
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARIO AGENO

Un modello quantistico per il crossing-over nei batteri

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.6, p. 986–992.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_6_986_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

Biofisica. — *Un modello quantistico per il crossing-over nei batteri* (*). Nota (**) del Corrisp. MARIO AGENO (***).

SUMMARY. — The phenomenon of crossing-over is analyzed and qualitatively described, from the point of view of quantum mechanics, in the case where the chromosome consists of a single molecule of DNA. First, it is shown that the configuration in which two identical molecules of DNA are lined-up side by side for their entire length, with similar base-pairs close to each other, is one of minimum energy and tends to occur spontaneously as a result of thermal motion. Next, a model is proposed which depicts crossing-over as a process in which a resonance transfer between two identical bonds from the sugar-phosphate backbones of two corresponding helices occurs, followed by a rotation of the two molecules due to thermal collisions and by a second resonance transfer between the same bonds of the other two helices.

Non esiste a tutt'oggi una teoria soddisfacente che ricollegli il ben noto fenomeno del *crossing-over* ai principi fondamentali della fisico-chimica. Tuttavia, alcune delle caratteristiche più salienti di tale fenomeno sembrano così chiaramente indicative da lasciare, mi sembra, ben poco spazio alla immaginazione di chi si proponga di comprenderne la natura. Limitiamoci a considerare il tipo più semplice di *crossing-over*, quello che si verifica tra una coppia di cromosomi costituiti ciascuno da una singola molecola di DNA: è il caso di un batterio doppiamente infettato da un fago. Se le due molecole di DNA infettanti differiscono tra loro solo per un certo numero di marcatori genetici, tra le particelle fagiche liberate in conseguenza della lisi del batterio, si osserva un certo numero di ricombinanti. Lo studio del fenomeno porta, com'è ben noto, alle conclusioni seguenti [1]:

1° Avviene talora che due molecole di DNA differentemente marcate si spezzino, all'interno del batterio, in punti corrispondenti e che ciascun pezzo di ciascuna molecola si saldi, poi, al pezzo complementare dell'altra molecola. Si ottengono in tal modo due molecole di DNA complete e normali, ma che si distinguono da quelle infettanti per una diversa ripartizione dei marcatori genetici (*crossing-over*).

2° Il fenomeno non è spiegabile ammettendo che le due molecole originarie (o loro copie riprodotte dalla macchina biochimica del batterio) subiscano rotture casuali e i pezzi successivamente si risaldino tra loro, statisticamente. In tal caso infatti la probabilità che le due molecole di DNA si rompano esattamente nello stesso punto sarebbe estremamente piccola (dell'ordine di $5 \cdot 10^{-6}$ per il DNA del fago T 2, ad esempio), mentre il *crossing-over* è un fenomeno molto frequente (non meno di 8 *crossing-over* per batterio e per generazione, sempre nel caso del T 2).

(*) Questo lavoro è stato eseguito nel quadro dell'attività svolta dai Laboratori di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità con l'appoggio del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(**) Presentata nella seduta del 14 maggio 1966.

(***) Laboratori di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

3° Il *crossing-over* può d'altra parte verificarsi in ogni punto del genoma, ma in ogni caso interessa sempre e solo due punti *corrispondenti* nelle due molecole. Più che di due processi separati e successivi di rottura e di ricongiungimento, occorre dunque parlare di un fenomeno di scambio di pezzi identici (o quasi identici) tra due molecole, risultando i due processi suddetti strettamente associati tra loro nello spazio e nel tempo.

4° I pezzi scambiati possono non essere veramente identici, nel senso che possono portare differenti marcatori genetici, in punti anche molto prossimi a quello in cui il *crossing-over* si verifica. Ciò vuol dire che l'interazione responsabile dello scambio risente relativamente poco della sostituzione di una singola coppia di basi in una delle due molecole. Tale interazione sarà pertanto la risultante di un gran numero di piccoli contributi, derivanti dall'affiancarsi di tante coppie identiche di nucleotidi, costituenti una considerevole frazione dell'intero genoma.

