

## **BIOTECNOLOGIE DI BASE E MODELLI ANIMALI**

### **Lezione 1**

Modello animale: organismo, specie studiata per la comprensione di particolari fenomeni biologici. Utilizziamo una **specie modello perché le acquisizioni fatte su quello ci possano dare indicazioni anche su altri organismi**. Ciò è possibile proprio perché i principi biologici fondamentali, come vie metaboliche, geni di regolazione e sviluppo, si mantengono attraverso l'evoluzione. (geni altamente conservati)

Come viene scelta una **specie modello**? I ricercatori cercano un organismo che risponda a determinate caratteristiche e necessità, in particolare si guardano questi fattori:

- **dimensioni**: facili da tenere in laboratorio, né particolarmente piccole né grandi per garantire la giusta maneggiabilità
- **tempo di generazione**: riproduzione veloce, non animali dal ciclo di vita eccessivamente prolungato
- **accessibilità**: di facile reperibilità, facile da reperire, allevare, manipolare
- **genetica**: abbastanza semplice (magari con un piccolo corredo cromosomico)
- **conservazione dei meccanismi**

Un esempio di modello animale è la DROSOPHILA MELANOGASTER: moscerino della frutta, uno degli organismi viventi più studiati. E' stato utilizzato sin dai primi anni del '900 per degli studi di genetica di base, i famosi esperimenti di Morgan hanno permesso di approfondire il lavoro di Mendel e difatto sono stati descritti i meccanismi ereditari legati al cromosoma X.

I motivi per cui è un modello di studio sono i seguenti:

- insetto piccolo, che non occupa spazio e facile da allevare in laboratorio. In natura si nutre di lieviti che crescono sulla frutta marcescente, ma in laboratorio possiamo preparare una dieta artificiale a base di lievito.
- ha un breve tempo di gestazione (2 settimane) e anche un'elevata riproduttività (ogni singola femmina può deporre fino a 600 uova in 10 giorni)
- corredo genomico semplice: ha solo 4 paia di cromosomi: 3 autosomi e 1 sessuale
- tecniche di trasformazioni genetiche sono state disponibili sin dal 1987, ed è dunque semplice creare dei mutanti
- il sequenziamento del suo genoma è stato completato nel 1998
- le mutazioni genetiche sono molto frequenti

Tra alcuni studi su questi insetti uno in particolare ha avuto anche il premio Nobel, dato nel 2017 per medicina e fisiologia, per le loro scoperte riguardanti i meccanismi molecolari che controllano i **ritmi circadiani**: a livello dell'ipotalamo ci sono dei geni che hanno un'importanza fondamentale per mantenere un

bioritmo interno che a sua volta si sincronizza con l'alternanza luce-buio, mediante il chiasma ottico, che permette il passaggio dei nervi ottici. Dopo le informazioni sensoriali riguardanti la luce, il bioritmo si sincronizza con il gene tau ed il gene ter che sono collocati nell'ipotalamo che sono in grado di garantire il mantenimento di questi determinati gruppi endogeni. Esempio: se noi prendiamo un animale e lo teniamo costantemente al buio, questi ritmi continuano ma si sfasano nel tempo, in quanto non più controllati dall'alternarsi luce buio, ma possono rallentare o velocizzarsi.

Sui ritmi circadiani sono basate tantissime nostre funzioni vitali come per esempio il ritmo sonno-veglia, la fame, la coordinazione (varia a seconda dell'orario della giornata), la temperatura corporea e la pressione sanguigna.

Queste funzioni vitali sono dettate da geni che sono altamente conservati e sono presenti anche negli insetti: tutto quello che regola il bioritmo nei mammiferi è uguale negli insetti. Infatti questi geni tau e ter, presentano sequenze nucleotidiche identiche sia nel topo che nella drosophila che nell'uomo. Tutto ciò è impressionante perché gli insetti si sono separati dalla linea che ha portato i mammiferi molto tempo fa: l'antenato comune a insetti e mammiferi aveva dunque già questi geni che si sono conservati in entrambi, questo perché sono di importanza fondamentale per la sopravvivenza, un cambiamento potrebbe portare a condizioni incompatibili con la vita.

