

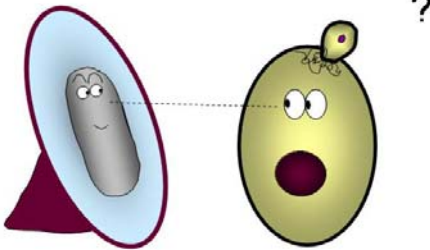
DALLA FILOGENESI ALLA TASSONOMIA: LA "STORIA" DEI BATTERI

Molto spesso, i procarioti vengono definiti sulla base delle loro differenze dagli eucarioti, usando le caratteristiche che sono elencate nella tabella (accanto ai motivi per cui ognuna di esse può essere considerata determinante solo se in associazione con altre..).

Procarioti	Eucarioti	Ma in realtà.....
Sono piccoli (1-5 μ)	Sono grandi: (20-100 μ)	un terzo del nanoplancton oceanico (meno di 5 μ) è eucariotico; molti cianobatteri, hanno dimensioni di 10-50 μ ; <i>Epulopiscium</i> , (endosimbionte di pesci) misura 650 μ . Il batterio più grande è <i>Thiomargarita namibiensis</i> , le cui cellule arrivano a 750 μ
non hanno nucleo	Hanno un nucleo	Anche se i batteri hanno un nucleotide e non un nucleo propriamente detto, il nucleotide di alcuni batteri oceanici (<i>Planctomyces</i>) è delimitato da una membrana
Hanno un solo cromosoma circolare	Hanno molti cromosomi lineari	Ci sono procarioti (es <i>Burkholderia</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Vibrio</i> ...) che hanno più di un cromosoma; alcuni hanno cromosomi e plasmidi lineari. Alcuni eucarioti hanno un numero di cromosomi molto limitato.
Sono aploidi	Sono diploidi	Ci sono molti eucarioti aploidi;
Riproduzione per scissione	Riproduzione sessuata o per gemmazione	Alcuni procarioti si moltiplicano anche per gemmazione
Si nutrono per assorbimento	Si nutrono per ingestione o per fotosintesi	Effettivamente questo è quello che appare, ma in realtà gli eucarioti si nutrono attraverso i loro simbionti interni (mitocondri e cloroplasti). Fotosintesi e Respirazione sono solo due dei modi di vita usati dai procarioti
Aerobi o anaerobi	Aerobi	Non tutti gli eucarioti sono aerobi, alcuni mancano di mitocondri e sono anaerobi (sono i mitocondri-di origine procariotica, che permettono agli eucarioti di essere aerobi)
Monocellulari	Multicellulari	Molti eucarioti sono unicellulari (alghe, funghi, protozoi) e molti procarioti hanno forme multicellulari, con comunicazione tra le cellule. In un caso è stato dimostrato che un batterio formato da 6-7 cellule, cessa di svolgere le sue funzioni fisiologiche (muore) se le cellule vengono separate.
Cicli di divisione semplici, senza differenziamento	Cicli di vita complessi, con differenziamento cellulare	Tutte le cellule hanno un ciclo di vita e differenziamento; (curva di crescita) alcuni procarioti hanno cicli vitali particolarmente complessi.

Queste osservazioni mettono in evidenza una serie di somiglianze, che si affiancano alla presenza, in tutti gli organismi viventi, di numerose biomolecole comuni o correlate e di strategie simili e complesse per la crescita e la propagazione.

Le strutture basilari della vita sono conservate anche in organismi molto lontani: è ormai universalmente accettato che tutti derivino da un antenato comune (L.U.C.A).

	
tutti gli organismi viventi condividono biomolecole comuni o correlate e seguono strategie simili e complesse per la crescita e la propagazione	moltissime somiglianze coinvolgono tutti gli aspetti basilari della vita: è evidente che gli organismi viventi discendano da un antenato comune: LUCA (the Last Universal Common Ancestor)

Distinguere però come i principali gruppi di organismi siano imparentati e tracciare la loro evoluzione dall'antenato comune è un problema controverso e in parte irrisolto.

Quando, dopo l' invenzione del microscopio, gli studi sulla morfologia misero in evidenza l'esistenza di due tipi cellulari (eucarioti e procarioti) gli eucarioti furono divisi in "Regni" (Animali, Piante, Funghi, Protisti) ma questo approccio linneiano si rivelò inadatto allo studio dei procarioti.

Che gli organismi ancestrali fossero procarioti è una convinzione coerente con i ritrovamenti fossili, che dimostrano l' esistenza di organismi procarioti già 3.5 - 3.8 Ga fa, mentre i primi fossili di eucarioti identificabili datano intorno a circa 1.8 Ga fa.

Per i primi 2.0 - 2.5 Ga, inoltre, l'atmosfera terrestre non conteneva ossigeno: i primi organismi dovevano quindi essere anaerobi e gli organismi eucarioti, quasi tutti aerobi, si svilupparono quando l'atmosfera terrestre aveva già un contenuto di ossigeno stabile e relativamente alto. Tutta la prima storia dell'evoluzione del pianeta e oltre il 90% della

diversità filogenetica della vita vanno attribuiti al mondo microbico. Lo studio delle relazioni evolutive tra gli organismi viventi inizia da due temi principali, indipendenti l'uno dall'altro:

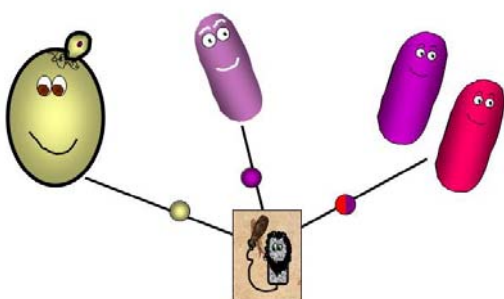
- 1) lo studio delle relazioni evolutive tra i procarioti che hanno preceduto gli eucarioti
- 2) lo studio di come gli eucarioti si siano evoluti dai procarioti.

