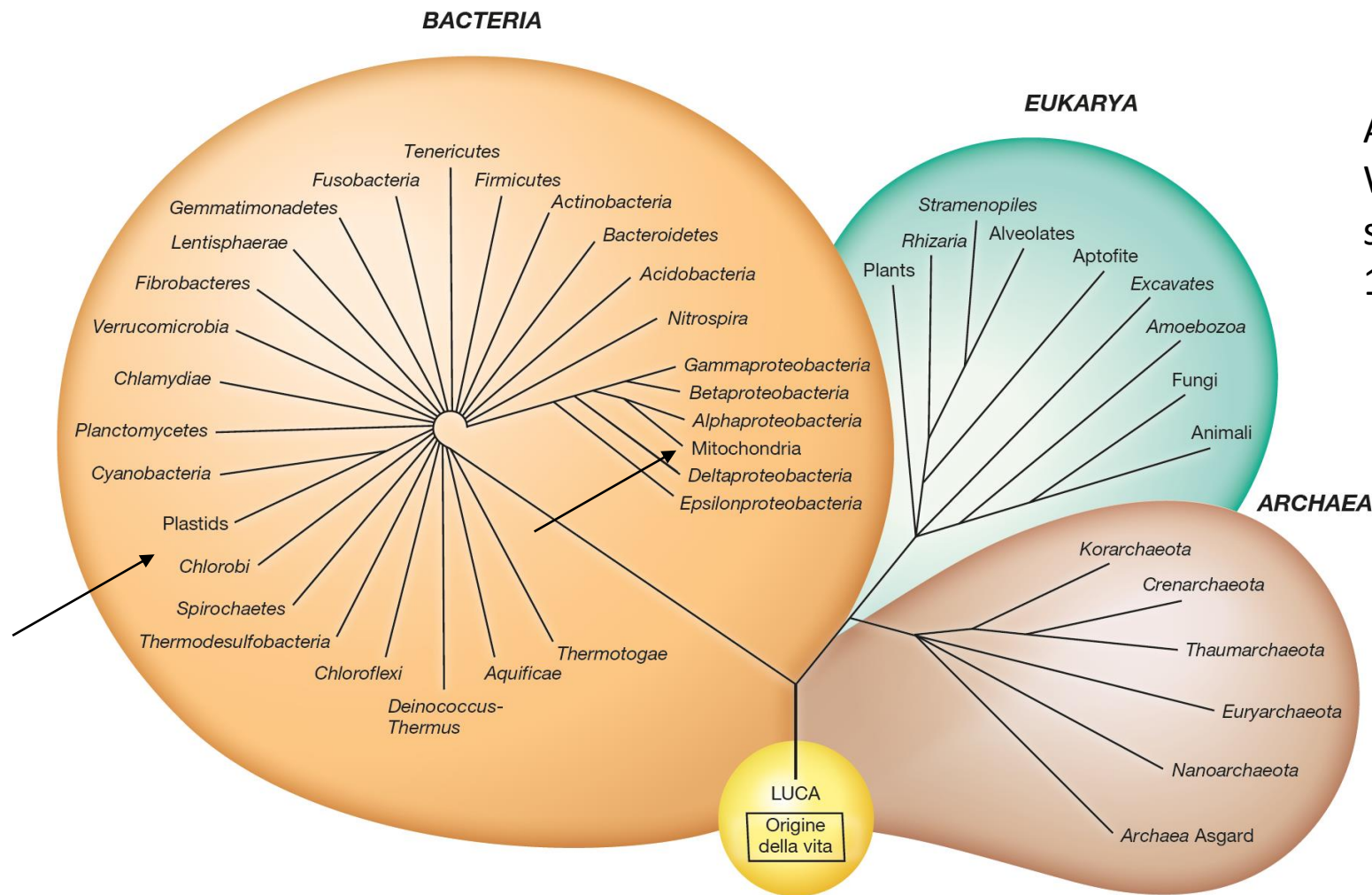


Lezione 9: La filogenesi degli eucarioti.

DOTT. ROSA ANNA NASTRO – STANZA 425° - 4°PIANO, LATO NORD

EMAIL: ROSA.NASTRO@UNIPARTHENOPE.IT

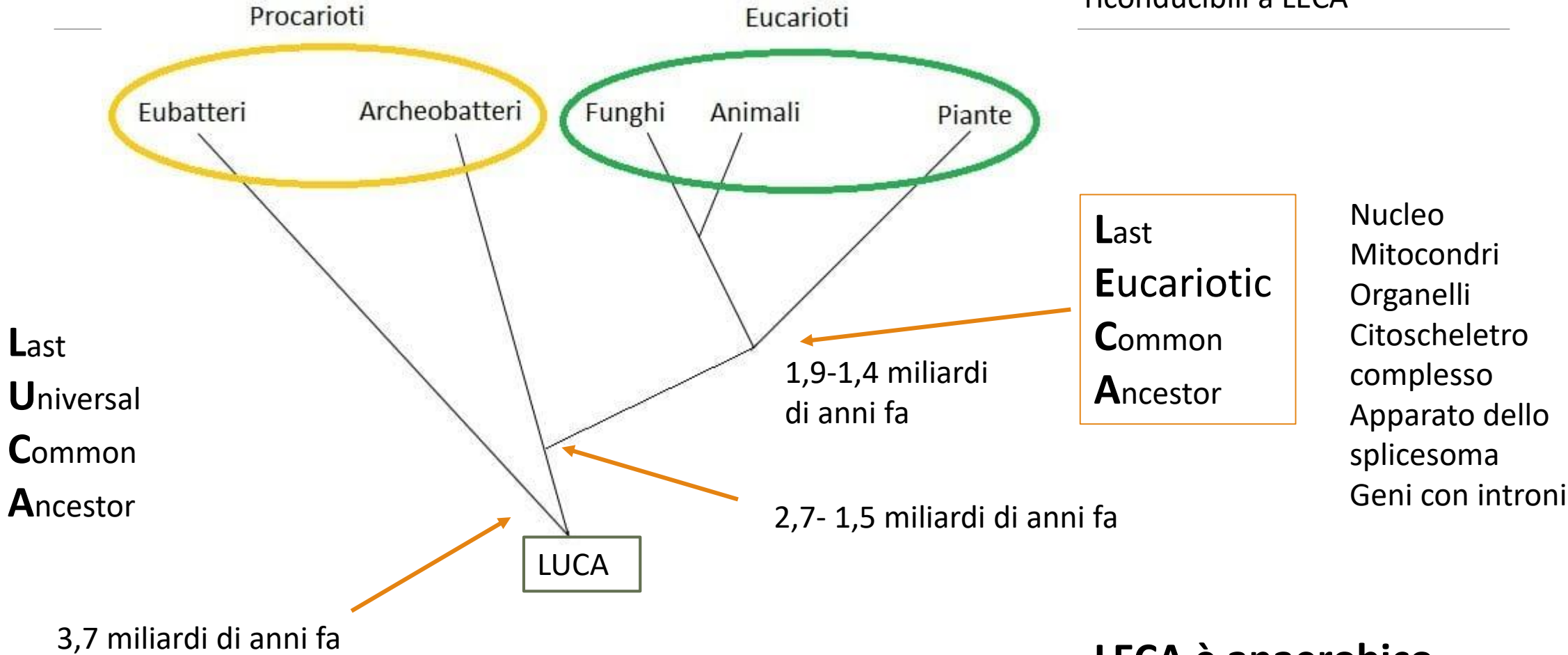


Albero Universale della vita (Carl Woese) è ricavato dalla similarità di sequenza nucleotidica degli rDNA 16S.

È una genealogia della vita sulla Terra che ritrae la storia della vita evolutiva di tutte le cellule rappresentando i tre domini: ARCHEA, BACTERIA ed EUCARIA.

Figura 13.9 Schema dell'albero filogenetico universale basato sull'analisi comparativa delle sequenze geniche dell'rRNA SSU (subunità minore). Per ciascun dominio sono stati indicati solo alcuni organismi o linee di discendenza principali. La lunghezza dei rami in quest'albero è arbitraria; l'eliminazione di nodi rispecchia l'incertezza filogenetica. Sono state identificate finora almeno 84 linee di *Bacteria*, anche se specie ascrivibili a molte di queste non sono ancora state coltivate in laboratorio. LUCA: *Last Universal Common Ancestor* (ultimo antenato comune universale) (Figura 13.4). Le procedure usate per costruire gli alberi filogenetici sono descritte nel Paragrafo 13.11.

Ad oggi, circa 4000 geni sono riconducibili a LECA



LECA è anaerobico

La radice dell'albero universale della vita

Chi tra Archaea, Batteri ed Eucarioti è emerso per primo?

