

Guido Pontecorvo, il genetista e l'uomo

**Limonaia- Scienza Viva
Pisa, 10 dicembre 2013**

**Anna M Rossi
Dip di Biologia - Univ di Pisa**

Nato il 29 novembre 1907, a Pisa.

Laureato in scienze agrarie presso l'Università di Pisa nel 1928, ha trascorso nove anni a Firenze, lavorando presso l'Ispettorato dell'agricoltura della Toscana ad un programma di miglioramento del bestiame.

Apparteneva ad una famiglia ebrea ed era il primo di otto figli, fratello di Gillo, il noto regista, e Bruno, il noto fisico nucleare.

Nel 1938, dovette fuggire dall'Italia a causa delle leggi razziali promulgate dal Governo Fascista.



Leni e Lisa: le donne dietro l'uomo



Il matrimonio con Leonore Freyenmuth (Leni)
nel 1939



La figlia Lisa (1944-2008)

Dalle mucche all'uomo passando per funghi, drosofile... e perfino pidocchi

Rifugiato a Edimburgo, fu allievo di Hermann Joseph Muller , con cui svolse il dottorato discutendo nel 1941 una tesi sulla induzione di riarrangiamenti cromosomici in *Drosophila*.

Dopo un periodo di internamento all'isola di Man, passò a Glasgow dove si dedicò allo sviluppo della genetica microbica in particolare alla genetica di funghi, e nel 1950 scoprì che la ricombinazione dei geni può avvenire nel fungo *Aspergillus nidulans* senza riproduzione sessuale.



Pontecorvo occupò la prima cattedra di genetica all'Università di Glasgow dal 1955 fino al 1968, quando si trasferì al Imperial Cancer Research Fund. Si ritirò nel 1975 ma continuò a lavorare fino alla morte nel 1999, all'età di 92 anni, per un banale incidente in montagna, nei pressi di Zermatt, in Svizzera.

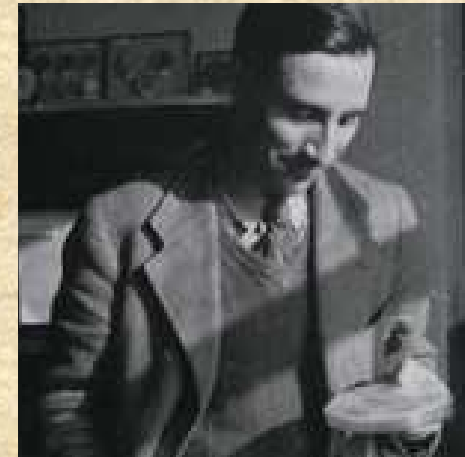
La carriera accademica

- PhD, Istituto di Genetica Animale, Università di Edimburgo , 1938-1940 e 1944-1945
- Post-Doc, Dipartimento di Zoologia, Università di Glasgow , 1941-1944
- Lecturer, Dipartimento di Genetica, Università di Glasgow, 1945-1955
- Professore, Dipartimento di Genetica, Università di Glasgow, 1956-1968
- Direttore Onorario, MRC Unità di Genetica cellulari, 1966-1968
- Membro dell'Imperial Cancer Research Fund, 1968-1975
- Consulente Onorario del ICRF, 1975-1980...e oltre

È stato eletto Membro della Royal Society nel 1955.

Dalle mucche all'uomo passando per funghi, drosofile... e perfino pidocchi

Pontecorvo fu un pioniere assoluto degli studi sulla genetica e la biochimica di molti funghi. In particolare, *Aspergillus nidulans* nelle sue mani divenne un potente strumento della genetica sperimentale, al pari della *Drosophila*, il moscerino della frutta con cui lui stesso si cimentò nella tesi di PhD con Hermann Muller a Edimburgo (1941). Inoltre propose l'idea del gene come unità di funzione, una teoria suffragata poi dagli esperimenti di Seymour Benzer nel 1955.



1938-41

Ma i genetisti umani lo ricordano per aver proposto un approccio sperimentale molto innovativo allo studio della genetica umana

Lo stato dell'arte della genetica umana

La genetica della prima metà del Novecento aveva fatto grandi passi ma la genetica umana era rimasta molto indietro rispetto a quella dei batteri, dei funghi e della *Drosophila*.

Lo studio della genetica si basava soprattutto sugli incroci tra individui con differenti caratteristiche, ma questo approccio era poco utilizzabile per la genetica umana.



1938-41

Il contributo di Pontecorvo a risolvere questo problema è stato almeno altrettanto importante di quello dato allo sviluppo della genetica dei microrganismi.

Lo stato dell'arte della genetica umana

Solo negli anni Cinquanta, lo sviluppo delle tecniche citologiche aveva reso possibile risolvere una diatriba durata oltre quarant'anni sul numero dei cromosomi umani e anche identificare alcune anomalie cromosomiche umane.

Nel 1956 Joe Hin Tjio e Albert Levan determinarono in modo definitivo il numero di cromosomi per cellula diploide in $2n=46$.

Nel 1958-59, Jérôme Lejeune e Marthe Gauthier scoprirono che la sindrome di Down era il risultato della presenza di un cromosoma soprannumerario (trisomia 21). Poco tempo dopo furono scoperte anche le anomalie responsabili della sindrome di Turner (X0) e di Klinefelter (XXY).

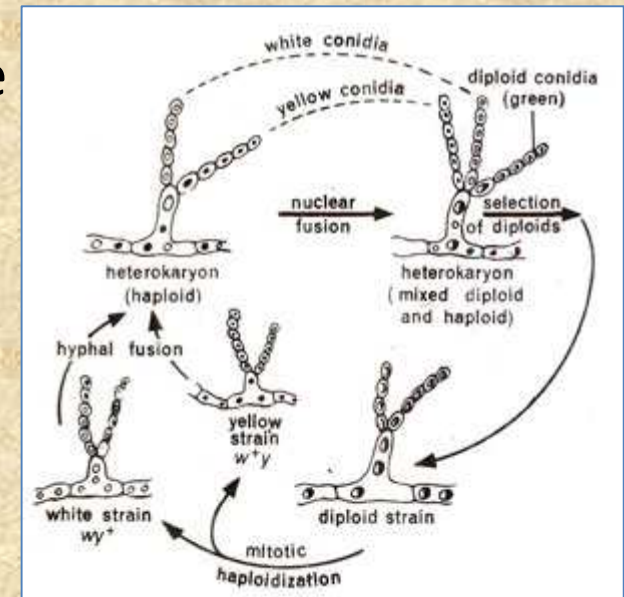


Cicli parasessuali

La scoperta di Pontecorvo che nei funghi le cellule somatiche possono fondersi e mettere a comune il loro patrimonio genetico è del 1950.

In quello che si chiamò il **ciclo parassessuale** (alternanza di stato diploide e aploide senza passaggio per la meiosi) potevano avvenire fenomeni analoghi a quelli tipici della riproduzione sessuata, come il riassortimento e la ricombinazione dei geni, caratteristici della meiosi.

Il ciclo parasessuale che fu brevettato nel 1954 rappresenta il primo brevetto ottenuto per un processo biologico naturale.