Altri organismi invertebrati famosi

- Hydra (phylum: cnidari), è un polipo che vive in acqua dolce, specie molto studiata per l'alta capacità di rigenerazione. Eutelìa: caratteristica fa sì che tutti gli organismi di una specie abbiano un numero costante di cellule che si differenzia alla fine dello sviluppo embrionale e rimane tale durante tutta la vita.
- Coenerhabditis elegans è un verme (nematodi), impiegato nello studio della differenziazione cellulare e dell'apoptosi.
- Cepaea nemoralis è un gasteropode (molluschi) utilizzato negli studi sulla ereditarietà e in biologia evolutiva
- Euprymna scolopes è un calamaro delle Hawaii, modello di simbiosi tra animali e batteri nella produzione di sistemi bioluminescenti
- Loligo pelaei è un calamaro oggetto di ampi studi neurologici a causa del suo assone gigante: non è rivestito da guaina mielinica, in quanto invertebrati, ma la velocità dell'impulso è garantita dalle dimensioni dell'assone (in maniera direttamente proporzionale). Utilizzato per studi di fisiologia del sistema nervoso proprio per la dimensione dell'assone.
- Ricci di mare (echinodermi), usati per gli studi dello sviluppo embrionale perché sono euterostomi<sup>(1)</sup>, con caratteristiche simili a quello dei cordati.
- Ciona intestinalis, ascidia (cordati, phylum al quale apparteniamo anche noi). Studi fatti sul genoma paragonandolo al nostro

Nell'ambito dei vertebrati

- Zebrafish: corpo quasi trasparente che rende possibile la visione dell'anatomia interna dell'animale → utile per studiare la fisiologia di organi e apparati
- Rattus norvegicus e mus musculus (cordati) sono il ratto e il topo, modelli animali in tossicologia, come modello neurologico e come fonte di colture primarie.

La vita è una gerarchia autoreplicante di livelli e la biologia è proprio lo studio dei livelli che la compongono. Geni → proteine → cellule → organi → organismi → popolazioni.

Nessun fenomeno può essere isolato dagli altri, sono tutti relazionati tra loro.

Lo scopo è quello di cercare di capire quali sono di capire i principali phyla animali, come svolgono le funzioni vitali, che caratteristiche hanno e le differenze tra i vari animali, ma anche tra gli animali e l'uomo stesso. Dobbiamo concentrarci sulla biodiversità nel mondo animale e capirne le principali caratteristiche in relazione al loro sviluppo e all'ambiente in cui vivono (che è determinante per avere successo nell'ambiente stesso).

Analizzeremo 3 grandi caratteristiche:

- **Piani organizzativi: classificazione**, cosa ci permette di attribuire un animale ad un determinato phylum, simmetria, cefalizzazione, altro strumento di diversificazione degli animali (formazione della zona del corpo dove si addensano gangli per la formazione del SNC – non in tutti è presente infatti spesso ci troviamo di fronte ad un sistema nervoso primitivo dove non c'è separazione tra snc ed snp, solo quando c'è si può parlare di cefalizzazione - processo evolutivo importante), cavità corporee (celoma – cavità corporea che si crea all'interno del corpo dell'animale tra il digerente e la parete del corpo. E' una conquista evolutiva perché cambiano forma, diventando cilindrici da piatti e conquistano uno spazio in cui organizzare i vari organi e apparati.
- **Funzioni vitali**: tegumento, significato e tipologie oppure circolatorio (capire come fanno a svolgere quelle funzioni gli animali in cui non è presente), scheletro e la sua funzione di sostegno.
- **Biodiversità**: caratteristiche dei principali phyla animali → poriferi, cnidari, platelminti, nematodi, anellidi, molluschi, artropodi, echinodermi, cordati (vertebrati: pesci, uccelli, mammiferi). Analisi anche delle classi in ogni phylum e delle differenze.

MODELLI ORGANIZZATIVI E SVILUPPO: SIMMETRIA, CELOMA

In passato gli esseri viventi venivano riconosciuti in 5 regni

- Piante
- Funghi
- Animali
- Protisti

- Monera (procarioti)

Da un punto di vista genetico ulteriore divisione in 3 domini:

- archeobatteri → procarioti primitivi, (batteri estremofili – metanogeni, alofili estremi, termofili estremi)
- eubatteri → procarioti evolutivi
- eucarioti → organismi nucleati comprendenti piante, funghi e animali

Oggi invece abbiamo 7 regni diversi:

- 1) **ARCHEA**, procarioti con caratteristiche biochimiche uniche, principalmente di composizione della membrana acellulare, spesso viventi in condizioni ambientali estreme per la composizione chimica, pressione e temperatura
- 2) **BACTERIA**, procarioti batteri o solo eubatteri, in senso stretto, comprendente la maggior parte dei procarioti
- 3) **PROTISTA**, o protozoi in senso stretto, costituito da eucarioti unicellulari
- 4) **CHROMISTA**, cromisti eucarioti unicellulari o pluricellulari, per la maggior parte fotosintetici, con caratteristiche proprie, come il cloroplasto costituito da 4 membrane ecc..
- 5) **FUNGHI**, eucarioti eterotrofi, unicellulari o pluricellulari, individuati da alcune particolarità strutturali e metaboliche.
- 6) **PLANTAE**, piante, costituito dagli organismi autotrofi con differenziamento cellulare
- 7) **ANIMALIA**, animali, costituito dagli organismi eterotrofi con differenziamento cellulare

Noi studiamo in mondo degli ANIMALI, organismi eterotrofi con differenziamento cellulare. La possibilità di riconoscere la biodiversità, la classificazione gerarchica viene introdotta da Carlo Linneo, nel 700 (prima non avevamo la possibilità di riconoscere gli animali). Introdusse la **nomenclatura binomia**: ad ogni specie vengono assegnati **due nomi latinizzati**:

- primo nome: **genere**
- secondo nome: **specie**

La classificazione gerarchica in gruppi progressivamente più ampi: **Specie → genere → famiglia → ordine → classe → phylum → regno**

Classificazione: strumento fondamentale per lo studio scientifico

**La tassonomia sistematica è l'identificazione, la denominazione e la**

**classificazione delle specie**: importanza pratica di queste nozioni → dobbiamo avere un modello sperimentale sicuro, dobbiamo sapere che ho a che fare con una determinata specie + gestione ecosistemi: quando parliamo di biodiversità e della sua conservazione, quindi salvaguardia di ambienti ed ecosistemi. Capirne l'inquinamento e specie in cui vivono. (esempio: se dobbiamo proteggere parte del nostro ambiente dall'attacco di uno specifico insetto dobbiamo avere tutte le informazioni possibili per combatterlo con efficacia – plasmodio malaria).

Linneo primo a fare ordine nelle specie e adottò anche il criterio di similitudine per attribuirle ad un determinato taxon, anziché quello delle differenze tra gli individui.

Un genere è un gruppo di specie strettamente imparentate, ma in realtà l'unica entità biologica vera è la specie, tutte le altre categorie sono artefici del nostro sistema di classificazione.

**Che cos'è una SPECIE?** Abbiamo diversi approcci:

- Mayr: **concetto biologico** di specie → le specie sono gruppi di popolazioni naturali interfeconde, capaci di incrociarsi per produrre progenie fertili e riproduttivamente isolate da altri gruppi simili. Considera il **flusso genico** tra le specie.  
Il concetto biologico è importante perché colloca la tassonomia delle specie nello schema concettuale della genetica delle popolazioni.
- **Concetto ecologico** di specie: ritengo appartenenti a d una stessa specie tutti gli individui che occupano un determinata nicchia ecologica (ogni specie ha la propria diversa nicchia: ovvero fattori biotici (umidità, calore), abiotici (parassitismo, altri organismi con cui competono per il dominio del territorio) che caratterizzano un **determinato habitat**). Insieme delle risorse e degli habitat sfruttati da una specie costituisce la sua nicchia ecologica
- **Concetto fenetico**: basato sulle **caratteristiche visibili**, morfologiche. Insieme di caratteristiche morfologiche che permette ad un tassonomo di definire una specie, mediante cioè attributi condivisi.
- **Concetto filogenetico**: l'insieme di popolazioni che condividono un **antenato comune**. Viene considerato l'aspetto evolutivo.

Accanto a tutti questi approcci oggi abbiamo altri strumenti che ci aiutano a definire una specie: metodi molecolari, come ad esempio in **DNA BARCODING** che ci permette di individuare gli appartenenti ad una specie sulla base della **sequenza nucleotidica** di un segmento di **DNA mitocondriale che codifica per l'enzima citocromo ossidasi**, importante per il ciclo di krebs. Grazie alla sequenza di questo gene possiamo separare le specie le une rispetto alle altre, distinzione fino al 95% (è presenta una banca data in cui si possono confrontare i vari dna per capire la specie di appartenenza).

I tradizionali approcci allo studio della tassonomia sono tutt'ora validi ma l'introduzione di metodi molecolari come il DNA barcoding può migliorare tali studi con una futura identificazione e classificazione che dipende da:

- morfologia tradizionale
- moderni metodi molecolari