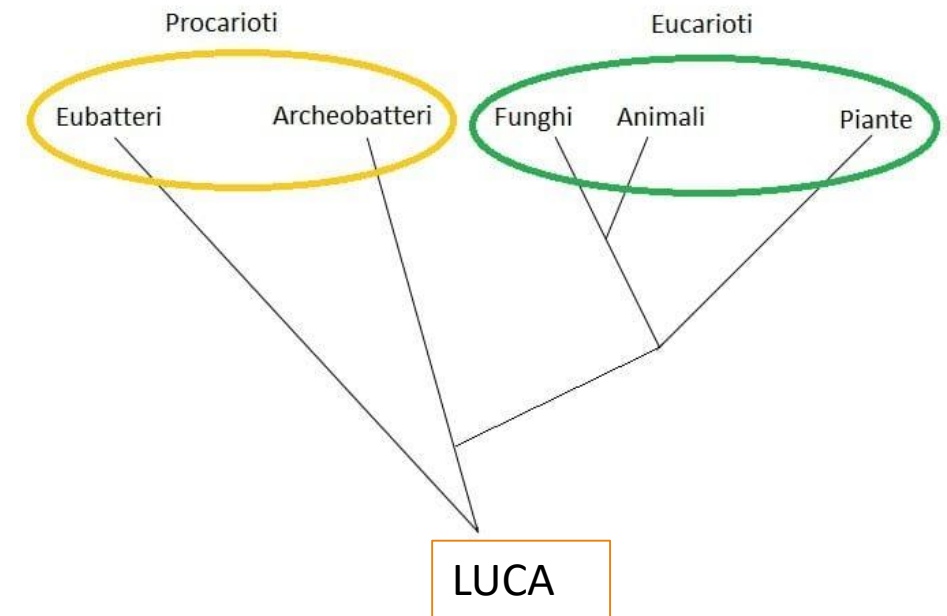
Questo problema è ancora oggetto di accesi dibattiti nella comunità scientifica.

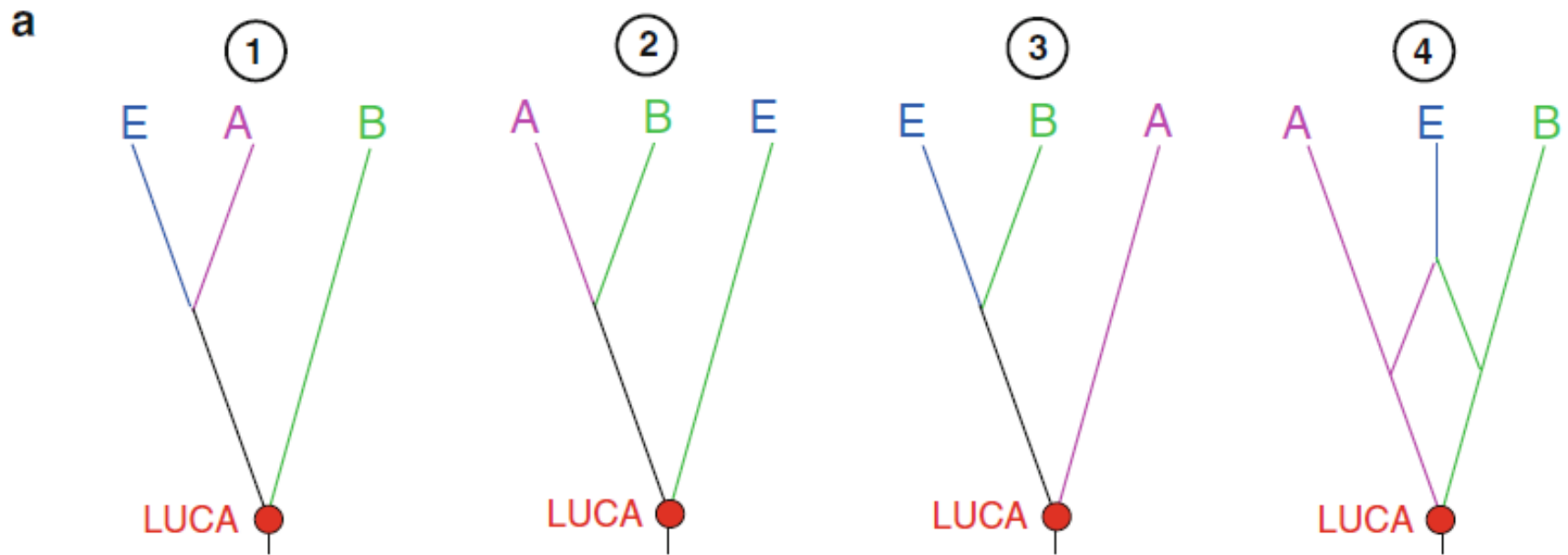
Per sapere in che ordine i tre domini di vita divergente, sarebbe necessario:

1. Ricostruire l'albero della vita universale (cioè basato su marcatori molecolari presenti in tutti gli organismi viventi)
2. Risalire alla radice questo albero (vale a dire definire la direzione di tempo evolutivo lungo i rami dell'albero)

La posizione della radice dell'albero universale della vita nel dominio dei batteri è stata rapidamente adottata dalla maggioranza della comunità scientifica perché è coerente con l'ipotesi che LUCA fosse un organismo procariotico e per questo i batteri formerebbero la più antica discendenza evolutiva.

Alcuni credono che la quantità di informazioni filogenetiche contenute in questi indicatori non sono sufficienti per dedurre eventi tanto antichi, come l'avvento delle prime forme di vita. In effetti, gli stessi marcatori utilizzati, con metodi di analisi diversi possono porre la radice universale nel ramo eucariotico.