Queste caratteristiche del *crossing-over* fanno immediatamente pensare ad un fenomeno di scambio per risonanza, di tipo quantistico. In realtà, occorre dire che molti Autori, per spiegare questo fenomeno, hanno ritenuto necessario postulare l'esistenza di un enzima, la « ricombinasi » capace di attaccarsi solo a due segmenti omologhi di due molecole di DNA identiche e di causare il *crossing-over*, con le caratteristiche sopra descritte. A parte il fatto che un tale enzima non è mai stato finora trovato, due obiezioni a mio parere assai gravi si possono portare contro questa ipotesi. La prima è che non sembra possibile attribuire all'azione di un enzima una qualunque serie di operazioni di cui non ci risulta chiaro il meccanismo fisico. Anche se la teoria è per ora inadeguata, non c'è dubbio che gli enzimi possono agire solo in un quadro e secondo leggi fisiche ben definite, che limitano il numero e la qualità delle operazioni ch'essi possono fare [2]. La seconda obiezione è che, mentre sembra assai difficile attribuire il complesso meccanismo del *crossing-over* all'azione di un singolo enzima, è facile mostrare che l'intero processo può in realtà prodursi spontaneamente, senza alcun intervento di carattere enzimatico.

Per mostrarlo, procederemo adesso ad una analisi del fenomeno, suddividendolo in quattro stadi successivi. Il primo stadio è quello in cui le due molecole di DNA si accostano disponendosi parallele, coi punti omologhi fianco a fianco. Per comprendere come ciò possa avvenire, occorre tener conto del fatto che il genoma fagico è di solito di lunghezza notevolmente maggiore delle dimensioni del batterio infettato. Ad esempio, il DNA del fago T 2 è lungo 68μ , mentre le dimensioni dell'*E. coli* non superano i 2μ ; le molecole infettanti debbono dunque essere più volte ripiegate su se stesse o avvolte a matassa, per poter entrare nel ristretto spazio loro concesso. Ciò evidentemente favorisce gli urti. Se si facesse l'ipotesi che le molecole di DNA debbano tutte assumere una posizione ben definita nella complessa topografia cellulare (per esempio, attaccarsi tutte con la estremità libera iniziale ad uno stesso punto), allora l'allineamento ne deriverebbe automaticamente. Ma tale ipotesi non è necessaria. Esaminiamo infatti come si muove in un mezzo liquido

per effetto dell'agitazione termica, una molecola di DNA di peso molecolare pari, poniamo, a 50 milioni. Una tale molecola è molto lunga e sottile e quindi, in relazione alla sua massa, offre una superficie molto larga agli urti delle piccole molecole del mezzo. Inoltre, si tratta di una molecola flessibile. Per essa quindi l'agitazione termica consiste sostanzialmente in una specie di vibrazione irregolare, dovuta all'altissimo numero di collisioni con le molecole del mezzo, per cui la molecola piuttosto che spostarsi come un tutto unico, cambia continuamente la sua forma mentre non esiste alcuna semplice correlazione tra i moti delle sue singole parti. Ne segue una conclusione molto importante. Se due molecole di DNA per caso si urtano, è prevedibile tutta una serie di urti successivi molto strettamente correlati tra loro. Nel caso di un gas, due molecole dopo un urto hanno una probabilità di urtarsi nuovamente entro un certo intervallo di tempo, che non è sostanzialmente diversa dalla probabilità che due qualsiasi altre molecole del gas si urtino tra loro, in quello stesso intervallo di tempo: gli urti successivi sono del tutto non correlati. Al contrario, due molecole di DNA in soluzione dopo un primo urto hanno un'altissima probabilità di urtarsi nuovamente, entro un tempo assai breve e in punti del genoma non molto lontani da quelli in cui è avvenuto il primo urto.

