

Giovedì, 14 aprile 2011

Jules Verne tra letteratura, scienza e cinema

Coordina:
Giorgio Turchetti
Intervengono:
Cristina Bragaglia, Giorgio Sartor



Luminescenza

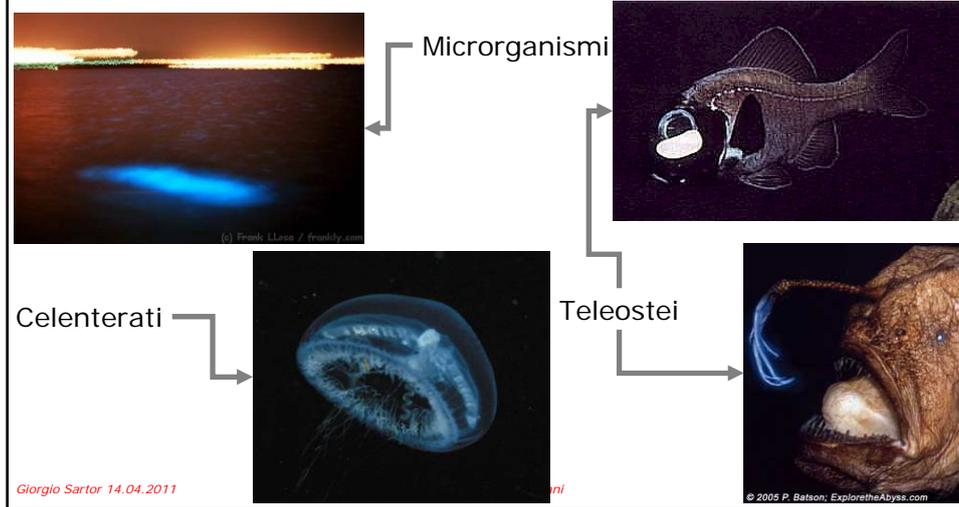


Luminescenza

- Emissione della luce in seguito al passaggio dallo stato eccitato allo stato fondamentale di una molecola;
- Lo stato eccitato viene raggiunto a seguito di una somministrazione di energia.

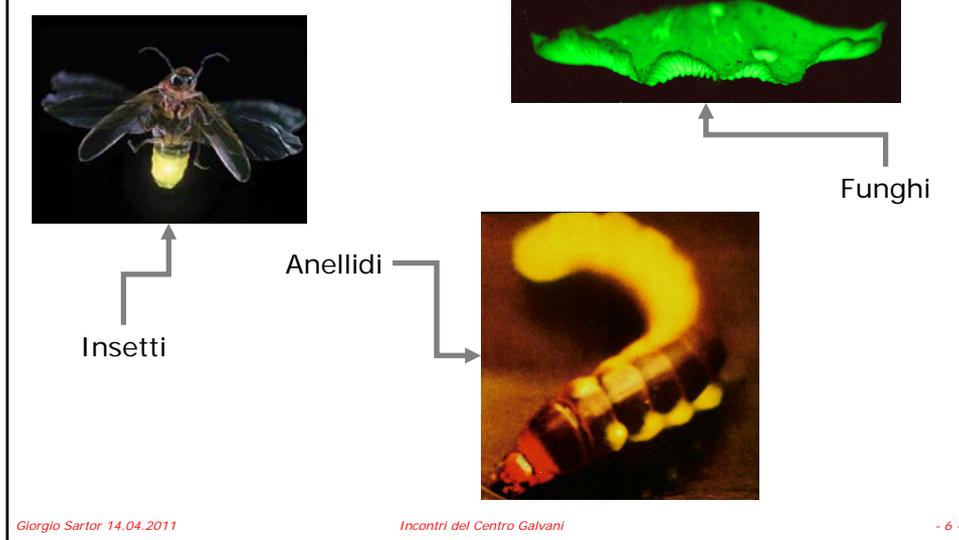
Bioluminescenza

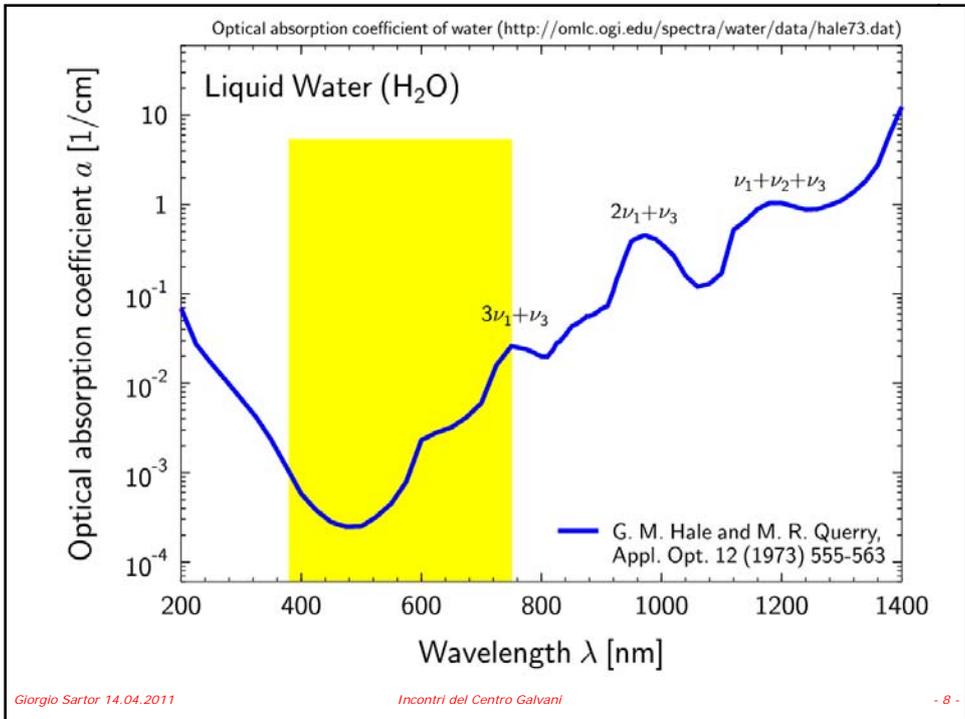
- Il fenomeno della bioluminescenza è proprio di alcuni organismi marini:



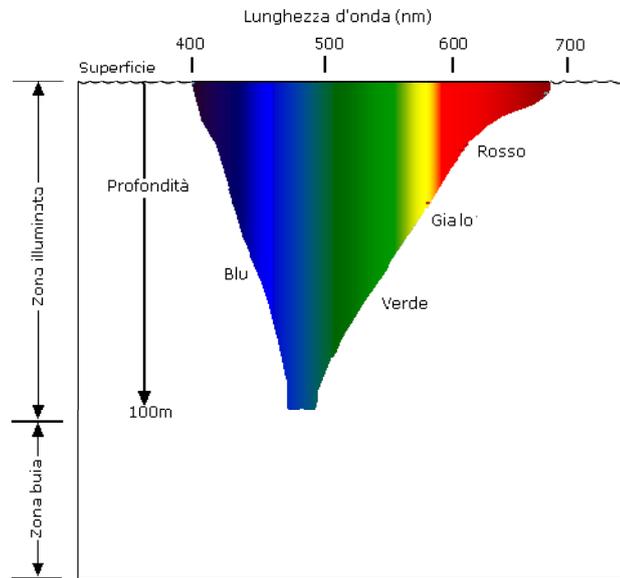
Bioluminescenza

- E organismi terrestri:





La luce in fondo al mare



Bioluminescenza

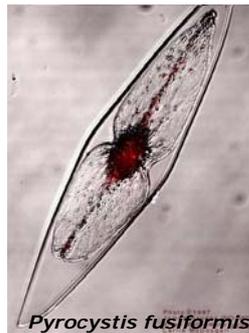
- L'uso che gli organismi fanno della bioluminescenza sono molteplici:
 - Comunicazione
 - Accoppiamento
 - Difesa
 - Mimetismo
 - Attacco
 - Predazione
 - Illuminazione
 - ...

Bioluminescenza

- L'emissione della luce da parte di un organismo può essere dovuta a:
 - bioluminescenza propria dell'organismo (luciole, batteri o protozoi ecc.);
 - attraverso un meccanismo molecolare che coinvolge delle reazioni di ossidoriduzione;
 - la presenza di batteri simbiotici.

Organismi marini

- Batteri e protozoi

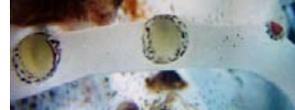


- Celenterati



Organismi marini

- Molluschi
 - Cefalopodi



- Crostacei
 - Ostracodi

Organismi marini

- Teleostei
 - Stomiatoidei
 - Mictofidi



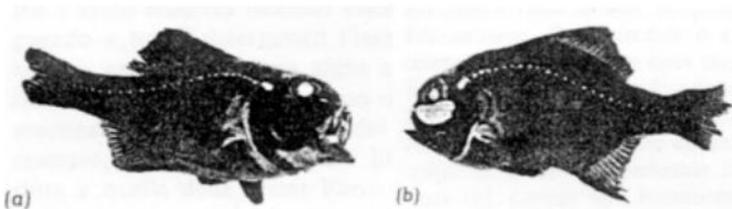
Batteri simbiotici

- Il batterio marino *Vibrio fischeri* in natura esiste allo stato planctonico o come simbiote di pesci e seppie luminescenti
 - Colonizza organi specializzati nell'animale ospite (*Euprymna scolopes*, *Anomalops katoptron*, *Photoblepharon*) che usa la luminescenza di *V. fischeri* come esca per le prede o come camuffamento dalla luce lunare,
 - La sorgente di luce sono i batteri che allo stato libero non emettono luce.
 - Il meccanismo con il quale *V. fischeri* regola la propria bioluminescenza è legato alla presenza di un segnale chimico di consenso.



Photoblepharon

- Possiede un sistema per aprire e chiudere l'organo fotoforo.



Luminescenza



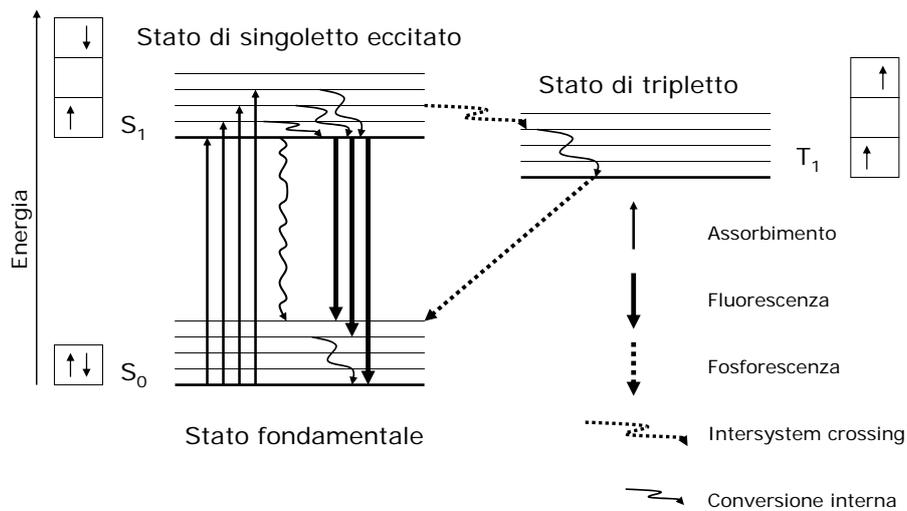
Il fenomeno

- Emissione di luce da una molecola che, dallo stato eccitato, decade allo stato fondamentale;
- Lo stato eccitato viene raggiunto a seguito di una somministrazione di energia: **Luminescenze diverse**

