BIOZ

Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

Συνεξέλιξη Γονιδιωμάτων και Ειδογένεση

Γιαννουλης Θεμιστοκλης
Laboratory of Genetics, Comparative and Evolutionary Biology

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Προσεγγίσεις για την έννοια του είδους

The mitonuclear compatibility species concept (MCSC)

Αλληλεπιδράσεις μιτοχονδρίου-πυρήνα στο στόχαστρο

Ασυμβατότητες γονιδίων δημιουργούν όρια ειδών

Εξηγεί το barcode gap του COX1

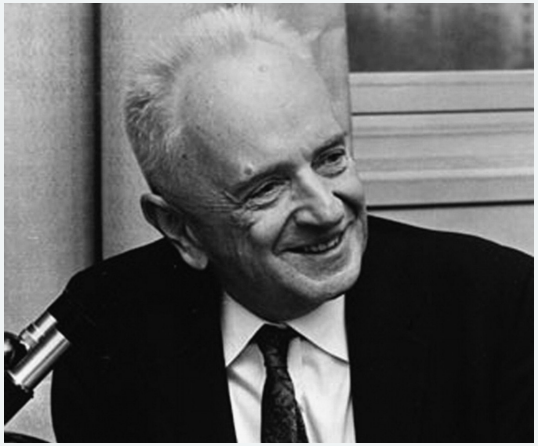
Η έννοια της συνεξέλιξης των γονιδιωμάτων

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συνεξέλιξη

- Σχέσεις μεταξύ οργανισμών
  - Συμβίωση
  - Ιός - Ξενιστής
- Εξελικτικές σχέσεις ανάμεσα σε γονιδιακές περιοχές που συνεργάζονται



