



ΕΙΔΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Ενότητα 5^η: Οι επιπτώσεις των μεγάλων προγραμμάτων εύρεσης της αλληλουχίας γονιδιωμάτων

Τριανταφυλλίδης Α
Τμήμα Βιολογίας



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

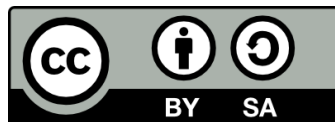


ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Άδεια χρήσης εικόνων

Ευχαριστούμε θερμά τις Ακαδημαϊκές Εκδόσεις για την παραχώρηση του δικαιώματος χρήσης των εξής εικόνων της παρούσης παρουσίασης:

Εικόνα: 2

Η εικόνα αυτή προέρχεται από το βιβλίο Peter Russell, *iGenetics: Μια μεντελική προσέγγιση*, 1η έκδοση, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπάσδρα και ΣΙΑ Ο.Ε.



Περιεχόμενα ενότητας

- Συγκριτική Γονιδιωματική- Εισαγωγή
- Ταυτοποίηση λειτουργίας γονιδίων
- Μελέτη συνταινίας
- Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί
- Το ελάχιστο γονιδίωμα
- Η προέλευση του ευκαρυωτικού γονιδιώματος
- Επαναλαμβανόμενες ακολουθίες
- Μεταθετά στοιχεία
- Οριζόντια μεταφορά γονιδίων
- Η αύξηση της πολυπλοκότητας του πρωτεώματος



Συγκριτική γονιδιωματική- Εισαγωγή (1/2)

- Κύτταρα σαν των βακτηρίων υπάρχουν εδώ και 3,5 δισεκατομμύρια χρόνια
- Ευκαρυωτικά κύτταρα υπάρχουν εδώ και 1,4 δισεκατομμύρια χρόνια

ΣΥΝΕΧΗΣ ΑΛΛΑΓΗ



Συγκριτική γονιδιωματική- Εισαγωγή (2/2)

- Διευκολύνεται η **εύρεση νέων γενετικών δεικτών (SSR και SNP)** και η συνειδητοποίηση του μεγάλου εύρους πολυμορφισμού που υπάρχει σε κάθε οργανισμό. Έτσι αρχίζουν και συσχετίζονται κάποιοι πολυμορφισμοί σε γονίδια με προδιάθεση για ασθένειες.
- Ποια είναι τα γονίδια που είναι κοινά μεταξύ των διαφορετικών φύλων/ειδών; Ποια είναι τα μοναδικά γονίδια; Η διάταξη αυτών των γονιδίων ποικίλλει;
- Σε επίπεδο πρωτεϊνών, ποιες είναι οι κοινές πρωτεΐνες και ποιες οι μοναδικές; Ποιες οι διαφορές και οι ομοιότητες στις αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών και στη ρύθμιση της έκφρασής τους μεταξύ των φύλων/ειδών;
- Συλλέγονται πληροφορίες για τις **πρωτεΐνες** που παράγονται από τα γονίδια. Έτσι μπορεί να γίνει πρόβλεψη για τη λειτουργία μιας πρωτεΐνης σε έναν οργανισμό, με βάση τους κανόνες αναλογίας, την αλληλουχία και τη δομή της πρωτεΐνης σε κάποιον άλλο οργανισμό.

