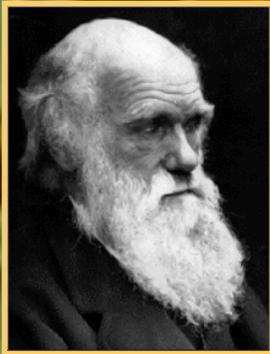




*A circa 30 anni, poco
dopo la conclusione
del viaggio del Beagle.*



*Charles Robert Darwin
1809 -1882*



Giuseppe G. Carbonara

*Dipartimento Farmaco-chimico
Facoltà di Farmacia
Università degli Studi di Bari*

***Dal brodo primordiale
alla farmacogenomica***

Bari, 21 novembre 2008

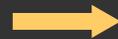
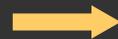
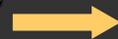
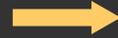
**Henry Matisse
Pesci rossi, 1912**

EVOLUZIONE

NUOVA SINTESI
Julian Huxley (1942)

Cosa diceva Darwin (1859):

- Gli individui mostrano differenze nei loro caratteri.
- I caratteri sono ereditati in modo stabile dalle nuove generazioni.
- I caratteri vantaggiosi permettono all'individuo che si adatta meglio di sopravvivere e riprodursi.
- Una riproduzione più elevata dell'individuo meglio adattato porta a nuove specie.

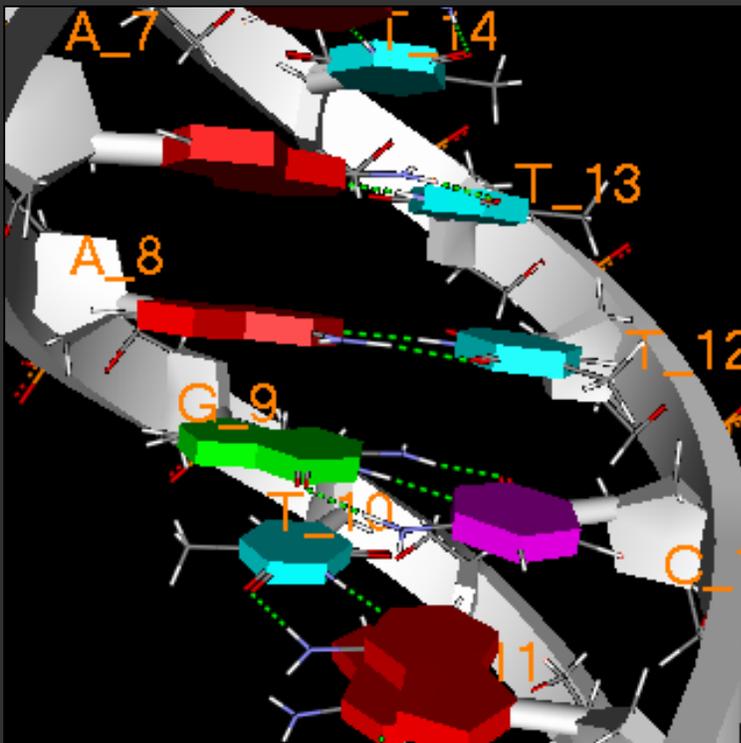


Cosa sappiamo oggi (Leggi di Mendel)

- La genetica e le mutazioni producono nuovi genotipi.
- I geni sono copiati in modo accurato e trasmessi.
- Il fenotipo è determinato dalla forma e dalle funzioni dei geni e delle proteine.
- La selezione naturale fa mantenere i geni "giusti" e porta all'eliminazione dei geni difettosi.

**AUMENTO DELLA COMPLESSITÀ
BIOLOGICA**

IL PATRIMONIO GENETICO



Rappresentazione
schematica di una porzione
della doppia elica del DNA
(A, G, C, T)

Gene:

- Ⓢ parte del DNA, costituente dei cromosomi, che determina uno o più dei caratteri ereditari di un individuo;
- Ⓢ triplette di basi azotate (codice genetico) codificano per un determinato a.a., mentre il gene intero codifica per una determinata proteina.

Genotipo:

- Ⓢ costituzione genetica di un'unica cellula o di un organismo, relativamente ad un singolo carattere o ad una serie di caratteri;
- Ⓢ la somma di tutti i geni presenti in un individuo.