Cicli parasessuali

Considerando che i cicli parasessuali si erano rivelati così utili per l'analisi genetica dei funghi, nel 1956 Pontecorvo suggerì che si potesse realizzare qualcosa di analogo per l'analisi genetica umana mediante l'uso di cellule somatiche coltivate *in vitro*.

Per questa intuizione e per le sue importanti conseguenze Pontecorvo è considerato il fondatore della genetica delle cellule somatiche, anche se molti ricercatori attuali ignorano le origini e la storia di questi studi che hanno gettato le basi della medicina molecolare moderna.



Is genetic analysis via mitotic segregation possible in man?
Symp. R. Phys. Soc. 25 : 16-20, 1956

Il suo laboratorio era meta di visitatori da ogni parte del mondo. Tra tanti, Eugene Bell, Walter Bodmer, Renato Dulbecco, George Martin, Obaid Siddiqui, molti dei quali hanno contribuito ai notevoli progressi della genetica umana.

Gli sforzi dei suoi allievi si concentrarono sulla sua proposta ma i primi tentativi furono deludenti. Con le cellule vegetali si ottenevano risultati più che soddisfacenti, ma per le cellule animali probabilmente i tempi non erano ancora maturi.

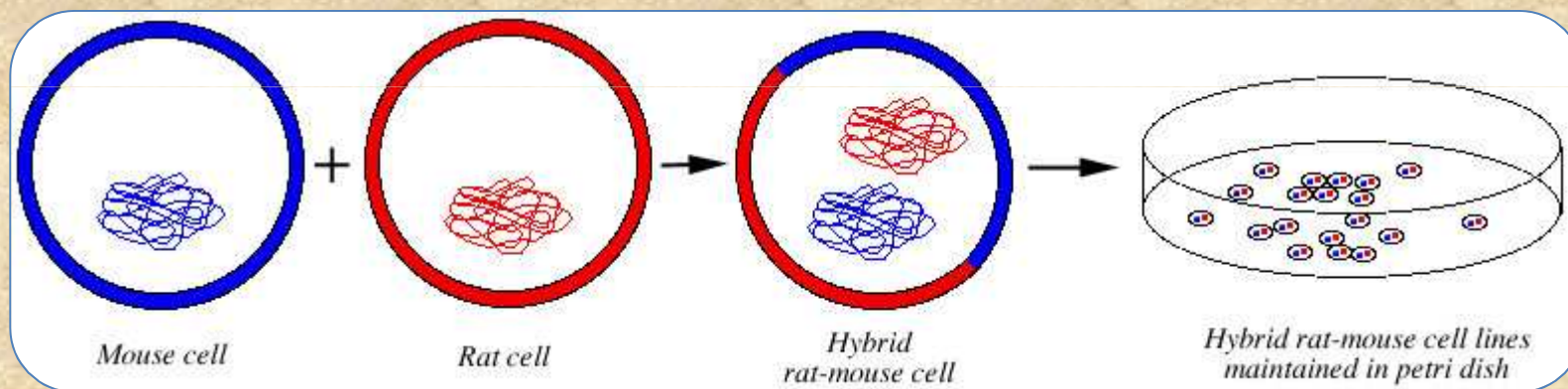


Pontecorvo with Jacques Monod at Cold Spring Harbor, 1946 (© Lisa Pontecorvo).



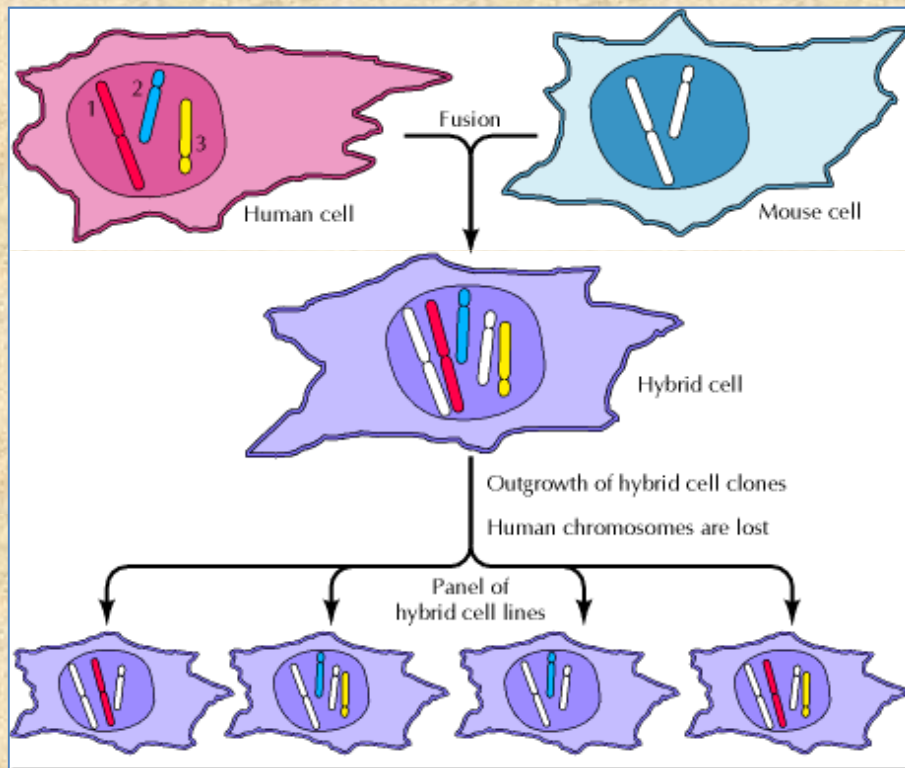
Ugo Fano, Salvador Luria, and Pontecorvo at Cold Spring Harbor, 1946 (© Lisa Pontecorvo).

La principale difficoltà era la instabilità delle colture. Circa dieci anni più tardi si riuscì finalmente a ottenere colture di cellule di mammifero più stabili. Un progresso fondamentale fu la riuscita della fusione di cellule umane con cellule di topo in coltura, ottenuta da Maria Weiss e Howard Green nel 1967.