RELAZIONI TRA PROCARIOTI

A partire dagli anni 50-60, l'applicazione di tecniche molecolari ha dato nuovo impulso allo studio della filogenesi dei microrganismi: le omologie di sequenza tra geni e/o proteine sono un mezzo efficace per dedurre e ricostruire la storia dell'evoluzione dei microrganismi, resa difficile dalla quasi totale mancanza di caratteristiche morfologiche.

I primi approcci, basati su tratti caratteristici (sequenze tipizzanti) delle sequenze dei 16S rRNA e sulle loro distanze genetiche, diedero risultati soddisfacenti, mettendo in evidenza l'esistenza di tre gruppi di organismi: eucarioti, eubacteria: (i batteri e i cianobatteri, precedentemente considerati alghe azzurre), archaeobacteria: un terzo gruppo di procarioti poco studiati (metanogeni, termoacidofili estremi ed alofili estremi) adattati ad ambienti inusuali.

Il riconoscimento degli archibatteri come forma di vita distinta dalle altre, operato da Carl Woese e collaboratori nel 1977 è stato uno degli sviluppi più significativi nella storia della microbiologia e ha profondamente influenzato il pensiero sulle relazioni evolutive tra



sulla base delle omologie tra i geni 16SrRNA, Woese ha proposto la teoria dei tre domini

gli organismi viventi.

Sulla base dei dati raccolti sulla sequenza dei 16srRNA, Carl Woese ipotizzò che il gruppo "archaeobacteria" fosse una di tre linee di discendenza originali dall'antenato universale, del tutto distinta dagli altri procarioti. Secondo questo assunto, i procarioti sarebbero divisi in due gruppi monofiletici (*Eubakteria* e *Archaeobacteria*)

non sovrapponibili tra loro. La presunta radice dell'albero della vita fu posta tra questi due gruppi di procarioti. Gli archaeobacteria sembravano essere maggiormente correlati

agli eucarioti, con i quali avevano in comune alcune caratteristiche importanti. Nel 1990 la proposta che riconosceva ai tre gruppi lo status di Dominio (Archea, Bacteria, Eukarya), fu accettata, e viene attualmente indicata con il nome di ipotesi archaeobatterica, o "dei tre domini".

All'epoca in cui fu formulata l'ipotesi dei tre domini, le sequenze disponibili erano poche e la separazione tra i diversi rami era profonda e molto netta ma, recentemente, l'ampia disponibilità di dati sulle sequenze di geni e proteine, comprese quelle derivanti dal sequenziamento di interi genomi, ha indotto alcuni autori (Gupta e collaboratori) a riconsiderarla, verificando se essa sia realmente coerente con tutti i dati disponibili o solo con un sottoinsieme di essi, o se l'ipotesi di correlazioni diverse non sia piuttosto maggiormente attendibile e in accordo con i dati a disposizione.

Risultati ottenuti con l'analisi di sequenze diverse dai 16S rRNA indicano in effetti un quadro evolutivo diverso da quello comunemente accettato finora. Gli archibatteri mostrano una stretta e correlazione evolutiva con i batteri Gram-positivi (monodermi) e la divisione principale all'interno dei microrganismi procarioti va collocata tra organismi a struttura monodermica (cellule procariotiche circondate da una singola membrana: tutti gli archibatteri e i batteri Gram-positivi) e organismi a struttura didermica (cellule procariotiche circondate da una membrana citoplasmatica e da una membrana esterna : tutti i batteri realmente Gram-negativi) piuttosto che tra eubatteri e archibatteri. Questi risultati si basano su analisi effettuate con marcatori di un tipo diverso, cercati e individuati partendo dal presupposto che un solo "orologio molecolare" (16S rRNA) potrebbe non essere il più adatto a studiare eventi che si estendono lungo un periodo di quasi 4 Ga.

IL CONCETTO DI OROLOGIO MOLECOLARE

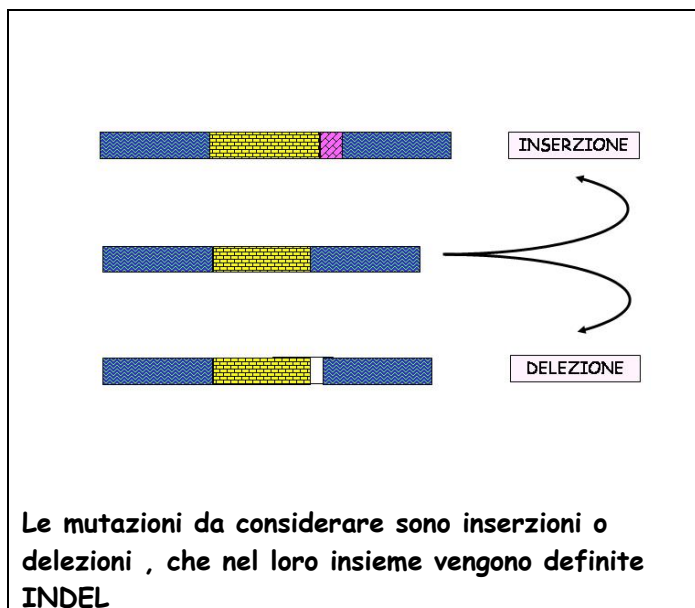
L'impiego di sequenze molecolari per gli studi filogenetici si basa sull'assunto che le mutazioni nelle sequenze geniche si verifichino casualmente, che dipendano dal tempo trascorso, e che una certa proporzione di mutazioni si stabilizzi nelle molecole.