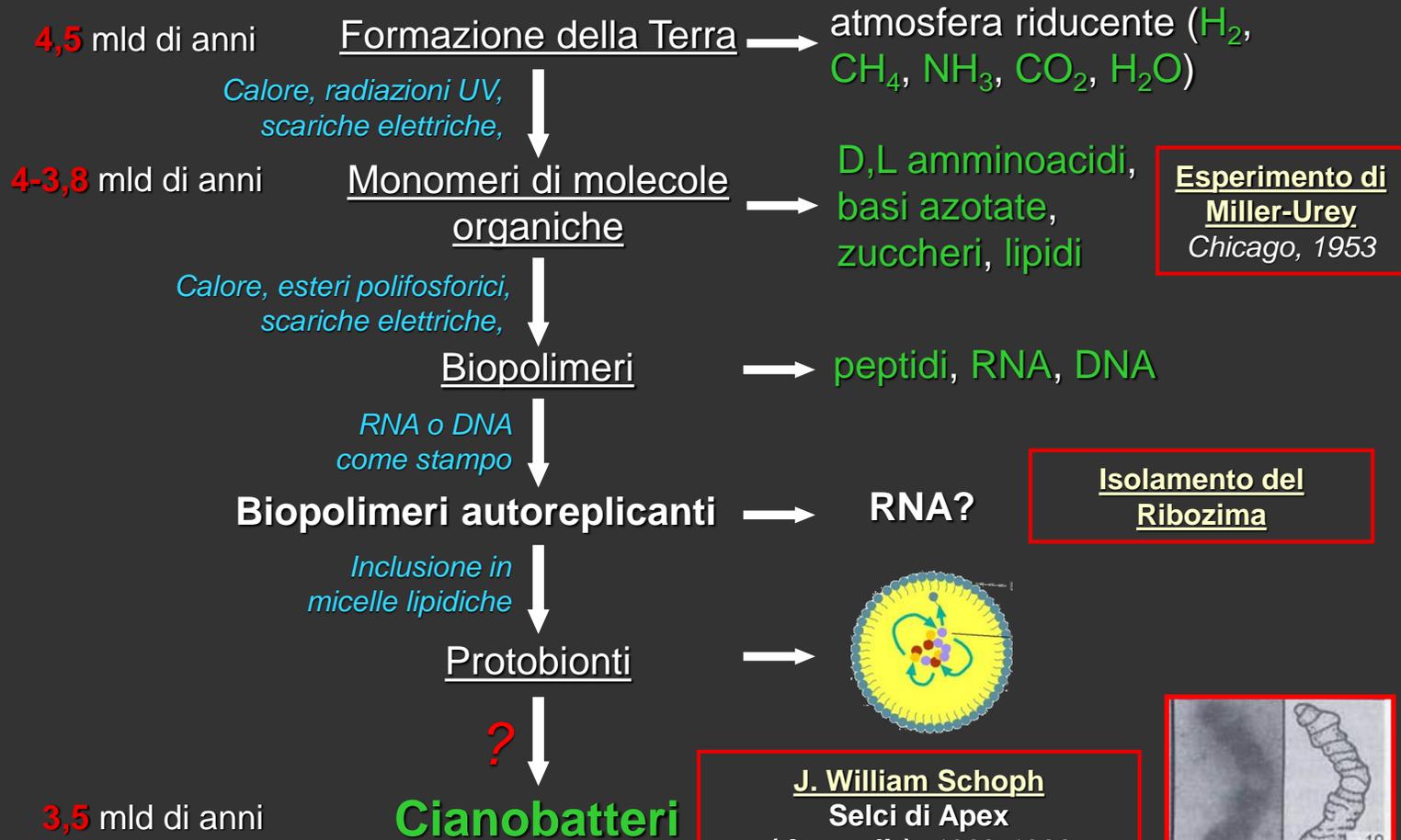
Mutazioni geniche:

- Ⓢ sono variazioni spontanee o indotte (raggi X e UV, alte temperature, sostanze chimiche mutagene, virus) delle sequenze di basi azotate che possono avvenire durante la duplicazione del DNA;
- Ⓢ quando sono a carico delle cellule riproduttive (gameti) possono essere trasmesse ai figli;
- Ⓢ i geni mutati producono variazioni strutturali delle proteine codificate, causandone una parziale o completa alterazione di funzionamento.

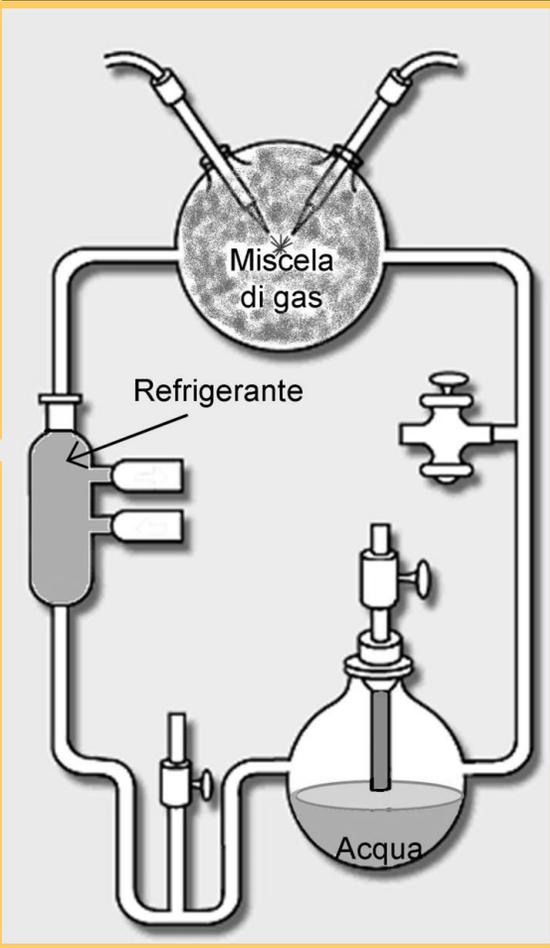
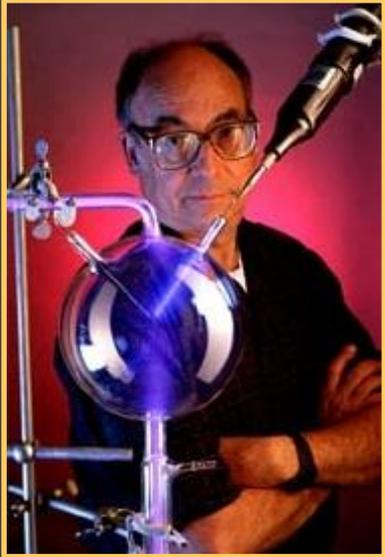
AUMENTO DELLA COMPLESSITÀ CHIMICA

EVOLUZIONE PREBIOTICA

Aleksandr Oparin, 1922



L'ESPERIMENTO DI MILLER-UREY



Science 117, 529 (1953)

- Nel **1953**, presso l'Università di Chicago, il biochimico **Stanley Miller**, dottorando nel laboratorio del **prof. Urey**, effettuò diversi esperimenti che dimostrarono che, in condizioni di laboratorio simili a quelle che potevano esistere sulla Terra primordiale, era possibile ottenere da molecole inorganiche numerosi composti organici.

▪ Esperimento

Vennero impiegate **acqua** (H_2O), **metano** (CH_4), **ammoniaca** (NH_3) e **idrogeno** (H_2), posti in un dispositivo sterile formato da palloni e tubi di vetro che costituivano un circuito, chiuso ermeticamente, in cui un pallone era riempito a metà con acqua e l'altro, contenente i gas, era attraversato da due elettrodi.