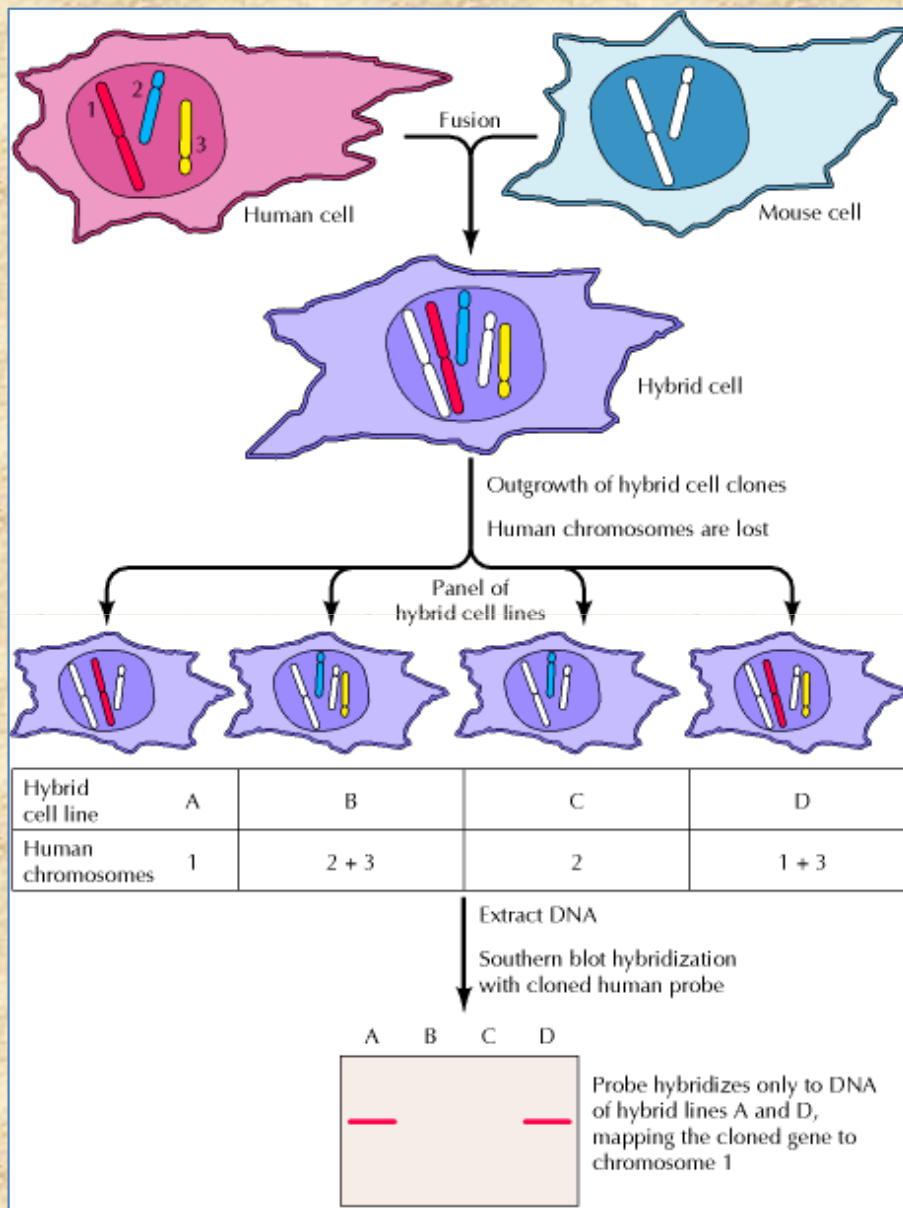
Come Pontecorvo aveva suggerito in questo sistema di "cellule ibride" si realizzava la ricombinazione e la segregazione dei geni come nei processi della riproduzione sessuata.

Dopo alcune generazioni, dagli ibridi cellulari si ottenevano linee stabili di cellule con l'intero assetto cromosomico della linea accettrice e alcuni cromosomi della donatrice.



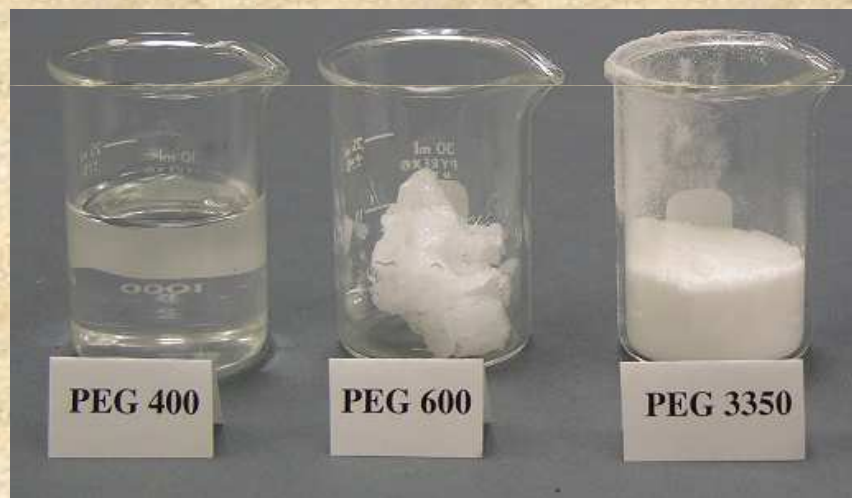
Nel caso degli ibridi topo-uomo, venivano persi preferenzialmente i cromosomi umani. Si potevano così ottenere cloni che contenevano diverse combinazioni dei cromosomi umani.

Induction of directional chromosome elimination in somatic cell hybrids. *Nature*. 230(5293):367-9. 1971

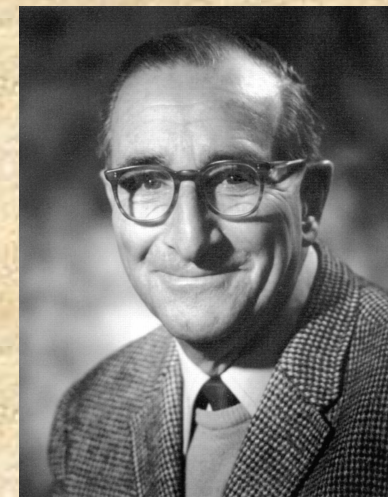


Così esaminando le cellule di ciascun clone per l'assenza o la presenza di prodotti noti di alcuni geni, p.e. specifici enzimi, si potevano assegnare a particolari cromosomi i geni corrispondenti, simulando la segregazione nella meiosi.

Nonostante gli iniziali fallimenti del suo approccio, uno dei suoi articoli è considerato un classico della genetica delle cellule somatiche. In questo articolo del 1975 Pontecorvo dimostrò che si potevano ottenere molti più ibridi con l'uso del poli-etilen-glicol o PEG, già noto per indurre la fusione dei protoplasti di origine vegetale e dei batteri.



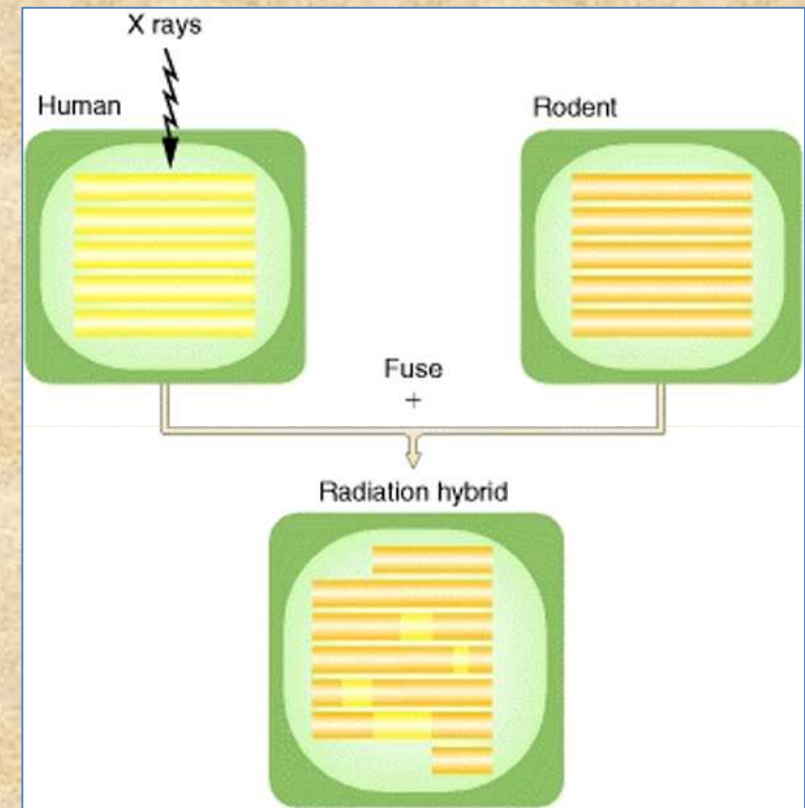
Production of mammalian somatic cell hybrids by means of polyethylene glycol. Somatic Cell Genet. 1 : 397–400. 1975