Diversi tipi di luminescenza

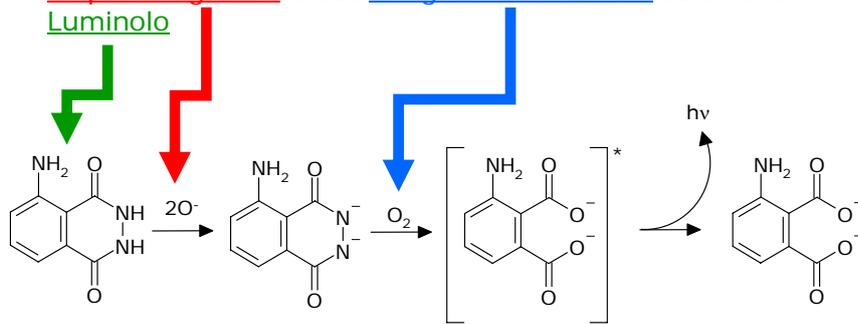
TIPO	Energia proveniente da:
Elettroluminescenza	corrente elettrica in gas ionizzato o semiconduttore
Radioluminescenza	materiale radioattivo incorporato nel fosforo
Chemiluminescenza	reazione chimica
Bioluminescenza	reazione enzimatica
Termoluminescenza	temperatura e radioattività
Triboluminescenza	rottura di cristalli
Sonoluminescenza	onde sonore in liquidi
Fotoluminescenza	assorbimento di luce

Le transizioni elettroniche



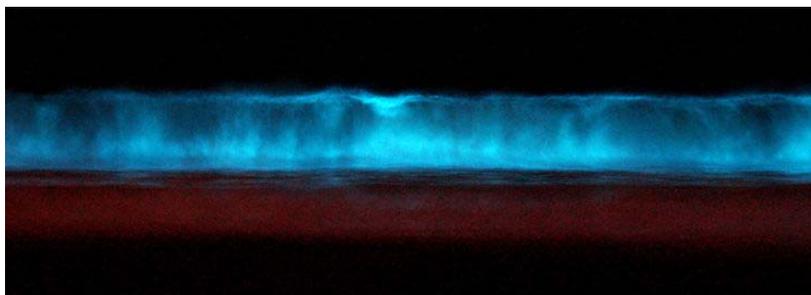
Chemiluminescenza

- La luminescenza che viene emessa nel corso di una reazione chimica ha a che fare in genere con un'ossidazione. L'ossidazione può avvenire a causa di acqua ossigenata e dell'ossigeno atmosferico come nel



Bioluminescenza

- Luminescenza prodotta da reazione catalizzate da enzimi.
- Fotoproteine.



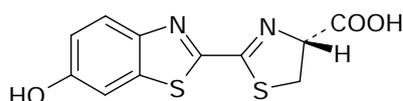
Luciferasi

- Le luciferasi sono enzimi che catalizzano reazione di ossidoriduzione e hanno affinità diverse per le diverse luciferine:
 - **EC 1.13.12.5:** Renilla-luciferina 2-monoossigenasi; Renilla-type luciferasi; Aequorina; Obelina; Luciferase (Renilla luciferina)
 - **EC 1.13.12.6:** Cipridina-luciferina 2-monoossigenasi; Cipridina-type luciferasi; Luciferasi (Cipridina luciferina); Cipridina luciferasi
 - **EC 1.13.12.7:** Fotinus-luciferina 4-monoossigenasi (ATP-asi); Luciferasi delle lucciole; *Photinus pyralis* luciferasi
 - **EC 1.13.12.8:** Watasenia-luciferina 2-monoossigenasi; Watasenia-type luciferasi
 - **EC 1.13.12.13:** Oploforus-luciferin 2-monoossigenasi; Oploforus luciferasi
 - **EC 1.14.99.21:** Latia-luciferina monoossigenasi (demetilante); Luciferasi (Latia luciferina)

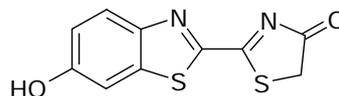
Gruppi prostetici di fotoproteine

- Sono responsabili dell'emissione di luce delle proteine attraverso una reazione di l'ossidazione.
- I gruppi prostetici sono diversi tra i vari organismi, anche se vengono spesso chiamati con lo stesso nome:

- **luciferina**



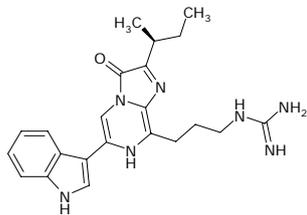
D(-) Luciferina



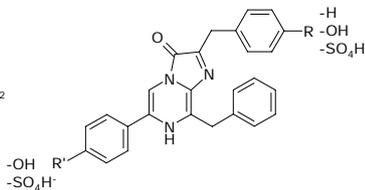
Ossiluciferina

Luciferine

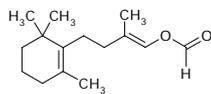
- In mare:



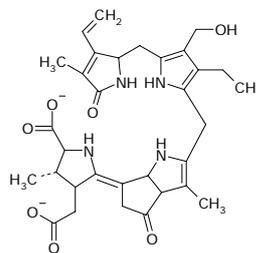
Cipridina Luciferina (Vargulina)



Celenterazine



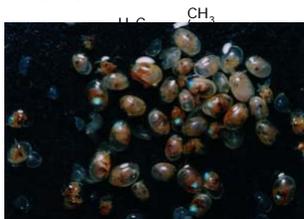
Luciferina di Latia (Latiidae)



Luciferina dei dinoflagellati

Gruppi prostetici di fotoproteine

- In mare



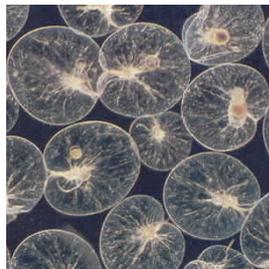
Cipridina Luciferina (Vargulina)



Celenterazine

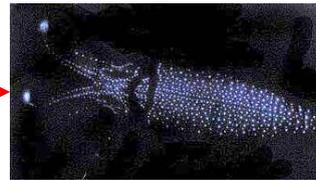
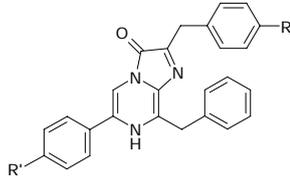


Luciferina di Latia (Latiidae)



