

Il premio Nobel per la Chimica

Esito brillante di un processo oscuro

di Luigi Cerruti

Il premio Nobel 2003 per la Chimica è stato assegnato per ricerche sulla caratterizzazione funzionale e strutturale di importanti componenti delle membrane cellulari, le proteine canale. Il premio sottolinea quindi il progresso della biochimica strutturale, è una nuova affermazione della potenza conoscitiva della chimica e non una presunta 'vittoria' della medicina. L'eccellenza e la limpidezza dei risultati premiati quest'anno fanno risaltare l'oscurità che per lo stesso statuto della Fondazione circonda tutti i meccanismi di assegnazione del premio.

Alle 11 del mattino di mercoledì 8 ottobre, seguendo puntualmente la consueta tabella di marcia, l'Accademia delle Scienze svedese ha annunciato il conferimento del premio Nobel per la Chimica a due biochimici americani, Peter Agre e Roderick MacKinnon, per le loro ricerche nel campo dei meccanismi e delle strutture molecolari di trasporto attraverso le membrane cellulari.

Al contrario dell'analogo Nobel 2003 per la medicina o la fisiologia, il premio assegnato ad Agre e MacKinnon non ha suscitato particolari polemiche, segno che la scelta dell'Accademia era largamente condivisa dalla comunità scientifica internazionale. È proprio il clima tranquillo e la trasparenza dei personaggi che ci permette di fare con serenità alcune considerazioni, a metà strada fra la storia e la sociologia.

Criteri di assegnazione

Una considerazione riguarda l'uso - spesso inconsapevole - che viene fatto dell'assegnazione dei premi Nobel per stabilire o ristabilire gerarchie fra le discipline. Operazioni di questo genere tralasciano i contenuti conoscitivi dei risultati, le tecniche sperimentali impiegate, la formazione professionale degli scienziati, omettono quindi di prendere in considerazione tutti quegli aspetti che fanno comprendere meglio il senso dell'impresa, e si fermano alle motivazioni fornite dall'Accademia svedese o alla collocazione istituzionale dei premiati. È con un simile atteggiamento che il titolista de *Il Sole - 24 Ore* del 12 ottobre ha

sentenziato: "Chi ha stravinto è stata la Medicina"; il senso del titolo era richiamato nel sottotitolo: "Anche per la Fisica e la Chimica si sono scelti contributi utili in campo sanitario". Il sottotitolo è semplicemente banale: esistono forse dei risultati importanti della biochimica che non siano potenzialmente "utili in campo sanitario"? A suo tempo i fullereni si presentarono solo come *oggetti molecolari* singolari, così interessanti da 'attirare' un premio Nobel (1996), e tuttavia non si sono dimostrati anch'essi utili nelle pratiche terapeutiche (Aids, cancro) e diagnostiche? Le scoperte di Agre e MacKinnon e le loro tecniche sperimentali sono trattate in un altro articolo, pubblicato di seguito. Qui ci basta riprendere il testo pubblicato dall'Accademia svedese nello stesso momento dell'annuncio del premio: "Peter Agre ha scoperto e caratterizzato la prima proteina canale per l'acqua e Roderick MacKinnon ha delucidato le basi strutturali e meccanicistiche di funzionamento dei canali ionici". Si può dire con sicurezza che la caratterizzazione strutturale e funzionale delle proteine sia ancora patrimonio della chimica e della biochimica, ma è il curriculum professionale dei due scienziati che ci permette di andare un po' più a fondo della questione.

I vincitori

Agre prese il suo primo titolo accademico nel 1970, un M.A. in chimica, e il secondo nel 1974, un M.D. presso la scuola di medicina della Johns Hopkins University. Dopo un breve post-dottorato in un labo-



torio di farmacologia e durante l'internato presso un ospedale universitario di Cleveland ottenne la licenza federale per l'esercizio della professione medica (1976). Successivamente Agre conseguì anche altri titoli legati alla professione, ma in definitiva sviluppò tutta la sua carriera nell'ambito della ricerca biochimica sul sangue. Attualmente Agre è professore di chimica biologica, e il suo commento a proposito della scoperta che gli ha fatto guadagnare il Nobel è che "essa non si sta trasformando in una cura del cancro o di qualcos'altro, ma le ramificazioni per l'uomo si stanno sviluppando ora".