Nel 1978 all'ICRF

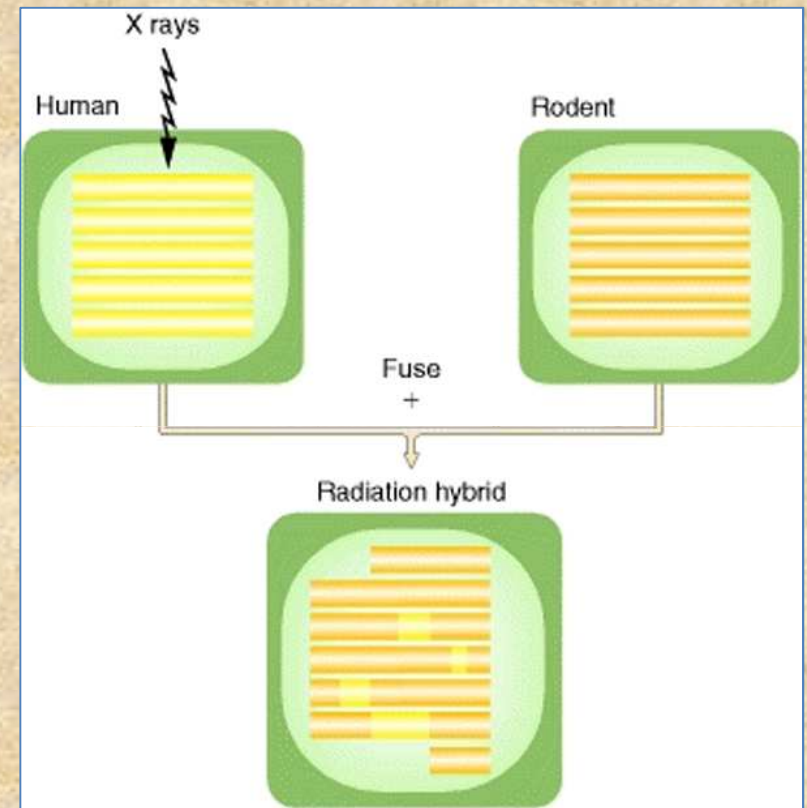
Ma l'aggiunta di PEG non era l'unico perfezionamento della tecnica che si deve a Pontecorvo.

Rifacendosi al suo lavoro sugli ibridi di *Drosophila*, che erano stato oggetto della sua tesi di PhD, Pontecorvo propose di irradiare le cellule umane con raggi X prima di fonderle con le cellule di roditore. I cromosomi umani irradiati andavano letteralmente a pezzi e quindi si poteva avere una localizzazione più fine dei geni umani.



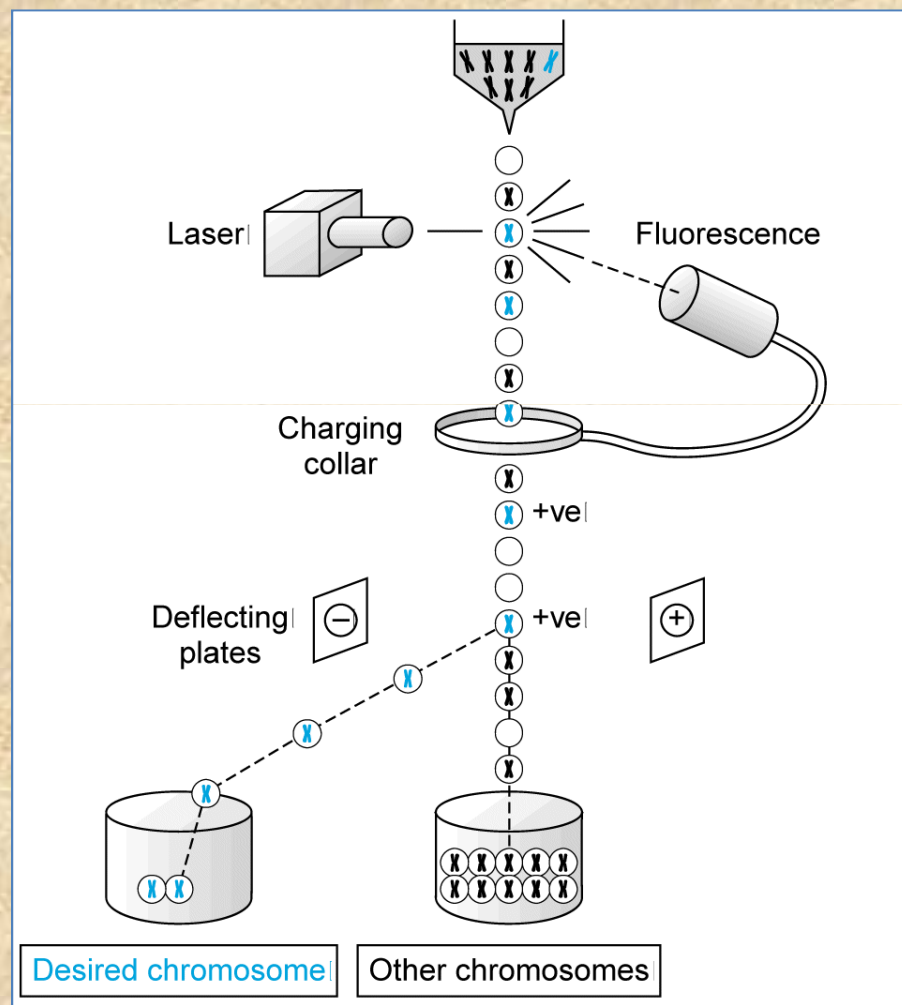
Induced chromosome elimination in hybrid cells, pp. 65–69 in *Somatic Cell Hybridization*, edited by Davidson R. L., de la Cruz F. Raven Press, New York. 1974

Si ottennero una serie di linee ibride, ciascuna delle quali portava alcuni frammenti di cromosomi umani. In questo modo i geni potevano essere assegnati non ad un cromosoma ma ad uno suo specifico segmento.

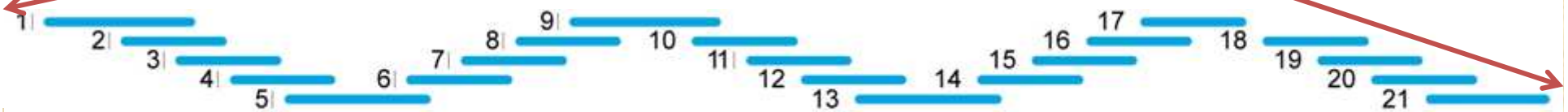


Queste trovate che potrebbero sembrare banali espedienti tecnici in realtà dimostrano il suo intuito geniale e la sua vasta preparazione nel campo.