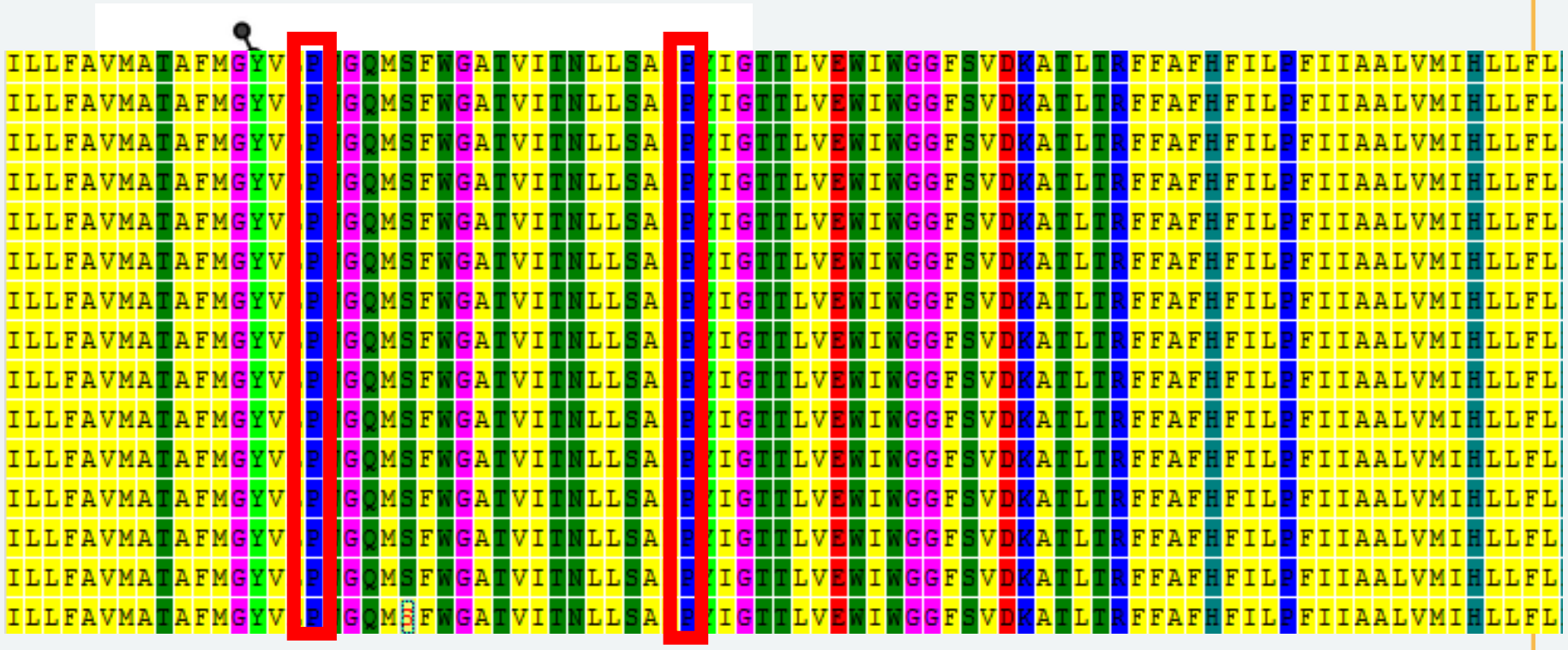
Theodosius Dobzhansky

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Διατηρηση πρωτεϊνικης λειτουργιας