Può così aver luogo una lunga serie di urti successivi tra le due molecole e se l'energia di interazione dipende dalle modalità dell'urto, la configurazione generale del sistema da esse costituito andrà progressivamente avvicinandosi a quella in cui l'energia totale è minima.

Basta dunque far vedere che vi è effettivamente una configurazione in cui l'energia totale delle due molecole è minima. Ma una tale configurazione ovviamente esiste ed è proprio quella in cui le due molecole sono affiancate l'una all'altra per tutta la loro lunghezza, in modo che le coppie uguali di nucleotidi risultino ovunque disposte fianco a fianco. Infatti in ogni punto del genoma è allora possibile un *crossing-over*. Ciò mostra che, se tra le due molecole non v'è alcuna interazione, il sistema è in uno stato fortemente degenerare. Ma se le molecole sono così vicine che tra le parti omologhe di esse vi sia una debole interazione attrattiva, la degenerazione è soppressa e il livello energetico fondamentale del sistema è depresso in proporzione alla lunghezza dei tratti affiancati.

Ovviamente, questa interazione non può essere che molto debole, perché gli orbitali degli atomi omologhi non possono sovrapporsi che con le loro code a grande distanza dai rispettivi nuclei. Così, l'energia di legame di due molecole di DNA non può essere che assai piccola, al più dello stesso ordine di quella dell'agitazione termica. In tal caso, l'interazione può effettivamente avere una influenza orientatrice nel far sì che le due molecole si affianchino per effetto dei moti di agitazione termica, ma non può impedire che esse a un certo punto, per effetto di questi stessi moti, si separino nuovamente. In una soluzione di DNA si avrà quindi un equilibrio statistico in cui una frazione delle molecole presenti è sempre accoppiata, nella configurazione di energia minima, e vi sono sempre coppie di molecole che via via raggiun-

gono tale configurazione, mentre altre, in numero in media uguale continuamente se ne allontanano.

Il secondo stadio del processo è quello che si può verificare in qualunque punto del genoma, quando due molecole di DNA sono affiancate nella configurazione di energia minima. Riferiamoci, per chiarezza, ai modellini rappresentati nella fig. 1. In essa i dischi marcati con le lettere A e B rappresentano ciascuno due coppie di basi complementari, contigue, omologhe, nelle due molecole di DNA affiancate. Nella fig. 1 a, i due dischi superiori rappresentano quindi coppie di basi uguali e così pure i due dischi inferiori.

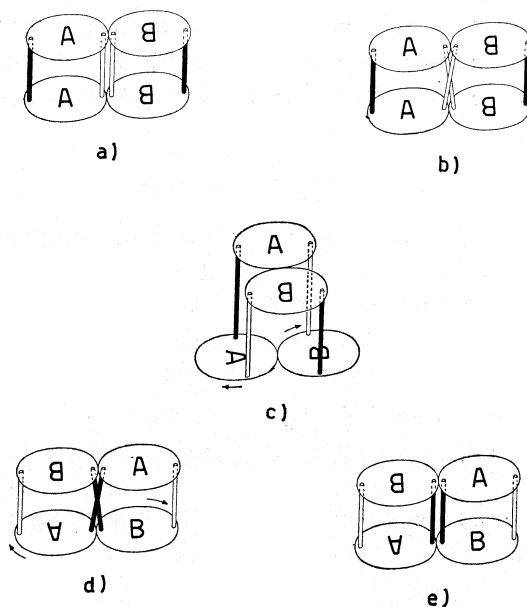


Fig. 1.