Separazione di specifici cromosomi con la citometria a flusso



Ricostruzione della mappa cromosomica



Da un cromosoma isolato si possono ottenere tanti frammenti che possono essere riordinati in base alle sovrapposizioni delle sequenze di DNA

Il workshop sulla localizzazione dei geni umani

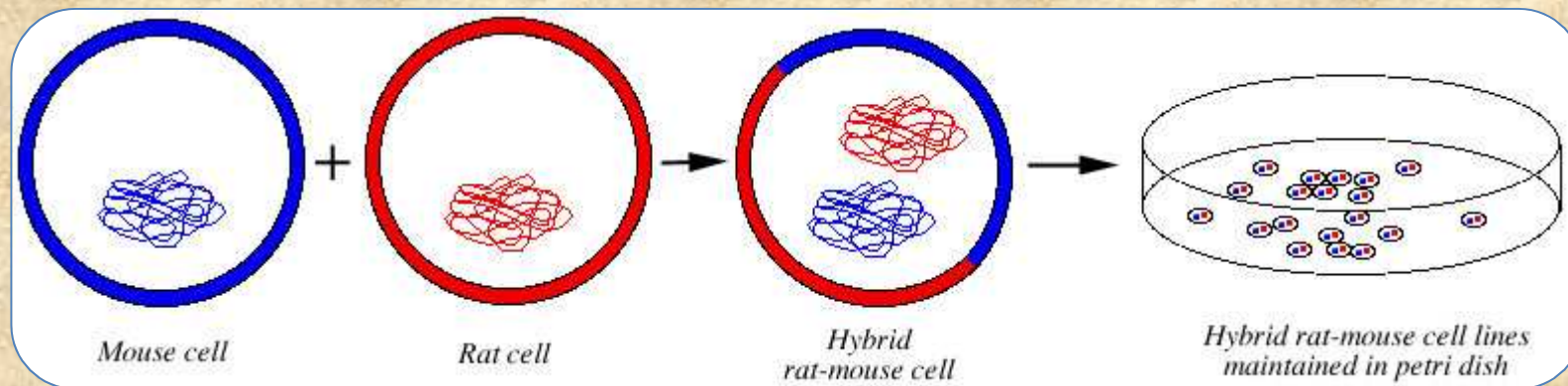
I progressi furono esaltanti: si passò rapidamente da circa 100 geni localizzati, citati nella relazione della conferenza di Yale (1973), a oltre 2000 nel 1989, cioè prima dell'avvio del Progetto genoma umano.

P. con Frank Ruddle e Francis Crick (1978)



La produzione di ibridi cellulari si rivelò uno strumento importantissimo per la biologia, i cui progressi andarono molto al di là delle aspettative di quanti ritennero che si trattasse solo di un semplice artificio tecnico.

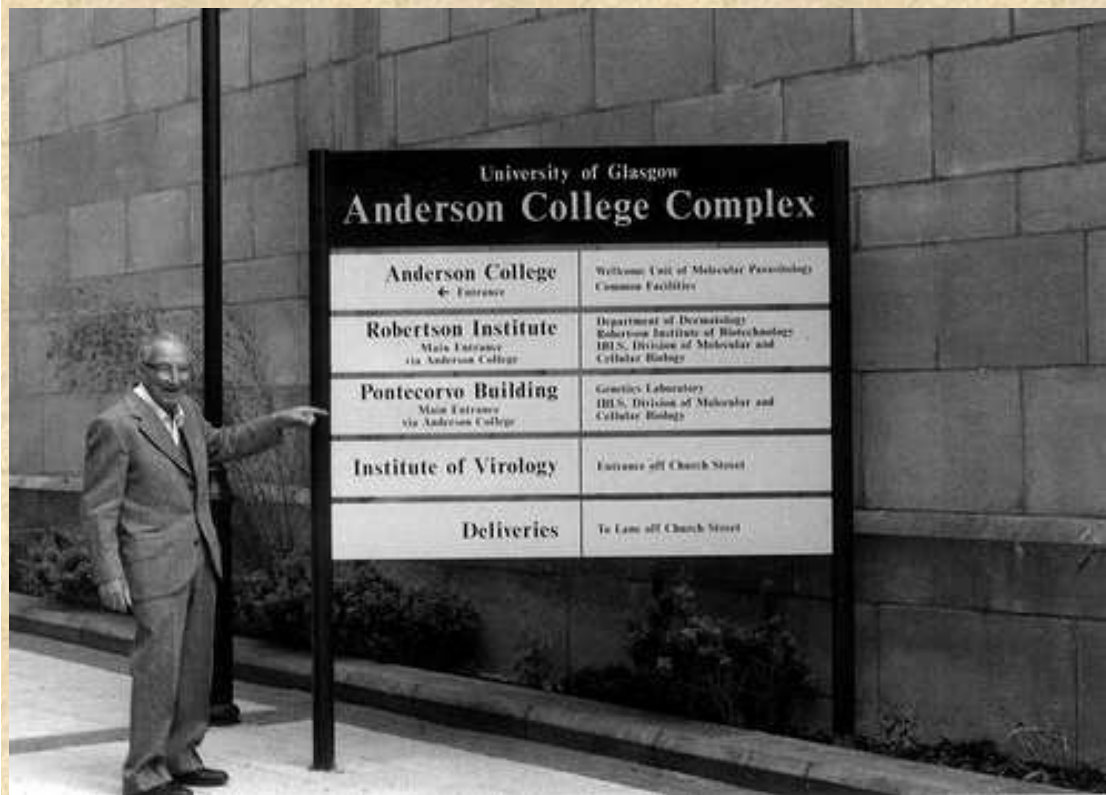
Non solo portò alla localizzazione dei geni umani, ma spianò la strada alla genetica biochimica, alla biologia molecolare e infine alle tecnologie del DNA ricombinante.



Nel 1984 Pontecorvo poteva dire con soddisfazione:
*La genetica umana, che era la Cenerentola della genetica, è
diventata la sua frontiera avanzata.*

