dei microrganismi.

Matteo Brilli; 16/12/2007

Acquisizione di nuove capacità metaboliche

Aumento dell'informazione genetica

Acquisizione di nuove capacità codificanti



Assemblaggio di una via metabolica

Come si possono originare “nuovi geni”
a partire da geni preesistenti?

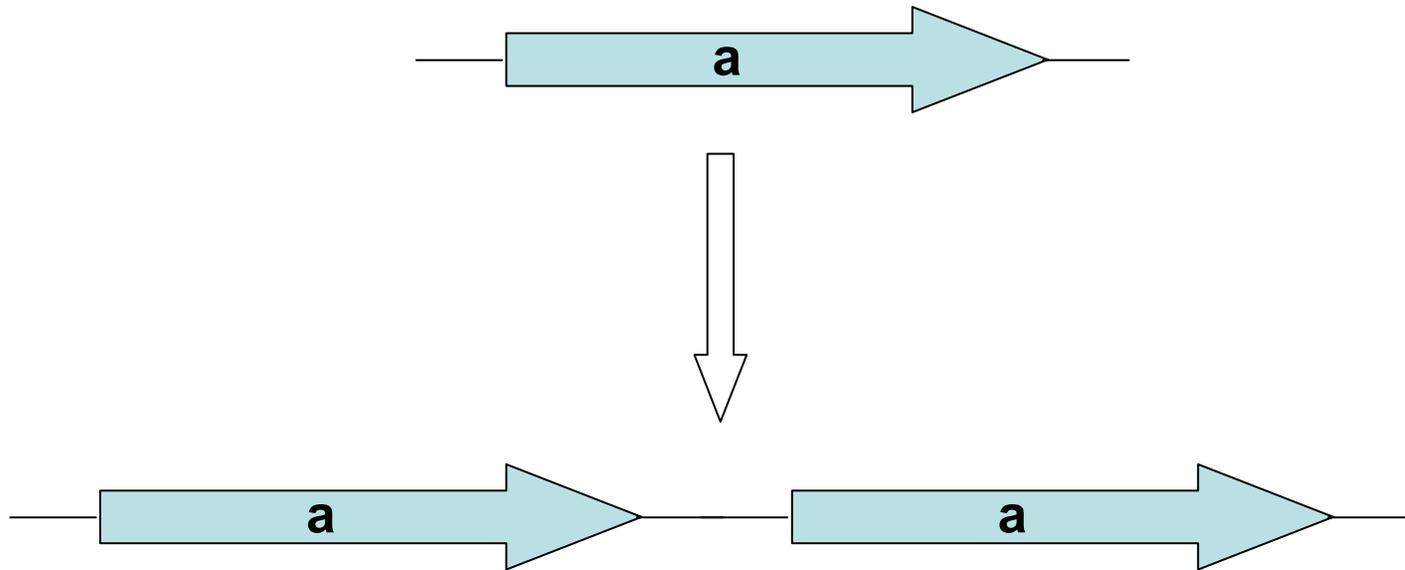


?



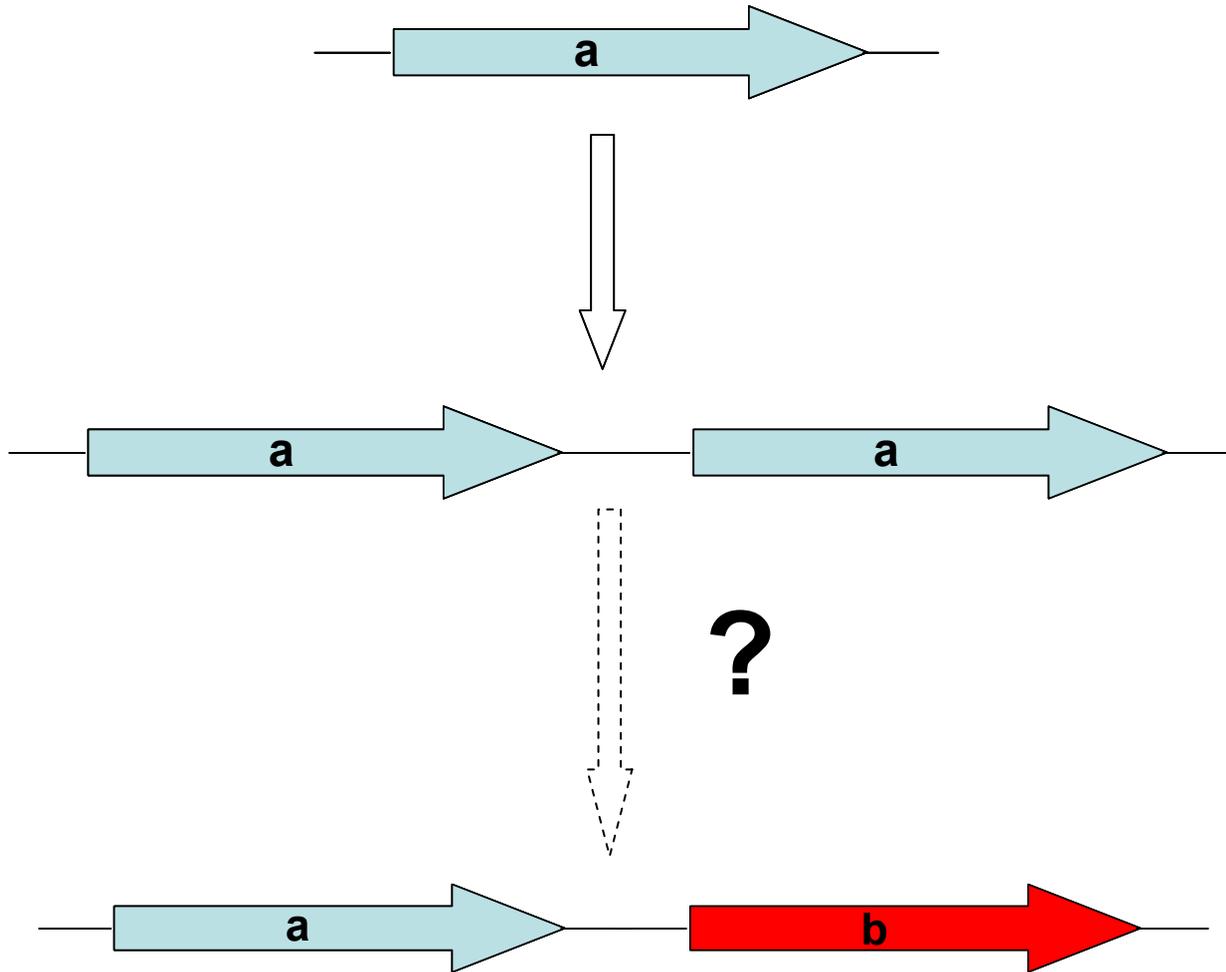
La **duplicazione genica** è una delle maggiori forze che ha guidato l'evoluzione dei geni e dei genomi