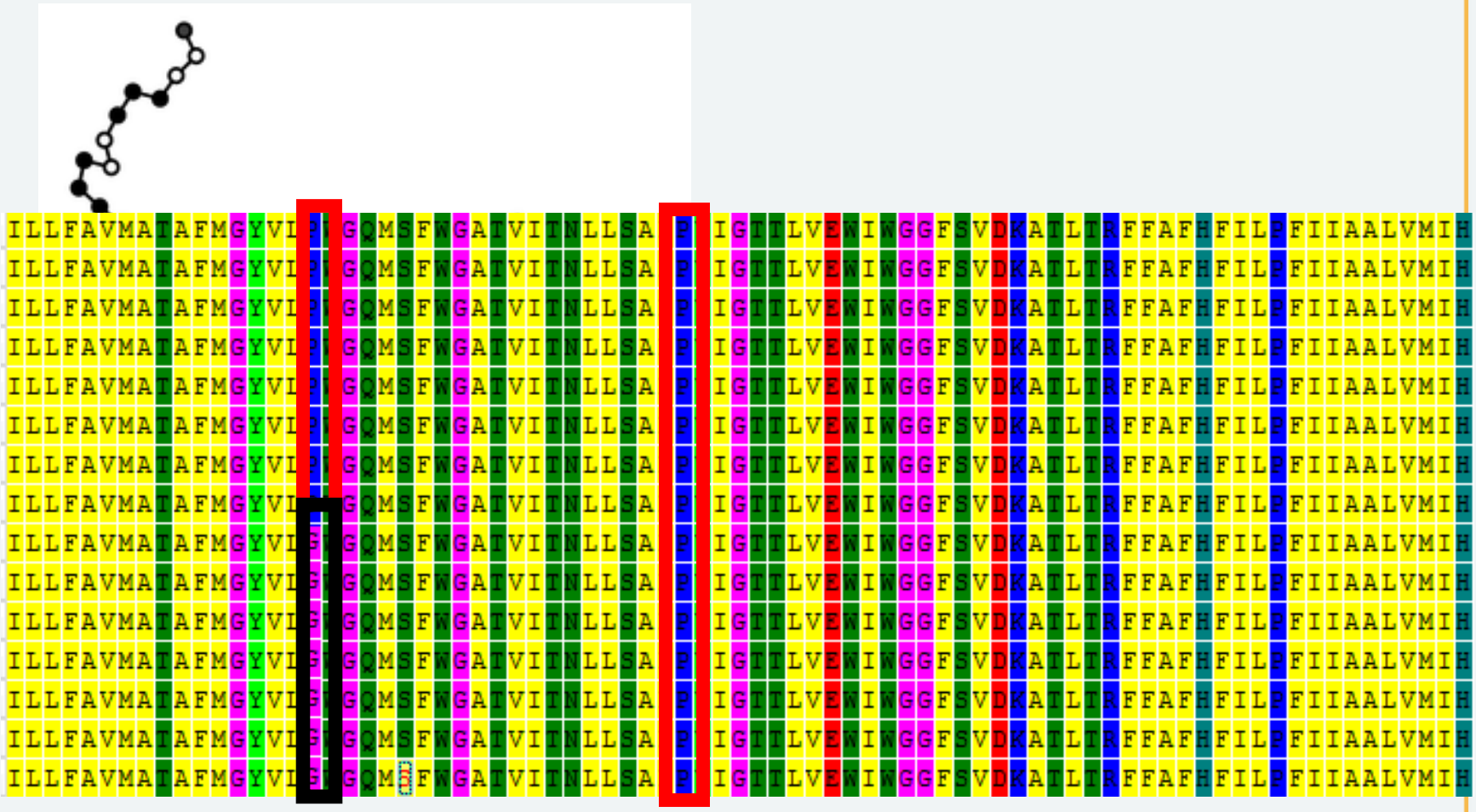


BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Διατηρηση πρωτεϊνικης λειτουργιας

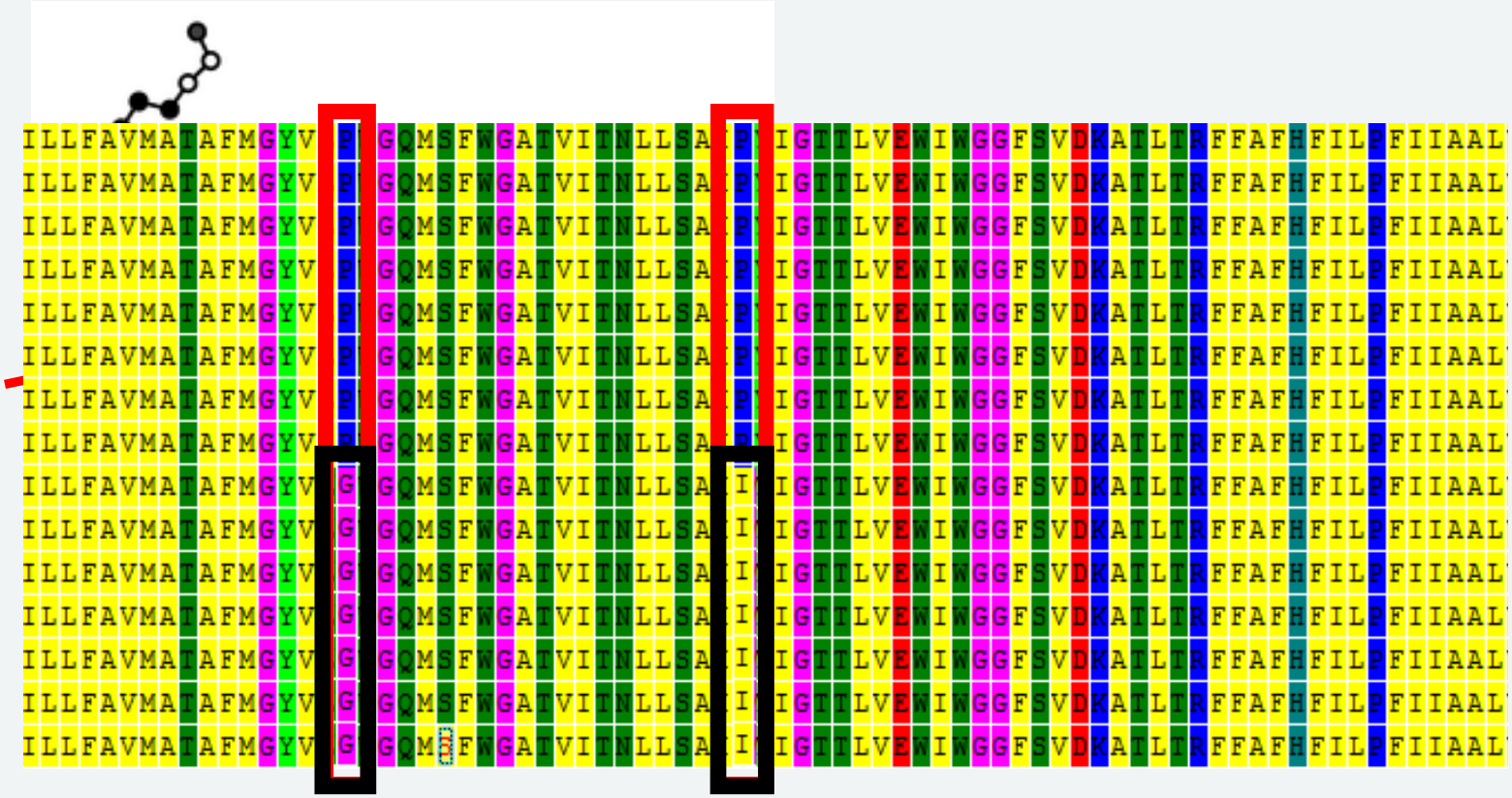


BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Διατηρηση πρωτεϊνικης λειτουργιας



BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

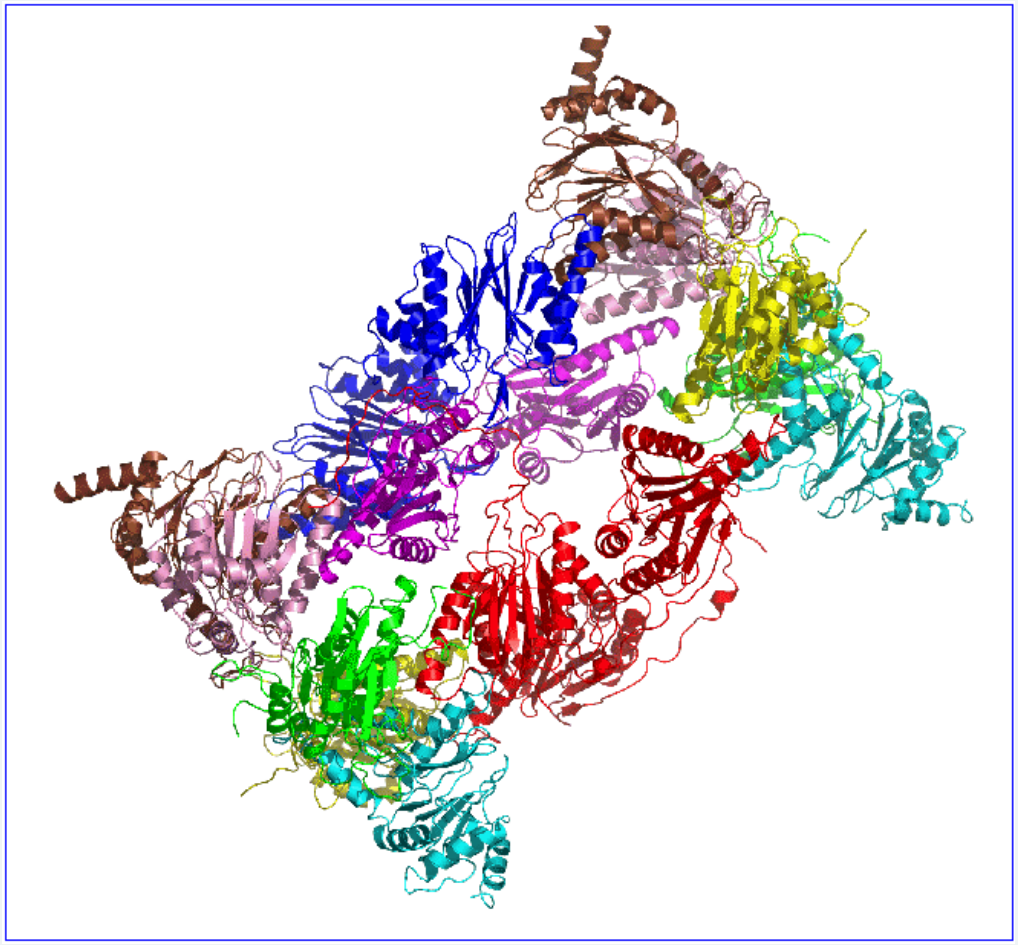
B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Διατηρηση αλληλεπιδρασης και λειτουργιας συμπλοκου