L'accumulo di mutazioni in un gene ha originato il concetto di "orologio dell'evoluzione" o "cronometro molecolare". Seguendo l'analogia con l'orologio, i cambiamenti in diverse sequenze di geni (o volte anche in porzioni differenti dello stesso gene) hanno velocità diverse, come i diversi elementi di un orologio (mesi, giorni, minuti secondi) si muovono

con velocità differenti. Perciò, le sequenze che cambiano molto lentamente (anni, mesi, giorni) sono le migliori per studiare eventi antichi mentre altre, con un tasso di mutazione maggiore (ore, minuti, secondi) sono un mezzo per analizzare, con sensibilità e buona risoluzione, gli eventi recenti.

L'ANALISI DEGLI "INDEL"

Considerando che la storia della vita sulla Terra copre un periodo di circa 3,8 Ga , è difficile pensare che un unico tipo di sequenza possa rappresentare l'indicatore ottimale per determinare l'ordine di eventi distribuiti lungo l'arco di diversi Ga. Partendo da questo assunto, Radesey. S. Gupta e i suoi collaboratori hanno studiato un metodo diverso, che si basa sull'identificazione di sequenze aminoacidiche molto conservate e irrinunciabili (le cosiddette proteine "house-keeping"), all'interno delle quali cercare dei "segni" di identificazione. Sequenze di questo tipo offrono vantaggi come la scarsa influenza del contenuto in guanina e citosina del genoma o la facilità di ottenere allineamenti attendibili per il confronto. La reale novità della proposta di Gupta non risiede tanto nella scelta di proteine piuttosto che di acidi nucleici, ma nel cercare, per ogni evento, un marcatore che possa essere considerato contemporaneo all'evento stesso; che nasca nel momento in cui l'evento si verifica: un orologio molecolare per ogni evento, il migliore orologio molecolare possibile.



I "segni" da cercare sono inserzioni o delezioni (nel loro insieme "indel"). Le semplici sostituzioni di aminoacidi infatti sono troppo difficili da valutare.

Gli indel devono essere fiancheggiati da regioni che siano conservate in tutte le sequenze analizzate. Quando un indel viene trovato nella stessa, precisa posizione e in specie diverse, si può concludere che sia stato introdotto una

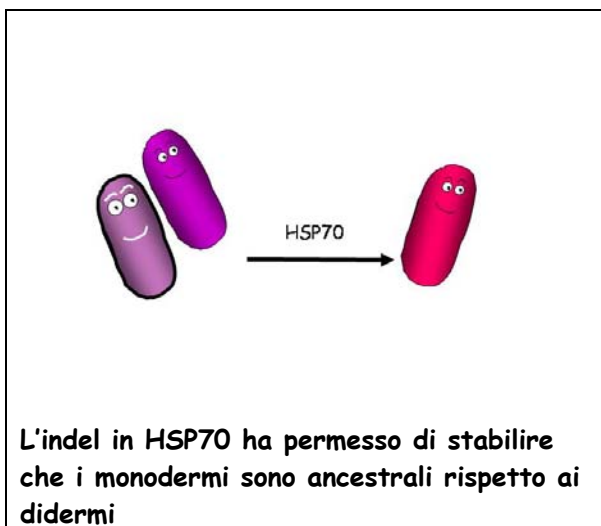
volta nella storia evolutiva e trasmesso poi a tutti i discendenti. Le specie che hanno o mancano di un indel possono essere divise in gruppi con una specifica relazione evolutiva tra di loro. L'indel dà un riferimento: lo si trova in tutte le specie che discendono

dall'organismo nel quale si è formato la prima volta, ma non in quelle precedenti a questo evento o non correlate. L'assenza o la presenza di un indel non comporta alcuna ambiguità nell'analisi dei dati.

Scegliendo gli indel come marker filogenetici bisogna poter escludere l'eventualità di un trasferimento genico orizzontale (TGO). Un criterio importante per verificare questo aspetto è quello di considerare la struttura e la fisiologia cellulare, che non possono essere trascurate nel tentativo di tracciare la storia evolutiva degli esseri viventi.

L'IPOTESI MONODERMI DIDERMI

Sulla base delle osservazioni riportate e della considerazione che i dati molecolari non dovrebbero prescindere da dati strutturali, il gruppo di Rhadey S. Gupta ha effettuato una accurata analisi dei genomi procariotici disponibili, individuando gli indel idonei e confrontando i risultati con dati strutturali, cioè con il tipo di risultato ottenuto con la colorazione del Gram (o meglio, con il tipo di struttura cellulare connesso con la positività o la negatività alla colorazione di Gram). Anche se su base empirica, infatti la colorazione di Gram (1884-Hans Christian Joaquim Gram) si è rivelata preziosa ed è ancora di grande utilità nell'identificazione dei microrganismi.