L'**acqua era riscaldata all'ebollizione** per generare vapore, mentre **nell'atmosfera di gas e vapore acqueo venivano generate scariche elettriche** mediante gli elettrodi, per **simulare i fulmini**; nel circuito era inserito un refrigerante che faceva condensare l'acqua che ritornava nel primo pallone in modo da formare un ciclo continuo.

▪ Risultati

Dopo due settimane di funzionamento continuo, fu osservato che il **10-15%** del **carbonio** presente nel sistema era ora sotto forma di **composti organici** e che il **2%** era costituito da **amminoacidi**, cioè i monomeri che costituiscono le **proteine**.

▪ Conclusioni

L'**esperimento**, lungi dal voler dimostrare la creazione della vita in laboratorio, **dimostrò** che **processi naturali potevano produrre le molecole organiche di base della vita senza la presenza di organismi viventi**.

IL BRODO PRIMORDIALE

Sulla TERRA?

☉ L'ipotesi di un'**evoluzione prebiotica** prevede che, all'aumentare della concentrazione delle diverse molecole organiche negli oceani caldi (**il brodo primordiale!**), vi sarebbe stata fra di esse una sempre maggiore possibilità di interazione e reazione che avrebbe potuto portare alla **nascita**, in modo competitivo, di **molecole complesse** più stabili come **proteine** e **acidi nucleici**.

☉ Secondo molti ricercatori il **primo acido nucleico capace di replicarsi** e di svolgere anche un'attività enzimatica fu l'**acido ribonucleico, RNA**.

☉ La scoperta nel **1982** da parte di **Thomas Cech** di una forma di RNA, detto "**Ribozima**", che si comporta in questo modo, confermata nel **1983** da **Sidney Altman**, avvalorava ulteriormente questa tesi.

☉ Nel **1998** il gruppo del prof. **Gunther von Kiedrowski (Università di Bochum)** (*Nature*, **396**, 245, Nov. 1998) dimostrò che frammenti di RNA immobilizzati su una matrice fissa erano in grado di replicarsi chimicamente e di far crescere in modo esponenziale la concentrazione in soluzione dell'oligonucleotide analogo. Questo fatto in pratica è il prerequisito per una selezione molecolare in senso darwiniano. Nel 2002 un esperimento simile è stato ripetuto positivamente col DNA (*Nature*, **420**, 286, Nov. 2002).

☉ Molecole di natura lipidica a carattere idrofobo, cioè con poca affinità per l'acqua, avrebbero formato spontaneamente agglomerati detti **micelle**, che avrebbero potuto costituire **primordiali membrane** dentro cui sarebbero stati racchiusi gli oligonucleotidi autoreplicanti.

☉ Nel **2002** un'interessante teoria sull'evoluzione prebiotica è stata fatta dai biologi **William Martin (Università di Düsseldorf)** e **Michael Russell (Scottish Universities Environmental Research Centre di Glasgow)**. I due scienziati ritengono possibile che microscopiche cavità, presenti all'interno delle deposizioni minerali di sorgenti idrotermali sottomarine, abbiano potuto fungere da "cellule" primordiali.



Foto: European Space Agency - Venezuela - MERIS, 7 Marzo 2003.

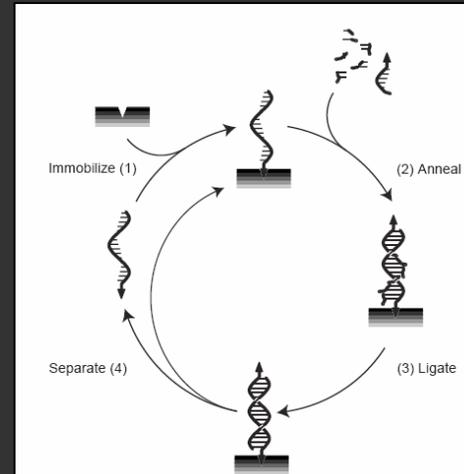
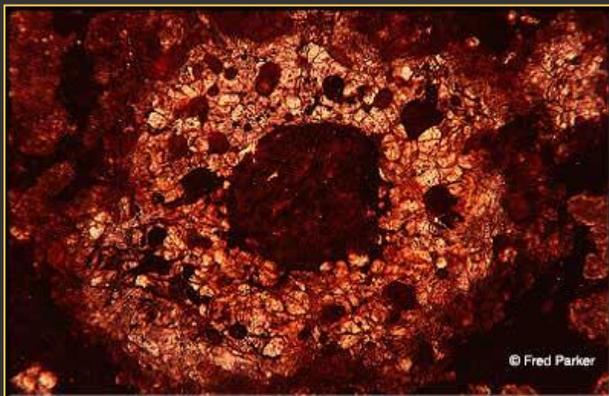


Figura tratta da Nature, 396, 245, Nov. 1998

IL BRODO PRIMORDIALE

..... o NELLO SPAZIO?



Microfotografia del **meteorite**, del tipo delle **condriti carbonacee**, caduto ad Allende in Messico.

xy AM 0644-74I

- Alcuni scienziati ritengono che le prime molecole organiche possano essere state di provenienza extraterrestre (**panspermia**); il frequente bombardamento meteorico della Terra primordiale avrebbe arricchito gli oceani del “nutrimento” necessario a far nascere e sostenere le prime forme di vita terrestri.
- Le **meteoriti** cadute nel 1969 ad Allende (Messico) e a Murcheson (Australia) in cui furono **ritrovati numerosi amminoacidi**, sembra costituire una prova a favore di questa teoria. E un'ulteriore prova a favore sarebbe rappresentata dal ritrovamento nel 1996, in un **meteorite di origine marziana**, di **forme fossili simili a microrganismi**.

I MONOMERI ORGANICI SONO DIFFUSI IN TUTTO L'UNIVERSO!