Luciferina dei dinoflagellati

Celenterazine



Origine	R	R'
Renilla kolikeri	-H	-OH
Watasenia scintellans	-OSO ₃ H	-OSO ₃ H
Oplophorus gracilorostris	-OH	-OH

Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

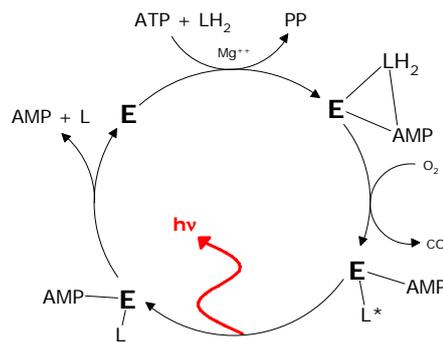
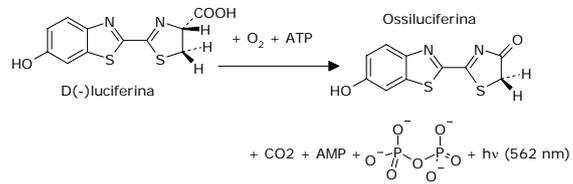
- 27 -



Il meccanismo

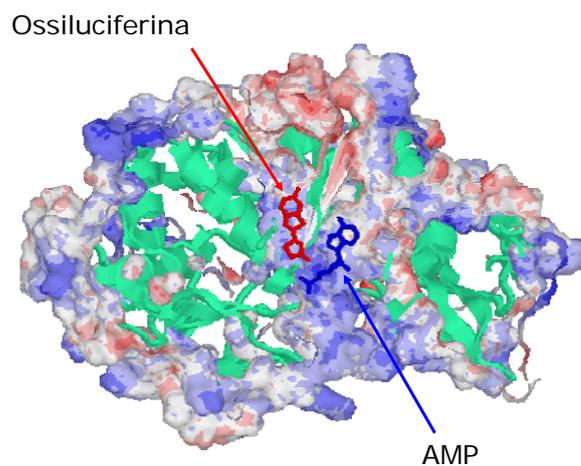
Bioluminescenza

- In alcune specie l'ossidazione è provocata da una LUCIFERASI ATP dipendente con rilascio di AMP e ossiluciferina.



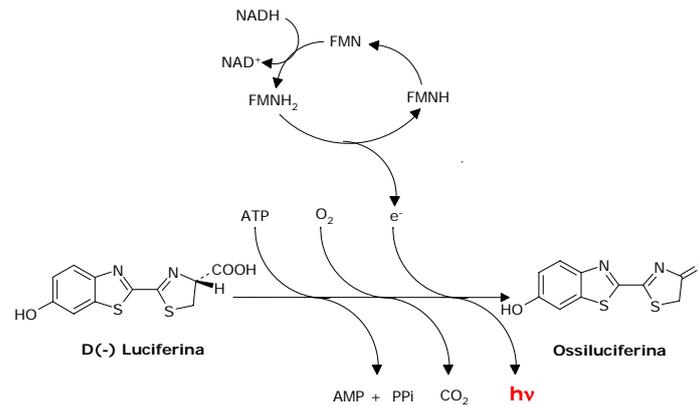
Bioluminescenza

- In alcune specie l'ossidazione è provocata da una LUCIFERASI ATP dipendente con rilascio di AMP e ossiluciferina.



Sistema luciferina-luciferasi

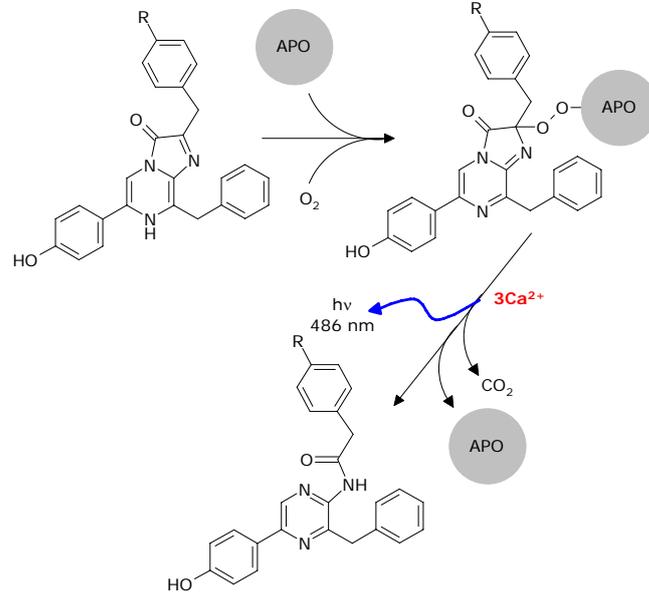
- In alcuni organismi può essere alimentato da elettroni provenienti dalla catena respiratoria batterica, una frazione di e^- viene trasferita dal substrato all'ossigeno.



Celenterazina

- Un altro gruppo prostetico molto importante nel fenomeno della bioluminescenza di animali marini è la **celenterazina** che emette luce a seguito di un'ossidazione Ca²⁺ dipendente.
- La reazione è catalizzata da un enzima come la obelina (*Obelia geniculata*) o acqueorina (*Aequorea aequorea* e *A. victoria*)

Celenterazina



Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 33 -

Bioluminescenza da celenterazina

- In alcuni animali marini la bioluminescenza è dovuta ad una ossidazione Ca^{2+} dipendente della celenterazina.
- La reazione è catalizzata da enzimi come la obelina (da *Obelia geniculata*) o acqueorina (da *Aequorea aequorea* e *A. victoria*).