Ancora più interessante la biografia scientifica di MacKinnon: ottiene il B.A. in biochimica nel 1978, studia medicina e conclude il M.D. nel 1982. Inizia l'internato come medico in un ospedale universitario di Harvard, però nel 1986 ritorna nel Dipartimento di Biochimica della Brandeis University dove aveva iniziato gli studi. Sotto la guida di Christopher Miller comincia a studiare i canali ionici delle membrane cellulari, per poi proseguire la ricerca ad Harvard ed approdare nel 1996 alla Rockefeller University come capo del Laboratorio di neurobiologia molecolare e biofisica.

Qui - come recita il suo profilo ufficiale - MacKinnon "imparò la cristallografia con i raggi-X", e dopo due anni, nel 1998, pubblicò con altri *sette* collaboratori l'articolo su *Science* che gli avrebbe fatto meritare il Nobel. Ovunque in Rete, anche in siti importanti, MacKinnon è pre-

L. Cerruti, Dipartimento di Chimica Generale ed Organica Applicata - Università di Torino. luigi.cerruti@unito.it

sentato come “un cristallografo con i raggi-X autodidatta” (*self-taught x-ray crystallographer*); in realtà lo scienziato americano ha studiato quanto basta per comprendere a fondo le difficoltà e le opportunità della ricerca strutturistica sulle proteine complesse, e ciò che più conta ha potuto costituire un *team* di ricerca formidabile. Citiamo solo il caso di Declan Doyle, primo firmatario del famoso articolo del 1998. Attualmente ad Oxford, dove dirige il gruppo di ricerca sui canali ionici del Laboratorio di biofisica molecolare, Doyle era cresciuto scientificamente nel Laboratorio di strutturistica bio-molecolare del Birkbeck College, uno dei centri di strutturistica più famosi del mondo, fondato nel lontano 1948 dal grande John Bernal. Il termine ‘autodidatta’ è troppo ottocentesco per poter essere attribuito ad uno scienziato che dirige nel 2003 un importante e articolato laboratorio universitario.

Conclusioni

Nel complesso si può dire tranquillamente che il Nobel per la Chimica 2003 sot-

tolinea la potenza conoscitiva della ricerca biochimica e strutturistica sulle proteine, in definitiva è una nuova affermazione della chimica e non una ‘vittoria’ della medicina. Non c’è dubbio che il Nobel per la Chimica di quest’anno abbia messo in evidenza ricerche di enorme interesse, e tuttavia non si può concludere una pur breve riflessione sul premio Nobel senza osservare come *dietro* la proclamazione di tutti i premiati vi sia l’oscurità più completa. Lo statuto che regola l’assegnazione del premio elenca sei categorie di scienziati che partecipano alla formazione della rosa dei candidati: 1) i membri dell’Accademia delle Scienze svedese; 2) i membri del Comitato Nobel per la Chimica; 3) i laureati Nobel per la Chimica; 4) i professori e gli assistenti di discipline chimiche degli Istituti superiori di Svezia, Danimarca, Finlandia, Islanda e Norvegia, e del Karolinska Institutet di Stoccolma; 5) titolari di cattedre simili in almeno sei Istituti superiori, con una “appropriata distribuzione” geografica e disciplinare; 6) “altri scienziati invitati dall’Accademia ad inviare proposte”.

Le liste per le categorie (5) e (6) sono rinnovate e compilate ogni anno, per

l’anno successivo, a settembre. Solo i membri delle categorie (1), (3) e (4) sono noti per ovvie questioni istituzionali, ma non appena è possibile la Fondazione Nobel avvolge di mistero i suoi processi decisionali.

Per statuto non può essere diffusa nessuna informazione, né privatamente, né pubblicamente, sui *nominators*, sui *nominees*, e sulle indagini svolte direttamente dall’Accademia svedese. Per maggiore disperazione degli storici tutte le informazioni concernenti ogni singola assegnazione rimangono segrete negli archivi dell’Accademia per 50 anni. Personalmente debbo dire che avverto una contraddizione tra l’enorme risonanza pubblica del premio e la completa opacità dei meccanismi decisionali. Questa contraddizione diventa pesante quando si consideri l’influenza che le assegnazioni possono avere sui flussi di finanziamenti e di prestigio, con il privilegio assegnato da Stoccolma ad istituzioni, ad aree tematiche, e ad interi Paesi. Si tratta di un problema importante di *politica della scienza*, che (forse) dovrebbe interessare in qualche modo la comunità scientifica internazionale.