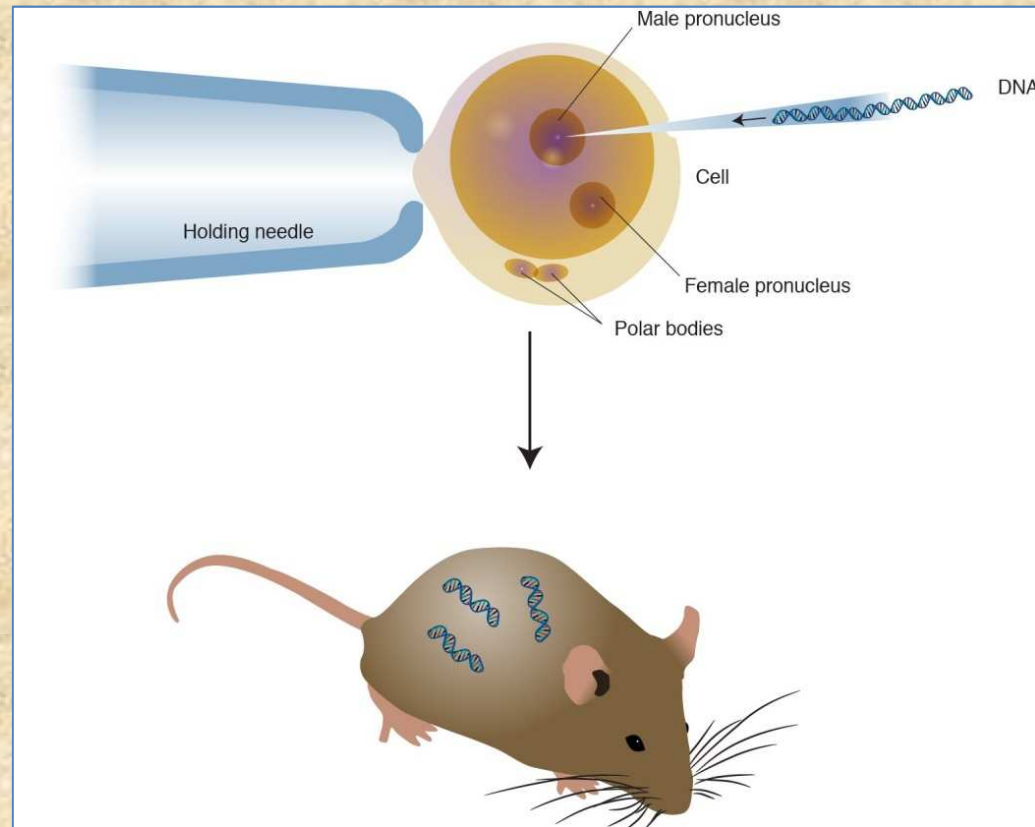


Inaugurazione del nuovo Istituto di Genetica
a Glasgow intitolato a Pontecorvo, 1995



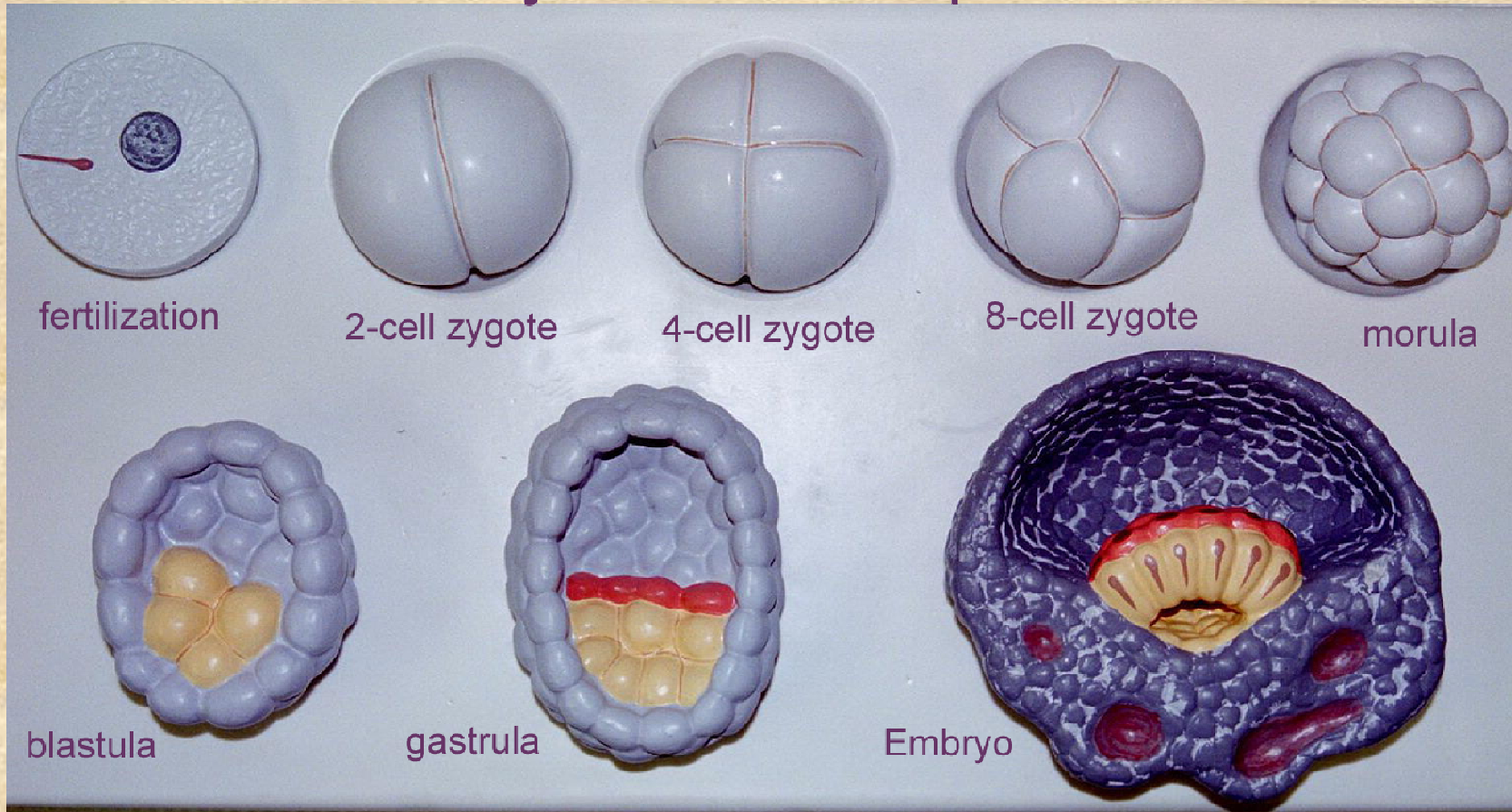
Negli ultimi decenni sono state sviluppate numerose applicazioni biotecnologiche, che vanno dalla fecondazione *in vitro* alla produzione di cellule staminali.