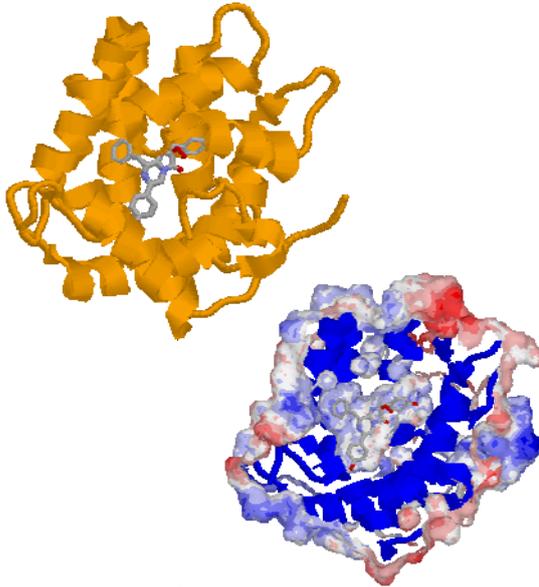
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 34 -

Bioluminescenza da celenterazina

- In alcuni animali mari la bioluminescenza è dovuta ad una ossidazione Ca^{2+} dipendente della celenterazina.
- La reazione è catalizzata da enzimi come la **obelina** (da *Obelia geniculata*) o **acqueorina** (da *Aequorea aequorea* e *A. victoria*).



Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 35 -

Bioluminescenza da celenterazina

- In alcuni animali marini la bioluminescenza è dovuta ad una ossidazione Ca^{2+} dipendente della celenterazina.
- La reazione è catalizzata da enzimi come la **obelina** (da *Obelia geniculata*) o **acqueorina** (da *Aequorea aequorea* e *A. victoria*).



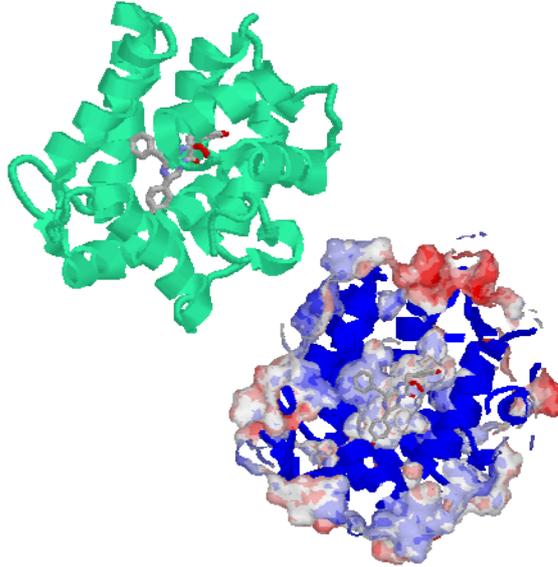
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 36 -

Bioluminescenza da celenterazina

- In alcuni animali marini la bioluminescenza è dovuta ad una ossidazione Ca^{2+} dipendente della celenterazina.
- La reazione è catalizzata da enzimi come la obelina (da *Obelia geniculata*) o acqueorina (da *Aequorea aequorea* e *A. victoria*).



Colori diversi...

- Per *Renilla kolikeri*, *Aequorea aequorea* e *A. victoria* ed altri organismi, vi è una ulteriore complicazione al fenomeno della bioluminescenza.
- Possiedono, oltre ad un proprio sistema luciferina/luciferasi che genera luce blu, anche una proteina fluorescente che permette loro di emettere luce nel verde
- La **Green Fluorescent Protein (GFP)**.

GFP

- La medusa *A. victoria* presenta una curiosa luminescenza verde dovuta ad una proteina con un peculiare gruppo prostetico.
- Tale gruppo prostetico NON emette luce per fenomeni ossidativi ma "cambia" il colore della bioluminescenza.



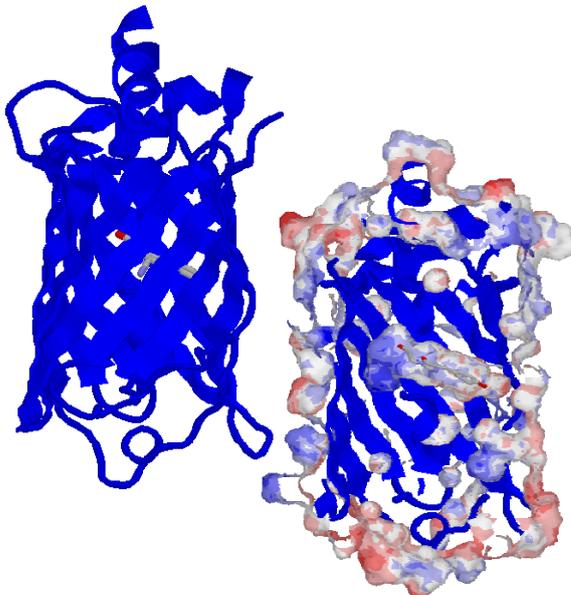
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 39 -

GFP

- La Green Fluorescent Protein ha una struttura "beta can" fatta di 11 β -strands
- Contiene al suo interno una cavità idrofobica con una catena di tre AA (Ser-Tyr-Gly) modificati per formare un fluoroforo caratteristico



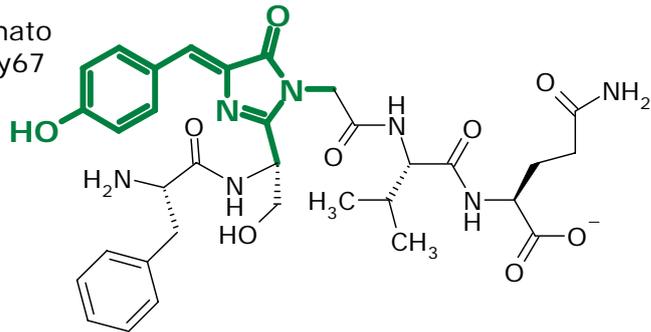
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 40 -

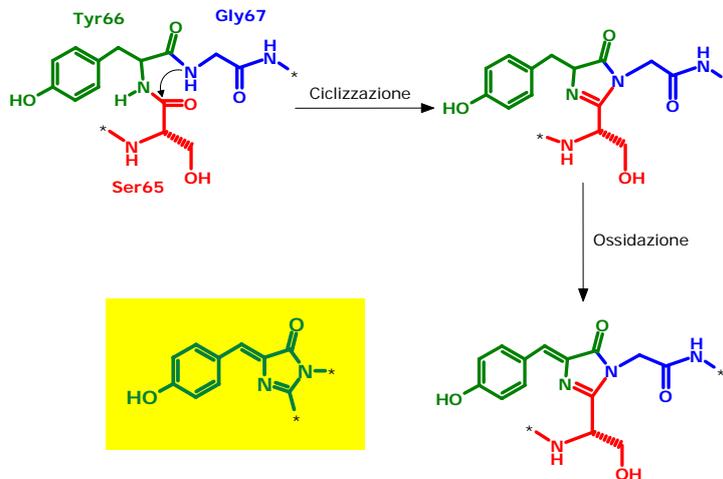
GFP

- Il fluoroforo vero e proprio è formato dall'anello fenolico della Tyr66 connesso con un ponte metilenico all'imidazolo formato dalla Ser 65 e Gly67