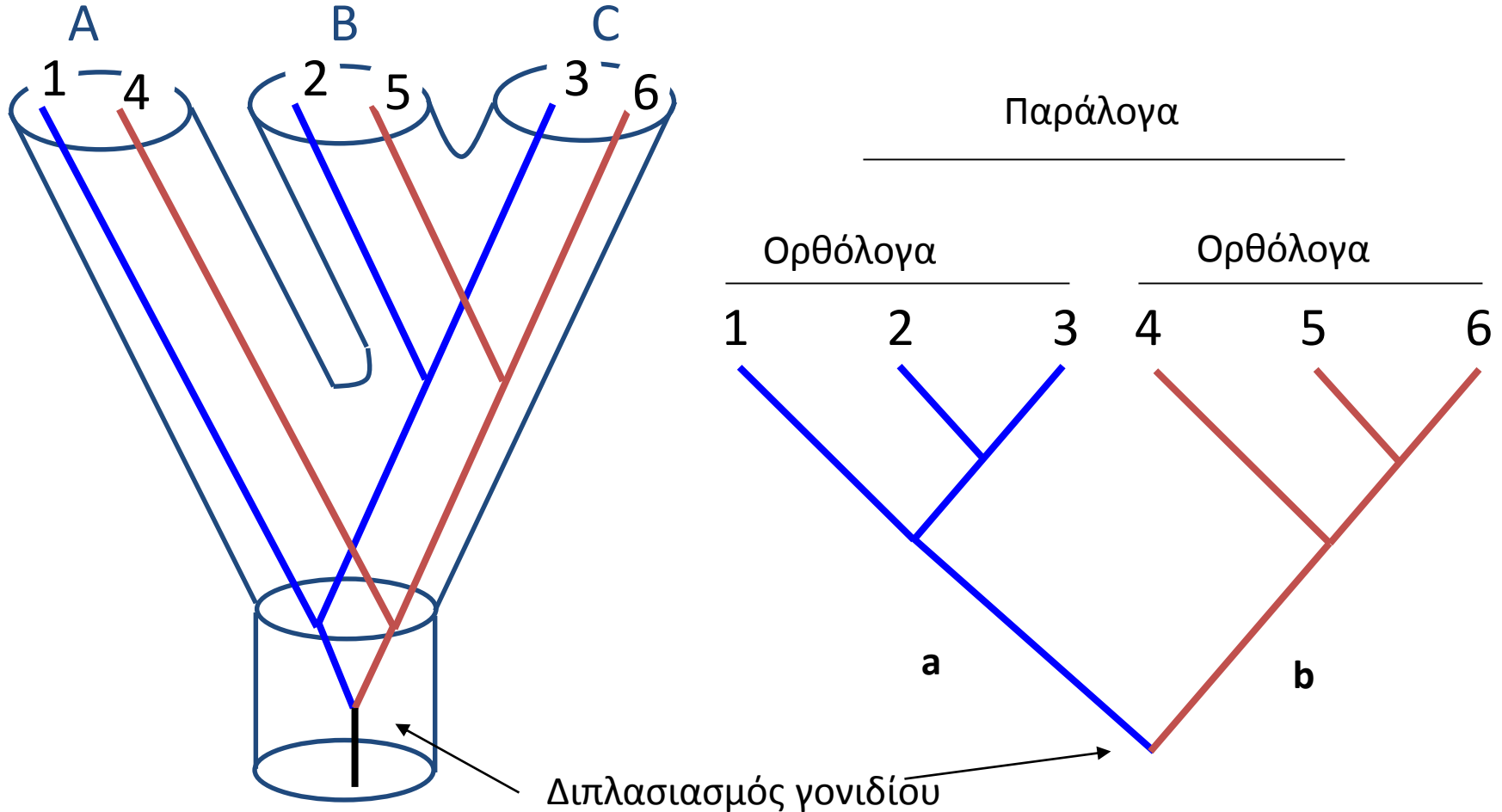


Ταυτοποίηση λειτουργίας γονιδίων (1/4)

- Ανακάλυψη των γονιδίων αλλά και της λειτουργίας τους. Μέσω της εύρεσης των ομολογιών μεταξύ των γονιδιωμάτων διευκολύνεται η ταυτοποίηση/τεκμηρίωση των γονιδίων και σε άλλους οργανισμούς (**annotation**).
- Εύρεση αν δύο γονίδια σε δύο οργανισμούς είναι **ορθόλογα** (έχουν προκύψει δηλαδή με διπλασιασμό σε έναν κοινό πρόγονο και πιθανώς επιτελούν την ίδια λειτουργία) ή **παράλογα** (δεν υπάρχει άμεσος κοινός πρόγονος σε ένα προγενέστερο είδος, αλλά έχουν προκύψει από διπλασιασμό γονιδίου σε κάποιο πολύ παλιότερο είδος, και επιτελούν παρόμοια αλλά όχι ίδια λειτουργία). Έτσι, αποφεύγονται τα λάθη από τη σύγκριση λάθος γονιδίων όταν προσπαθούμε να καταλάβουμε τη λειτουργία τους.



Ταυτοποίηση λειτουργίας γονιδίων (2/4)



Εικόνα 1: Τα ορθόλογα γονίδια είναι κ ομόλογα τα ομόλογα δεν είναι απαραίτητα ορθόλογα



Ταυτοποίηση λειτουργίας γονιδίων (3/4)

Στον παρακάτω σύνδεσμο φαίνεται η σχέση (ορθόλογα/παράλογα) των Ηοx γονιδίων σε 5 διαφορετικά είδη (*Crassostrea gigas*, *Capitella teleta*, *Drosophila melanogaster*, *Branchiostoma floridae*, *Homo sapiens*):

http://www.nature.com/nature/journal/v490/n7418/fig_tab/nature11413_F2.html

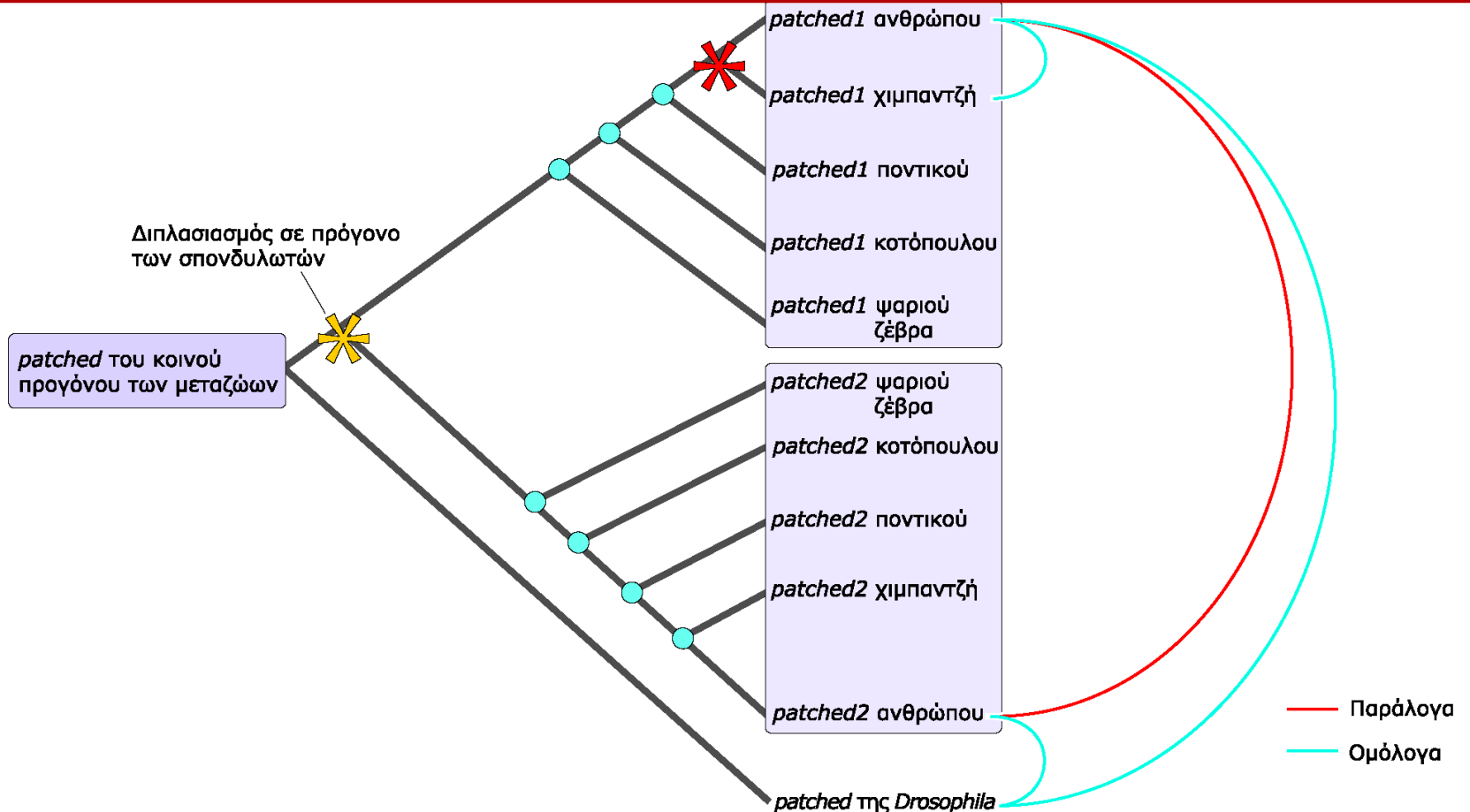
Ονόλογα γονίδια! Παράλογα γονίδια που έχουν προκύψει μετά από διπλασιασμό ολόκληρου του γονιδιώματος.