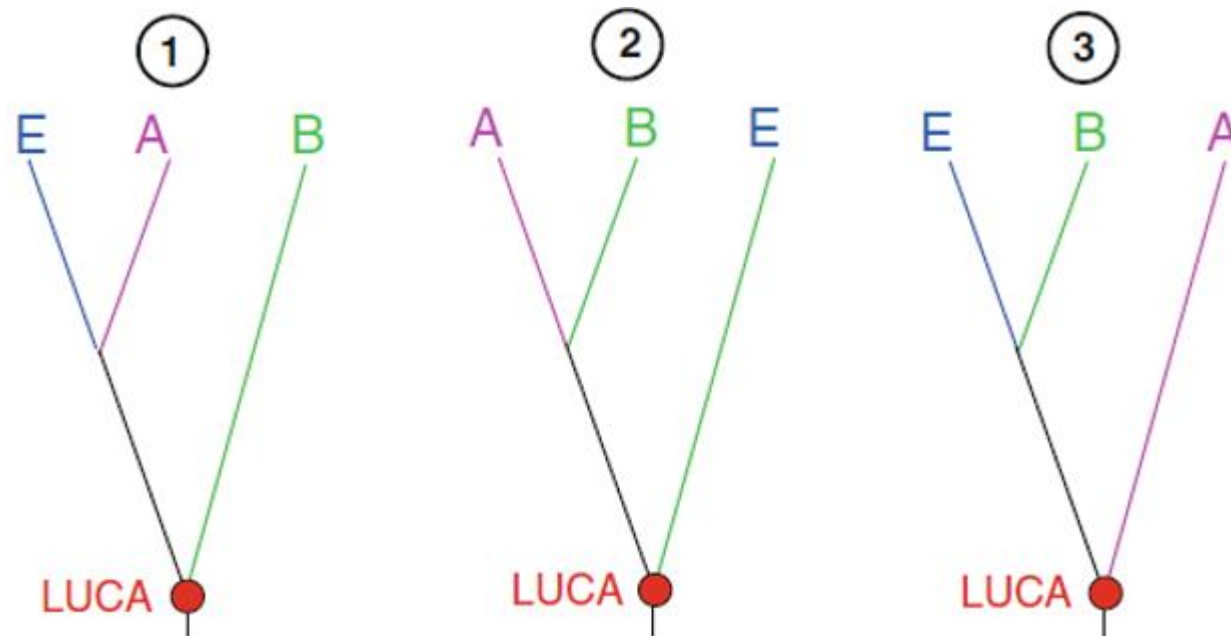


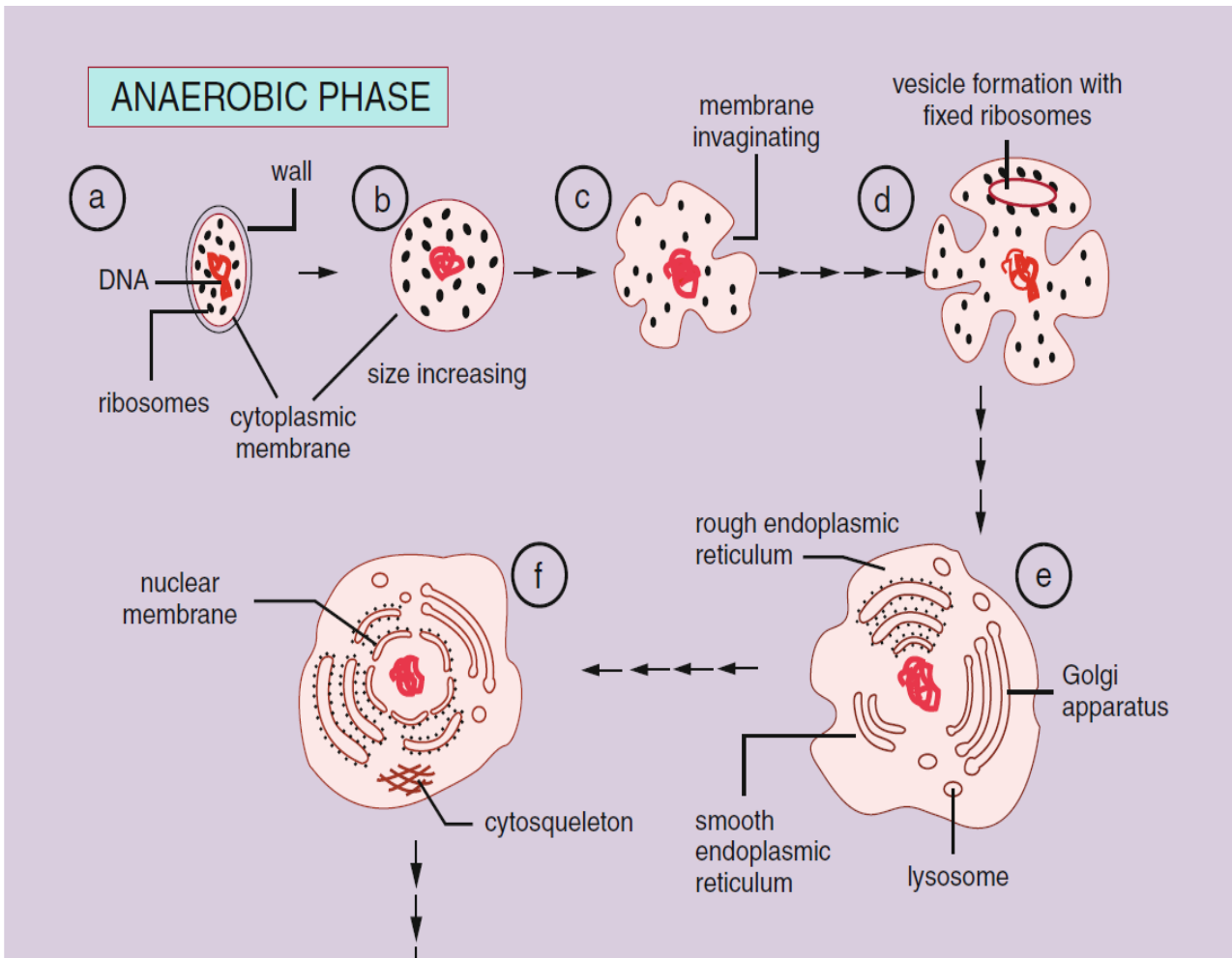
Insorgenza dei tre domini della vita. (a) nel caso i tre domini della vita, Eucariote (E), Bacteria (B) e Archaea (A) siano monofiletici sono possibili tre relazioni evolutive tra di loro (alberi 1, 2 e 3). L'albero 4 illustra un'altra possibilità in cui il dominio Eucarya risulta dalla fusione di un batterio e un'archea.

1° scenario: gli eucarioti discendono da procarioti eterotrofi anaerobici

Questo scenario è stato proposto da Christian De Duve, che osserva come nella lunga storia evolutiva della vita si possa distinguere una fase anaerobica e una fase aerobica.

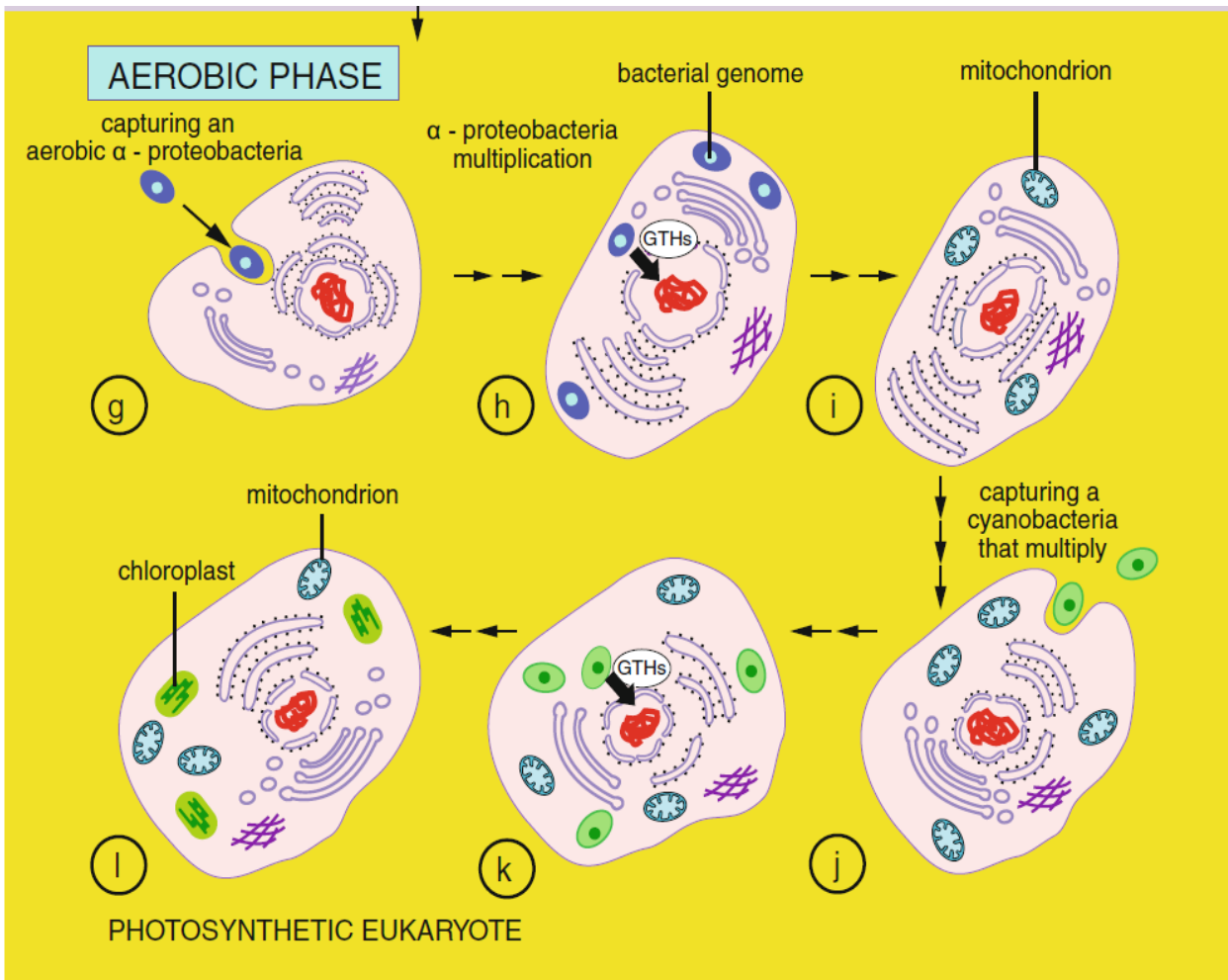
Gli eventi che si sono verificati durante la prima fase, il passaggio dai procarioti eucarioti anaerobici sono speculativi. Al contrario, gli eventi che hanno portato all'emergere di eucarioti aerobici si basano su più solidi argomenti.