I canali della vita I buchi nelle cellule vincono il Nobel

di Dorian Lamba

I canali della vita permettono un rapido, selettivo e controllato trasporto di molecole d’acqua e di ioni attraverso le membrane biologiche. Nelle cellule viventi essi sono i responsabili di processi fisiologici quali il bilancio osmotico, la contrazione muscolare, il battito cardiaco e il trasferimento di informazione nel sistema nervoso. L’architettura di queste macchine molecolari e i misteri del loro funzionamento sono stati rivelati da Peter Agre e Roderick MacKinnon, Nobel per la Chimica 2003.

La scelta operata dai membri dell’Accademia di premiare i due scienziati Peter Agre, 54 anni, della John Hopkins University School of Medicine, Baltimore, e Roderick MacKinnon, 47 anni, del Howard Hughes Medical Institute, The Rockefeller University, New York, per riconoscere il loro contributo fondamentale nella comprensione di come le mole-

cole di acqua e gli ioni siano selettivamente trasportati attraverso le membrane cellulari (Figura 1), aggiunge un ulteriore riconoscimento al già variegato mosaico di contributi originati dalla biologia strutturale. I loro nomi si aggiungono, infatti, ad una lunga lista di biologi strutturali, che negli ultimi quarant’anni hanno conseguito il Nobel: ricordiamo, tra gli al-

tri, Perutz e Kendrew (Chimica, 1962), Watson, Crick e Wilkins (Medicina, 1962), Hodgkin (Chimica, 1964), Klug (Chimica, 1982), Deisenhofer, Huber e Michel (Chimica, 1988), Ernst (Chimica,

D. Lamba, Istituto di Cristallografia del Cnr - Unità Staccata di Trieste.
dorian.lamba@elettra.trieste.it

1991), Walker (Chimica, 1997), ed Wüthrich (Chimica, 2002). Sebbene la gran parte delle loro scoperte siano state formalmente riconosciute come contributi fondamentali nell'ambito della Chimica, queste hanno avuto un impatto significativo nella ricerca di base sia in Biologia sia in Medicina. In questo senso, le scoperte di Agre e MacKinnon oltrepassano i confini di terreni culturali tradizionalmente divisi ed il Nobel ancora una volta ha voluto premiare il valore della ricerca multidisciplinare.

Una scoperta avvenuta per caso

La scoperta dei canali dell'acqua da parte di Peter Agre, specializzato in reumatologia, è stata del tutto casuale. Infatti, tutto cominciò a metà degli anni Ottanta con una ricerca avente come finalità l'isolamento, la purificazione e la caratterizzazione biochimica degli antigeni Rh, proteine localizzate sulla membrana delle cellule dei globuli rossi e responsabili del loro tipo "positivo" o "negativo". Ma i suoi numerosi e ripetuti tentativi portarono all'isolamento di una proteina di 28 kDa di funzione ignota, che appariva essere totalmente estranea ai fattori Rh e che era presente in abbondanza non solo sulla superficie dei globuli rossi ma anche nei tubuli renali. Si fece allora avanti l'ipotesi che la proteina potesse essere un canale dell'acqua. Fin dalla metà dell'Ottocento vari ricercatori avevano ipotizzato che le