Basando la divisione di questi due gruppi sulla struttura, più che sulla apparente reazione alla colorazione di Gram, si definiscono "monodermi" i batteri dotati della struttura normalmente riscontrata nei Gram-positivi, e "didermi" per i batteri con la struttura a due membrane, tipica dei Gram-negativi. Ogni indel divide tutti i taxa considerati in due gruppi: quello in cui l'indel è presente, e quello da cui

manca. Un dato di questo tipo, per quanto evidente e netto, non permette di stabilire quale dei due gruppi è ancestrale rispetto all'altro.

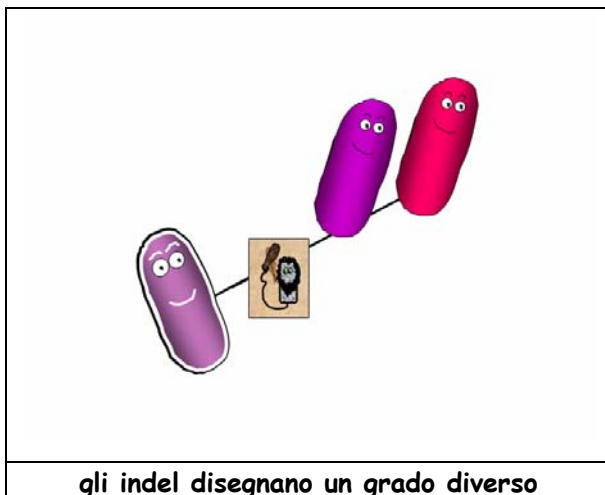
Esempio: se il gruppo "A" ha, in una regione conservata di una proteina "house-keeping" un gruppo di 5 aminoacidi che manca dal gruppo "B", l'informazione che si ottiene è che i due gruppi sono diversi, ma non si può stabilire se i 5 aminoacidi siano stati persi (e

quindi il gruppo ancestrale è "A"), oppure acquisiti (e in questo caso il gruppo ancestrale sarebbe "B").

Un esempio di "indel" l'inserzione di Hsp70		
Archea Gram+	--VDR--RSY--H--	--W--VNLGG--D--
	--VDR--RSV--H--	--W--IDLGG--S--
	--N--MSI--H--	---VEIEG--D--
	--N--ISV--H--	--H--VEAEG--Q--
	--N--VISI--H--	---VEIEG--K--
	--NSAVSV--LI--	--GE--VTLEG--D--
	---N--SSI--H--	ES--TVDIQG--K--
	--N--VSI--L--	--SN--VT--KNPD--
	--NVVQSI--S--	--TS--VNLEG--D--
	--N--VSI--L--	--SN--V--TT--
Gram-	--DK--ISI--	--AE--VAID--N--
	--DK--MSI--H--	---VNIDG--D--
	--E--ISI--S--	--SE--VSANG--
	--N--VQSI--H--	---VDIEG--S--
	--R--KSI--	---VRID--
	--QN--L--I--LI--	RRFQDEEVQRDVSIMPFKIIAAD
	--KN--L--I--LI--	---E--K--ID--A--TK--
	--KN--L--I--LI--	---ES--IK--E--TR--
	--DN--F--I--LI--	--KYD--KA--E--IKKV--YAV--K--
	--QN--L--I--LI--	---Y--G--
	--N--L--I--LI--	---DE--V--K--I--VT--Y--VR--
	--R--F--V--LI--	--YD--PM--EK--KGLV--Y--VK--S--
	--TN--V--V--LI--	--TT--A--EK--KKLV--YN--VDGG--
	--R--F--V--LI--	--YD--PM--EK--KGLV--Y--VK--S--
	--KN--L--V--LI--	---EEK--K--IGL--Y--K--
	--N--L--I--LI--	--T--E--PTT--K--KGMV--Y--VK--
	--TN--L--V--LI--	--YE--PT--EK--KALV--E--VKG--
	--TN--L--I--LI--	--TAS--PV--EK--KGMV--YRSSR--R--
	--L--V--LL--	--YD--PM--TK--KDLV--Y--VKG--
		NG-AWVE-KGQK MA-P---EV-L-H

Hsp70: l'inserzione appare tra Archea-monodermi/ didermi

l'inserzione è stata acquisita e che, quindi, il gruppo ancestrale è quello costituito da Archea e batteri Gram-positivi mentre i batteri didermi si sono evoluti in seguito. Quello di Hsp70 è stato definito per l'appunto "indel dei didermi" perché segna il momento della comparsa dei batteri dotati della struttura a doppia membrana.