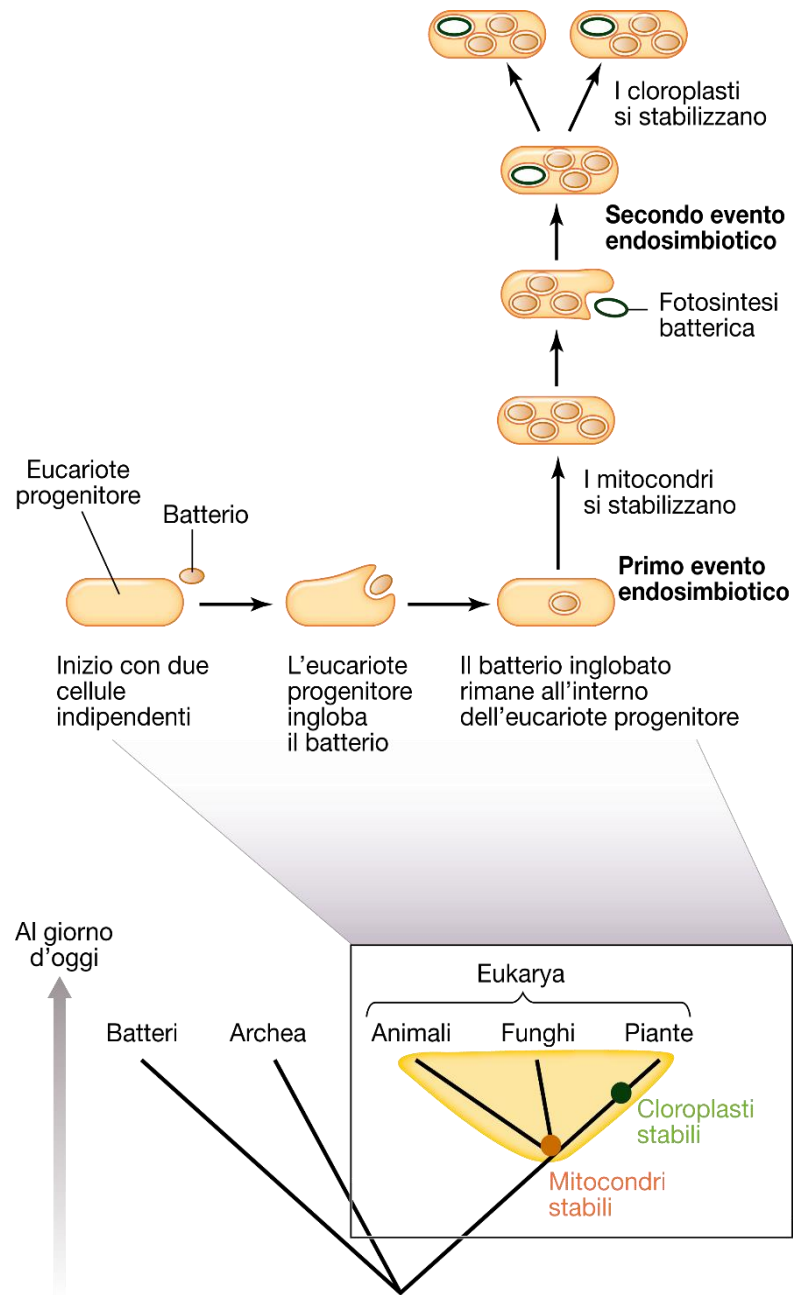
Le invaginazioni della membrana potrebbero essere apparse in un organismo procariotico anaerobico eterotrofo che aveva perso la sua parete cellulare. Alcune di queste invaginazioni hanno dato origine a vescicole, sequestrando fonti alimentari ed enzimi digestivi. La digestione è quindi diventata intracellulare. Successivamente, le vescicole si sarebbero differenziate in diversi tipi, creando una vera rete membranosa con il possibile aspetto di un reticolo endoplasmatico liscio e ruvido costituito da apparato di Golgi e lisosomi. Infine, la rete membranosa si sarebbe avvolta intorno al DNA isolandolo dal citosol. L'apparizione di queste strutture a membrana avrebbero consentito la specializzazione funzionale di compartimenti all'interno della cellula. È a questo stadio in cui la trascrizione del DNA e la traduzione dell'mRNA si disaccoppiano.

Bertrand, J. C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., & Ngando, T. S. (Eds.). (2015). Environmental microbiology: Fundamentals and applications (p. 993). Dordrecht: Springer.

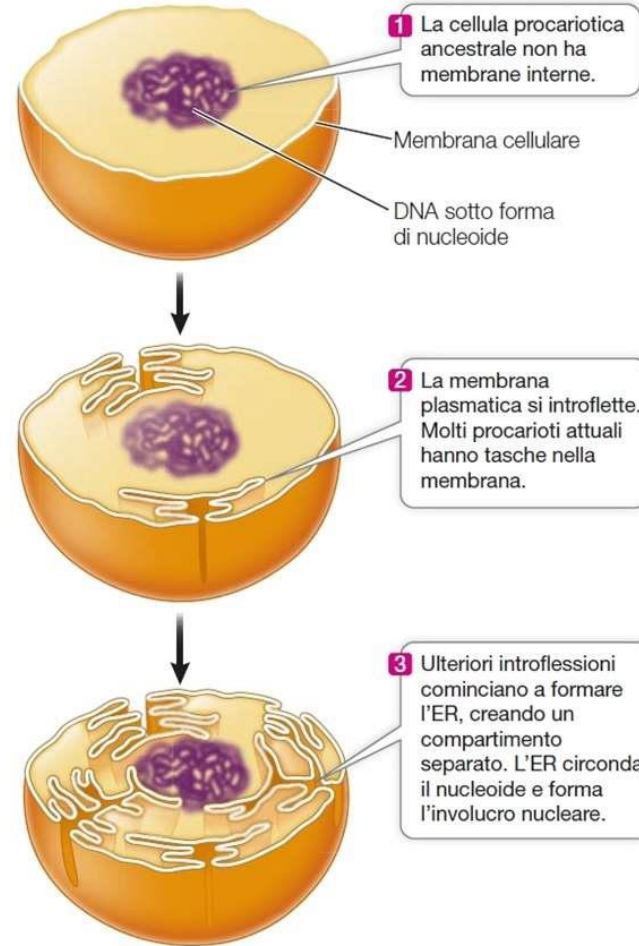


La fase «g» è ancora anaerobia, la fase «h» è da considerarsi di transizione e la fase «i» è aerobia.

L'emergere e lo sviluppo di cianobatteri in grado di eseguire la fotosintesi ossigenata trasforma radicalmente composizione chimica dell'atmosfera, che gradualmente diviene aerobica. Questa transizione ha avuto un grande impatto sulla biodiversità, in particolare favorendo la comparsa e l'espansione di organismi in grado di utilizzare l'ossigeno tramite la respirazione aerobica. Molto probabilmente sono scomparse molte linee di organismi anaerobici. Alcuni di essi potrebbero aver trovato rifugio negli habitat anossici, mentre altri sono riusciti a sviluppare meccanismi di difesa contro l'ossigeno. La teoria endosimbiotica (Margulis 1970) ipotizza che mitocondri e cloroplasti fossero batteri che, durante l'evoluzione, aveva stabilito una relazione simbiotica con un antenato eucariotico anaerobio.



(A) Ipotetica evoluzione del reticolo endoplasmatico (ER)



(B) Evoluzione del cloroplasto secondo la teoria endosimbiotica

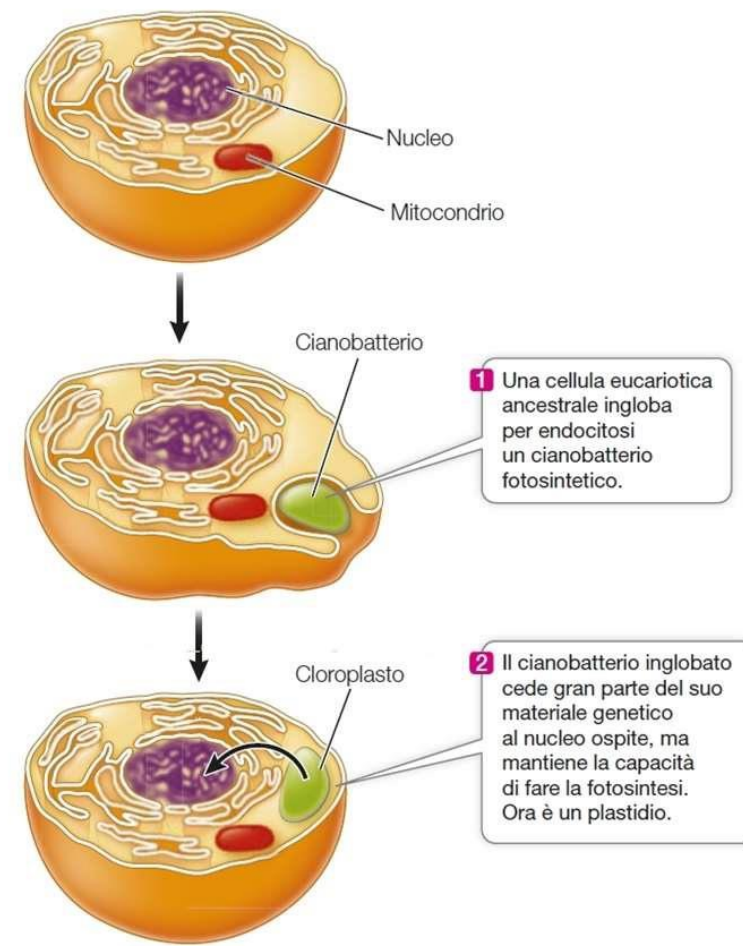


Figura 5.23 L'origine degli organuli (A) Il sistema di endomembrane e l'involucro nucleare potrebbero essersi formati per introflessione della membrana plasmatica e successiva fusione dei margini della tasca. (B) La teoria endosimbiotica suggerisce che alcuni organuli siano derivati da procarioti inglobati da altre cellule più grandi.

Figura 3.18. L'endosimbiosi nell'evoluzione degli eucarioti.

Teoria della simbiogenesi

In biologia, la sintrofia o l'alimentazione incrociata è il fenomeno di una specie che vive dei prodotti metabolici di un'altra specie. In questo tipo di interazione biologica, la crescita di un partner dipende dai nutrienti, dai fattori di crescita o dai substrati forniti dall'altro partner. (da Wikipedia)

Un meccanismo di sintrofia è il trasferimento interspecifico di idrogeno oppure l'interazione tra solfo-batteri verdi e solfato-riduttori.

Teoria della simbiogenesi

2° scenario: gli eucarioti sono il risultato di un'associazione tra un batterio e un archea (1)



La cellula eucariotica potrebbe derivare, secondo alcune teorie, da un'associazione simbiotica tra batteri e archaea. Tali ipotesi sono state avanzate per spiegare il fatto che il genoma eucariotico contiene geni originati da archaea e geni originati da batteri.