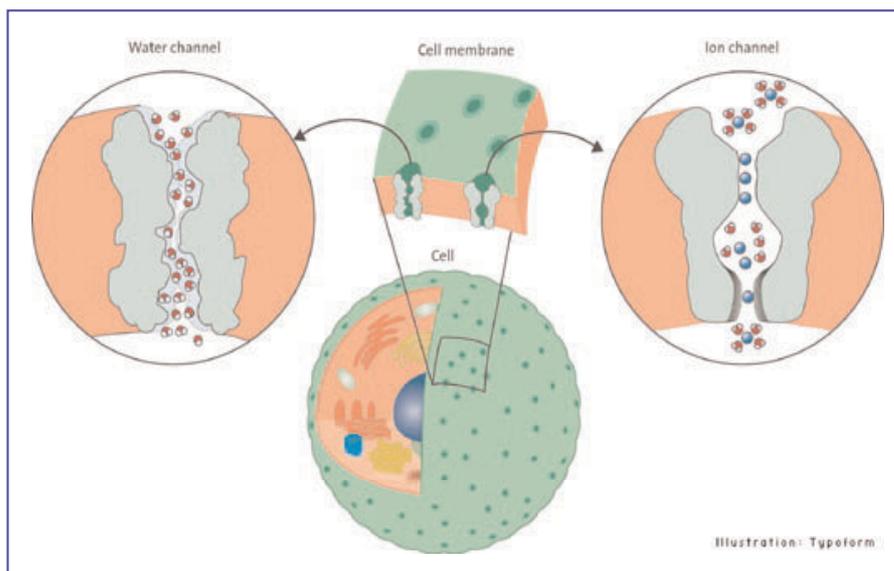


Figura 1 - Le superfici delle cellule sono perforate da numerosi canali (Fonte: www.nobel.se)

cellule potessero aver bisogno di questo tipo di canali per mantenere il bilancio osmotico, ma tali canali non erano mai stati identificati. Questa decisiva scoperta aprì le porte ad un gran numero di studi biochimici, fisiologici e genetici dei canali dell'acqua (ora denominati acquaporine) nei batteri, nelle piante e nei mammiferi. Solo nell'uomo sono state caratterizzate almeno 11 varianti di acquaporine, molte delle quali possono essere associate ad una varietà di patologie a causa di loro mutazioni o alterazioni (cataratta, acidosi renale, edema cerebrale, diabete *insipidus*).

Nelle piante ne sono state identificate un numero ancora maggiore: non meno di 35 varianti trovate nella sola pianta modello *Arabidopsis thaliana*. L'importanza delle acquaporine è forse più evidente nei tubuli renali, dove 150-200 litri di acqua al giorno devono essere riassorbiti dalle urine primarie. Come funzionano le acquaporine? Si tratta di un problema di *forma e funzione*. La risposta arrivò nel 2000, quando Agre ed i suoi collaboratori pubblicarono la struttura tridimen-

sionale del canale dell'acqua (Figura 2). Questa informazione permise per la prima volta la comprensione della elevatissima permeabilità (10^9 s⁻¹ molecole di acqua), della stringente selettività per le sole molecole d'acqua e dell'abilità nel prevenire il passaggio di ioni H₃O⁺. L'architettura del canale è tale da ospitare circa dieci molecole d'acqua alla volta e la presenza di residui amminoacidi carichi positivamente all'interno del canale fa sì che gli ioni H₃O⁺ vengano respinti. Inoltre, il campo elettrostatico locale, generato dalla proteina, cambia polarità nel centro del canale, forzando le molecole d'acqua che passano a ruotare, in modo tale che il loro momento di dipolo sia orientato in direzioni opposte nella parte superiore e inferiore del canale. Questa nuova orientazione previene la formazione di una rete di molecole di acqua legate da legami idrogeno, lungo l'intero canale, bloccando quindi l'ingresso degli ioni ossonio o il loro "saltellare" da una molecola d'acqua all'altra.

Una determinazione premiante

Il chimico-fisico tedesco W. Ostwald (Nobel in Chimica nel 1909) propose nel 1890 che i segnali elettrici misurati nei tessuti viventi potessero derivare dal passaggio di ioni attraverso le membrane cellulari. Accanto al ruolo chiave svolto nell'omeostasi di ogni singola cellula, i canali ionici svolgono anche molte cruciali funzioni fisiologiche specifiche. Essi infatti controllano sia il battito cardiaco sia la secrezione di ormoni e ge-