Topi transgenici

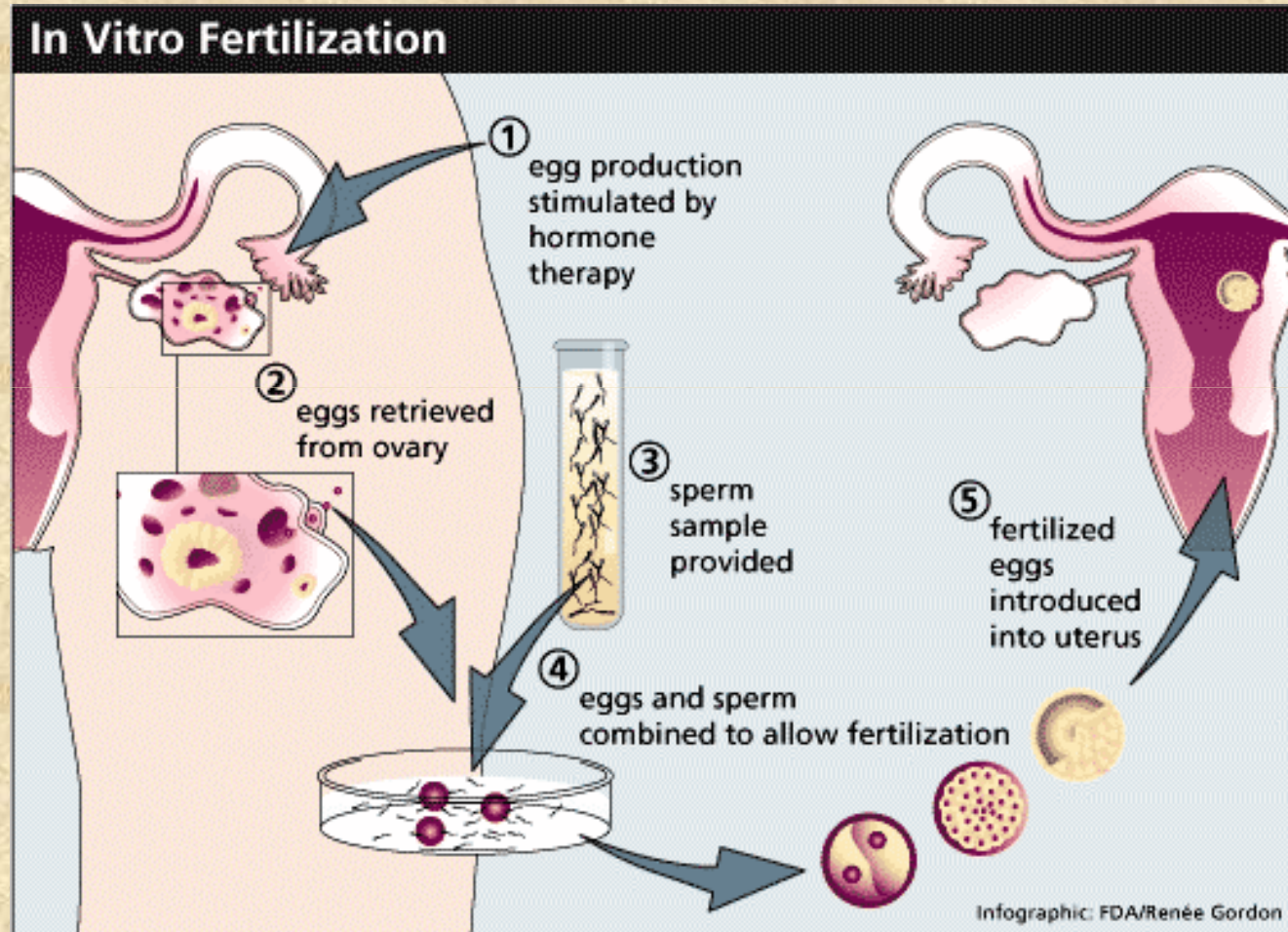


Frank Ruddle, post-doc a Glasgow tra il 1960 e il 1961, ottenne il primo animale transgenico insieme a John W. Gordon, nel 1980.

Biologia dello sviluppo e differenziamento cellulare *in vitro*

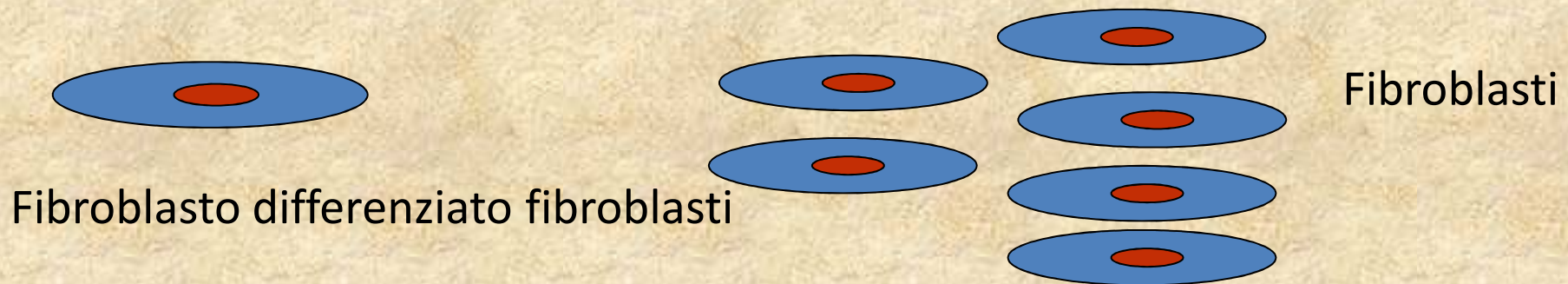


Tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA)