Duplicazione genica



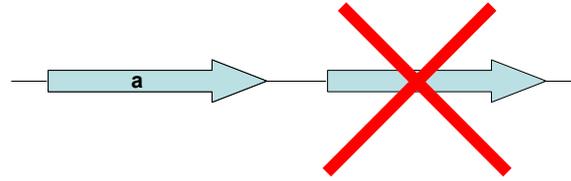
Aumento della quantità di materiale genetico disponibile

Dopo la duplicazione genica:



Dopo la duplicazione genica:

1. mutazioni deleterie: una delle due copie non viene mantenuta



2. nessuna mutazione: **mantenimento** del “nuovo gene”,
effetto di dosaggio genico

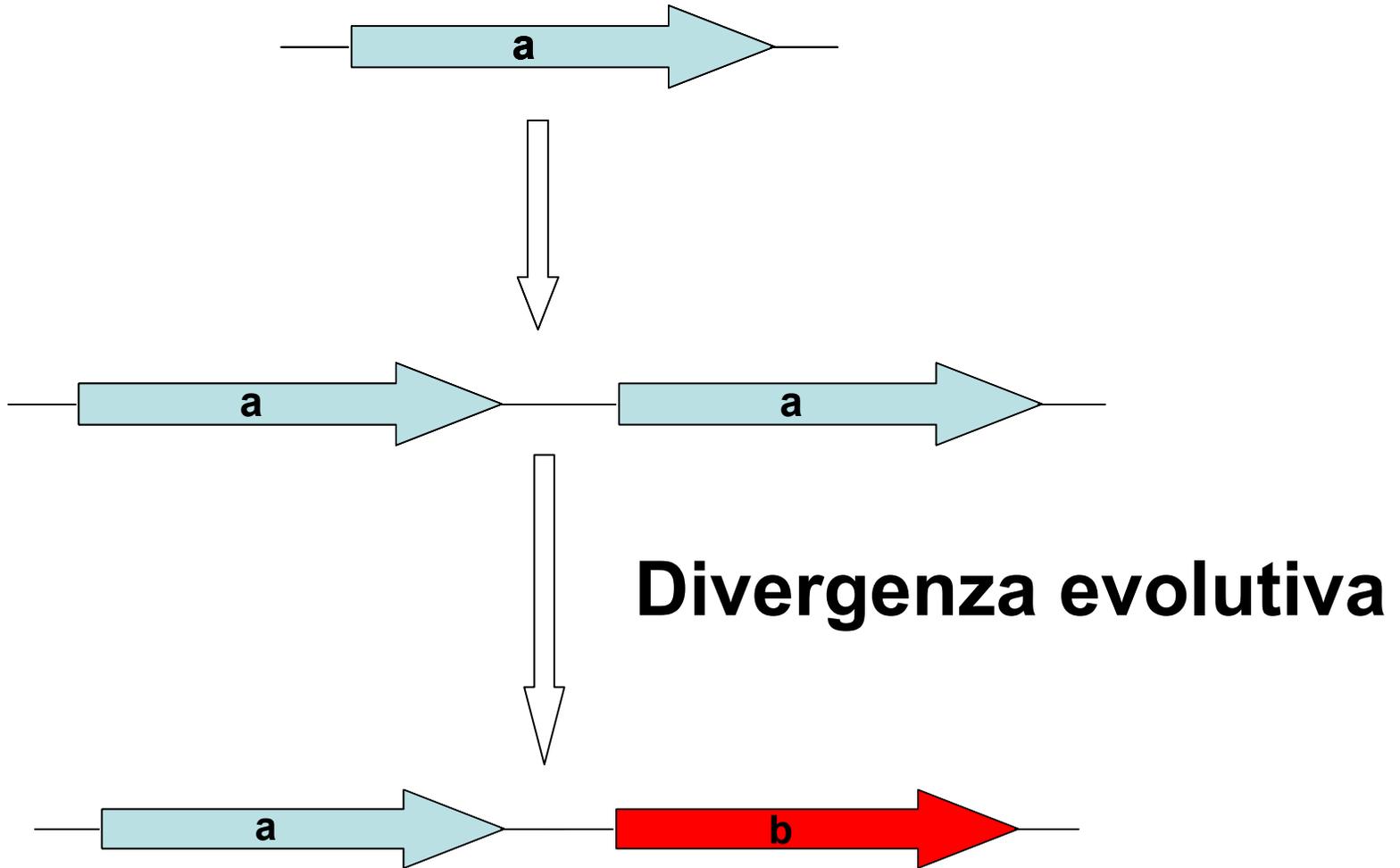


3. mutazioni “benefiche” che permettono ad una delle
due copie di acquisire una **funzione diversa**