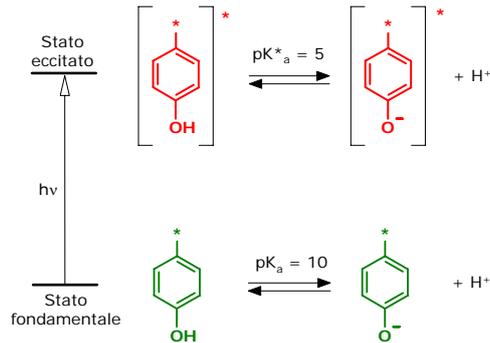
GFP

- Il fluoroforo deriva da una modificazione postraduzionale della proteina.



Fotofisica della GFP

- La capacità della GFP di emettere luce verde deriva dalla proprietà della tirosina di avere diversi pK_a di dissociazione dell'OH fenolico allo stato fondamentale e allo stato eccitato:



Giorgio Sartor 14.04.2011

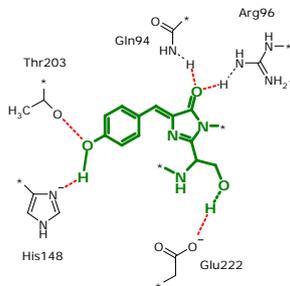
Incontri del Centro Galvani

- 43 -

Fotofisica della GFP

- Inoltre, nella GFP la forma deprotonata della Tyr66 è stabilizzata da interazioni con altri residui:
 - Legame idrogeno tra OH fenolico e His 148 e Thr203,
 - Legame idrogeno tra ossigeno carbonilico e Gln94 e Arg96
 - Legame idrogeno tra OH di Ser65 con Glu222

FORMA PROTONATA

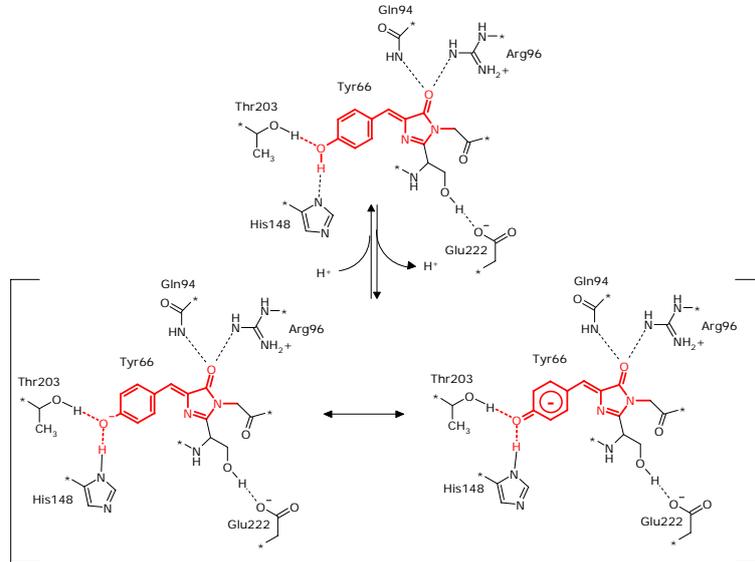


Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 44 -

Fotofisica della GFP

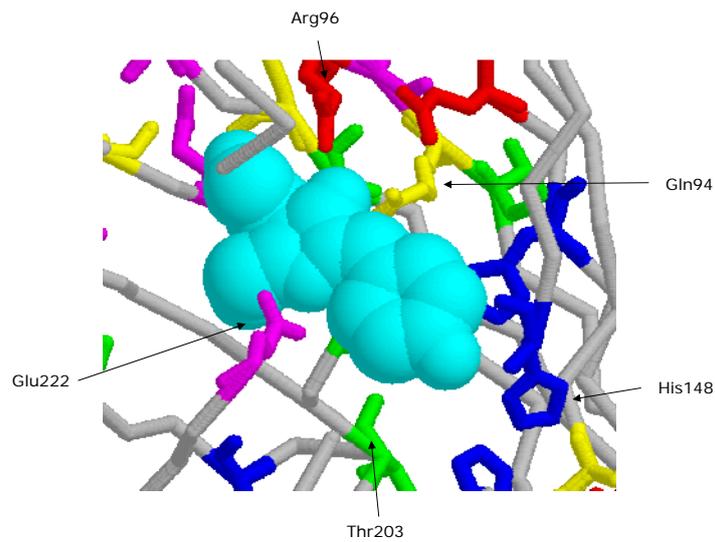


Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 45 -

Fotofisica della GFP



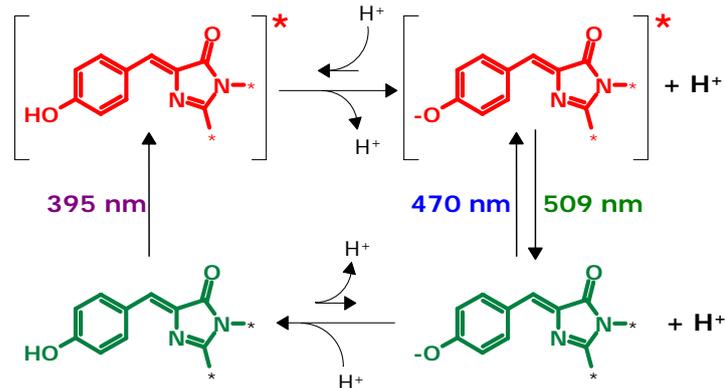
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 46 -

Fotofisica della GFP

- La capacità di stabilizzare la forma TyrO⁻ rende il fluoroforo della GFP eccitabile a 470 nm (blu) dove emette il sistema luciferina luciferasi della *A. victoria* con successiva emissione nel verde (509-540nm).



Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 47 -



The Nobel Prize in Chemistry 2008
Osamu Shimomura, Martin Chalfie, Roger Y. Tsien

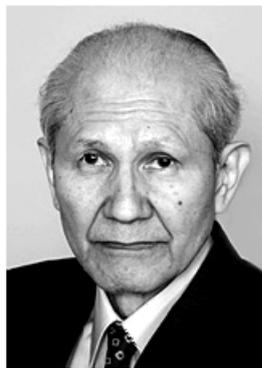


Foto: U. Mastan

Osamu Shimomura

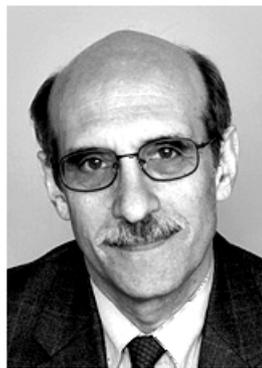


Foto: U. Mastan

Martin Chalfie



Foto: U. Mastan

Roger Y. Tsien

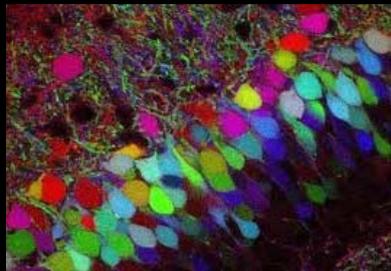
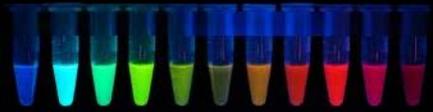
The Nobel Prize In Chemistry 2008 was awarded jointly to Osamu Shimomura, Martin Chalfie and Roger Y. Tsien **for the discovery and development of the green fluorescent protein, GFP[®].**

Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 48 -

GFP: applicazioni

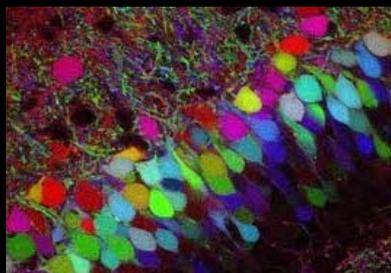


Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 49 -

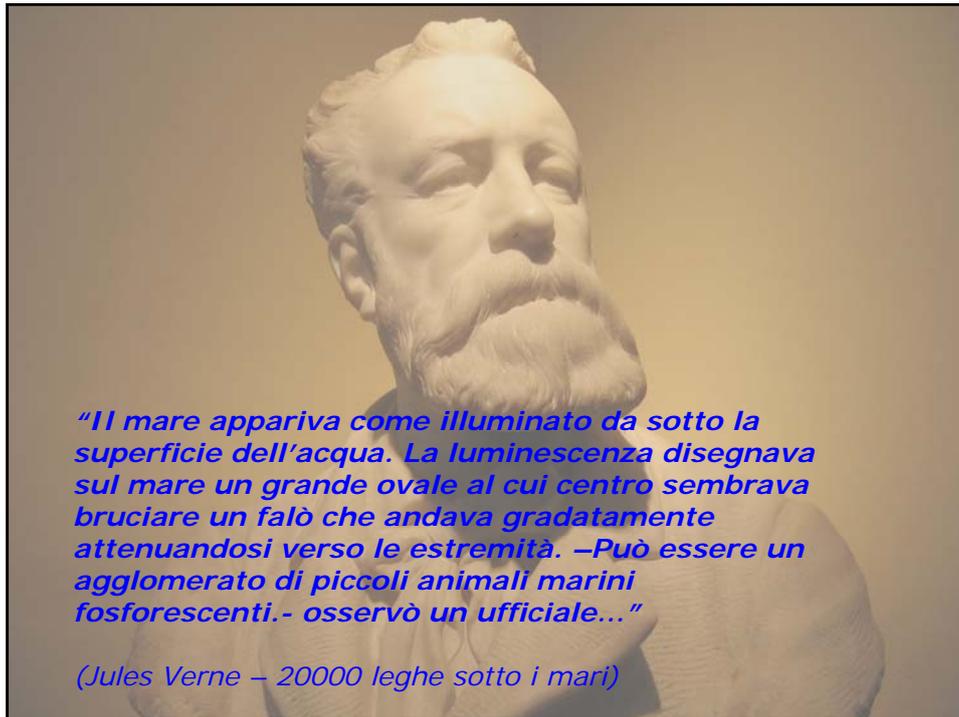
GFP: applicazioni ?



Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 50 -



La (bio)luminescenza nella fantasia di ...

Jules Verne e ...



... nella fantasia di ...

... James Cameron:

**Pandora,
una sfida per la biologia!**

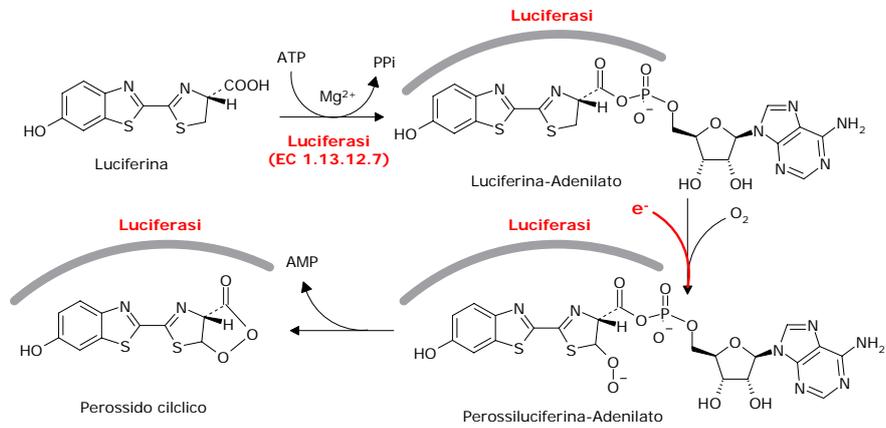


**Grazie,
anche a nome del Capitano Nemo**





Sistema luciferina-luciferasi

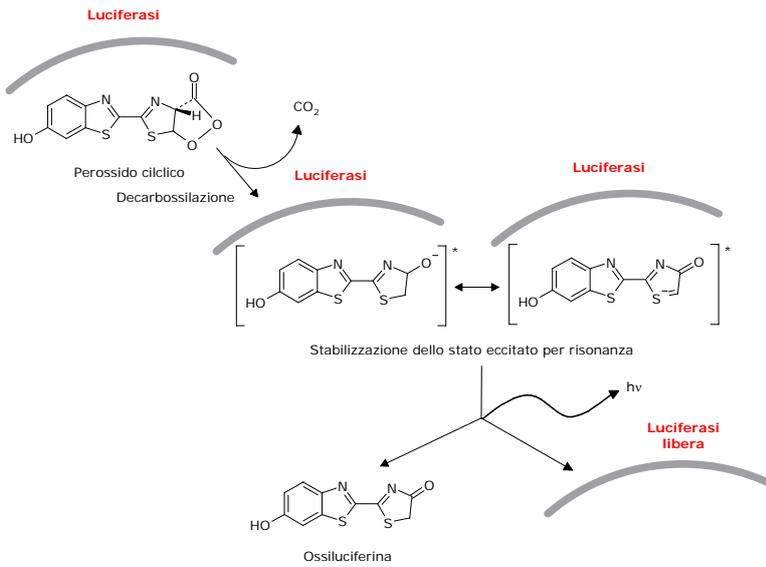


Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 57 -

Sistema luciferina-luciferasi



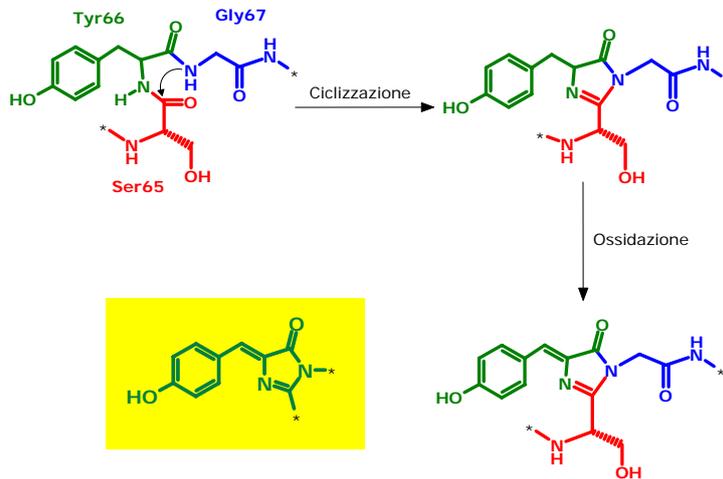
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 58 -

GFP

- Il fluoroforo deriva da una modificazione postraduzionale della proteina.



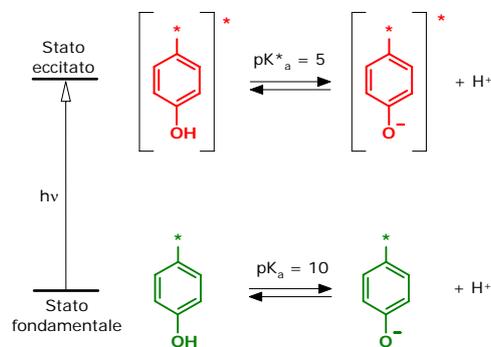
Giorgio Sartor 14.04.2011

Incontri del Centro Galvani

- 59 -

Fotofisica della GFP

- La capacità della GFP di emettere luce verde deriva dalla proprietà della tirosina di avere diversi pK_a di dissociazione dell'OH fenolico allo stato fondamentale e allo stato eccitato:



Giorgio Sartor 14.04.2011

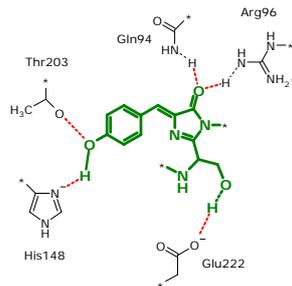
Incontri del Centro Galvani

- 60 -

Fotofisica della GFP

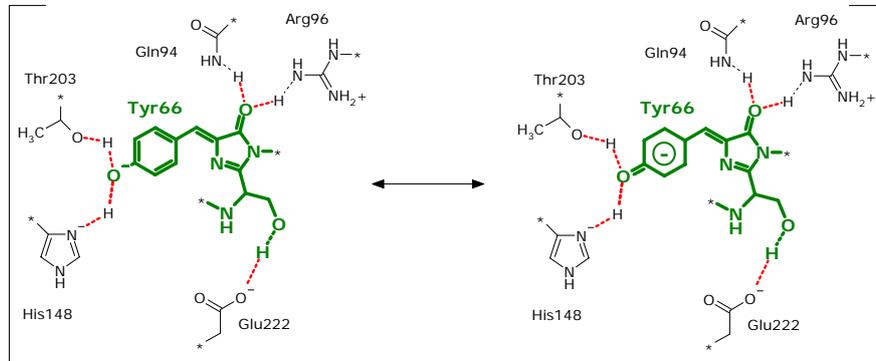
- Inoltre, nella GFP la forma deprotonata della Tyr66 è stabilizzata da interazioni con altri residui:
 - Legame idrogeno tra OH fenolico e His 148 e Thr203,
 - Legame idrogeno tra ossigeno carbonilico e Gln94 e Arg96
 - Legame idrogeno tra OH di Ser65 con Glu222

FORMA PROTONATA



Fotofisica della GFP

- Inoltre, nella GFP la forma deprotonata della Tyr66 modificata è stabilizzata da interazioni con altri residui:
 - Legame idrogeno tra OH fenolico e His 148 e Thr203,
 - Legame idrogeno tra ossigeno carbonilico e Gln94 e Arg96
 - Legame idrogeno tra OH di Ser65 con Glu222



Fotofisica della GFP