Una di queste ipotesi si basa sulla creazione di associazioni, in ambiente anossico ricco di H_2 , tra alfa-proteobatteri fermentanti produttori di CO_2 e archaea metanigeni che potrebbero aver utilizzato la CO_2 prodotta dagli alfa-proteobatteri. Tali associazioni, basate sul trasferimento di idrogeno interspecie, sono state osservate tra gli microrganismi attuali. Un aumento della superficie di contatto tra i partner e l'espansione delle membrane dei metanigeni intorno gli alfa-proteobatteri avrebbero provocato il totale inglobamento di quest'ultimo.

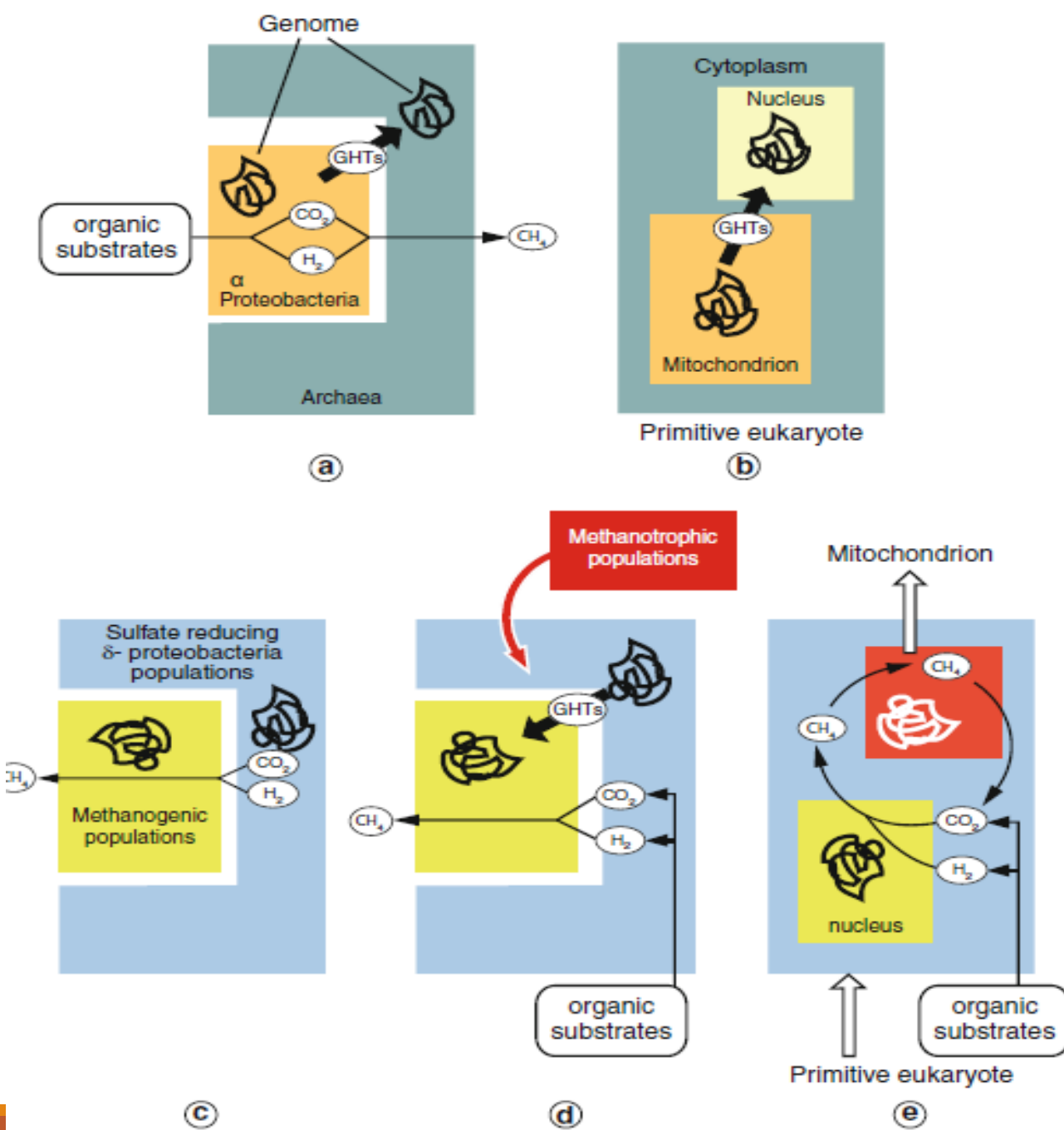
Teoria della simbiogenesi

2° scenario: gli eucarioti sono il risultato di un'associazione tra un batterio e un archea (2)

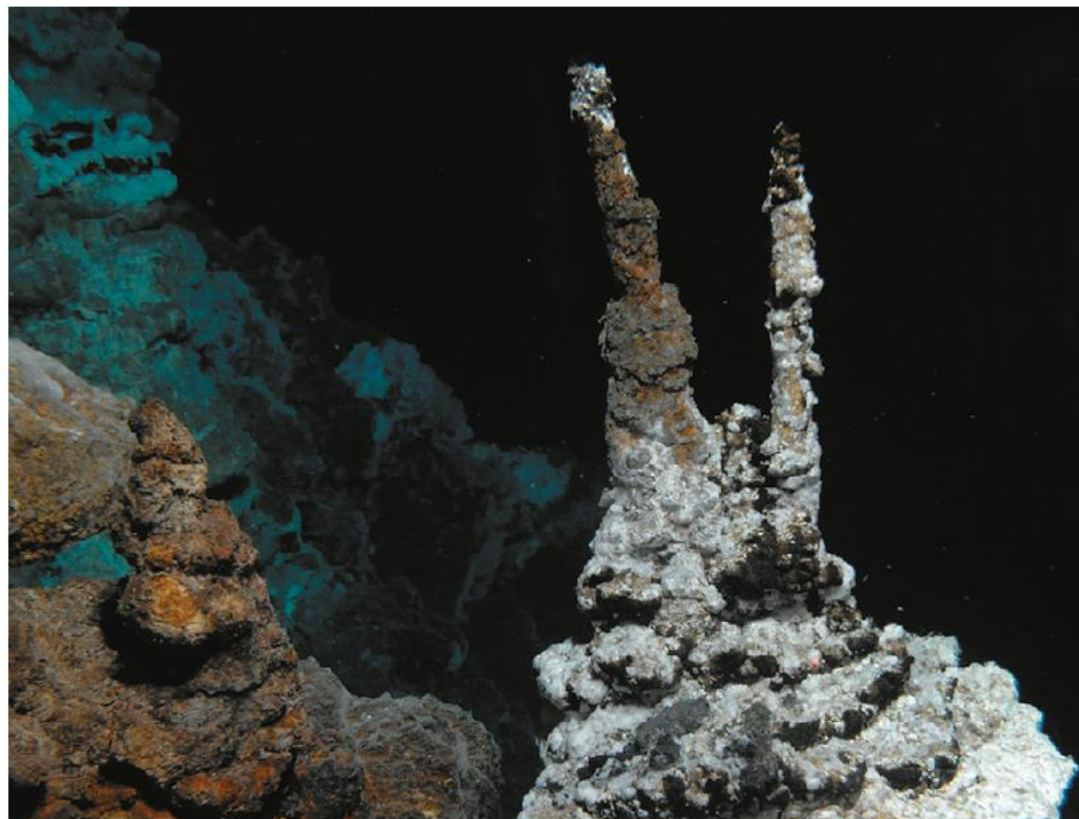
Parallelamente, diversi geni alfa-proteobatterici furono trasferiti al genoma dell'archea metanigeno ed è così che sarebbe emerso il genoma del primitivo eucariota (o proto-eucariota).

L'altra parte del genoma alfa-proteobatterico si sarebbe evoluto nel mitocondrio. Secondo questa ipotesi prevede che:

1. L'antenato dei mitocondri avrebbe avuto, inizialmente, un metabolismo anaerobico e i mitocondri attuali sarebbero derivati da questo.
2. L'origine degli eucarioti coincide con l'endosimbiosi mitocondriale, il che implica che gli eucarioti senza mitocondri non siano mai esistiti.



Secondo alcuni la formazione del nucleo sarebbe nata dalla necessità di processare l'RNA negli Eukarya (confinamento degli spliceosomi e loro separazione dai ribosomi)



Rolf B. Pedersen

Figura 13.11 Habitat dei *Lokiarchaeota* e origine degli *Eukarya*. I *Lokiarchaeota* sono stati scoperti nel corso di un'analisi metagenomica dei sedimenti marini vicini a un camino idrotermale denominato "Castello di Loki" (nella fotografia). Questi *Archaea* presentano alcune somiglianze fondamentali con gli *Eukarya* e potrebbero essere i parenti più stretti finora conosciuti dell'ultimo antenato eucariotico comune.

Table 1.3 Characteristics defining Bacteria, Archaea, and Eukarya (eukaryotes).