NASA and The Hubble Heritage Team (STScI)

- Più recenti **osservazioni spettroscopiche sulle nubi di polvere interstellare**, effettuate a diverse lunghezze d'onda, hanno evidenziato la presenza di **“smisurate quantità”** delle stesse **molecole organiche necessarie alla vita sulla terra** o **degli stessi precursori utilizzati da Miller**, così come **molecole organiche** sono state scoperte su alcuni **pianeti e satelliti del sistema solare** o sulle **comete**.

L'ENIGMA DELL'ASIMMETRIA

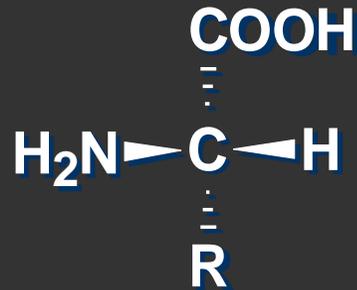
- Ⓢ Le molecole di amminoacidi prodotte negli esperimenti di Miller e simili, così come quelle ritrovate nelle condriti carbonacee e nelle nubi interstellari sono, in ugual misura (miscela racemica), sia di tipo D (o R) che L (o S).
- Ⓢ Invece, in tutti gli organismi viventi terrestri, gli amminoacidi impiegati nella sintesi delle proteine sono della serie L.
- Ⓢ Mentre gli zuccheri impiegati nella sintesi di DNA ed RNA, rispettivamente desossiribosio e ribosio, sono della serie D.
- Ⓢ La probabilità che nei primi stadi dell'evoluzione venissero utilizzati amminoacidi e zuccheri di entrambe le serie (miscela racemica) era la stessa.
- Ⓢ L'impiego di amminoacidi o zuccheri di una sola serie ha rappresentato un vantaggio biologico selettivo che ha portato alla formazione di strutture biopolimeriche 2D e 3D più stabili. Ciò che non si sarebbe ottenuto mischiando le due serie di monomeri. LA SCELTA E' STATA DETTATA SOLO DAL CASO (Superfici magnetizzate del magma raffreddato? Zeoliti chirali?), COSI' COME I PROCESSI EVOLUTIVI TERRESTRI.
- Ⓢ Questo fatto suggerisce che tutti gli organismi viventi attuali derivino da una sola cellula o da gruppi di popolazioni di cellule strettamente imparentate.

LE MOLECOLE DELLA VITA

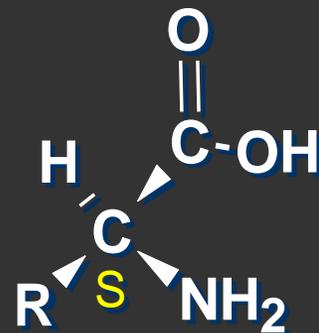
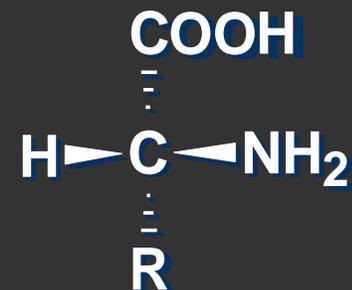
Amminoacidi delle Proteine

- molecole **chirali**, capaci di ruotare il piano della luce polarizzata, e **asimmetriche**