Le barre verticali tra i dischi simboleggiano i segmenti dell'ossatura di ciascuna elica, tra le due coppie di basi. Si tratta in realtà, com'è ben noto, del gruppo zucchero-fosfato, che comprende cinque legami consecutivi ciascuno dei quali, rompendosi, provocherebbe lo spezzamento dell'elica in due parti completamente separate. È da notare che uno di questi legami, e precisamente il legame PO_1 risulta quasi parallelo all'asse della molecola. Se tale legame si rompe su una delle due eliche, le due parti della molecola possono ruotare l'una rispetto all'altra attorno al legame PO_1 corrispondente sull'altra elica. Supponiamo, come indicato nella fig. 1 a, che le due molecole affiancate siano disposte in modo che le basi più vicine dell'una e dell'altra siano quelle uguali (e non quelle complementari): i due legami PO_1 equiorientati dell'una e dell'altra molecola risulteranno allora affiancati. È allora facile vedere che tra essi può avvenire uno scambio per risonanza, che per conseguenza porta a collegare la coppia di basi inferiore della molecola A

con la coppia di basi superiore della molecola B e la coppia di basi superiore della molecola A con la coppia di basi inferiore della molecola B, come è indicato schematicamente nella fig. 1 b. Sia infatti:

$$(1) \quad H_0 u = E_0 u$$

l'equazione di Schrödinger indipendente dal tempo per gli elettroni dei due legami in questione, ove si trascuri ogni interazione tra le due molecole. L'hamiltoniana imperturbata H_0 conterrà un potenziale V_0 in cui questi elettroni si muovono e che tiene conto dell'azione su di essi dei nuclei e degli altri elettroni degli atomi che essi collegano. In altre parole, si trascura ogni influenza su tali elettroni da parte di tutto il resto della molecola. In questa approssimazione, i due stati rappresentati nelle figg. 1 a e 1 b sono stati di uguali energie, cui corrispondono due autofunzioni le cui parti spaziali indicheremo con:

$$(2) \quad u = u'_0 \quad \text{e} \quad u = u''_0$$

rispettivamente u'_0 e u''_0 sono ortogonali e possiamo supporle reali e normalizzate. Prendiamo ora in considerazione il fatto che le due molecole interagiscono. Nell'equazione di Schrödinger (1) si dovrà allora aggiungere un termine di interazione H' e gli stati stazionari del sistema non saranno più quelli rappresentati dalle autofunzioni (2). Se però H' è piccolo, possiamo porre per i nuovi stati stazionari:

$$(3) \quad u = u'_0 + \lambda u''_0 \quad E = E_0 + \varepsilon.$$

Inserendo queste espressioni nell'equazione di Schrodinger e tenendo conto della (1) si ottiene:

$$H' (u'_0 + \lambda u''_0) = \varepsilon (u'_0 + \lambda u''_0).$$

Moltiplicando poi per u'_0 , o rispettivamente per u''_0 , e integrando rispetto a tutte le variabili, risulta:

$$(4) \quad \begin{cases} H_{11} + \lambda H_{12} = \varepsilon \\ H_{12} + \lambda H_{22} = \varepsilon \lambda \end{cases}$$

dove:

$$H_{ij} = \int u_0^i H' u_0^j dV$$

e: $H_{12} = H_{21}$ essendo H' hermitiano, $H_{11} = H_{22}$ per ragioni di simmetria. Le (4) forniscono così per λ i due valori $+1$ e -1 , cui corrispondono due valori distinti per l'energia del sistema. L'interazione H' sopprime quindi la degenerazione e l'unico livello energetico imperturbato si scinde in due livelli distinti la cui differenza è:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = -2 H_{12}.$$

Adesso, nessuno dei due stati rappresentati nelle figg. 1 *a* e 1 *b* è uno stato stazionario. I veri stati stazionari sono invece quelli rappresentati dalle autofunzioni:

$$(5) \quad \psi_1 = (u'_0 + u''_0) e^{-i \frac{E_1}{\hbar} t} \quad \text{e} \quad \psi_2 = (u'_0 - u''_0) e^{-i \frac{E_2}{\hbar} t}.$$