Characteristic	Bacteria	Archaea	Eukarya
1. Membrane-bound nucleus	Absent	Absent	Present
2. Cell wall	Muramic acid	Muramic acid absent	Muramic acid absent
3. Membrane lipids	Ester linked	Ether linked	Ester linked
4. Ribosomes	70S	70S	80S (in cytoplasm)
5. Initiator tRNA	Formylmethionine	Methionine	Methionine
6. Introns in tRNA genes	Rare	Yes	Yes
7. RNA polymerases	One (4 subunits)	Several (8–12 subunits each)	Three (12–14 subunits each)
Sensitivity to:			
8. Diphtheria toxin	No	Yes	Yes
9. Chloramphenicol, streptomycin, and kanamycin	Yes	No	No (cytoplasm)

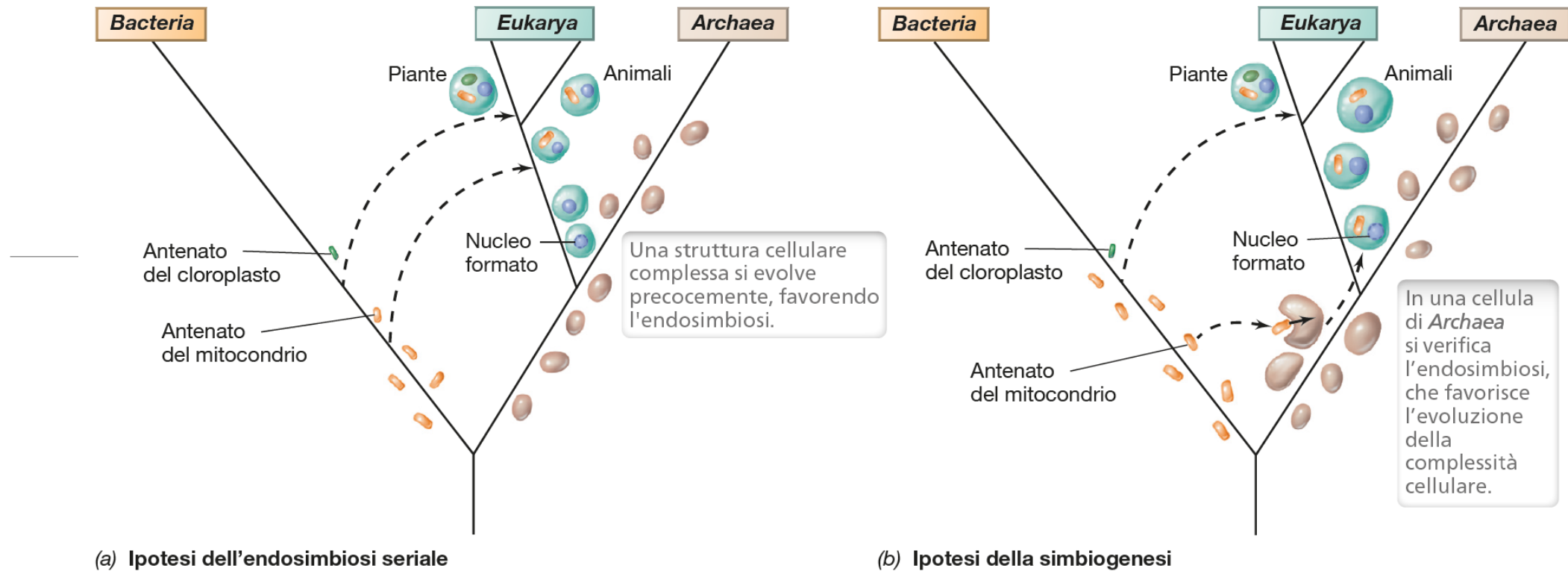


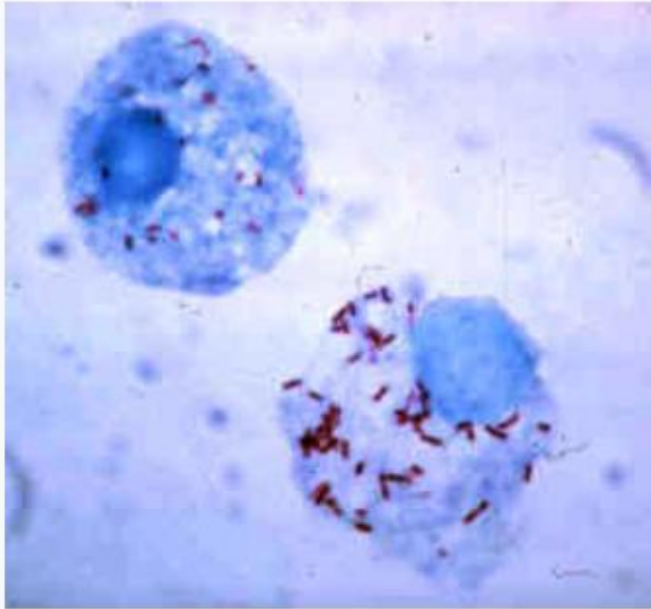
Figura 13.10 Modelli diversi a supporto dell'origine endosimbiontica della cellula eucariotica.

(a) Secondo l'ipotesi dell'endosimbiosi seriale, l'antenato eucariotico, dotato di un nucleo e di altre caratteristiche tipiche delle cellule eucariotiche, si separò dalla linea filogenetica degli *Archaea* prima dell'endosimbiosi con l'antenato batterico del mitocondrio. La successiva endosimbiosi con un antenato cianobatterico del cloroplasto diede origine al progenitore eucariotico di tutte le piante e di tutti gli altri eucarioti fotosintetici. (b) Secondo l'ipotesi della simbiogenesi, la cellula eucariotica deriva da una relazione simbiotica tra *Bacteria* e *Archaea*. Il batterio simbionte sarebbe stato inglobato dall'*Archea* ospite e nel tempo si sarebbe evoluto nel mitocondrio. Il nucleo e altre caratteristiche della cellula eucariotica si sarebbero evoluti dopo l'instaurarsi dell'endosimbiosi. Una successiva endosimbiosi con l'antenato cianobatterico del cloroplasto avrebbe generato il progenitore eucariotico di tutte le piante e di tutti gli altri eucarioti fotosintetici. Si noti la posizione dei mitocondri e dei plastidi (i cloroplasti sono un tipo di plastidi) sull'albero filogenetico universale (Figura 13.9).

Teoria endosimbiontica

Secondo questa teoria, un batterio aerobico appartenente al gruppo di alfa-proteobatteri, forse un parente dell'attuale *Rickettsia*, sarebbe stato catturato (probabilmente attraverso la fagocitosi) da un organismo anaerobico eterotrofo. Questo batterio si sarebbe poi moltiplicato all'interno del suo ospite. Alcuni tratti del loro genoma si riscontra infatti assimilabile a quello degli endosimbionti mitocondriali. Quest'associazione sarebbe diventata permanente evolvendo in simbiosi mutualistica intracellulare, poiché entrambi i partner trovarono vantaggi reciproci. Il microrganismo aerobio avrebbe trovato «vitto e alloggio» nel suo ospite, cioè protezione e cibo abbondante. La natura esatta del vantaggio immediato per l'ospite della simbiosi mitocondriale è ancora oggi dibattuta. Forse la capacità di sintetizzare ATP con la massima efficienza mediante la fosforilazione ossidativa potrebbe essere la spiegazione.

Rickettsia



Rickettsia rickettsii

Classificazione scientifica

Dominio	Prokaryota
Regno	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Alpha Proteobacteria
Ordine	Rickettsiales
Famiglia	Rickettsiaceae
Genere	<i>Rickettsia</i>

da Rocha-Lima, 1916

Rickettsia è un genere di microrganismi Gram-negativi, non sporigeni e parassiti intracellulari obbligati. Le loro dimensioni partono da un minimo di circa 100 nm. Il fatto che la loro biologia li renda parassiti endocellulari obbligati, implica che i metodi di studio e di coltivazione in vitro si assimilino a quelli utilizzati per i virus. Le Rickettsie sono patogeni per l'uomo e altri animali, cui vengono trasmessi generalmente da artropodi quali la zecca, ma anche, più raramente, pulci o pidocchi.

Teoria endosimbiontica

Un'ipotesi alternativa potrebbe indicare che l'effetto selettivo primario era quello di proteggere il proprio ospite dai danni causati dall'ossigeno in un'atmosfera che stava rapidamente cambiando, permettendogli così di 'conquistare' nicchie ecologiche aerobiche. In ogni caso, una delle principali conseguenze di questa endosimbiosi per i primi eucarioti sarebbe la transizione da metabolismo anaerobico a uno stile di vita aerobico. Il passaggio dal simbionte procariotico al mitocondrio è stato accompagnato da trasferimenti genici dal genoma procariotico al genoma nucleare del suo ospite.

