
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

UMBERTO BIANCHI

**Genetica formale di una proteina dotata di attività
catalitica esterasica in *Anopheles stephensi***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.3-4, p.
192-194.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_3-4_192_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/>

Biologia. — *Genetica formale di una proteina dotata di attività catalitica esterasica in Anopheles stephensi* (*). Nota (**) di UMBERTO BIANCHI, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Working with two strains of *A. stephensi*, respectively selected, for susceptibility and insusceptibility to *Plasmodium gallinaceum* infection, intraspecific polymorphism and intrastrain monomorphism have been noted.

In fact, individuals at the fourth larval stage belonging to the susceptible strain possess an electrophoretic band, having esterase activity (Est 1), which migrates anodically, more slowly than Est 1 of the insusceptible larvae. Individuals representing the F₁ offspring obtained by crossing the susceptible females to the insusceptible males, and viceversa, possess both the parental enzymes. In the F₂ generation, individuals having the slower enzyme, others with both the parental bands and finally others possessing the faster enzyme have been obtained, according to the ratio 1 : 2 : 1.

These data suggest that the two different molecular forms of Est 1 are phenotypic expressions of the activity of two autosomal loci, which may be written Est 1^s/Est 1^f and Est 1^s/Est 1^f, for the susceptible and insusceptible strains, respectively.

Nell'ambito di una più ampia ricerca, intesa a studiare il comportamento genetico della suscettibilità di *Anopheles stephensi* all'infezione da *Plasmodium gallinaceum*, che è stata condotta recentemente nel nostro Istituto, sono state osservate anche differenze nel comportamento elettroforetico di esterasi omologhe, poste in evidenza rispettivamente nel ceppo vettore ed in quello non vettore. In base alla suddetta osservazione è stata eseguita una serie di esperimenti che verranno riferiti ed illustrati in questa Nota, i quali hanno portato alla comprensione dei meccanismi genetici che controllano questo carattere.

MATERIALE.

Sia il ceppo vettore che il ceppo non vettore, convenzionalmente e rispettivamente denominati ceppo A e ceppo B, sono stati selezionati nei laboratori di parassitologia dell'Istituto Superiore di Sanità – Roma, e ci sono stati cortesemente forniti dal prof. A. Corradetti. Da allora i ceppi sono stati mantenuti, nei limiti possibili, puri e vengono tuttora conservati.

TECNICHE.

Elettroforesi.

Sono state eseguite verticalmente su piastre di gel di poliacrilamide, che venivano preparate da soluzioni al 5% di «Cyanogum 41» (una miscela di acrilamide e di N, N-metilenbisacrilamide) in tampone tris-(idrossimetil)-aminometano-borato 0,1 M, pH 8,9, contenente 1,5 mM di acido etilendia-

(*) Ricerca eseguita, con un contributo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. W.H.O. – Ginevra, contratto M2/181/105, nell'Istituto di Genetica dell'Università di Cagliari.

(**) Pervenuta all'Accademia il 26 settembre 1968.

minotetraacetico (EDTA). La polimerizzazione dei monomeri (acrilamide ed N, N-metilenbisacrilamide) veniva determinata mediante aggiunta di ammonio persolfato 0,2% e di N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina (TMED) 0,1%.

Incubazione enzimatica e colorazione.

A migrazione elettroforetica conclusa (90 minuti, 30 V/cm, T-10-12°C.), e dopo preincubazione delle piastre di gel in soluzione di acido borico 0,5M, durata 2 ore, alla temperatura di 5°C, le bande ad attività esterasica venivano poste in evidenza incubando il gel per circa 3 ore, alla temperatura di circa 30°C in 200 ml di soluzione tampone fosfata 0,1M, pH 6,5, contenente 40 mg di Na α -naftilacetato e 100 mg di Fast Red TRN (Laboratori Dajac, Philadelphia, Pa, USA).

RISULTATI E CONCLUSIONI

Gli zimogrammi delle esterasi, ottenuti da omogenati di singoli individui *A. stephensi*, sono risultati complessivamente formati da 4-5 bande.