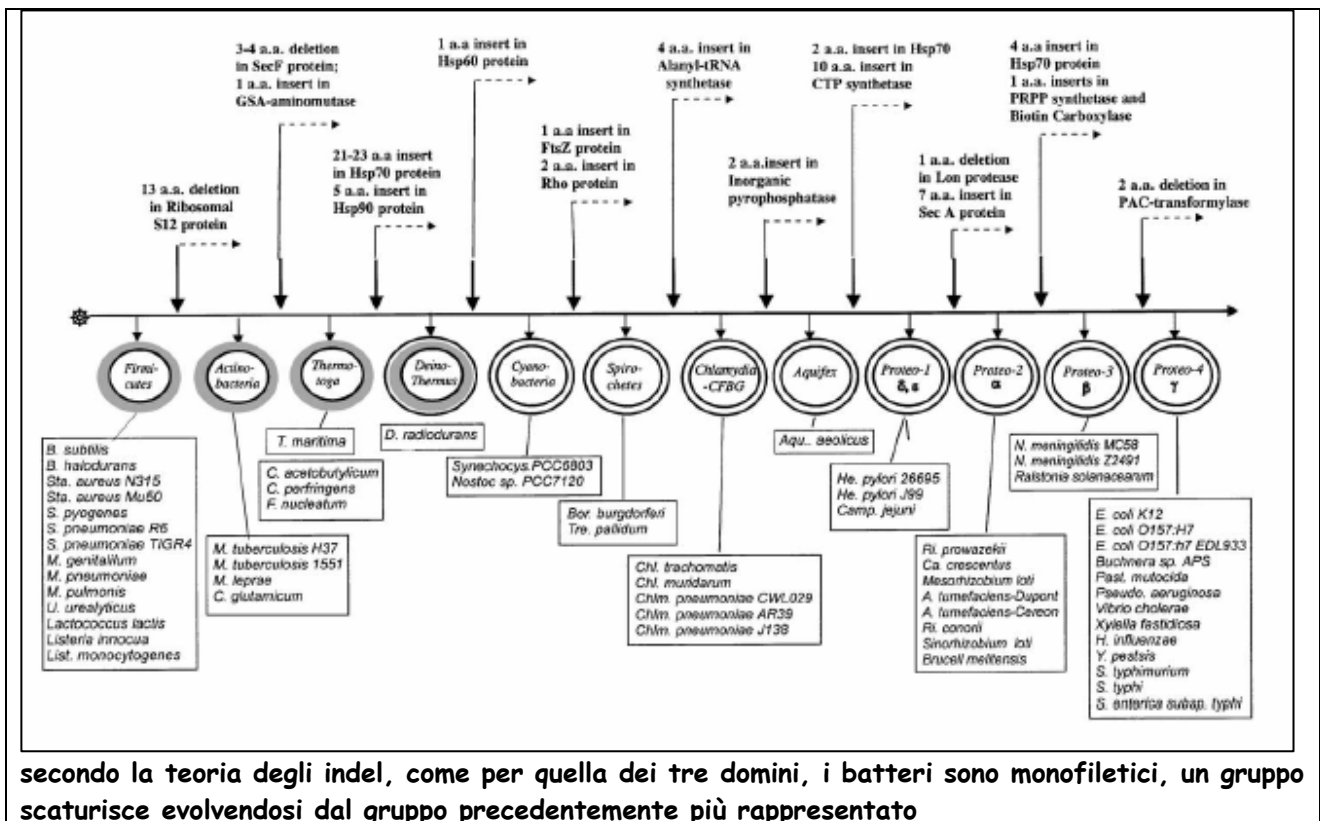


gli indel disegnano un grado diverso

Gupta e coll, tuttavia hanno individuato un punto di riferimento: una vasta inserzione in Hsp70, che è presente nei batteri Gram-negativi ma non nei monodermi (Gram positivi e Archea), coincide con altri dati che permettono di stabilire che

L'analisi degli indel ha portato a risultati che disegnano un quadro diverso da quello dell'ipotesi dei "tre domini": non tre rami monofiletici ed indipendenti, ma un primo evolversi del gruppo "Gram-positivi/Archea" e la divisione primaria (la radice dell'albero) non tra Archea e Bacteria ma tra monodermi e didermi. Una volta stabilito un riferimento preciso su cui ordinare gli indel, è stato

possibile collocare in un ordine preciso già molti gruppi, l'ordine filogenetico che scaturisce da questa analisi è coerente con i dati strutturali.



L'ORIGINE DEGLI ARCHIBATTERI

L'analisi sull'origine degli archibatteri è resa difficile dalla coesistenza di dati contrastanti: alcuni geni e proteine indicano una diversità degli archibatteri da tutti gli altri procarioti e, in questo caso, gli archibatteri andrebbero considerati "monofiletici" e la divisione principale, al loro interno, posta tra gli *Euriarcheoti* e i *Crenarcheoti*. Analizzando molti altri geni, tuttavia, si può constatare che gli archibatteri si raggruppano in modo polifiletico con gli eubatteri Gram-positivi e, in particolare, che gli archibatteri alofili mostrano una maggiore affinità con il gruppo dei batteri Gram-positivi con alta percentuale di *G+C*, mentre alcuni metanogeni mostrano affinità con il gruppo di Gram-positivi a *G+C* più basso. Per spiegare questo risultato, è necessario postulare che siano avvenuti trasferimenti orizzontali tra questi due gruppi di procarioti, (archibatteri e batteri Gram-positivi) trasferimenti che possono essere spiegati in due modi.

Nel primo scenario si assume che gli archibatteri siano un gruppo monofiletico, del tutto distinto dai batteri Gram-positivi. Per spiegare i risultati contrastanti sarebbe necessario pensare al trasferimento orizzontale di geni codificanti proteine molto conservate: dai batteri Gram-positivi a alto contenuto di *G+C* e dai batteri Gram-positivi a basso contenuto di *G+C* agli archibatteri alofili e agli archibatteri metanogeni e

termoacidofili, con la contemporanea perdita, negli archibatteri, dei geni originali per queste proteine.