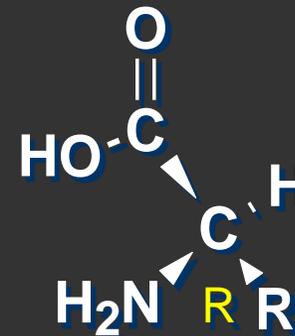
configurazione **L**



configurazione **D**

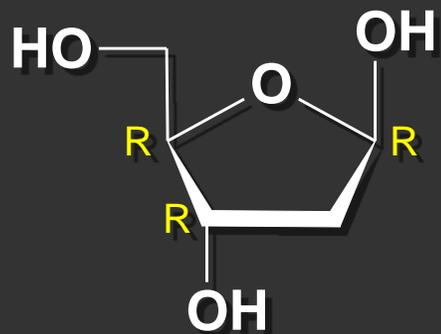


specchio

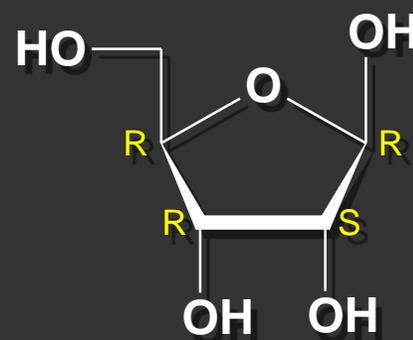


LE MOLECOLE DELLA VITA

Componenti glicidici del DNA e del RNA



D-desossiribosio



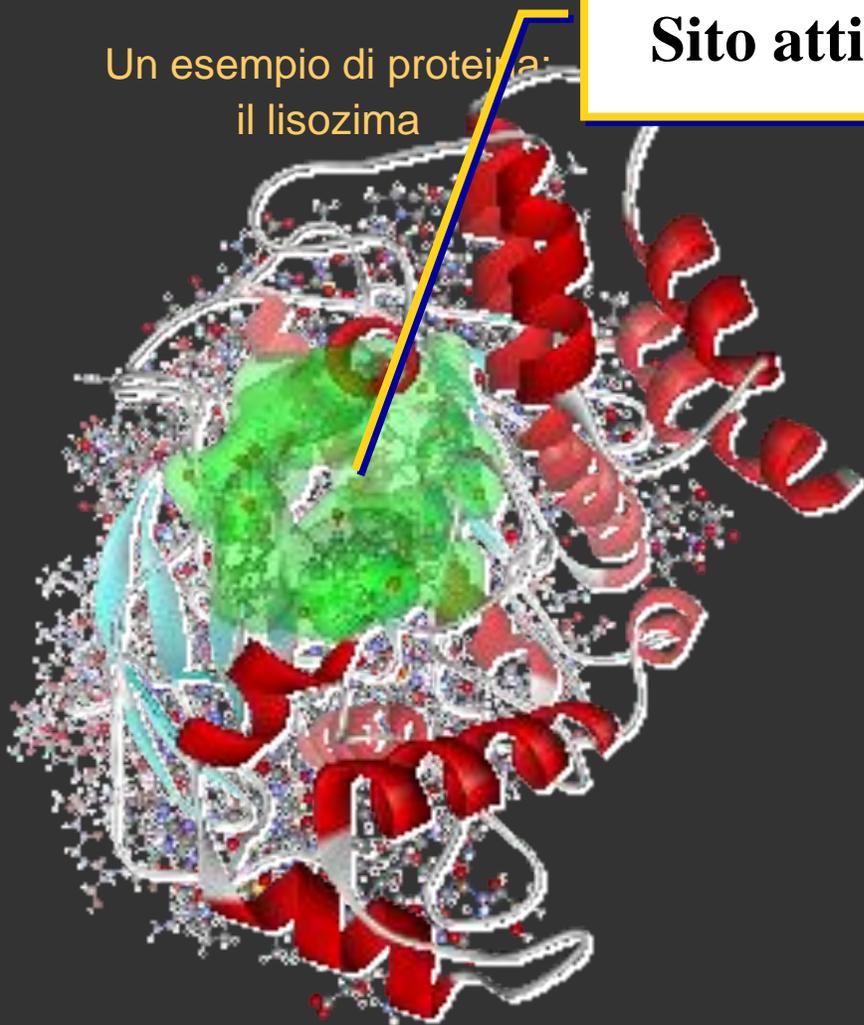
D-ribosio

I BIOPOLIMERI CELLULARI

Un esempio di proteina:
il lisozima

Sito attivo

Un frammento di DNA

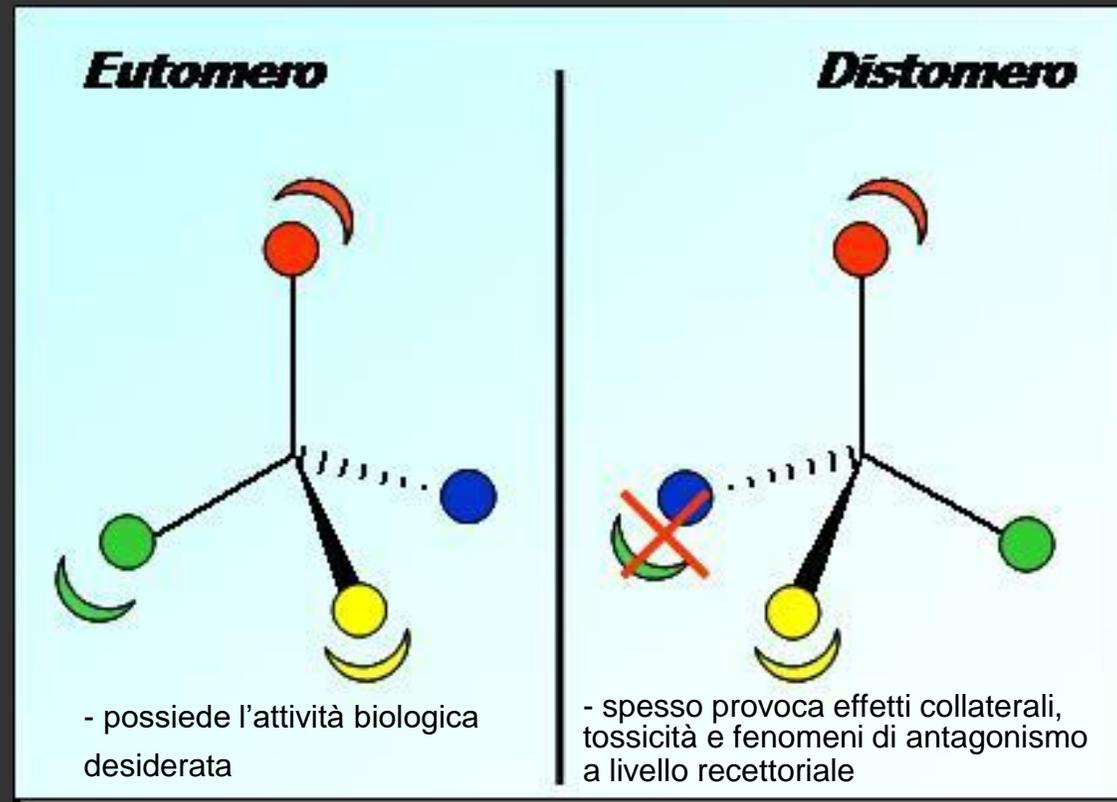


I siti attivi degli enzimi hanno preservato la stereospecificità biologica

I FARMACI

INTERAZIONE FARMACO-RECETTORE

Interazione stereospecifica



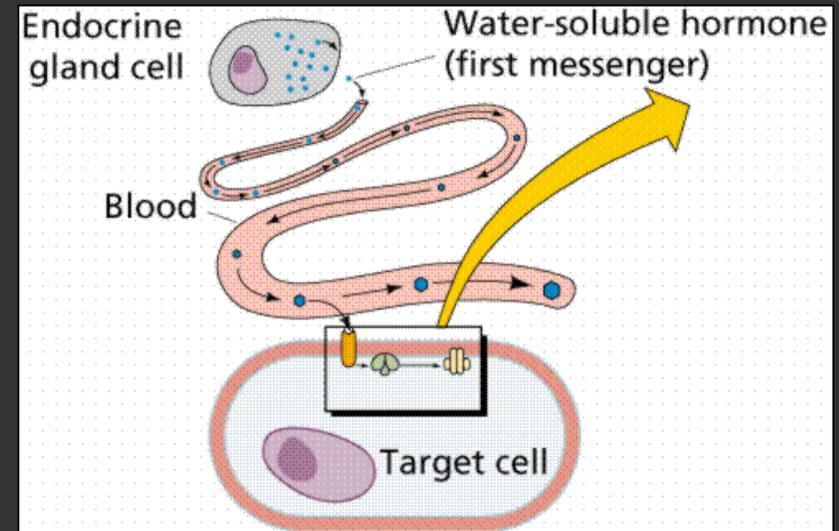
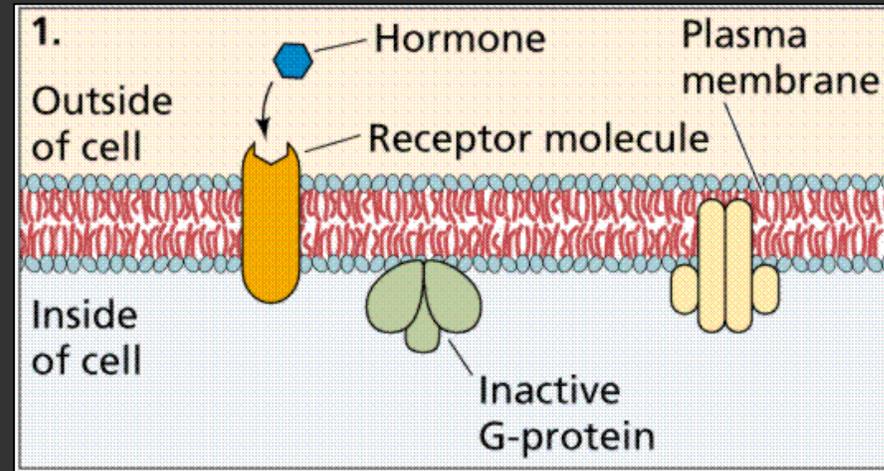
La ricerca di un nuovo farmaco si basa sullo studio della struttura del recettore oppure su quello della struttura chimica del farmaco.