Se la comparsa di una **nuova copia** di
un gene comporta **benefici**
all'organismo (aumenta la sua *fitness*)
questa verrà mantenuta (fissata) dalla
selezione naturale

Dopo la duplicazione genica:

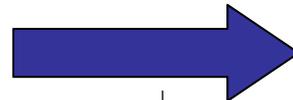
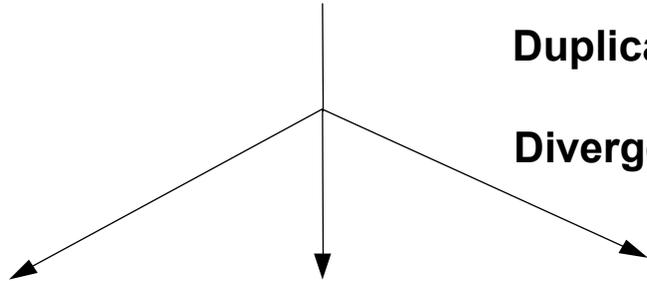


Questo percorso può essere ripetuto più volte : **cascata di duplicazioni geniche**

Gene ancestrale

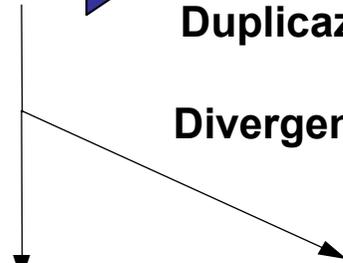
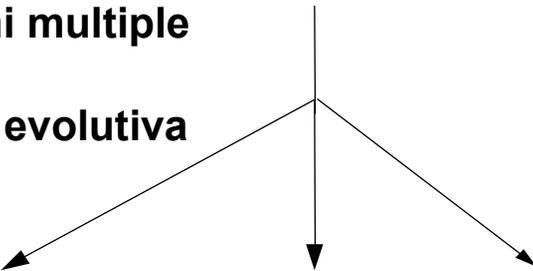


Duplicazioni multiple
&
Divergenza evolutiva



Duplicazione genica
&
Divergenza evolutiva

Duplicazioni multiple
&
Divergenza evolutiva



Famiglia di geni paraloghi

La duplicazione può coinvolgere più geni: duplicazioni operoniche

operone



Duplicazione operonica



Divergenza evolutiva



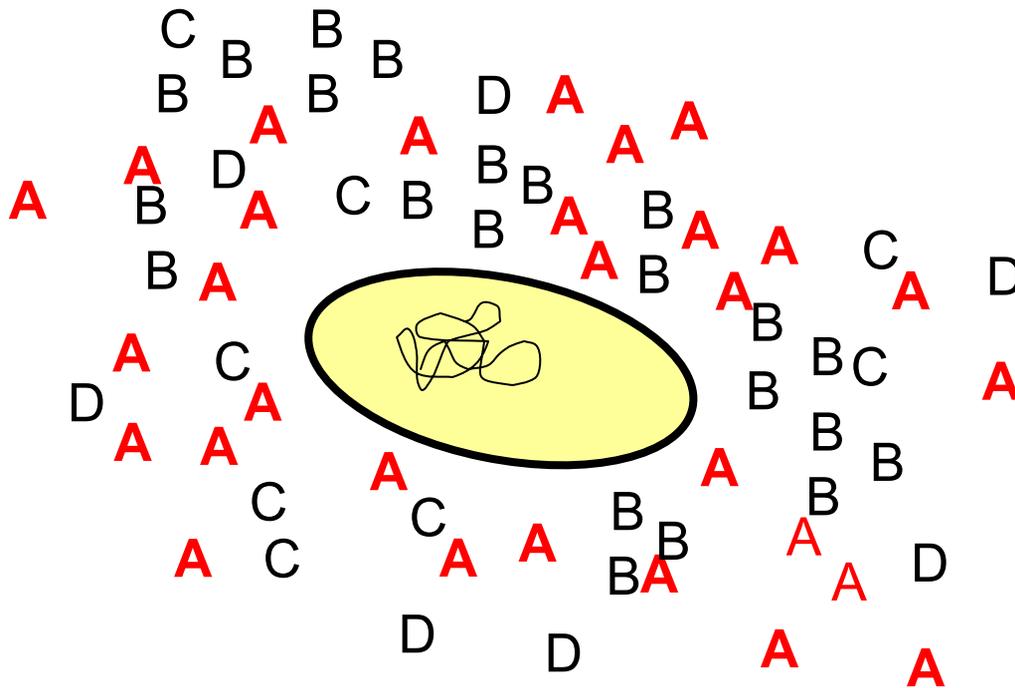
Costruzione di INTERE vie metaboliche

Ipotesi:

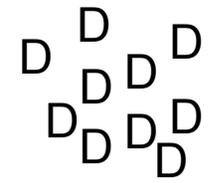
1. Ipotesi di **Evoluzione Retrograda** (Horowitz, 1945);
2. Ipotesi del **Patchwork** (Ycas, 1974; Jensen, 1976);
3. Ipotesi di **Evoluzione in Avanti** (Granick, 1965);
4. Ipotesi di **Waley** (1969);
5. Ipotesi **Semi-enzimatica** (Lazcano and Miller, 1999);

1. Ipotesi di evoluzione retrograda (Horowitz 1945)

Le prime cellule potevano trovare tutti i nutrienti necessari nell'ambiente esterno, ad es. il composto A:



Composto



E3

Composto



E2

Composto



E1

Composto



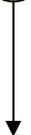
·
·
·
D



E3



E2



E1

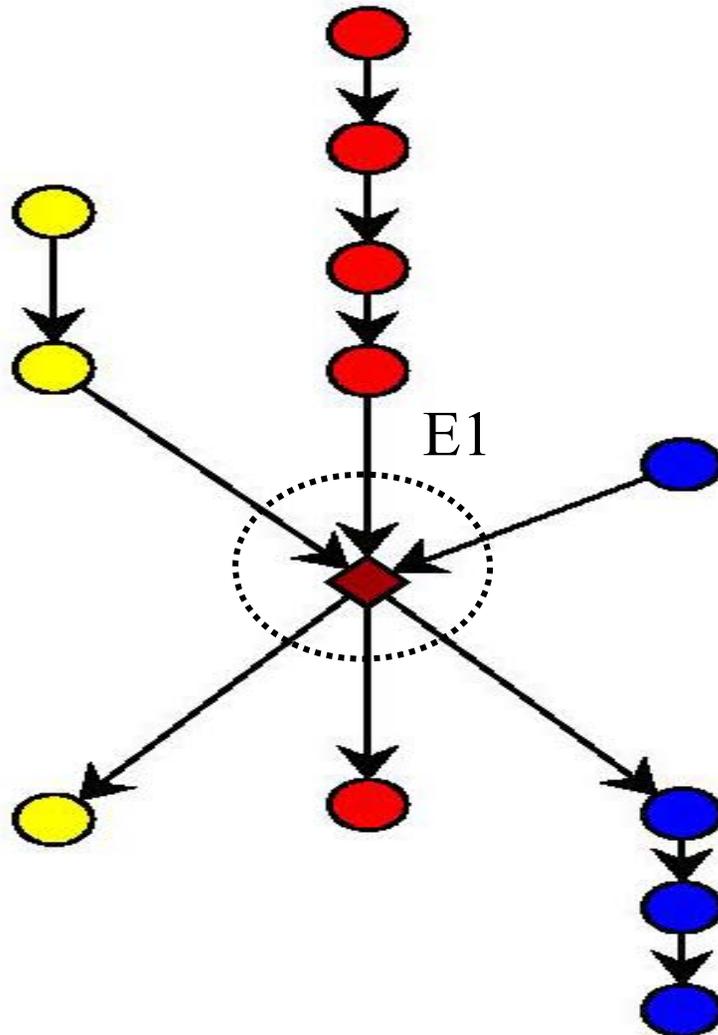


A

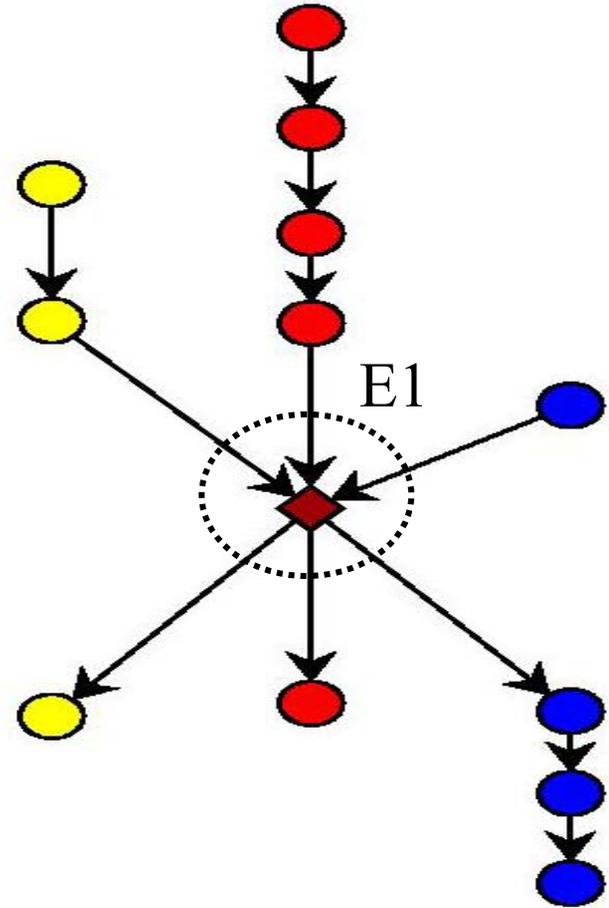
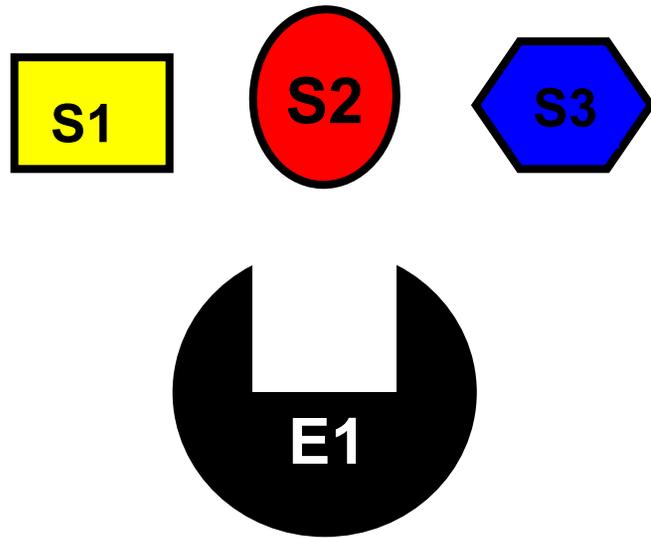
Il primo enzima di una via è il più “giovane”

L'ultimo è il più “vecchio”