Nel secondo scenario, si assume che gli archibatteri siano in effetti strettamente correlati ai batteri Gram-positivi, come è suggerito dalla sequenza di molte delle proteine più conservate, e che essi si siano evoluti da membri specifici dei gruppi a alto e basso contenuto di *G+C*, come suggerisce anche il contenuto di *G+C* negli archibatteri: alto negli alofili e basso nei metanogeni. Per spiegare i risultati si dovrebbe postulare che si siano trasferiti orizzontalmente non i geni più conservati, ma quelli da cui è stata desunta la natura monofiletica degli archibatteri e che si sarebbero originariamente evoluti in uno o più batteri Gram-positivi. Entrambe queste possibilità potrebbero spiegare i risultati che si ottengono con l'analisi dei dati molecolari, e i sostenitori della teoria dei tre domini hanno favorito la prima possibilità senza prendere in considerazione quella alternativa.

Bisogna considerare, tuttavia, che un gene ottenuto per trasferimento orizzontale si stabilizza solo se comporta un beneficio al microrganismo ricevente e se l'ambiente esercita una pressione selettiva che lo favorisce: il trasferimento di geni codificanti proteine "house-keeping", che avrebbero comunque dovuto essere già presenti, per il corretto funzionamento della cellula, al momento del trasferimento stesso, non avrebbe comportato alcun vantaggio al microrganismo ricevente. Se il trasferimento orizzontale avesse invece avuto luogo nel senso suggerito dalla seconda ipotesi, avrebbe comportato un vantaggio selettivo e avrebbe avuto la massima probabilità di stabilizzarsi: la maggior parte delle caratteristiche che distinguono gli archibatteri, infatti, corrisponde a strutture o metabolismi che li differenziano dagli eubatteri e che sono bersaglio degli antibiotici prodotti da eubatteri Gram-positivi. Secondo questa interpretazione, i progenitori degli archibatteri sarebbero emersi grazie l'accumularsi di mutazioni favorite dalla pressione selettiva degli antibiotici da preesistenti gruppi di batteri monodermi. Questa interpretazione spiega come mai esistano spiccate somiglianze tra gruppi di archibatteri e gruppi di monodermi, per molti caratteri che non sono implicati nella resistenza agli antibiotici, e potrebbe anche spiegare la grande diversità delle strutture bersaglio e la mancanza di separazioni nette tra gruppi, che si osservano negli archibatteri.

MECCANISMO	ANTIBIOTICO	SPECIE PRODUTTRICE
Inibizione della sintesi proteica (30S)	Streptomicina Neomicina Tetracicline Spectinomicina Gentamicina Tobramicina Pactamicina Kanamicina	Streptomiceti (Monodermi con alto contenuto di G+C)
Inibizione della sintesi proteica (50S)	Eritromicina Carbomicina Cloramfenicolo Lincomicina streptogramine	Streptomiceti
Inibizione della sintesi della parete o danno alla parete stessa	Bacitracina Vancomicina Cicloserina	Bacillus (monodermi basso G+C) Streptomiceti
Inibizione della sintesi o danni alla membrana citoplasmica	Polimixine Gramicidina S Tirotricina	Bacillus
Inibizione della sintesi o del metabolismo degli acidi nucleici	Rifampicine Novobiocine	Streptomiceti

Perché avvenga un trasferimento orizzontale devono verificarsi due condizioni correlate tra loro:

- 1) il gene trasferito deve conferire un vantaggio selettivo alla specie che lo riceve
- 2) deve esserci un ambiente fortemente selettivo che favorisca la crescita e la sopravvivenza delle specie che contengono il gene trasferito.

La produzione di antibiotici fornisce ai microrganismi che li sintetizzano un notevole vantaggio selettivo. E' probabile che nell'ambiente primordiale alcuni gruppi di batteri Gram-positivi producessero antibiotici, ed altri fossero sensibili alla loro azione, con pericolo per la loro stessa esistenza. Esisteva quindi una forte pressione selettiva a favore di mutazioni nei geni bersaglio. E' possibile che, in queste condizioni, dopo un lungo periodo di selezioni ripetute, siano comparsi ceppi resistenti, che, attraverso ripetuti eventi di trasferimento orizzontale avrebbero originato il progenitore dei moderni archibatteri. Gli eventi di trasmissione genica orizzontale (TGO), molto rari per geni che i cui prodotti svolgono funzioni importanti e irrinunciabili, come quelli su cui si basa la filogenesi; sono invece frequenti in altre situazioni più epidermiche e contingenti

che permettano al microrganismo che li riceve di far fronte a un ambiente selettivo. Naturalmente l'ipotesi sull' insorgenza degli archaeobacteria, come tutte le ipotesi che si riferiscono a eventi così lontani, è speculativa, ma è plausibile e coerente con i dati molecolari disponibili. Secondo i dati ricavati dagli indel, il gruppo dei monodermata si divide in Gram-positivi e *Archaeobacteria*. Gli *Archaeobacteria* si suddividono in *Euryarchaeota* and *Crenarchaeota* (eociti), e i Gram-positivi in un primo gruppo caratterizzato dal basso contenuto di G+C e un secondo gruppo con alta %GC. I Didermata si sono separati in un secondo momento dai Gram-positivi ad alto contenuto di G+C, sono monofiletici e hanno un unico antenato comune. L'evoluzione quindi si sarebbe verificata in ondate successive, con un nuovo gruppo originato dal precedente gruppo dominante, intuitivamente meglio adattato e più numeroso.