Funzionamento dei recettori di membrana

Farmaci attivi sui recettori di membrana

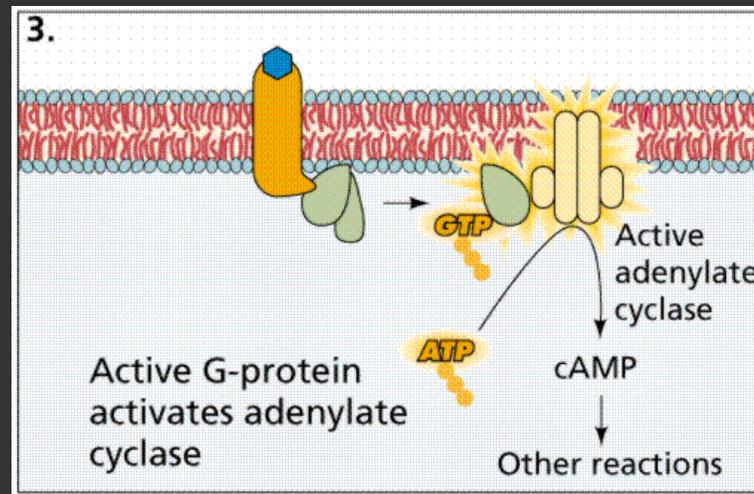
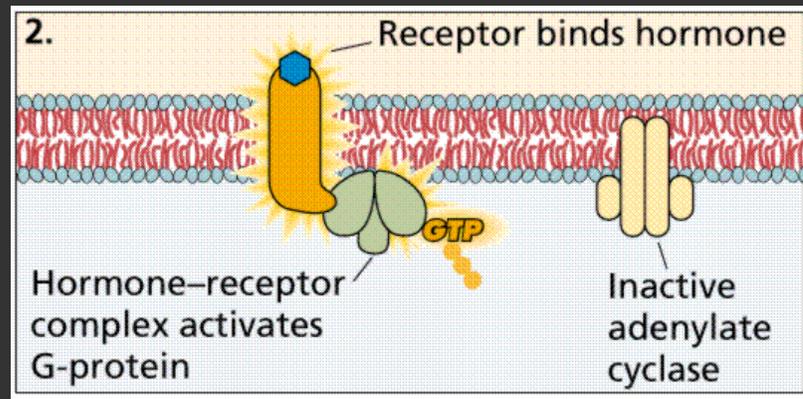
Gli ormoni non steroidei solubili in acqua (primo messaggero) vengono trasportati dal flusso ematico, ma non entrano nella cellula.

Essi si legano a recettori specifici della membrana plasmatica.



Funzionamento dei recettori di membrana

Ormoni non steroidei



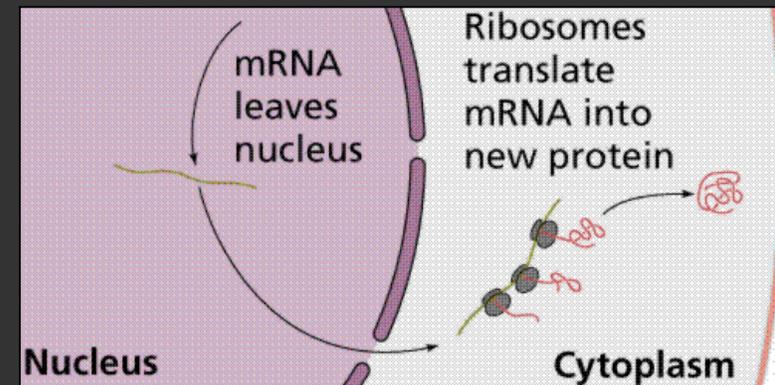
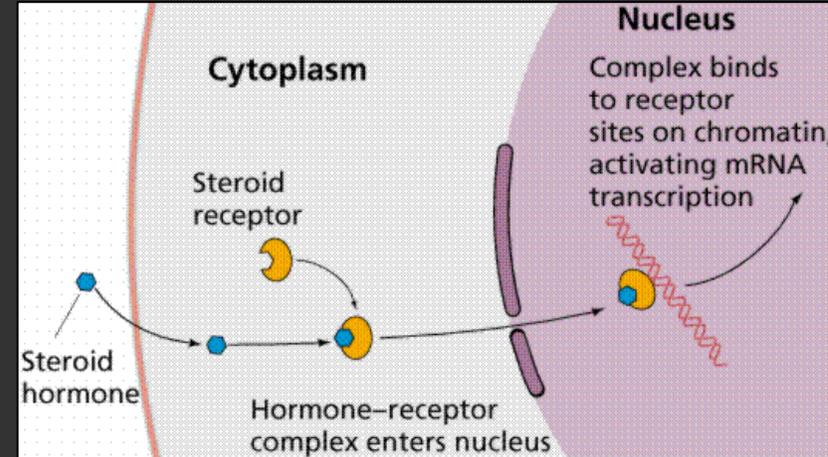
- Il legame al recettore genera un segnale chimico (secondo messaggero) all'interno della cellula.
- Sono stati identificati 5 differenti "secondi messaggeri" chimici, tra cui l'AMP ciclico. I "secondi messaggeri" attivano altre sostanze chimiche intracellulari per ottenere una risposta dalla cellula bersaglio.