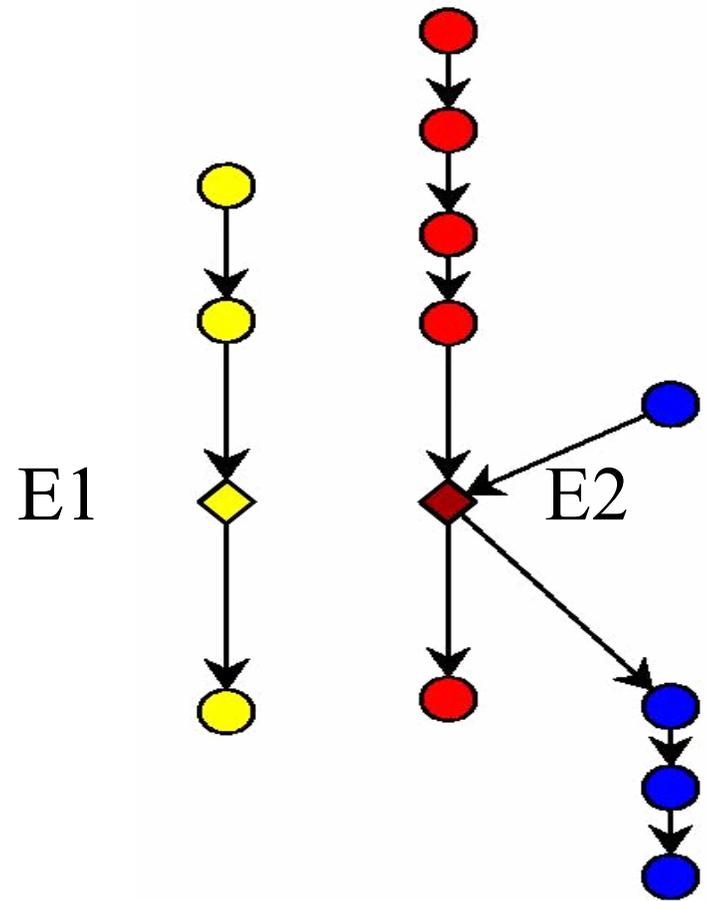
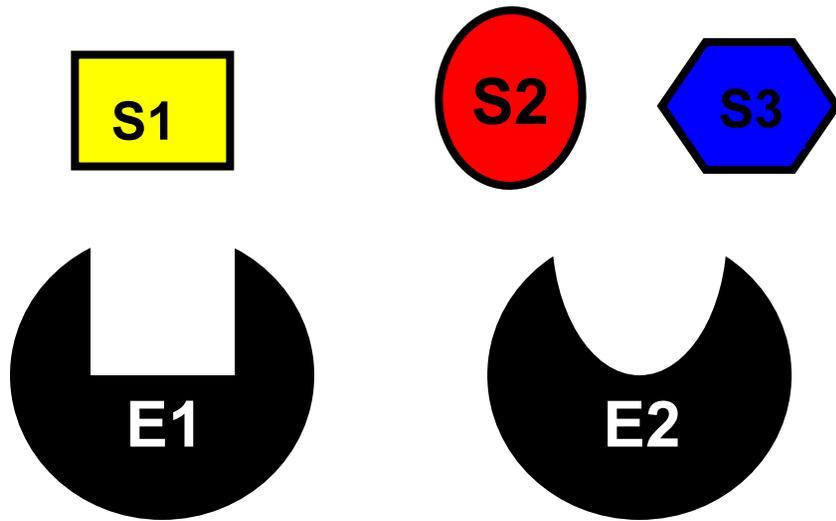
2. L'ipotesi del *Patchwork* (Jensen, 1976)



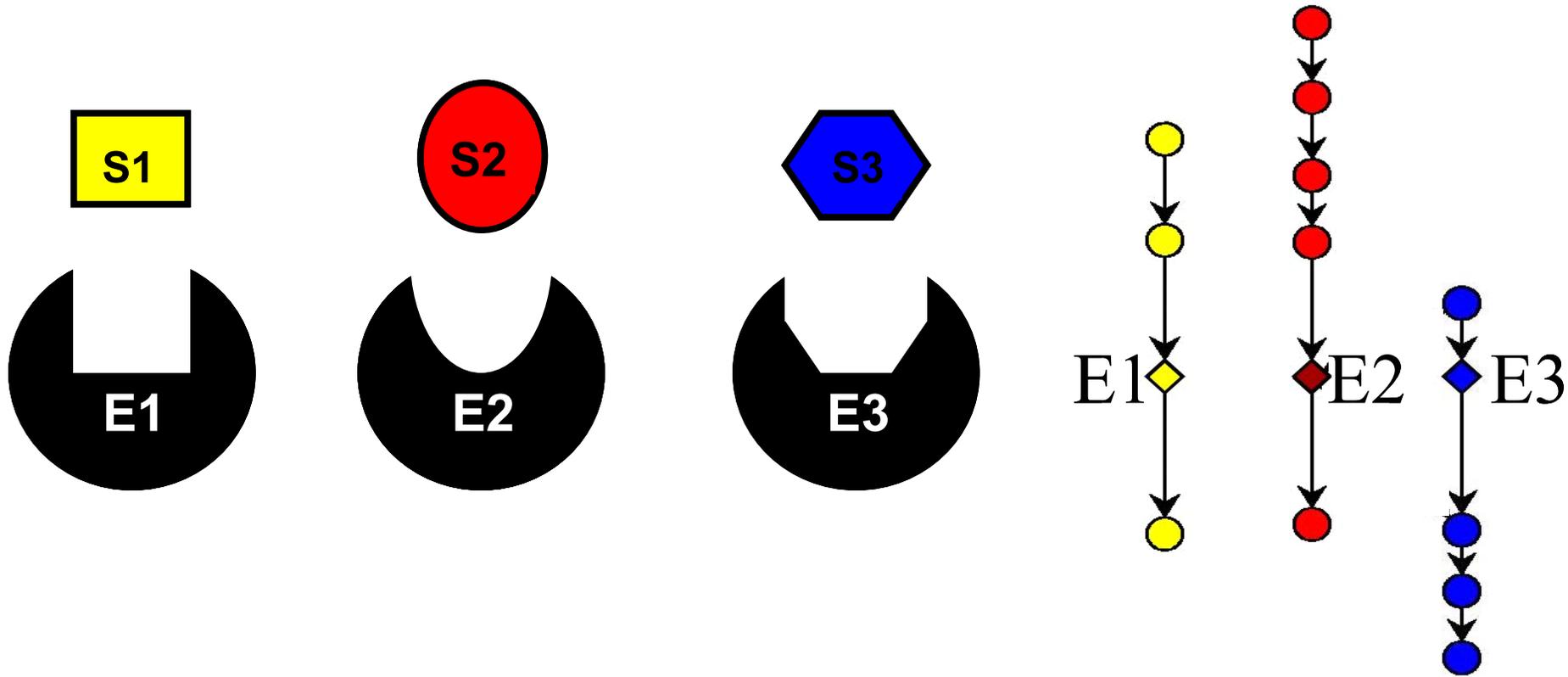
Gli enzimi ancestrali erano aspecifici (e meno efficienti) e capaci di utilizzare substrati diversi