Il gruppo di transizione, tra monodermi e didermi, secondo i dati molecolari, sarebbe rappresentato da "*Deinococcus-Thermus*". In questo gruppo, anche su base strutturale, si possono osservare caratteristiche intermedie : *Deinococcus* ha ancora una parete spessa, come i Monodermata, ma accompagnata per la prima volta da una membrana esterna. I dati di sequenza depongono per un'apparizione della membrana esterna precedente alla perdita della struttura della parete. Gli indel indicano i cianobatteri come uno dei primi lineage didermi apparsi . Dopo l'evoluzione dei cianobatteri emersero man mano altri gruppi. Altri gruppi di procarioti, già separati in phylum in base ai dati ottenuti con il sequenziamento dei 16S rRNA, non sono stati ancora collocati nell'albero basato sugli indel, perché mancano ancora le sequenze necessarie ad individuarne la posizione tassonomica.

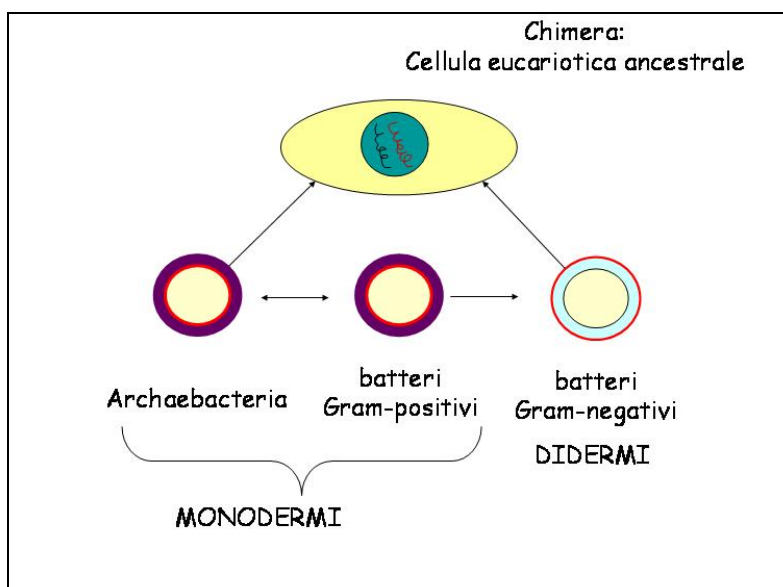
L'analisi con gli indel porta agli stessi risultati di quella eseguita con i 16S rRNA per quanto riguarda l'attribuzione delle diverse specie ai singoli gruppi, ma l'ordine presuntivo di comparsa dei vari gruppi è diverso, ed è coerente con i dati strutturali e fisiologici dei microrganismi, cosa che non sempre si verificava con l'analisi basata sui 16S rRNA. Per assegnare un microrganismo ad un gruppo, quindi, l'analisi delle sequenze 16S è perfettamente attendibile, mentre risente di troppe variabili e possibilità di deviazione nello stabilire le relazioni, specialmente remote, tra gruppi

L'ORIGINE DEGLI EUCARIOTI

La presenza di indel conservati tra eucarioti ed archaeobacteria (e non batteri) e di altri conservati invece tra eucarioti e batteri (e non archeobatteri) getta una nuova luce sulla possibile origine della cellula eucariota ancestrale. I dati molecolari indicano che la cellula eucariotica ancestrale non è un discendente diretto della linea evolutiva degli archibatteri, ma una chimera, originata da un evento unico di fusione che ha coinvolto due gruppi di procarioti profondamente differenti tra loro: un archibatterio termo-acidofilo (monoderma) e un eubatterio gram-negativo (diderma) questo evento di fusione fu seguito dall'integrazione dei genomi. Tutti gli organismi eucarioti, compresi quelli privi di mitocondri e di plastidi, quindi, ricevettero e conservarono un contributo genico da entrambe le linee evolutive.

Ci sono infatti molti esempi di proteine eucariotiche di chiara derivazione batterica e non correlate agli Archea come ci si aspetterebbe secondo il modello dei tre domini. Anche i lipidi della membrana degli eucarioti sono simili a quelli batterici (esterificati) e diversi da quelli degli archibatteri (legati ad eteri).

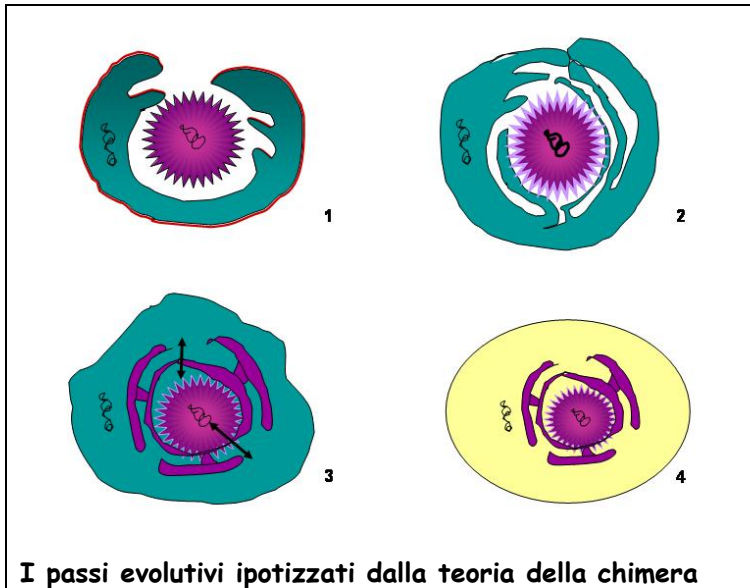
Queste evidenze non sono coerenti con l'ipotesi dei tre domini, o con altre che postulano



un ancestrale comune a archibatteri e eucarioti, con esclusione dei batteri. Per spiegare la filogenesi globale dei geni nucleo-citosolici, Gupta ha proposto che la cellula eucariotica ancestrale non derivi da un solo gruppo di procarioti, ma sia stata prodotta per mezzo di un evento di fusione, unico e irripetibile, tra

un archibatterio (resistente agli antibiotici) ed un batterio diderma (già adattato alla crescente tensione di ossigeno).