Αντισταθμιστικές μεταλλάξεις

«Camouflage» επιβλαβών μεταλλάξεων

Φυσιολογικός φαινότυπος



▷ Giannoulis Themistoklis

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συνεξελιξη γονιδιων

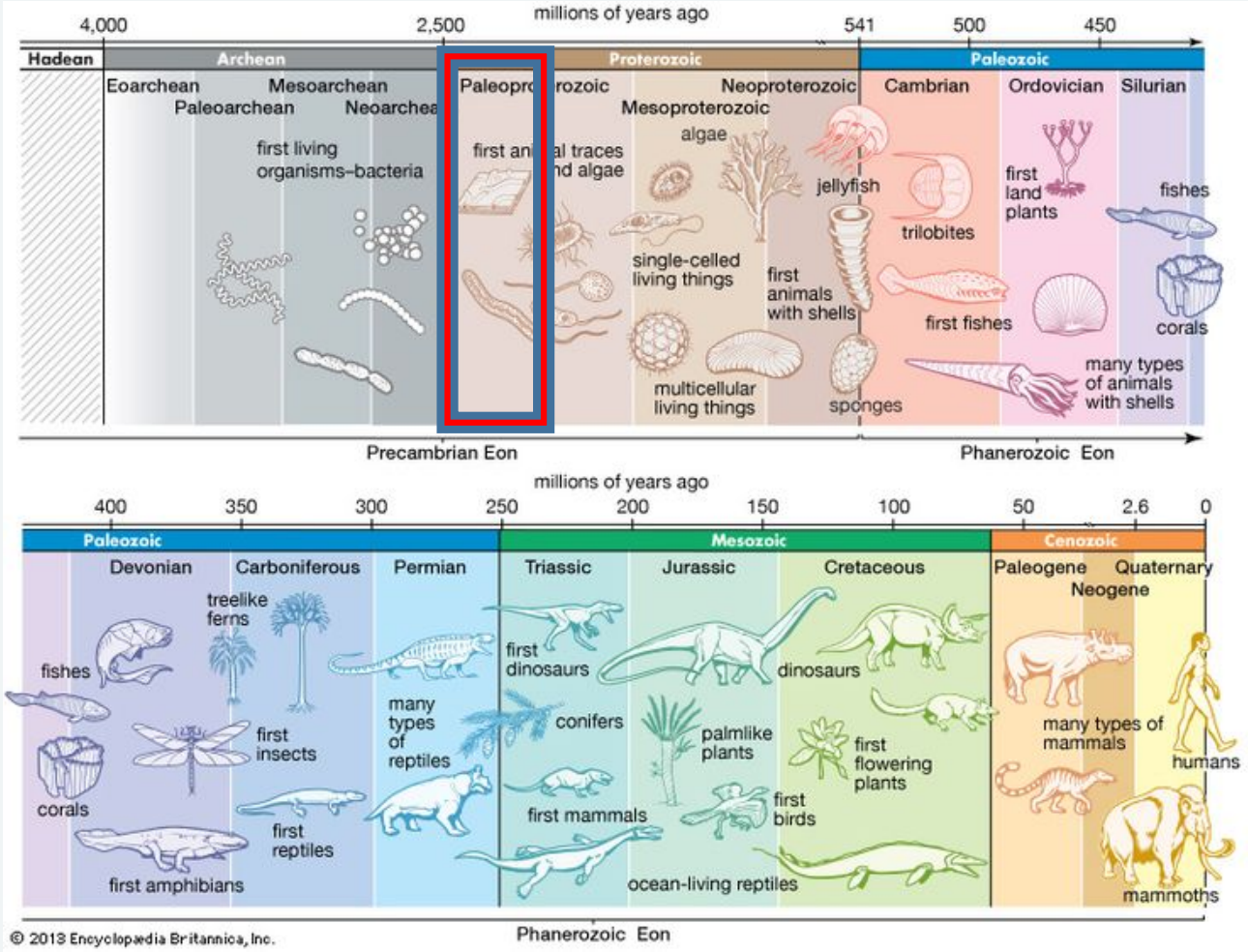
Τι συμβαινει ομως οταν οι πρωτεϊνες κωδικοποιουνται απο γονιδιωματα που δεν εξελισσονται με τον ιδιο ρυθμο?