Duplicazione genica e divergenza evolutiva



Duplicazione genica e divergenza evolutiva



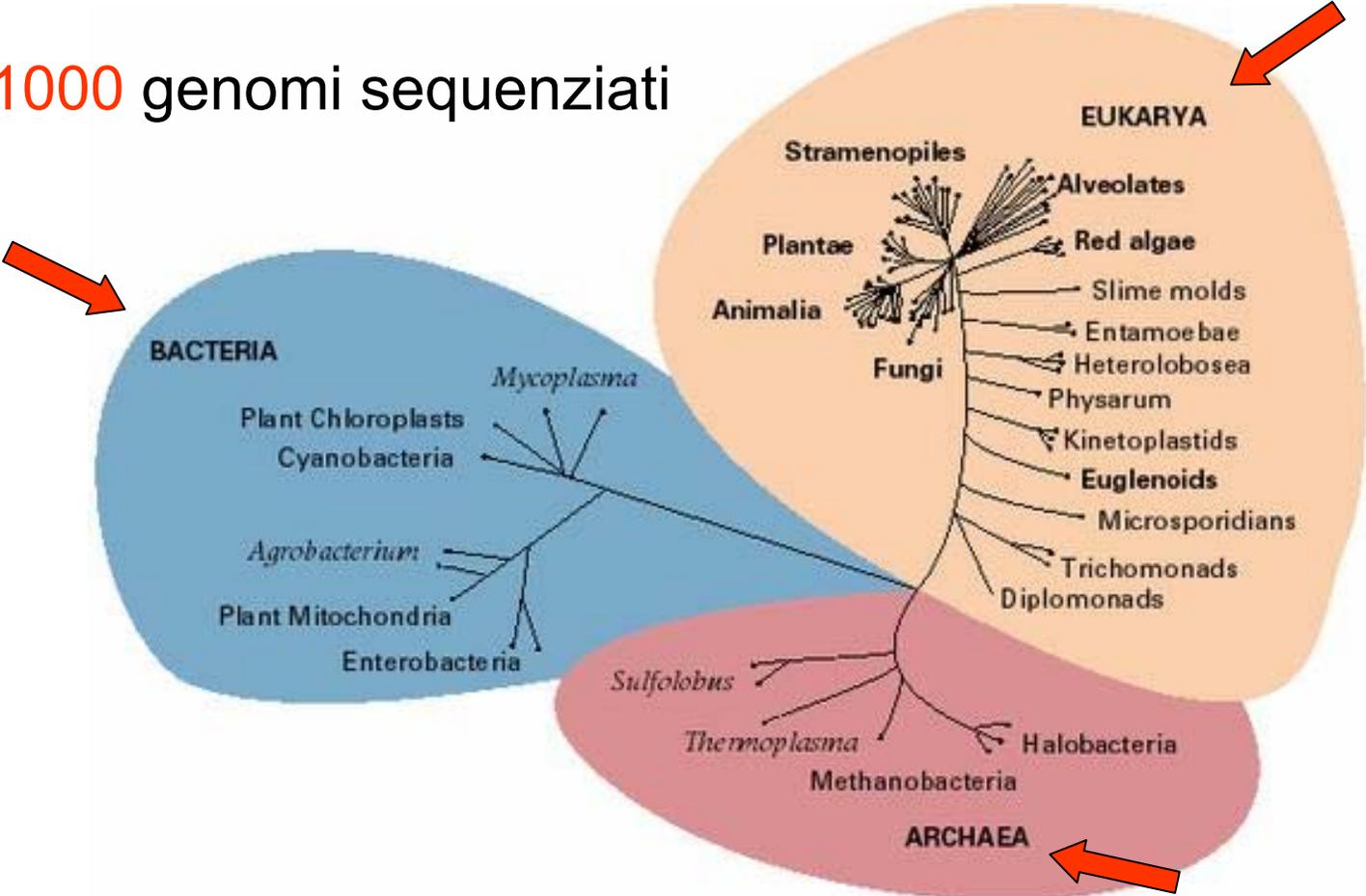
Un enzima per ciascuna via metabolica

Come si studia l'evoluzione delle vie metaboliche:

Approccio teorico/bioinformatico

(analisi comparativa di geni e genomi)

~ 1000 genomi sequenziati

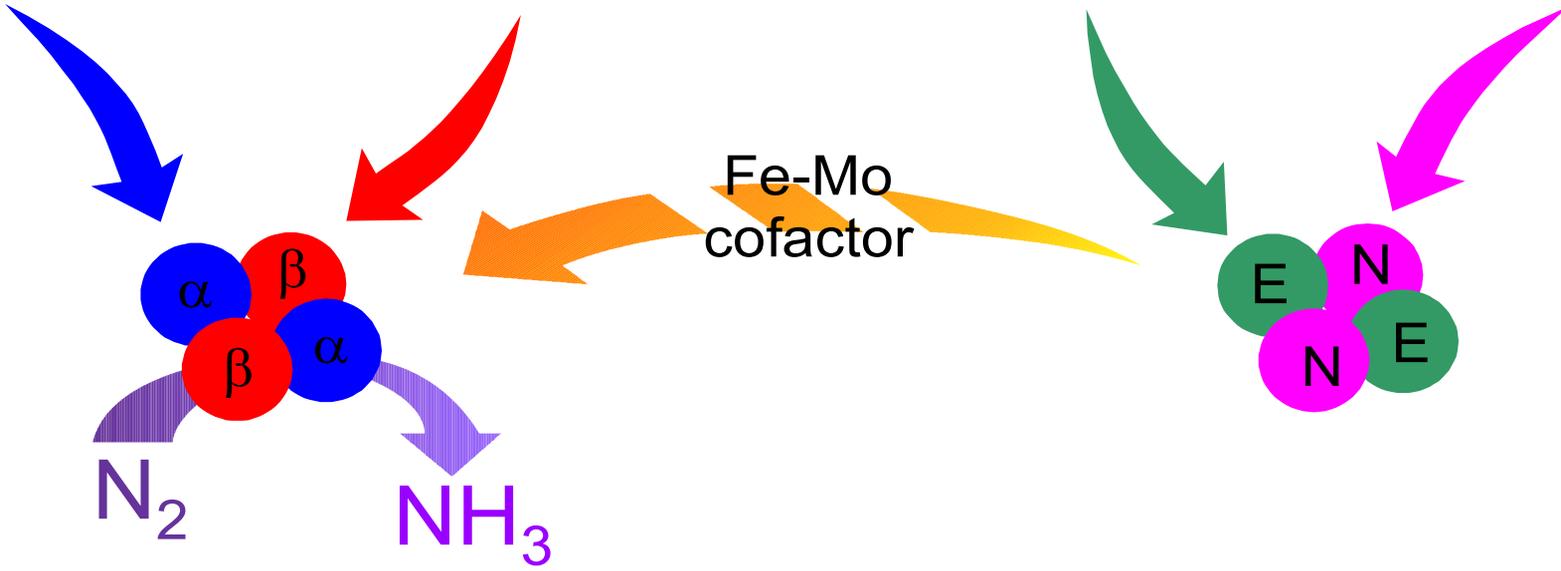
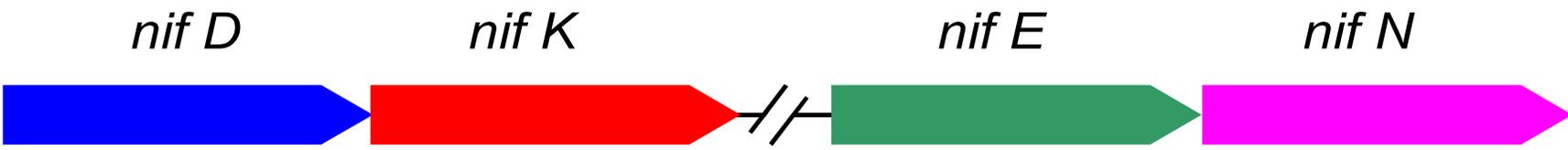


Un esempio: la **FISSAZIONE DELL'AZOTO**

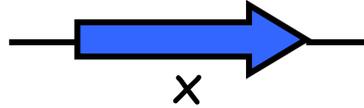
La **fissazione dell'azoto** atmosferico consiste nella riduzione, tramite un enzima chiamato nitrogenasi, dell'azoto molecolare (N_2) in azoto ammoniacale (NH_3).

L'azoto, sotto forma di ammoniaca, è reso poi disponibile per la sintesi di molte importanti molecole biologiche, come ad esempio gli **amminoacidi**.