Ονόλογα γονίδια στο γονιδίωμα του zebrafish:

http://www.nature.com/nature/journal/v496/n7446/fig_tab/nature12111_F3.html



Ταυτοποίηση λειτουργίας γονιδίων (4/4)



Εικόνα 2: Δενδρόγραμμα που παρουσιάζει τις σχέσεις ανάμεσα σε ορθόλογα και παράλογα γονίδια *patched*



Οι επικράτειες της ζωής

Υπάρχουν πολλαπλές ομοιότητες στο επίπεδο του DNA μεταξύ των οργανισμών (π.χ. περιοχές στα γονίδια των ριβοσωμικών DNA που έχουν μείνει συντηρημένες, ίδιες, από τους απλούστερους μονοκύτταρους οργανισμούς μέχρι τους ανώτερους).

Η ζωή εμφανίστηκε **μια φορά** και εξελίχθηκε στους διάφορους οργανισμούς.

Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα είναι **μωσαϊκό** από DNA από Αρχαία και Ευβακτήρια.

Π.χ. Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα έχει οπερόνια σπάνια, ενώ εμφανίζει ιντρόνια. Αυτά τα χαρακτηριστικά συναντούνται και στα Αρχαία.



Η προέλευση του ευκαρυωτικού γονιδιώματος

Η βασική υπόθεση η οποία συχνά ονομάζεται το παγκόσμιο δένδρο ή το δένδρο της ζωής αναφέρει ότι τα αρχαία και οι ευκαρυώτες εξελίχθηκαν ανεξάρτητα μεταξύ τους και ότι στη βάση αυτού του δένδρου είναι τα βακτήρια. Δλδ. η κάθε ομάδα είναι μονοφυλετική.

Τα τελευταία χρόνια καθώς έχουν αναπτυχθεί ακόμα πιο πολύπλοκες μέθοδοι εύρεσης φυλογενετικών δένδρων αρχίζει να εμφανίζεται σαν πιθανότητα το δένδρο της ζωής όπως το ξέραμε να μην ισχύει.

Με νέα δεδομένα πια φαίνεται ότι η ομάδα των αρχαίων είναι παραφυλετική. Δηλαδή οι ευκαρυώτες προέκυψαν μέσα από μια συγκεκριμένη ομάδα των αρχαίων την ομάδα TACK, όπως ονομάζεται. Συνεπώς υπάρχουν μόνο δύο βασικές ομάδες οργανισμών από τους οποίους εξελίχθηκε η ζωή, τα βακτήρια και τα αρχαία.

An archeal origin of eukaryotes supports only two primary domains of life
Nature 2013, 504, 231-236

<http://www.nature.com/nature/journal/v504/n7479/full/nature12779.html>



Η προέλευση των γονιδιωμάτων των οργανιδίων

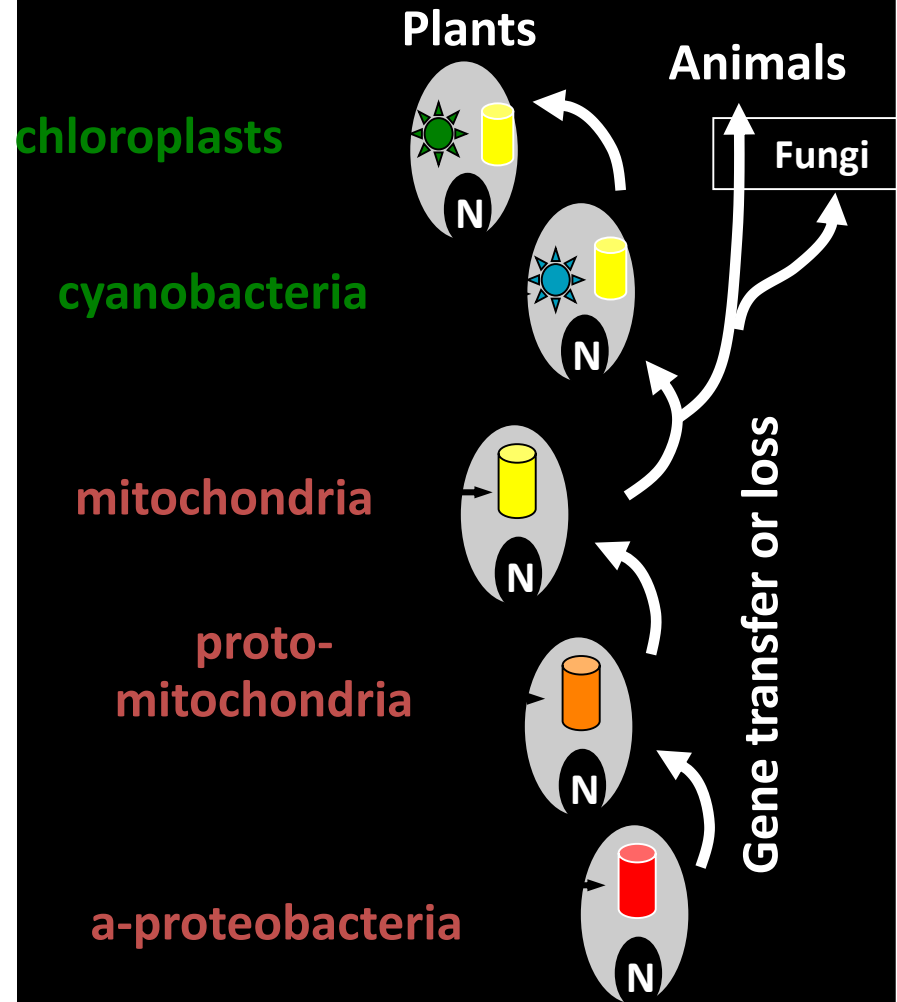
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ

Συμβίωση ενός αναερόβιου αρχαιοβακτηριακού ξενιστή και ενός αλφα-πρωτεοβακτηρίου (όπως το *Rickettsia prowazekii*).

ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΕΣ

Πρόέκυψαν από κυανοβακτήρια

Εικόνα 3: Προέλευση μιτοχονδρίων και χλωροπλαστών

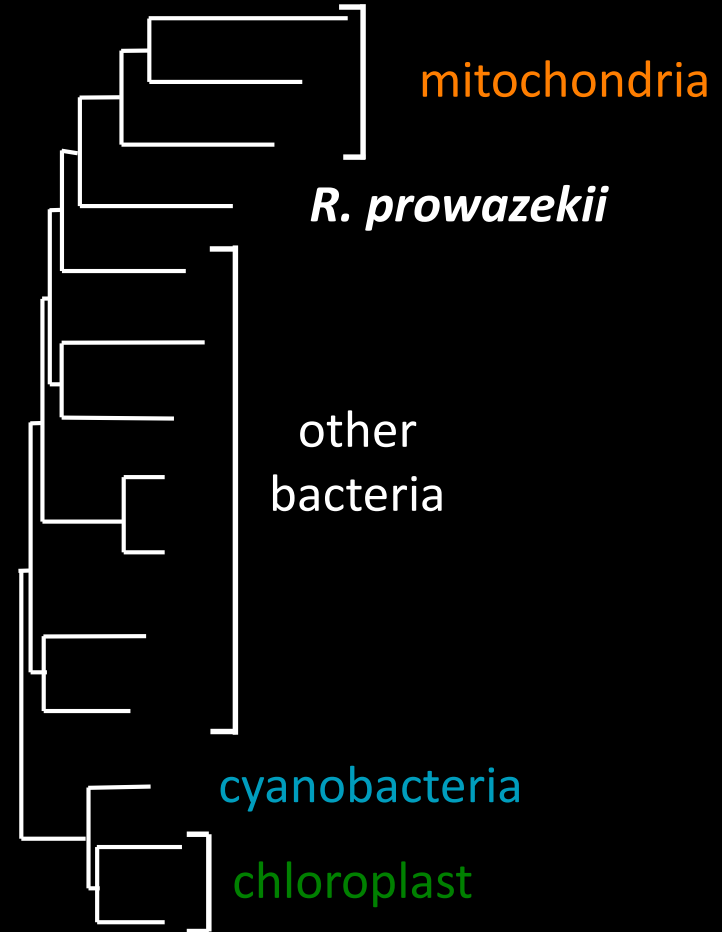


Η προέλευση του μιτοχονδριακού γονιδιώματος

Εικόνα 4: Ανάλυση αλληλουχιών των μικρών ριβοσωμικών RNA του *Rickettsia prowazekii*, έδειξε ότι έχουν την υψηλότερη ομοιότητα με τα μιτοχονδριακά ριβοσωμικά RNA

Ίδια τα αποτελέσματα με βάση μιτοχονδριακές πρωτεΐνες

Το γεγονός συνέβη μόνο **μια φορά**



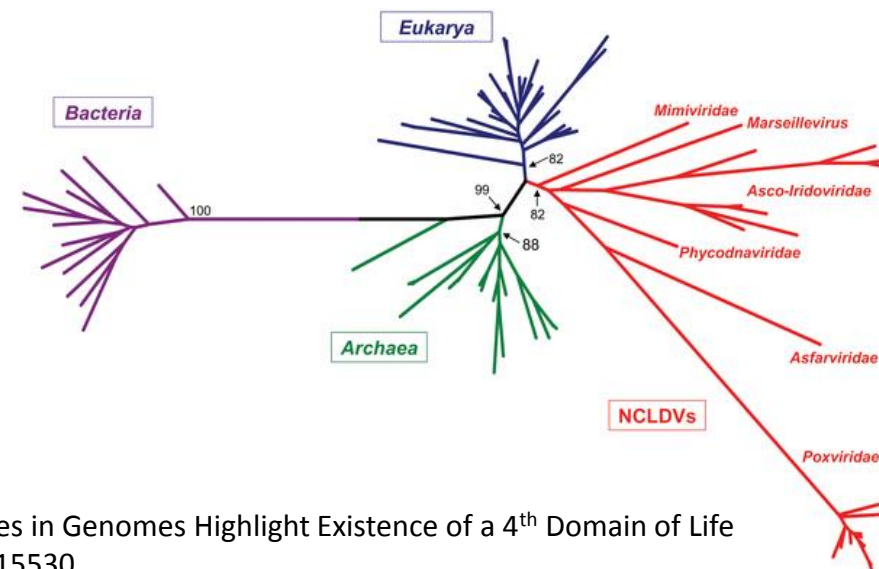
Οι επικράτειες της ζωής – 4th domain?

Μεταγονιδιωματικές μελέτες διεξάγονται, έτσι ώστε να μελετηθούν οι μεγάλοι ιοί και να διευκρινιστεί κατά πόσο αυτοί ανήκουν σε μια τέταρτη Επικράτεια

Wu, D. *et al.* PLoS ONE 6, e18011 (2011).