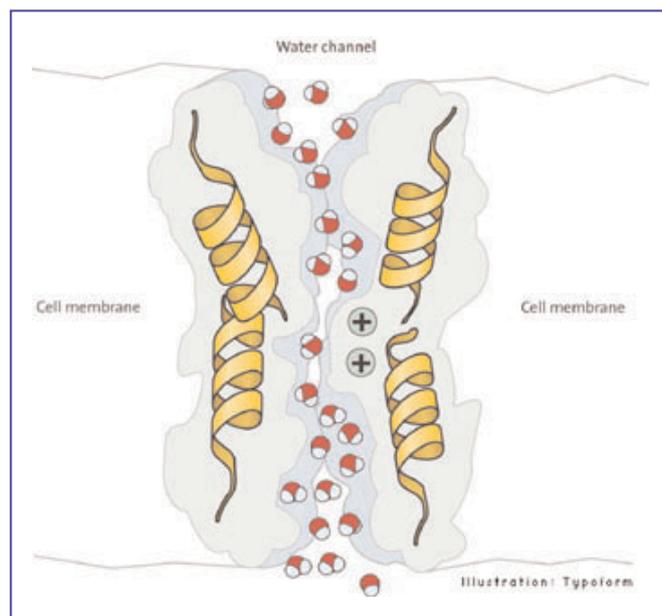


Figura 2 - Il passaggio delle molecole di acqua attraverso l'acquaporina AQP1 (Fonte: www.nobel.se)

nerano gli impulsi elettrici, che sono alla base del trasferimento di informazione nel sistema nervoso. Roderick MacKinnon non era ancora nato quando A.L. Hodgkin e A.F. Huxley gettavano le basi teoriche e sperimentali della conoscenza dei meccanismi (basati essenzialmente sul passaggio degli ioni sodio e potassio) dell'eccitazione e dell'inibizione delle membrane delle cellule nervose sia nel sistema periferico sia centrale.

Queste loro scoperte motivarono l'assegnazione del premio Nobel in Medicina e Fisiologia nel 1963. MacKinnon, che aveva conseguito l'abilitazione per esercitare la professione di medico, lavorava come elettrofisiologo nel dipartimento di neuro-

nici spinse MacKinnon a non accontentarsi più dei suoi studi di tipo funzionale, biochimico e di mutagenesi, che dopo circa 10 anni non avevano portato a risposte del tutto convincenti. Nonostante la perplessità di molti suoi collaboratori, MacKinnon decise di intraprendere eroicamente, da autodidatta, la determinazione tridimensionale di un canale ionico mediante l'ausilio di una metodica a lui non familiare: la cristallografia.

Questo approccio, il solo che avrebbe permesso di rivelare i misteri del funzionamento dei canali a livello atomico, era considerato da molti irto di ostacoli ed incertezze: una vera e propria *mission impossible*. MacKinnon, in poco più di

potassio/sodio è dovuta specificamente alla sequenza amminoacidica TVGYG della regione del filtro, altamente conservata in tutti i canali del potassio, e in particolare dipende dalle distanze tra gli ioni potassio e gli ossigeni carbonilici delle glicine che risultano essere le stesse che intercorrono tra gli ioni potassio e gli ossigeni delle molecole d'acqua che circondano gli ioni potassio esternamente al filtro. Questo fa sì che gli ioni potassio attraversino il canale senza attrito. Lo stesso non avviene nel caso dello ione sodio, che è più piccolo di quello del potassio (Figura 4). L'abilità del canale di denudare gli ioni potassio dalle acque da cui sono circondati e

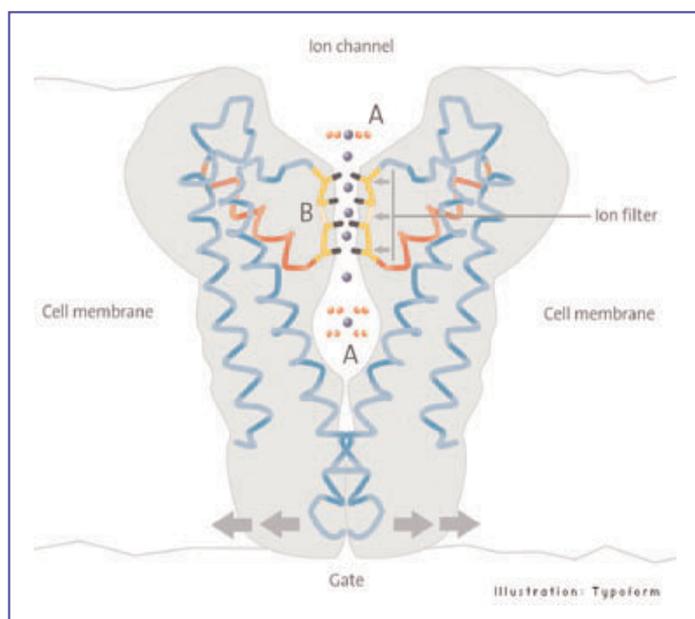


Figura 3 - Il canale ionico del potassio. La cellula può anche controllare l'apertura e la chiusura del canale (Fonte: www.nobel.se)