Funzionamento dei recettori nucleari

Farmaci attivi sui recettori nucleari

Attraversano la membrana cellulare ed agiscono in un processo a due stadi:

1. all'interno della cellula, si legano a recettori della membrana nucleare, generando un complesso ormone-recettore attivato;
2. il complesso attivato si lega al DNA, attiva geni specifici per la biosintesi di RNA messaggero, causando un aumento della produzione di proteine.



LA FARMACOGENOMICA

Cos'è la Farmacogenomica?

E' una disciplina che impiega gli approcci e le tecnologie per lo studio del genoma nella ricerca di nuovi di farmaci.

Alcuni esempi:

- l'indagine dell'intero genoma per la ricerca di potenziali strutture recettoriali con mezzi bioinformatici.
- la ricerca sull'espressione dei geni sia negli agenti patogeni che negli ospiti durante un'infezione
- l'esame dell'espressione caratteristica di tessuti tumorali e di quella dei pazienti allo scopo di arrivare ad una possibile terapia specifica per il tumore.

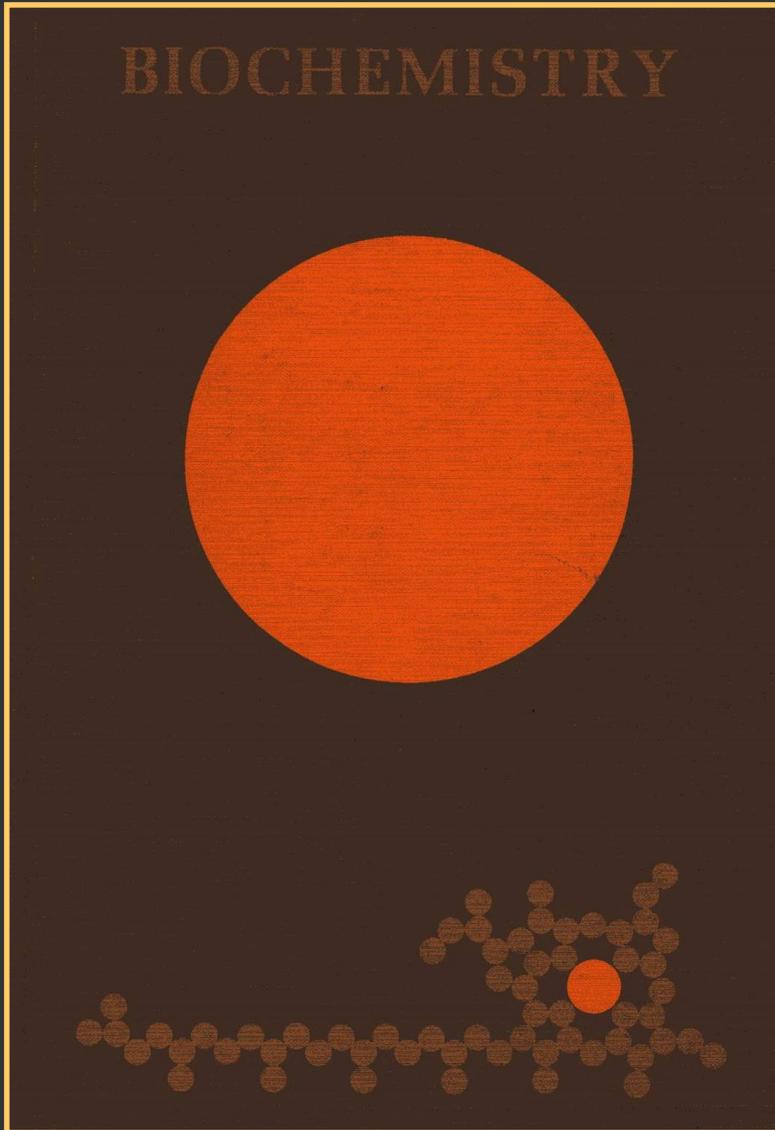
Cos'è la Farmacogenetica?

Tutti gli individui rispondono in modo diverso ai trattamenti farmacologici; alcuni in modo positivo, altri con piccole variazioni della risposta, ed altri ancora mostrando effetti collaterali o reazioni allergiche.

Molte di queste variazioni, ormai è noto, avvengono su basi genetiche.

La Farmacogenetica è una branca della farmacogenomica che impiega mezzi genomici/bioinformatici per identificare le correlazioni tra corredo genetico individuale, le risposte caratteristiche di un particolare paziente ai trattamenti e l'uso di questi "markers" per mettere a punto i dosaggi e sviluppare nuove terapie.