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0018011>

- Στην **Εικόνα 5** φαίνεται το φυλογενετικό δέντρο που κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας το γονίδιο της β υπομονάδας της RNA πολυμεράσης II
- Οι πυρηνοκυτταροπλασματικοί μεγάλοι DNA ιοί (nucleocytoplasmic large DNA viruses, NCLDVs) τοποθετούνται μαζί σε μια πιθανώς τέταρτη Επικράτεια



Εικόνα 5: Phylogenetic and Phyletic Studies of Informational Genes in Genomes Highlight Existence of a 4th Domain of Life Including Giant Viruses. 2010. Boyer M., *et al.* PLoS ONE, 5(12): e15530

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0015530>

CC-BY-2.5, <http://creativecommons.org/licenses/by/2.5>



Το ελάχιστο γονιδίωμα (1/6)

Ποιος ο ελάχιστος αριθμός γονιδίων για να επιβιώσει ένας οργανισμός (σε ευνοϊκό περιβάλλον αύξησης χωρίς στρες);

Το *M. genitalium* έχει το μικρότερο γονιδίωμα με μέγεθος 0,58 Mb.

Το *M. pneumoniae* με μέγεθος 0,82 Mb έχει 197 περισσότερα γονίδια.

Από τους πιο απλούς προκαρυωτικούς αυτό-αναπαραγόμενους οργανισμούς. Δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα και μπορούν να προσβάλλουν διάφορα είδη, προκαλώντας ασθένειες.



Το ελάχιστο γονιδίωμα (2/6)

Με βάση βιοπληροφορική ανάλυση προκύπτει ο παρακάτω πίνακας:

Λειτουργία	<i>M. genitalium</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>E. coli</i>
Πρωτεϊνικά γονίδια	470	1727	4288
Αντιγραφή, Επισκευή DNA	32	87	115
Μεταγραφή	12	27	55
Μετάφραση	101	141	182
Ρυθμιστικές πρωτεΐνες	7	64	178
Βιοσύνθεση αμινοξέων	1	68	131
Βιοσύνθεση νουκλεϊκών οξέων	19	53	58
Μεταβολισμός λιπιδίων	6	25	48
Μεταβολισμός ενέργειας	31	112	243
Μεταφορικές πρωτεΐνες	34	123	427



Το ελάχιστο γονιδίωμα (3/6)

Με βάση πειραματική προσέγγιση

- Οι Fraser και Hutchison προκάλεσαν knock-out μεταλλάξεις σε όλα σχεδόν τα γονίδια των δύο ειδών *Mycoplasma* και έλεγξαν τη βιωσιμότητα των στελεχών
- Οι αυτόνομοι οργανισμοί χρειάζονται περίπου 250-300 γονίδια για να επιβιώσουν
- Αυτά τα γονίδια συμμετέχουν στις εξής λειτουργίες: Μετάφραση, αντιγραφή DNA, ανασυνδυασμός, μηχανές μεταγραφής, προστατευτικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη γλυκολυτική οδό, μεταφορά πρωτεϊνών και ενός περιορισμένου αριθμού μεταβολιτών.



Το ελάχιστο γονιδίωμα (4/6)

Συνθετική Βιολογία

Στα τέλη του 2002 ο C. Venter ανακοίνωσε, ότι σκοπεύει να κατασκευάσει έναν τέτοιο οργανισμό σε εργαστηριακές συνθήκες
Το καλοκαίρι 2007 υπέβαλλε αίτηση για πατέντα!

Mycoplasma laboratorium

Τον Ιανουάριο 2008 έφτιαξαν συνθετικά το γονιδίωμα (με κάποιες τροποποιήσεις).

Το Μάιο του 2010 οι Gibson *et al.* (2010) κατάφεραν να μεταφέρουν ένα συνθετικό γονιδίωμα σε βακτηριακό κύτταρο και να το αναπαράγουν, μετά από προσπάθειες 15 ετών και 40εκ \$!

<http://www.robaid.com/bionics/scientists-made-a-living-cell-entirely-controlled-by-synthetic-dna.htm>



Το ελάχιστο γονιδίωμα (5/6)

Συνθετική Βιολογία

09/2011 – Τμήματα από 2 τεχνητά ευκαρυωτικά χρωμοσώματα κατασκευάστηκαν και τοποθετήθηκαν επιτυχώς στη ζύμη

05/2014 – Κατασκευή ενός ολόκληρου τεχνητού χρωμοσώματος ζύμης μεγέθους 272.181 βάσεων σε αντικατάσταση του χρωμοσώματος III (μεγέθους 316.617 βάσεων) – με διαφορετικό τρόπο από το Mycoplasma

<http://syntheticyeast.org/>

<http://syntheticyeast.org/build-a-genome/>



Το ελάχιστο γονιδίωμα (6/6)

Συνθετική Βιολογία

Πριν από 10 χρόνια η σύνθεση κόστιζε US\$25 ανά βάση και η αλληλούχιση \$0.25. Το 2010, οι τιμές είναι \$0,35 ανά βάση για σύνθεση και \$0,00000317 για αλληλούχιση. Παρ' όλα αυτά νέες τεχνολογίες δίνουν ελπίδες.

<http://www.nature.com/nature/journal/v473/n7347/full/473403a.html>

Ο κλάδος της Συνθετικής Βιολογίας είναι ραγδαία αναπτυσσόμενος. Π.χ. η εταιρεία Biofab υπόσχεται ρυθμιστικά στοιχεία που θα καταφέρουν να εκφράσουν πρωτεΐνες σε κύτταρα με επιτυχία >90%!

<http://www.biofab.org/>

Δείτε και ένα σχετικό βιολογικό κόμικ

<http://www.nature.com/nature/comics/syntheticbiologycomic/>



Συνθετική Βιολογία

Synthetic-biology firms shift focus

Switch to food and fragrances risks consumer rejection.