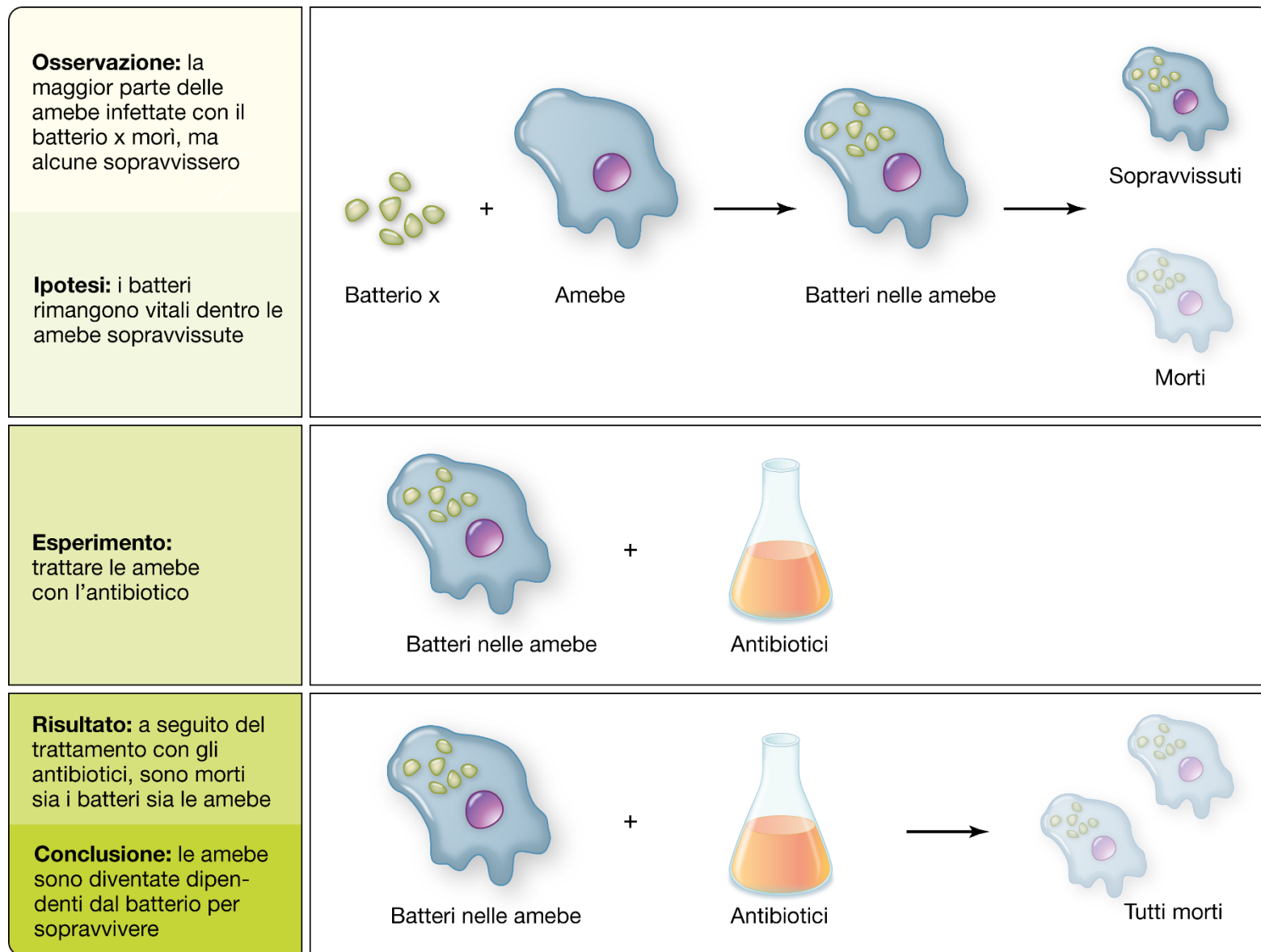


Figura 3.19. Evidenze sperimentali per l'endosimbiosi: amebe e batteri x.

Ci sono ampie prove a sostegno della teoria endosimbiotica.

Studi filogenetici, basati sul confronto di sequenze di rRNA e di geni codificanti proteine dei genomi degli endosimbionti, hanno chiaramente dimostrato che i mitocondri e i cloroplasti sono evolutivamente vicini ai batteri, in particolare agli alfa-proteobatteri per i mitocondri e ai cianobatteri per i cloroplasti.

I genomi mitocondriali contengono tra 10 e 100 geni, un numero molto più basso rispetto a quello dei geni trovati negli alfa-proteobatteri oggi viventi.

I cloroplasti contengono un maggior numero di geni (100-200) rispetto ai mitocondri. Possono esserci due spiegazioni complementari per queste osservazioni: (a) molti geni inizialmente presenti nel simbiote sono stati persi durante l'evoluzione e (b) i geni sono stati trasferiti dal simbiote al nucleo dell'ospite.

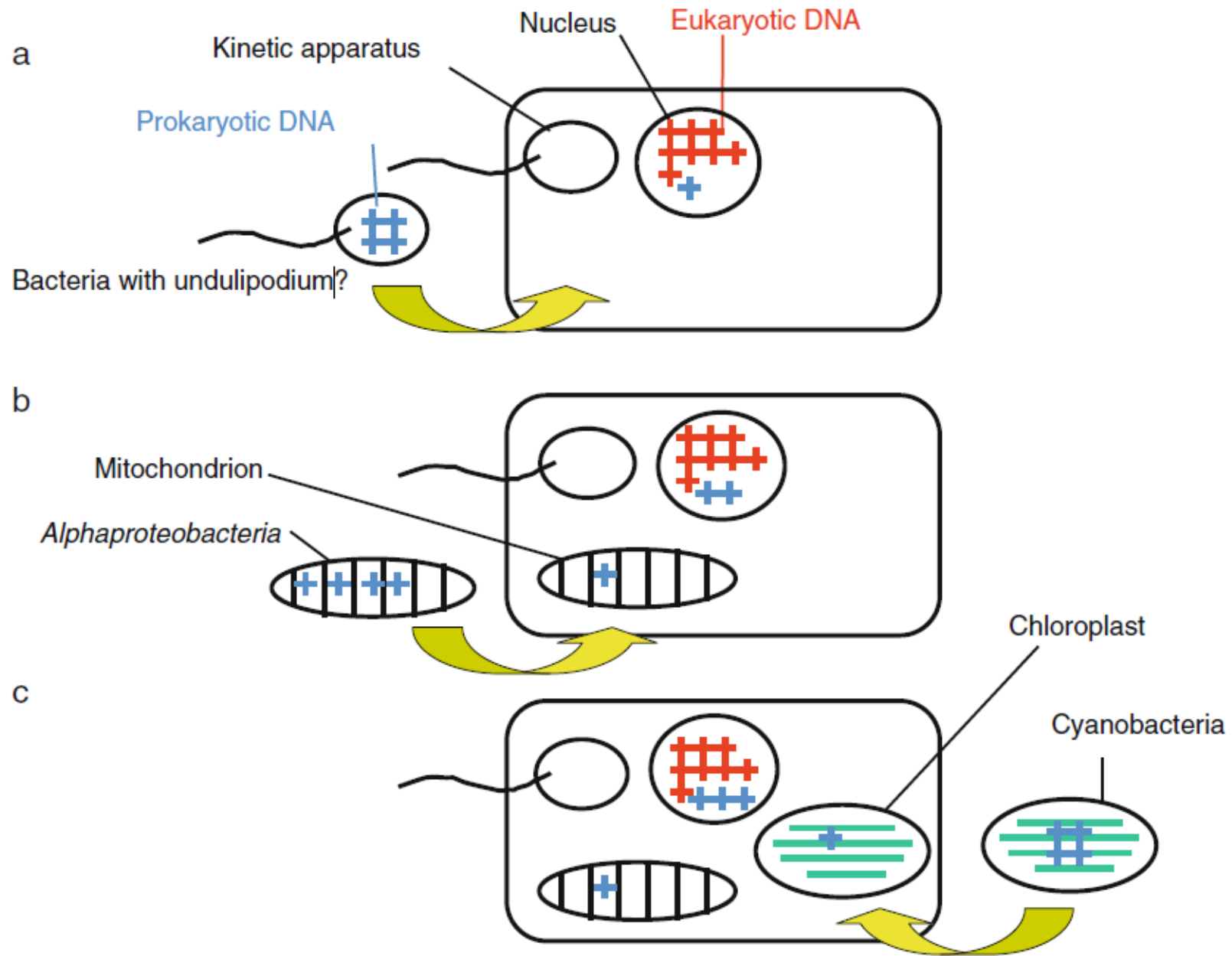
Le grandi dimensioni del genoma del cloroplasto rispetto a quello del mitocondrio sono state anche interpretate come un'indicazione che l'endosimbiosi mitocondriale precede l'endosimbiosi cloroplastica.

Un secondo argomento a favore della priorità temporale dell'endosimbiosi mitocondriale è che la simbiosi tra un produttore di O_2 (il batterio che si trasformerà in cloroplasto) è concepibile solo nel caso di un ospite in grado di consumare O_2 . Inoltre, tutte le attuali cellule eucariotiche hanno antenati che ospitavano i mitocondri, mentre l'endosimbiosi cloroplastica è specifica di solo per gli eucarioti fototrofi.