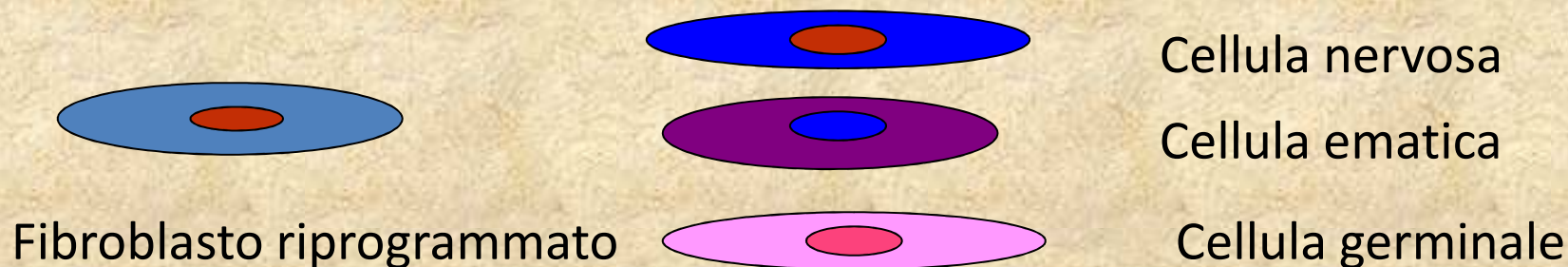


Cellule staminali

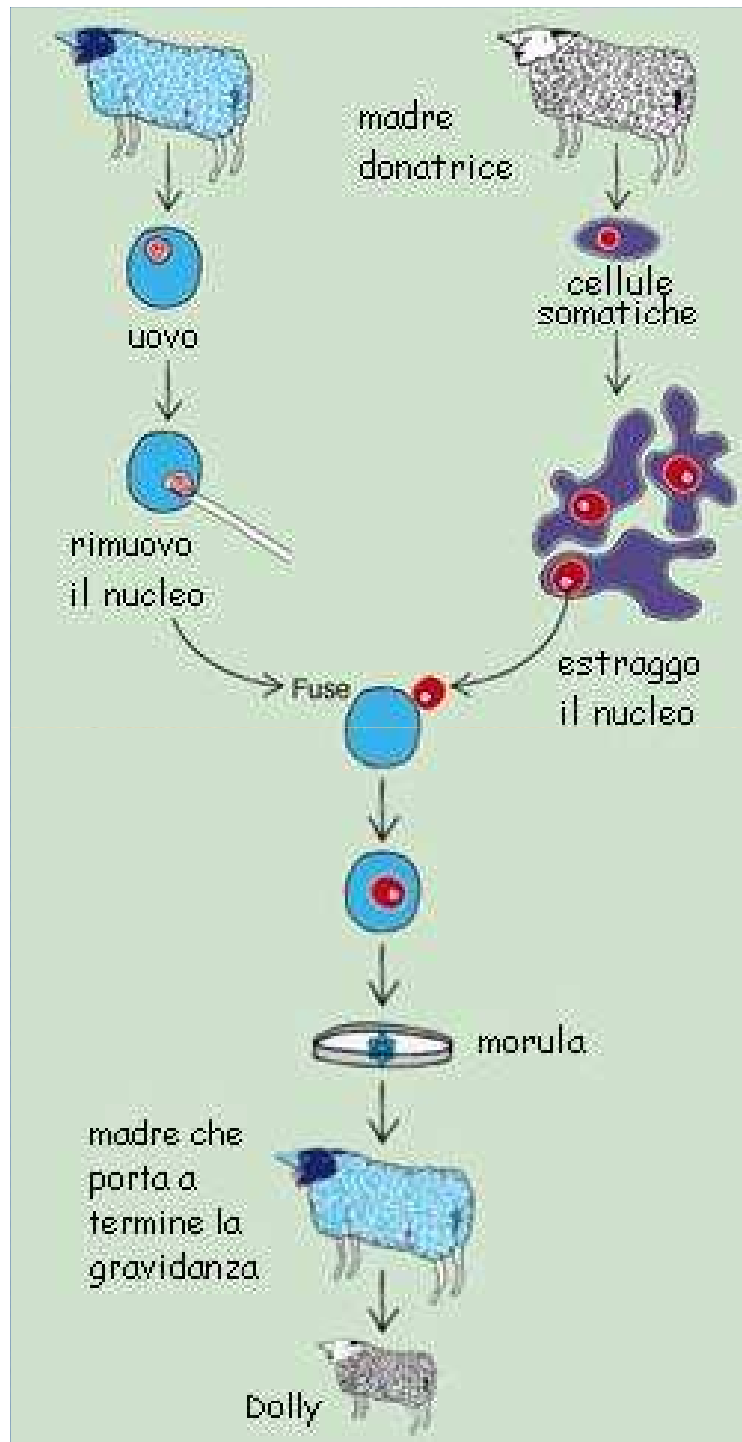
Riprogrammare le cellule somatiche adulte per ottenere cellule staminali pluripotenti iPS senza ricorrere a cellule embrionali



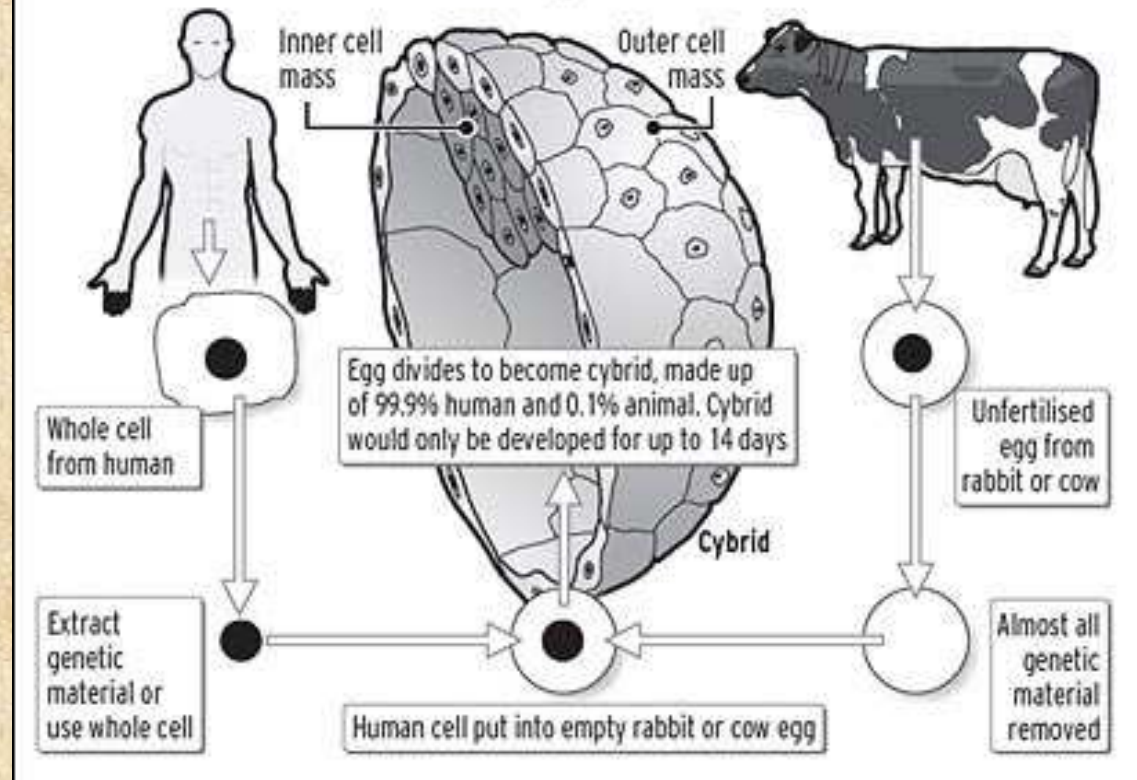
Per es. Se fibroblasti della pelle vengono riprogrammati acquistano la capacità di generare tutti i tipi di cellule differenziate, sia somatiche sia germinali.



Clonazione



How to make a human cybrid



Scenari fantascientifici, ma non tanto...



Estratto di una lettera del 1953 al decano dell'università:

Dear Sir Hector,

...Ho trovato la relazione sugli stipendi dell'istituto di biologia molto istruttiva...

Ho notato che la remunerazione degli altri membri del personale del Dipartimento di Genetica sono nella media per le corrispondenti fasce di età nelle università.

Tuttavia, il mio stipendio è molto al di sotto della media per la mia età-gruppo. Trovo che alla mia età (46) la media è di circa £ 1700. Il mio è di £ 1.550, ma io non sono un biologo di capacità del 10% sotto la media.

Ci sono due modi in cui l'Università potrebbe mettere a posto questa discrepanza. Uno potrebbe essere solo a mio vantaggio, vale a dire, alzando il mio stipendio. L'altro sarebbe sia a vantaggio mio e dell'Università: cioè, che si istituisse una cattedra di Genetica (ovviamente con uno stipendio adeguato).

Sono giunto alla conclusione che i tempi sono ormai maturi per la seconda alternativa ...

Il fatto sgradevole, ma purtroppo vero, è che nonostante la reputazione personale di cui godo io e i miei collaboratori, soprattutto all'estero, nel mio campo il mio nome non viene collegato a Glasgow... Con la creazione di una Cattedra di Genetica questo sarebbe presto rimesso a posto, e sarebbe più facile attirare visitatori, ricercatori, docenti, ecc

Ci sono già 5 cattedre nel Paese: Edimburgo (Waddington), Birmingham (Mather), Londra, UC (Haldane e Penrose) e Cambridge (Fisher). Penso che Glasgow farebbe bene a portarsi avanti.

Cordiali saluti,

G. Pontecorvo

E per fortuna l'università fu d'accordo con lui e avviò quanto prima le procedure necessarie.

**Nel 1955 fu creata per lui la cattedra di Genetica e
nello stesso anno Ponte fu anche eletto Fellow della Royal Society.**