Nature 29 January 2014

- Στόχος χημικά προσθετικά (γλυκαντικά), αρωματικές ουσίες για καλλυντικά
- Ανάπτυξη πιο γρήγορη, λιγότερο κοστοβόρα, λιγότερο risky
- “φυσικά» προϊόντα αφού δεν περιλαμβάνουν τον αρχικό συνθετικό οργανισμό
- Πολύ καλύτερη απόδοση από βιοκαύσιμα που δεν έχουν αποδώσει τα αναμενόμενα

<http://www.sciencemag.org/content/346/6211/1256272.abstract>

Genomically encoded analog memory with precise in vivo DNA writing in living cell populations



Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί (1/5)

Πώς εξηγείται η πολυπλοκότητα και το μεγάλο μέγεθος του ευκαρυωτικού γονιδιώματος;

Οι διαφορές σε αριθμό γονιδίων μεταξύ προκαρυωτών και ευκαρυωτών οφείλονται στην **αύξηση** του μεγέθους των γονιδιωμάτων.

Σημαντικό ρόλο έπαιξε ο διπλασιασμός ολόκληρων περιοχών. Η εμφάνιση των σπονδυλωτών συνοδεύτηκε και με μεγάλη αύξηση του μεγέθους του γονιδιώματος.



Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί (2/5)

Ακόμα κ στη ζύμη υπάρχουν τουλάχιστον 55 διπλασιασμένες περιοχές με 376 συνολικά γονίδια. Οι 50 από αυτές έχουν ακριβώς την ίδια σχετική θέση σε διαφορετικά χρωμοσώματα.

Το γονιδίωμα της προέκυψε από το διπλασιασμό 8 αρχέγονων χρωμοσωμάτων και τη μετέπειτα απώλεια του 90% των διπλασιασμένων γονιδίων.

Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast
Saccharomyces cerevisiae

Kellis et al. 2004. Nature 428, 617-624

Απεικόνιση των διπλασιασμένων περιοχών στα χρωμοσώματα της ζύμης
http://www.nature.com/nature/journal/v428/n6983/fig_tab/nature02424_F3.html



Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί (3/5)

- Εκτεταμένα φαινόμενα διπλασιασμών (με αναδιατάξεις και απώλειες γονιδίων) συμβαίνουν και στο ανθρώπινο γονιδίωμα
- Οι διπλασιασμοί μπορεί να είναι εντοπισμένοι σε μικρές περιοχές για έναν μικρό αριθμό γονιδίων ή μπορεί να περιλαμβάνουν και περιοχές που εκτείνονται κατά μήκος ολόκληρου χρωμοσώματος
- Οι διπλασιασμοί περιλαμβάνουν ~10.000 γονίδια
- Οι πιο μεγάλοι διπλασιασμοί φαίνεται να συσχετίζονται με την εμφάνιση των σπονδυλωτών πριν από 500 εκατομμύρια χρόνια



Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί (4/5)

Reconstruction of the vertebrate ancestral genome reveals dynamic genome reorganization in early vertebrates

Yoichiro Nakatani, *et al. Genome Res.* 2007. 17: 1254-1265

- Σενάριο εξέλιξης των χρωμοσωμάτων των σπονδυλωτών
- 2 κύριοι κύκλοι διπλασιασμού ολόκληρου του γονιδιώματος

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1950894/figure/F1/>

Three periods of regulatory innovation during vertebrate evolution

August 19, 2011 ,Science

Η εξέλιξη των σπονδυλωτών συνέβη σε 3 γενετικά διακριτές εποχές.

Η πρώτη πριν από 500 εκατ χρόνια περιελάμβανε αύξηση ρυθμιστικών περιοχών που επηρέασαν κυρίως την εμβρυική ανάπτυξη επηρεάζοντας το σχήμα του σώματος.

Η δεύτερη πριν από 300 εκατ χρόνια επηρέασε την επικοινωνία μεταξύ κυττάρων.

Η τρίτη πριν από 100 εκατ χρόνια επηρέασε την ενδοκυτταρική επικοινωνία.

<http://www.sciencemag.org/content/333/6045/1019.full>



Γονιδιωματικοί διπλασιασμοί (5/5)

Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms

Αντίστοιχα φαινόμενα WGD συνέβησαν 319 και 192 εκατ χρόνια πριν και στα φυτά δημιουργώντας την κατάλληλη ύλη για την ανάπτυξη και εξάπλωση των σπορόφυτων και των αγγειόσπερμων, χάρι στην αύξηση των ρυθμιστικών στοιχείων που σχετίζονται με τη δημιουργία των σπόρων και των άνθων.

Nature 473, 97–100 (05 May 2011) doi:10.1038/nature09916

<http://www.nature.com/nature/journal/v473/n7345/full/nature09916.html>



Μελέτη συνταινίας (1/4)

- Ανακάλυψη **συνταινικών περιοχών** (μεγάλες χρωμοσωματικές περιοχές που έχουν συντηρηθεί μεταξύ των οργανισμών) .
- Μεταξύ του γονιδιώματος του ποντικού & του ανθρώπου υπάρχουν 342 ομόλογες περιοχές μεγέθους από 300 Kb – 66 Mb, με μέσο μέγεθος 16 Mb (περίπου το 90% του γονιδιώματος).
- Είναι σαν το γονιδίωμα να έσπασε σε 342 κομμάτια και να επανασυναρμολογήθηκε τυχαία στα δύο είδη.
- Οι περισσότερες ανακατατάξεις (~250) έγιναν αφού τα τρωκτικά αποχωρίστηκαν από τα υπόλοιπα θηλαστικά.
- Με σύγκριση των συνταινικών περιοχών συλλέγονται χρήσιμες πληροφορίες για τα γονίδια που περιέχονται μέσα σε αυτές. Η φύση και η έκταση της συνταινίας ποικίλλει από χρωμόσωμα σε χρωμόσωμα.

<http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2-11-33smc.html>



Μελέτη συνταινίας (2/4)

Η ύπαρξη **συντηρημένης συνταινίας** μπορεί να απεικονιστεί με τη βοήθεια της τεχνικής χρώσης των χρωμοσωμάτων (**chromosome painting**).

Βασίζεται στην τεχνική **FISH**. Όμως γίνονται διαδοχικοί υβριδισμοί, με ανιχνευτές επισημασμένους με φθορίζουσες χρωστικές, που εκπέμπουν φως σε διαφορετικά μήκη κύματος.