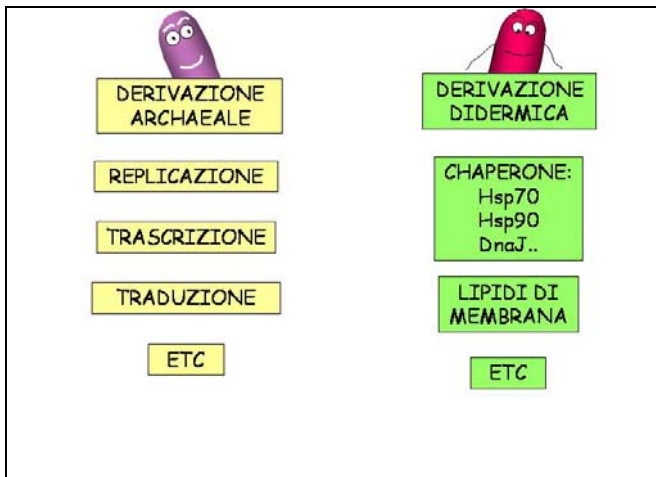
Alcuni particolari indel suggeriscono che il partner archibatterico fosse un eocita (*Crenarchaeota*); altri che il partner batterico appartenesse al lineage proteobacteria-1.



Descrivendo l'evento in termini semplicistici, un batterio gram-negativo, probabilmente privo di parete cellulare, intraprese una relazione simbiotica con un archibatterio (1). La simbiosi portò alla perdita della membrana esterna del Gram-negativo (2), non più necessaria per la difesa contro gli antibiotici, già ostacolati dalle

strutture resistenti dell'archibatterio. Molti geni non più necessari, di entrambi i partner, furono persi o iniziarono a divergere e; in questo primo periodo, furono probabilmente introdotte le sequenze tipizzanti caratteristiche degli eucarioti. Nel tempo, il partner batterico sviluppò una serie di invaginazioni di membrana (3) che circondarono completamente l'archibatterio, la cui membrana divenne ridondante e fu persa. L'involucro nucleare e il Reticolo Endoplasmico si sarebbero formati dal distacco di una zona delle invaginazioni di membrana, creando un nuovo comparto nella cellula. Le comunicazioni tra il nuovo comparto e il resto della cellula (importazione ed esportazione di proteine e altre molecole) fu garantita dalla duplicazione dei geni per le proteine chaperone essenziali (Hsp70,90: DnaJ) probabilmente già antecedente alla formazione del nuovo comparto. In seguito, il genoma del partner gram-negativo sarebbe stato trasferito nel comparto nucleare, portando alla completa integrazione dei due tipi cellulari parentali e alla creazione di una cellula del tutto nuova: l'antenato comune di tutti gli eucarioti (4).

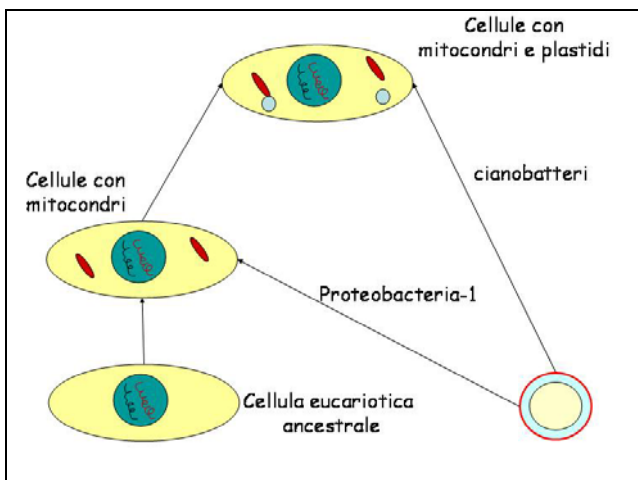
Si suppone che quasi subito si sia verificato un assortimento o una selezione dei geni dei due partner: la maggior parte dei geni deputati al trasferimento dell'informazione (replicazione trascrizione, traduzione) sarebbe di derivazione archibatterica, mentre i geni codificanti altre componenti o funzioni (lipidi di membrana, Hsp70, Hsp90, ed altri) sarebbero derivate dal partner Gram-negativo.



La cellula eucariotica quindi sarebbe quindi una chimera con caratteristiche di entrambi i progenitori. L'evento ipotizzato sarebbe stato una reale fusione, diversa da una endosimbiosi, in cui la specie ospite mantiene la propria identità strutturale.

I dati disponibili sulle sequenze tipizzanti di diversi geni e proteine, depongono per

l'unicità dell'evento di fusione primaria che avrebbe portato all'insorgenza della cellula



eucariotica ancestrale e lo datano a un periodo precedente a quello degli eventi di endosimbiosi indipendenti che avrebbero portato alla comparsa dei mitocondri (originati da un antenato delle moderne *Rickettsiae*) e dei plastidi (da un antenato delle moderne proclorofite).