Bibliografia



BIOCHEMISTRY

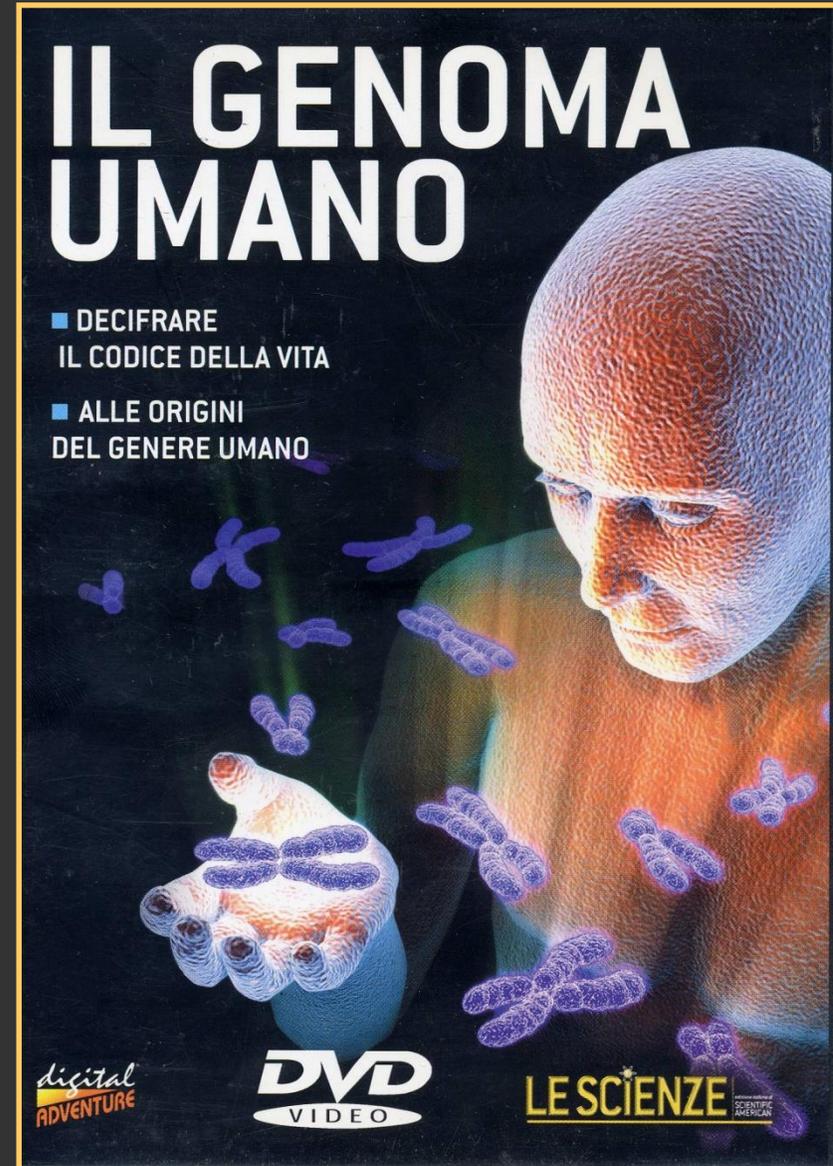
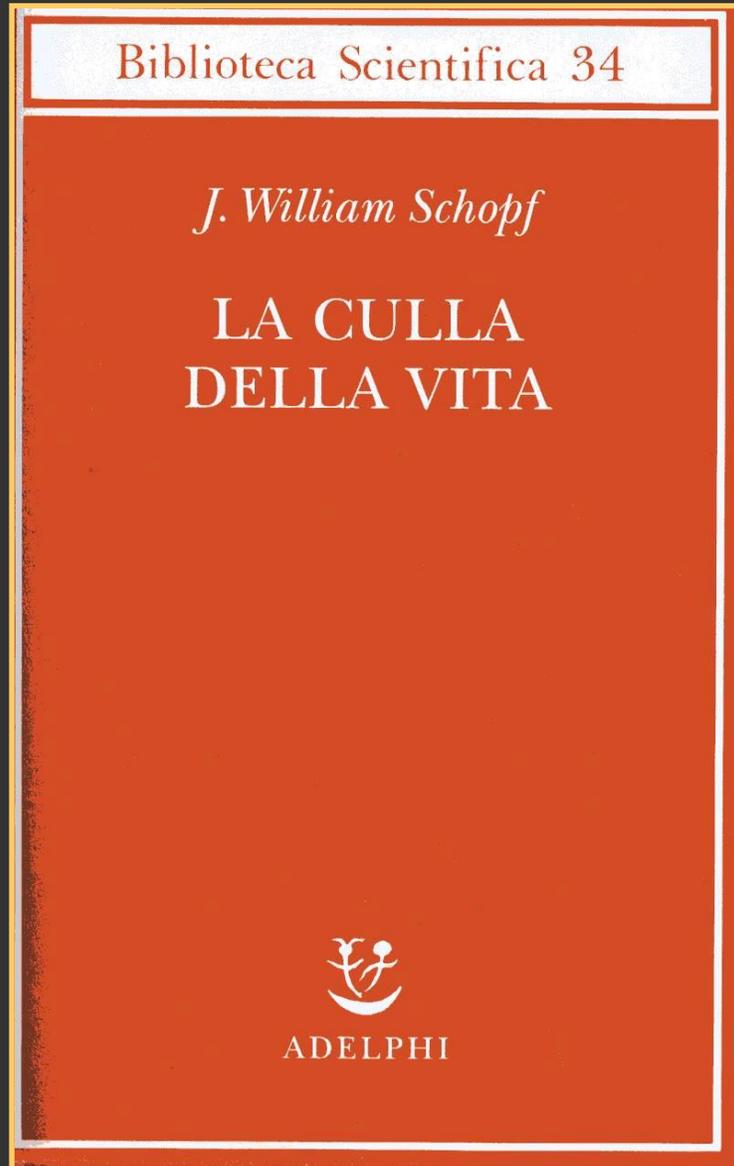
The molecular basis
of the cell structure and function

ALBERT L. LEININGER

The John Hopkins University
School of Medicine

WORTH PUBLISHERS, INC.

Bibliografia



“È attraverso la scienza
che l'uomo s'india”

Fedone, Platone