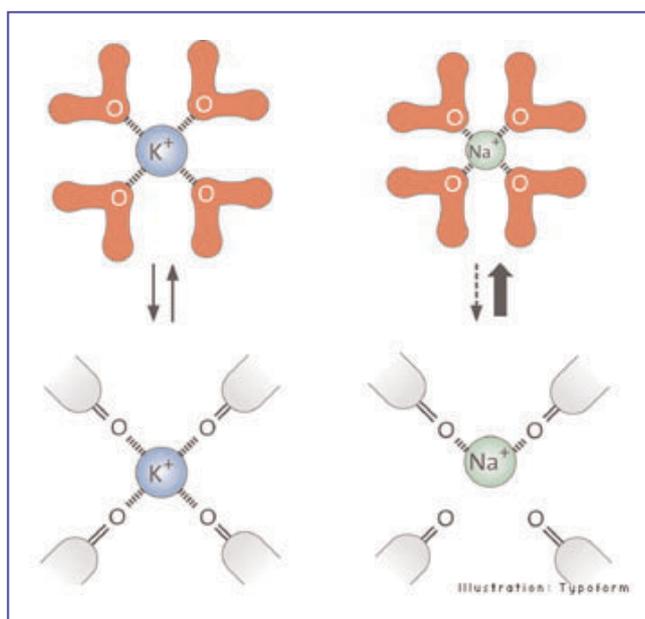


Figura 4 - Il canale ionico del potassio permette il passaggio di ioni potassio e non quello degli ioni sodio (Fonte: www.nobel.se)

biologia presso la Harvard Medical School, quando nel 1991 due scienziati tedeschi, E. Neher e B. Sackman, ricevettero gli onori del Nobel in Medicina e Fisiologia per aver sviluppato la metodica del *patch clamp*, con la quale fu possibile studiare nei dettagli la permeabilità ionica delle membrane cellulari e la selettività dei singoli canali. Infatti i canali del potassio mostrano una straordinaria abilità a discriminare tra ioni potassio e ioni sodio (un fattore di selettività di circa 10.000), pur essendo questi ioni simili in dimensione (1,33 Å e 0,95 Å rispettivamente). Questo è ancor più sorprendente, se si pensa che gli ioni potassio fluiscono attraverso il poro ad una velocità prossima alla diffusione. La completa comprensione dei principi fisici e chimici che regolano il funzionamento dei canali io-

due anni, con l'estrema caparbietà e la determinazione proprie del suo tratto umano, vinse la scommessa e nel 1998, sorprendendo l'intera comunità degli addetti ai lavori, pubblicò sulla prestigiosa rivista *Science* la prima struttura di un canale ionico, chiamato KcsA, dal batterio *Streptomyces lividans* (Figura 3). Fu rivelato per la prima volta in dettaglio perché il canale, costituito da quattro identiche sub-unità disposte simmetricamente, trasportasse ioni potassio e non ioni sodio. Non solo fu possibile capire come gli ioni attraversino il canale, ma addirittura fu possibile vederli, circondati da molecole d'acqua appena prima del cosiddetto "filtro" ionico, all'interno dello filtro stesso, lungo circa 12 Å, e nuovamente circondati da molecole d'acqua dall'altra parte del filtro. La selettività

di permetterne il passaggio senza costo energetico, rappresenta una modalità di trasporto ionico catalizzato selettivamente. Questi studi motivarono, preludio al Nobel, l'assegnazione a MacKinnon nel 1999 del prestigioso Albert Lasker Medical Research Award.

Conclusioni

Agre e MacKinnon, pur provenendo da un tipo di formazione lontana dalla biologia strutturale, sono stati capaci in un breve arco di tempo di inoltrarsi in campi a loro sconosciuti e di accettare la sfida di percorrere strade inesplorate. La ragione e la passione sono il timone e la vela di quel navigante che è l'anima del ricercatore.