È subito apparsa evidente l'esistenza di polimorfismo infraspecifico e di monomorfismo infraceppo, interessanti la banda ad attività catalitica esterasica, dotata della più bassa velocità di migrazione anodica, che è stata denominata Est 1. In particolare nelle larve del ceppo A (ceppo vettore) si è notata la presenza costante di una Est1 più lenta di Est1 posseduta dalle larve del ceppo B (ceppo non vettore). Negli individui rappresentanti la discendenza di prima generazione, ottenuta dagli incroci ♀♀ A × ♂♂ B e reciproco, si è posta in evidenza la presenza di entrambe le bande omologhe parentali Est 1. fig. 1.

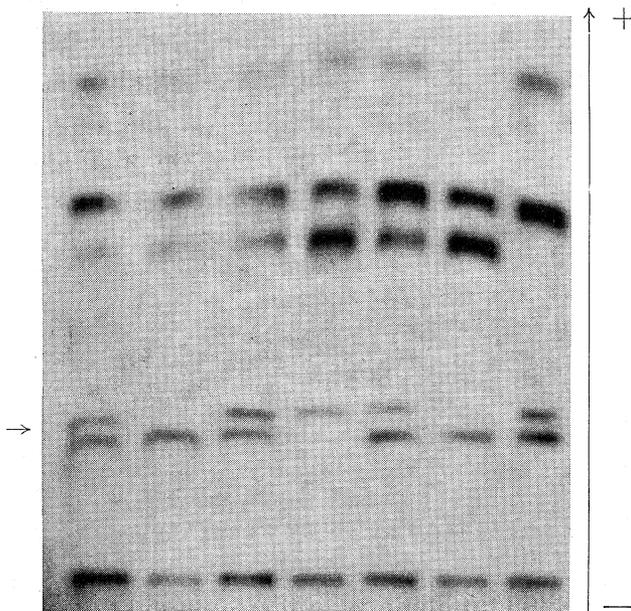


Fig. 1. -- Zimogrammi delle esterasi ottenuti da omogenati singoli di individui *A. stephensi* al IV stadio larvale.

Da sinistra a destra: AB, A, AB, B, AB, A, AB. La freccia indica le bande Est 1.

Nella discendenza di seconda generazione ($\sigma\sigma A \times \varphi\varphi B$) si sono osservati individui con Est I lenta, altri in possesso di entrambe le bande parentali, ed infine altri con Est I veloce, secondo l'atteso rapporto mendeliano di 1 : 2 : 1 (vedi Tabella I).

TABELLA I.

	totale individui esaminati	Est I lenta	Est I lenta + Est I veloce	Est I veloce
<i>A. stephensi</i> (ceppo A)	40	40	0	0
<i>A. stephensi</i> (ceppo B)	40	0	0	40
F ₁ ($\sigma\sigma A \times \varphi\varphi B$)	30	0	30	0
F ₁ ($\sigma\sigma B \times \varphi\varphi A$)	30	0	30	0
F ₂ ($\sigma\sigma A \times \varphi\varphi B$)	59	13	31	15

Sulla base di questi dati, sembra correttamente possibile concludere affermando che le due diverse forme molecolari dell'enzima Esterasi I, sono rispettivamente espressione fenotipica dell'attività di loci autosomici, indicabili con la seguente scrittura: Est I^s/Est I^s per il ceppo vettore del *P. gallinaceum* ed Est I^f/Est I^f per il ceppo non vettore.

Sembra molto verosimile ammettere che il suddetto nuovo carattere, reperito in *A. stephensi*, non sia direttamente correlabile alle condizioni di suscettibilità e non suscettibilità all'infezione da plasmodio, ma piuttosto che le due condizioni omozigoti per Est I nei due ceppi siano state selezionate indipendentemente.

BIBLIOGRAFIA

- BECKMAN L. e JOHNSON F. M., « Genetics », 49, 829 (1964).
 BIANCHI U., « Nature », 217, 382 (1968).
 SHOW C. R., « Science », 149, 936 (1965).
 WRIGHT T. R. F., « Genetics », 48, 787 (1963).

A. ROSSI-FANELLI e B. FINZI