Altri argomenti decisivi in sostegno della teoria endosimbiontica sono:

- 1) I mitocondri e i cloroplasti contengono propri ribosomi indubbiamente di tipo batterico
- 2) gli stessi antibiotici che agiscono sui batteri, ad esempio la streptomina, inibiscono funzione degli endosimbionti
- 3) la fotosintesi è virtualmente identica nei cloroplasti e nei cianobatteri oggi esistenti.
- 4) la catena respiratoria dei procarioti (localizzata nella membrana citoplasmatica) è paragonabile a quella degli eucarioti (localizzata nella membrana interna mitocondriale).

Fig. 5.12 Stages of primary endosymbiosis at the origin of the kinetic apparatus (very hypothetical) of the mitochondrion and chloroplast. The genes of ancestral eukaryotic nucleus are symbolized by red crosses. Prokaryotic genes are shown in blue, including when they are captured by the nucleus. (a) Formation of the kinetic apparatus from a hypothetical bacterium with undulipodium that lost its entire genome; (b) an alphaproteobacteria becomes a mitochondrion after losing much of its genome; (c) a cyanobacterium becomes a chloroplast, after loss of the majority of its genome



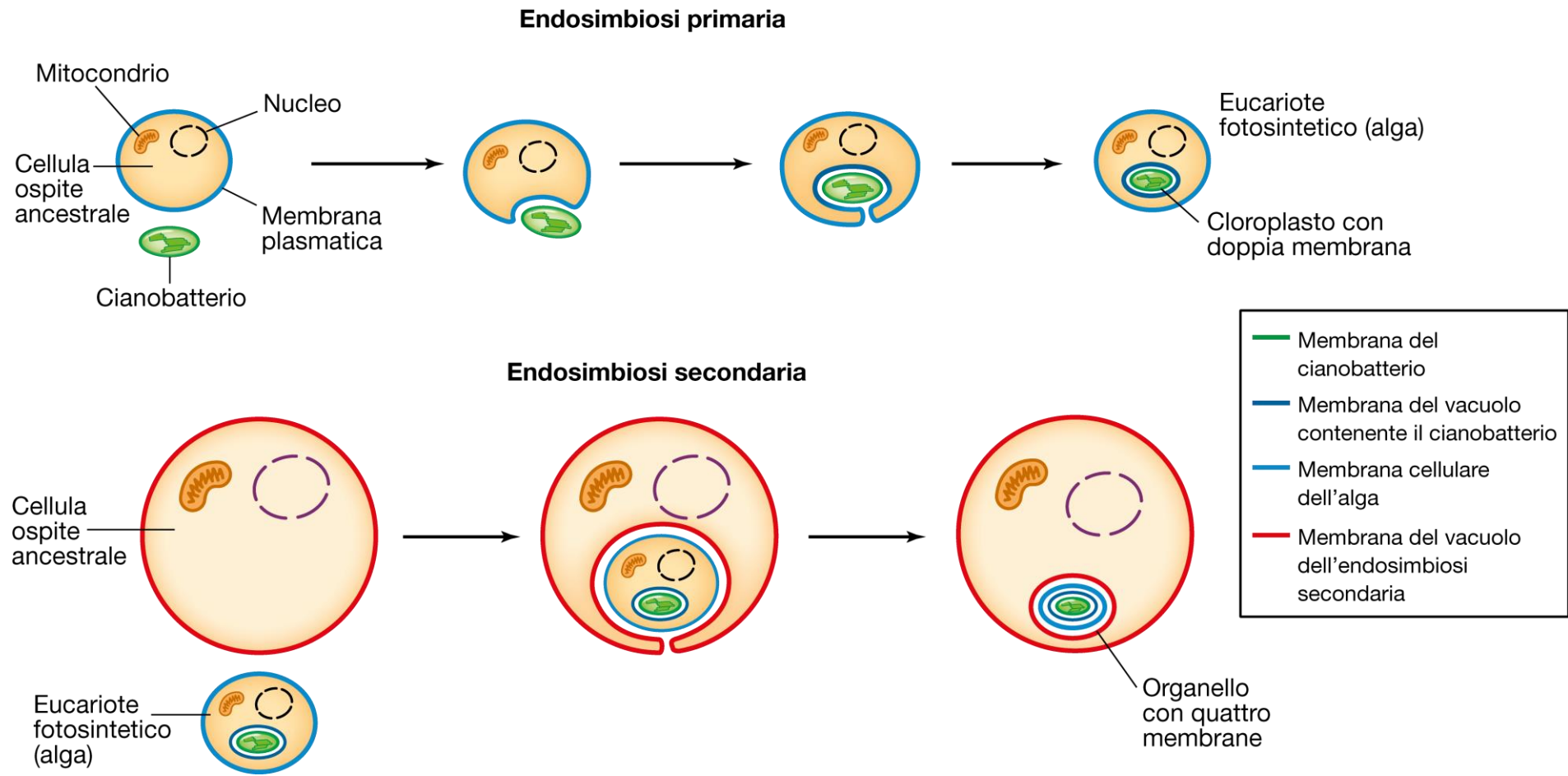


Figura B3.7. Endosimbiosi secondaria: generazione di un organello con quattro membrane.

Metabolismo del LUCA

È generalmente accettato che l'atmosfera della terra nel momento in cui il LUCA visse era in gran parte anossico. Il metabolismo energetico del LUCA era quindi fermentativo, basato su respirazione anaerobica o basato sulla fotosintesi anossigenica.

Se un po' di ossigeno era presente nell'ambiente, anche in traccia, LUCA potrebbe aver adottato la respirazione aerobica. Questa seconda ipotesi implicherebbe il verificarsi della respirazione prima della fotosintesi ossigenica, uno scenario evolutivo che, sebbene sorprendente, non può essere completamente escluso.

Il più piccolo genoma conosciuto.

Lo studio dei più piccoli genomi procariotici esistenti ha portato ad alcune stime del numero minimo di geni che il genoma di un organismo dotato di membrana cellulare può contenere. Un genoma minimo potrebbe essere stato quello caratteristico del LUCA.

Uno dei più piccoli genomi cellulari conosciuti fino ad oggi è quella del batterio endosimbiotico obbligato *Carsonella ruddii*. Questo è un gamma-proteobacterio che infetta tutte le specie di insetti emitteri che si nutrono esclusivamente della linfa delle piante. Il suo genoma è composto da 160 kilobasi e contiene 182 geni codificanti proteine. Questo genoma è estremo anche nella sua composizione di base: 84% di A e T e solo il 16% di C e G. *Carsonella ruddii* dipende molto dal suo ospite poiché è completamente privo di geni coinvolti nella biosintesi della membrana e nel metabolismo dei lipidi e dei nucleotidi.

Al contrario, il genoma di questo simbionte contiene un gran numero di geni codificanti per proteine coinvolte nella sintesi di aminoacidi essenziali (circa il 18% dei geni). Questo simbionte è essenziale per sopravvivenza dell'insetto ospite, che non trova alcuni aminoacidi essenziali nella sua unica fonte di cibo.

LUCA: procariota, eucariota o qualcos'altro?

L'ipotesi più ampiamente sostenuta (e insegnata) è che il LUCA avesse un'organizzazione procariotica cellulare, dal momento che la cellula procariotica ha un'organizzazione più semplice della cellula eucariotica. Questa ipotesi si riflette nell'etimologia di procariote (il prefisso "pro" significa prima; il suffisso "caryos" significa nucleo) ed eucarioti ("eu-" significa vero), il che implica la derivazione del secondo dal primo.

In alternativa è stato suggerito che organismi moderni, sia procariotici che eucariotici, siano stati derivati da una struttura ancestrale proto-eucariotica.

L'organizzazione procariotica ha le seguenti caratteristiche: semplicità, divisione cellulare veloce, flessibilità metabolica, capacità di scambio genico e limitate esigenze nutrizionali. Grazie a queste sue caratteristiche ha avuto uno straordinario successo evolutivo, diffondendosi in tutta la biosfera primitiva e resistendo a tutti gli sconvolgimenti ecologici che hanno segnato la storia del nostro pianeta. Il successo dell'approccio "eucariotico" è stato altrettanto grande, ma utilizzando una diversa strategia evolutiva

Principali caratteristiche del LUCA

- 1) **Un genoma basato sul DNA.** L'esistenza di un LUCA con un genoma a DNA non è universalmente accettata, perché la maggior parte delle proteine implicate nella replicazione del DNA nei batteri non sono omologhe a quelli degli Archaea e degli Eucarioti.
- 2) **Una membrana plasmatica conforme al modello del "mosaico fluido",** il che implica che il LUCA era probabilmente un organismo cellulare completo. La membrana del LUCA molto probabilmente presentava un sistema integrato di generazione di ATP (a causa della presenza universale di ATPasi nei tre domini della vita) e un sistema mediante il quale proteine prodotte nella cellula erano indirizzate alla superficie della cellula (protein export). La natura dei lipidi del LUCA è ancora il soggetto di molte controversie.
- 3) **Un codice genetico che controlla la traduzione dell'RNA in proteine.**
- 4) **Ribosomi, RNA di trasferimento, aminoacil tRNA sintetasi, e una serie di fattori di traduzione coinvolti nella sintesi di proteine.**