Πολλαπλή (Multiplex) FISH-CHROMOSOME PAINTING:

τα 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων του ανθρώπου απεικονίζονται με διαφορετικά χρώματα

http://www.cyto.purdue.edu/cdroms/micro1/7_spon/chroma/image4.htm



Μελέτη συνταινίας (3/4)

CHROMOSOME PAINTING

- Ακολουθίες DNA από ένα είδος χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές, για να χρωματίσουν τα χρωμοσώματα άλλου είδους
- Οι υβριδισμοί γίνονται σε μη – αυστηρές συνθήκες, Επιτρέπεται η ανίχνευση δια-ειδικού υβριδισμού μεταξύ των μερικώς συμπληρωματικών ομόλογων γονιδίων
- Έχουν χρησιμοποιηθεί ανθρώπινες αλληλουχίες, επισημασμένες με διάφορα χρώματα, για να «βάψουν» χρωμοσώματα άλλων πρωτεύοντων ή θηλαστικών
- Αυτή η τεχνική χρησιμοποιήθηκε για παράδειγμα, για να κατασκευαστεί καρυότυπος του γίβωνα χρησιμοποιώντας FISH με υβριδισμό με χρωμοσωμικά τμήματα ανθρώπου

<http://www.chrombios.com/cms/website.php?id=/en/index/anicyto/experiments/exp07.htm&sid=t33sf6oe5h8ggsfch6a70vt3o2>



Μελέτη συνταινίας (4/4)

Κατά την εξέλιξη των θηλαστικών υπήρξαν τρεις διαφορετικές κατηγορίες συντηρημένης συνταινίας:

- 1) συντήρηση ολόκληρων χρωμοσωμάτων
- 2) συντήρηση μεγάλων τμημάτων χρωμοσωμάτων και
- 3) ένωση τμημάτων διαφορετικών χρωμοσωμάτων για να δημιουργηθούν νέες συνταινίες.

Παράδειγμα συνταινίας μεταξύ ανθρώπου, ποντικού και αρουραίου

http://www.nature.com/nature/journal/v428/n6982/fig_tab/nature02426_F4.html

Και σύγκριση γίββωνα με άνθρωπο

http://www.nature.com/nature/journal/v513/n7517/fig_tab/nature13679_F2.html



Επαναλαμβανόμενο DNA

- **Μεταθετά στοιχεία:** Αποτελούν πάνω από το 45% του γονιδιώματος στον άνθρωπο. Στο ποντίκι το ποσοστό είναι μικρότερο
- **Ψευδογονίδια:** Προκύπτουν από διπλασιασμούς γονιδίων ή από αντιγραφή του RNA σε DNA και ενσωμάτωση στο γονιδίωμα (πάνω από 10.000)
- **Απλές επαναλήψεις μικρών αλληλουχιών (SSRs)** από 2-5 bp (~ 3% του γονιδιώματος)
- **Διπλασιασμοί μεγάλων περιοχών** 10-300 Kb του γονιδιώματος (~ 5% του γονιδιώματος)
- **Δομικές επαναλαμβανόμενες περιοχές:** κεντρομερή, στα τελομερή και άλλες χρωμοσωματικές περιοχές. Π.χ. στα τελομερή του ανθρώπου συναντώνται 250-1000 επαναλήψεις TTAGGG



Μεταθετά στοιχεία (1/3)

Α
Υ
Τ
Ο
Ν
Ο
Μ
Α

⇒ **LINES Μακρά διάσπαρτα στοιχεία (long interspersed elements):** 6 – 8 Kb, ~850.000 αντίγραφα στο γονιδίωμα. Χαρακτηριστικός εκπρόσωπος τα στοιχεία L1. Στο 3' άκρο έχουν 20-50 αδενίνες (A)

⇒ **SINES Βραχέα διάσπαρτα στοιχεία (short interspersed elements):** 100-300 bp ~1.500.000 αντίγραφα στο γονιδίωμα. Οικογένεια *Alu* χαρακτηριστική για θηλαστικά.

⇒ **Μεταθετά στοιχεία που μοιάζουν με ρετροϊούς (long terminal repeat retroposons).** Παρουσιάζουν στα άκρα επαναλαμβανόμενες περιοχές 340 bp για τη μετακίνησή τους.

⇒ **DNA μεταθετά στοιχεία.**

Κατανομή ομάδων στα γονιδιώματα θηλαστικών είναι 21%, 13%, 8% και 3% αντίστοιχα

Nature 409, 860-921(15 February 2001)

http://www.nature.com/nature/journal/v409/n6822/fig_tab/409860a0_F17.html



Μεταθετά στοιχεία (2/3)

- Με βάση τα στοιχεία που υπάρχουν, τα περισσότερα μεταθετά στοιχεία έχουν χάσει πλέον, στον άνθρωπο, την ικανότητα τους να μεταγράφονται και να μεταπηδούν σε άλλες περιοχές. Αποτελούν «απολιθώματα» μιας εποχής που ήταν ενεργά.
- Μόνο ένα ποσοστό από τα L1 και τα Alu στοιχεία φαίνεται να είναι ακόμα ικανό για μετάθεση (περίπου 100 ανά άτομο).
- Η παρουσία του L1 έχει συσχετιστεί με 14 ασθένειες στον άνθρωπο (Αιμοφιλία, Μυϊκή Δυστροφία).
- Στο ποντίκι και τον αρουραίο υπάρχουν 10.000 ενεργά μεταθετά στοιχεία.



Μεταθετά στοιχεία (3/3)

Σημασία

- Τουλάχιστον 47 γονίδια σχηματίστηκαν μέσω μετάθεσης στοιχείων μέσα στο γονιδίωμα.
- Δίνουν πληροφορίες για εξελικτικούς μηχανισμούς (μεταλλάξεις, επιλογή). Στη *Drosophila* το 50% των μεταλλάξεων οφείλονται σε μετατοπίσεις μεταθετών στοιχείων (Morgan).
- Διευκολύνουν αναδιατάξεις των χρωμοσωμάτων μέσω ανασυνδυασμού μεταξύ δύο όμοιων μεταθετών στοιχείων.
- Η κατανομή των μεταθετών στοιχείων δεν είναι τυχαία. Υπάρχουν περιοχές με μεγάλο αριθμό, ενώ σε άλλες (όπως στα γονίδια Hox) δεν συναντάται σχεδόν κανένα.