FISSAZIONE DELL'AZOTO

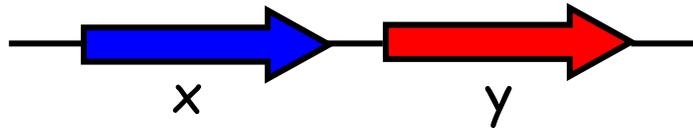


Gene ancestrale

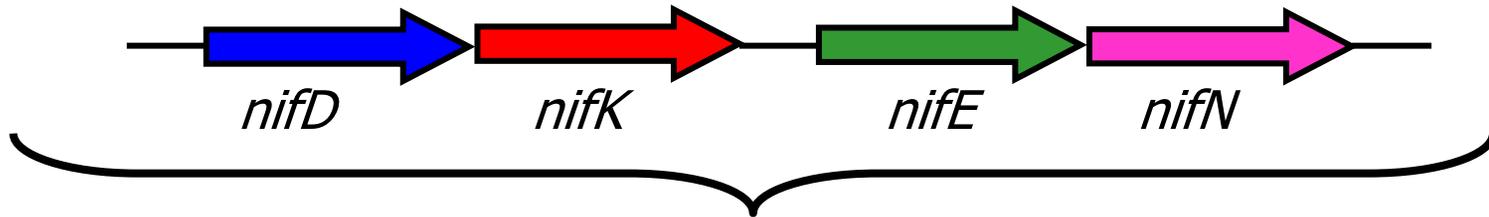


Duplicazione genica e divergenza evolutiva

Operone

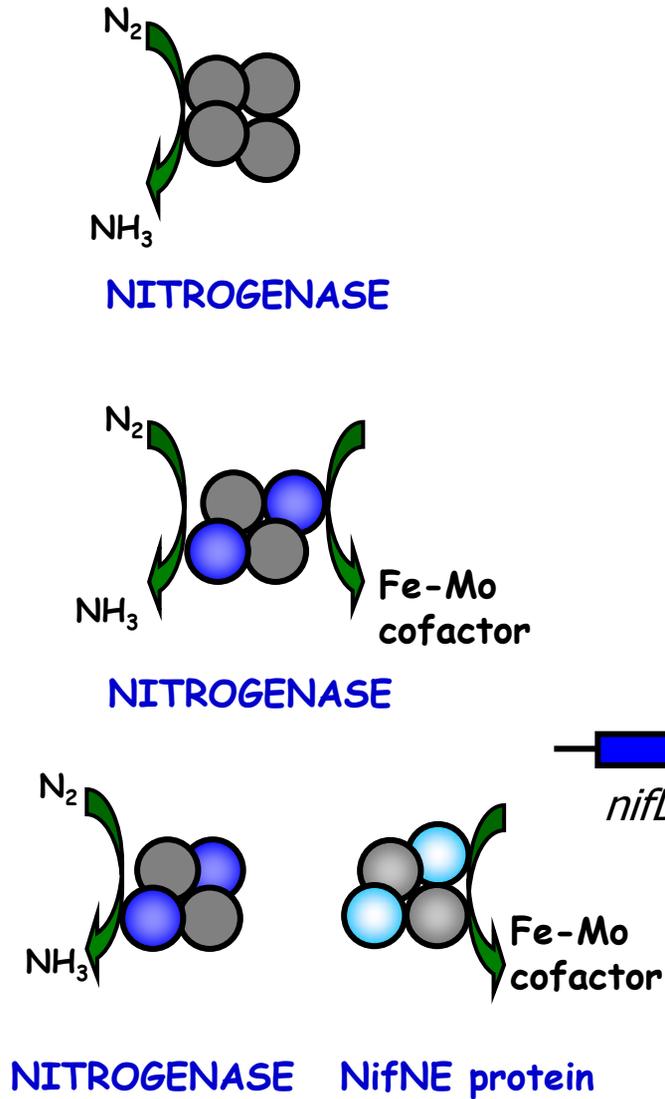


Duplicazione operonica e divergenza evolutiva

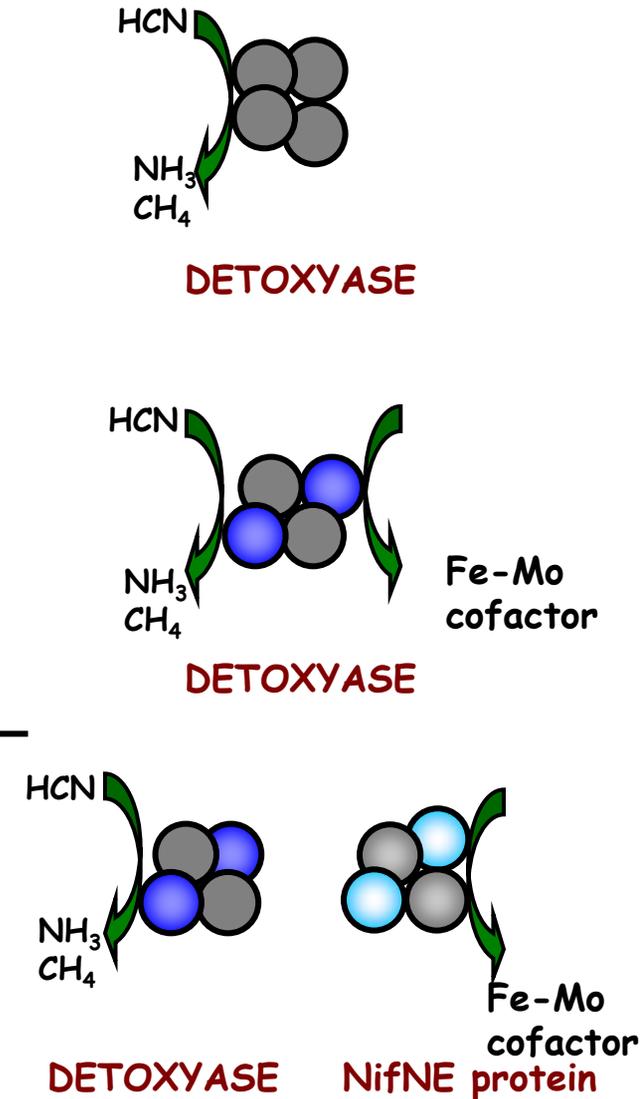


Famiglia di geni paraloghi

Scenario 1: Atmosfera neutra



Scenario 2: Atmosfera riducente



NH_3 exhaustion

Gruppo di lavoro (dip. Biologia Animale e Genetica)
Università di Firenze

Renato Fani

Barbara Tarabella

Giorgio Mattiuz

Matteo Brilli

Antonella Fioravanti

Cristiana Papaleo

Isabel Maida

Valentina Masciale

Antonio Frandi

Giovanni Bacci

Giuliano Giani

Marco Fondi

Ludovica D'Imperio