Tuttavia, lo stato iniziale del sistema, quando le due molecole si affiancano, è proprio quello rappresentato nella fig. 1. Il sistema non è, quindi, in uno stato stazionario: il suo stato potrà tuttavia rappresentarsi mediante una conveniente combinazione lineare delle due autofunzioni (5). Si vede subito che la combinazione lineare appropriata è:

$$(6) \quad \psi = \frac{1}{2}(\psi_1 + \psi_2) = \frac{1}{2}(u'_0 + u''_0) e^{-i \frac{E_1}{\hbar} t} + \frac{1}{2}(u'_0 - u''_0) e^{-i \frac{E_2}{\hbar} t}.$$

Infatti, per $t = 0$, questa si riduce a:

$$\psi(0) = u'_0$$

che è la funzione che descrive lo stato rappresentato nella fig. 1 *a* cioè lo stato iniziale. Ma la (6) dopo che è passato l'intervallo di tempo:

$$\frac{T}{2} = \frac{h}{2\Delta E}$$

assume il valore:

$$\psi\left(\frac{T}{2}\right) = u''_0$$

funzione questa che descrive lo stato della fig. 1 *b*. Col passare del tempo, il sistema oscilla tra le due configurazioni della fig. 1 *a* e della fig. 1 *b*, con periodo T .

Queste oscillazioni hanno termine, quando i moti di agitazione termica provocano il distacco tra le due molecole. Se la separazione avviene quando lo stato è quello della fig. 1 *a*, nulla è avvenuto. Ma essa può anche verificarsi quando lo stato è quello della fig. 1 *b*. In questo caso, le due molecole non possono separarsi completamente, per effetto degli urti con le molecole del mezzo, ed ha così inizio il terzo stadio del processo che stiamo analizzando.

L'unico effetto che possono avere gli urti termici è quello di far ruotare le due molecole l'una rispetto all'altra, come è indicato nella fig. 1 *c*. Nella posizione intermedia indicata in tale figura, qualche legame risulterà un po' deformato: il sistema tenderà quindi spontaneamente a portarsi in una delle configurazioni di energia minima, indicate nelle figg. 1 *b* e 1 *d*. Se per caso viene raggiunta la configurazione della fig. 1 *d*, può aver luogo la quarta ed ultima fase del processo. Può aver luogo cioè un secondo scambio per risonanza, identico a quello che costituisce il secondo stadio, ma interessante adesso le due eliche che non erano state impegnate in tale stadio. Con ciò, il sistema si porta nella configurazione mostrata nella fig. 1 *e*, e il *crossing-over* è così completato.

Occorre mettere in evidenza che, in questa descrizione del *crossing-over*, sono impegnati nei fenomeni di scambio quantistici solo gli elettroni dei legami. Ogni movimento delle particelle pesanti, cioè dei resti atomici e delle restanti parti delle due molecole, è attribuito unicamente agli urti con le molecole del mezzo dovuti all'agitazione termica. È da notare, a questo proposito, che tutti i sistemi viventi, nonché i loro organi o parti esplicanti le varie funzioni, sono di dimensioni tali da dover essere considerati ormai oggetti classici. Tuttavia, essi possiedono un numero limitato di elettroni, che intervengono nei vari processi elementari di significato biologico, e pertanto le proprietà tipicamente quantistiche di queste particelle non vengono mascherate da movimenti d'insieme incoerenti, ma appaiono in evidenza. Così noi possiamo osservare direttamente il risultato di specifiche interazioni quantistiche, nel quadro di un comportamento generale tipicamente classico. Probabilmente, questo è uno dei caratteri che meglio distinguono le dimensioni e l'ambito in cui si svolgono i processi vitali.

Le considerazioni precedenti non sono ovviamente altro che un tentativo di descrivere un ben noto fenomeno biologico, facendo uso soltanto di concetti e principi fisici fondamentali. Esse potranno forse essere di qualche aiuto per trovare la via per una più approfondita comprensione e per la futura elaborazione di una vera teoria del fenomeno in questione.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] Si omette la citazione dei lavori originali, in quanto si tratta di risultati ormai classici, riportati in qualunque testo di genetica molecolare.
- [2] M. AGENO, «Atti dell'Acc. Naz. dei Lincei», in corso di stampa.