ΠΑΡΑΣΙΤΑ ή ΩΦΕΛΙΜΑ?



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων (1/3)

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων καλείται η άμεση φυσική μεταφορά γονιδίων από ένα είδος στα αναπαραγωγικά κύτταρα άλλου είδους.

Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων συμβαίνει στη φύση, πιθανώς με τη βοήθεια των μεταθετών στοιχείων ή και άμεσα.

Το εξελικτικό δυναμικό των οργανισμών είναι απεριόριστο.

Δημιουργούνται προβληματισμοί για την ασφάλεια των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών και των γονιδίων που μπορεί να περάσουν με αυτό τον τρόπο από ένα είδος σε άλλο μέσω της τροφικής αλυσίδας.



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων (2/3)

- ✓ Από τη δεκαετία του '70 ήταν γνωστό ότι το ένζυμο τρυψίνη του βακτηρίου *S. griseus* μοιάζει περισσότερο στην τρυψίνη των βοοειδών παρά σε άλλες βακτηριακές τρυψίνες
- ✓ Η εξέλιξη δεν συμβαίνει μόνο μέσω της **κατακόρυφης** μεταφοράς γονιδίων από τους προγόνους στους απογόνους.
- ✓ Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε ότι τουλάχιστον 100 γονίδια εμφανίστηκαν στον άνθρωπο μέσω **οριζόντιας** μεταφοράς από βακτήρια
- ✓ Αντίστοιχα 8 γονίδια του *M. tuberculosis* έχουν προέλθει από τον άνθρωπο
- ✓ Συχνό φαινόμενο σε καρκινικά κύτταρα

Bacteria-human somatic cell lateral gene transfer is enriched in cancer samples," *PLOS Computational Biology*, 2013.

<http://www.ploscompbiol.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pcbi.1003107>



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων (3/3)

Horizontal genome transfer as an asexual path to the formation of new species

Fuentes et al. 2014, NATURE, 511, 232-235

Μέσω ενός μηχανισμού αλλοπολυπλοειδίας, που προέκυψε όχι μέσω υβριδισμού αλλά μέσω ενός αφυλετικού τρόπου, είναι δυνατόν να έχουν δημιουργηθεί στη φύση ακόμα και νέα εντελώς είδη, τα οποία αντικατέστησαν τα προγονικά τους.



Το δένδρο της Ζωής ...*postgenome*

From Tree of Life to Web of Life

- Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων περιπλέκει τις σχέσεις μεταξύ των ειδών, όπως επίσης και την κατασκευή ενός φυλογενετικού δέντρου όπου όλα τα είδη προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο.
- Τα γονίδια σε ένα γονιδίωμα μπορεί να έχουν διαφορετικές εξελικτικές ιστορίες, καθώς ακόμη και μια σπάνια γονιδιακή μεταφορά μπορεί να προκαλέσει διαφορετικές μοριακές γενεαλογικές σχέσεις.
- Έτσι προκύπτει η μετάβαση από το δέντρο της ζωής στο πολύ πιο πολύπλοκο δίκτυο της ζωής.

<http://www.texscience.org/reports/sboe-tree-life-2009feb7.htm>



Η αύξηση της πολυπλοκότητας του πρωτεώματος (1/2)

Με τη μελέτη του πρωτεώματος έγινε φανερό ότι το πρωτέωμα στα σπονδυλωτά είναι πιο πολύπλοκο από της ζύμης, του σκώληκα, της δροσόφιλας και άλλων κατώτερων οργανισμών.

Πώς προκαλείται?

- **Περισσότερα γονίδια.** Το γονιδίωμα των σπονδυλωτών περιλαμβάνει περισσότερα γονίδια από άλλους κατώτερους οργανισμούς.
- **Περισσότερα «παράλογα» γονίδια.** Μέσα στις οικογένειες γονιδίων συνέβησαν πλήθος διπλασιασμών. Π.χ. στον άνθρωπο ~1000 olfactory genes ενώ στα ψάρια 60.

<http://www.pnas.org/content/101/8/2584/F2.large.jpg>

Αναδιοργάνωση, αύξηση και μείωση λειτουργικών περιοχών πρωτεϊνών. Εμφανίστηκαν μέσω της εξέλιξης νέοι συνδυασμοί αυτών, που αύξησαν σημαντικά τις συνολικές πιθανές αρχιτεκτονικές δομές των πρωτεϊνών.



Η αύξηση της πολυπλοκότητας του πρωτεώματος (2/2)

Εναλλακτικές μορφές splicing. Π.χ. 3 γονίδια υπεύθυνα για την παραγωγή μορίων νευρεξίνης που συνδέουν νευρώνες & νευρικά κύτταρα. Μέσω διαφορεικού splicing παράγονται > 2000 μορφές ([Genomics](#). 2002 Apr;79(4):587-97) . Πόσες από αυτές τις μορφές επιτελούν πραγματικά διαφορετική λειτουργία?

- *Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών*. Υπάρχουν πάνω από 400 βιοχημικές τροποποιήσεις στις ανθρώπινες πρωτεΐνες. 20.000 διαφορετικά mRNAs, αλλά πάνω από 200.000 διαφορετικές πρωτεΐνες.



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος. «Ειδικά Θέματα Γενετικής. Οι επιπτώσεις των μεγάλων προγραμμάτων εύρεσης της αλληλουχίας γονιδιωμάτων». Έκδοση: 1.0. Θεσσαλονίκη 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: http://opencourses.auth.gr/eclass_courses.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Μηνούδη Στυλιανή
Θεσσαλονίκη, Χειμερινό εξάμηνο 2014-2015



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

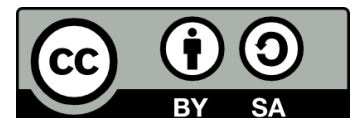


ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