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

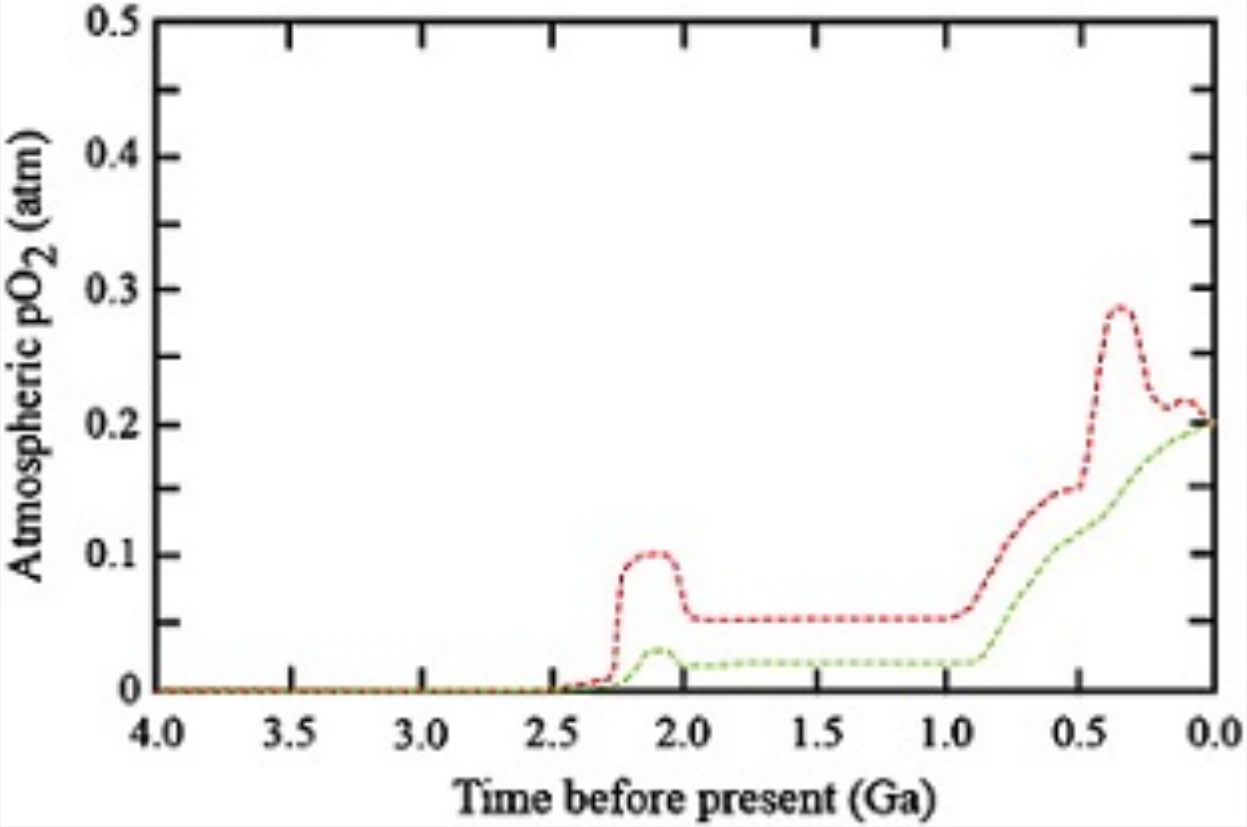
Η Συμβιωτική θεωρία εμφάνισης του μιτοχονδρίου



▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

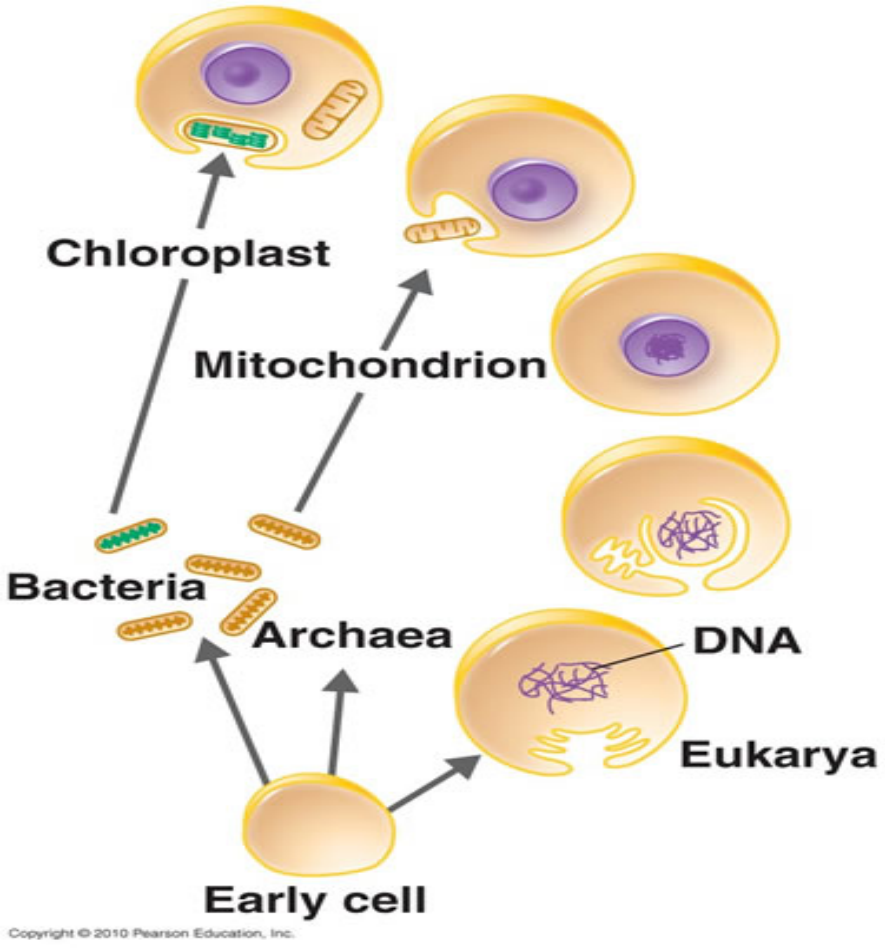
The Great Oxidation Event



▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η ενδοσυμβίωση και η εμφάνιση μιτοχονδρίου και χλωροπλάστη



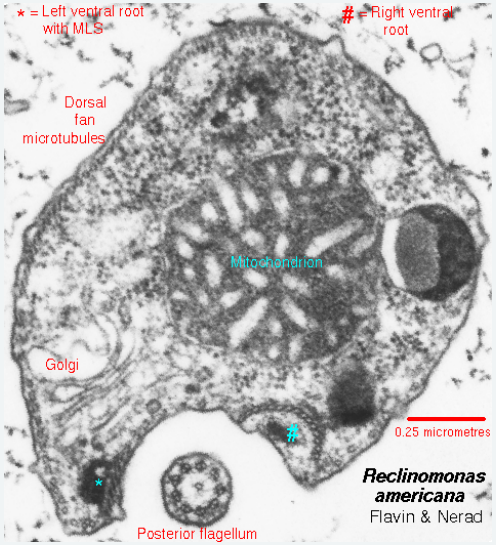
Αερόβιοι προκαρυωτικοί οργανισμοί

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

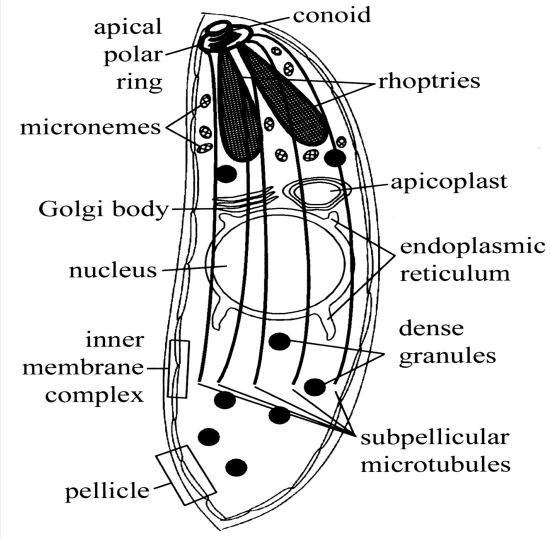
B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η Μειωτική Εξέλιξη των γονιδιωμάτων των ενδοσυμβιωτών



67 genes

VS



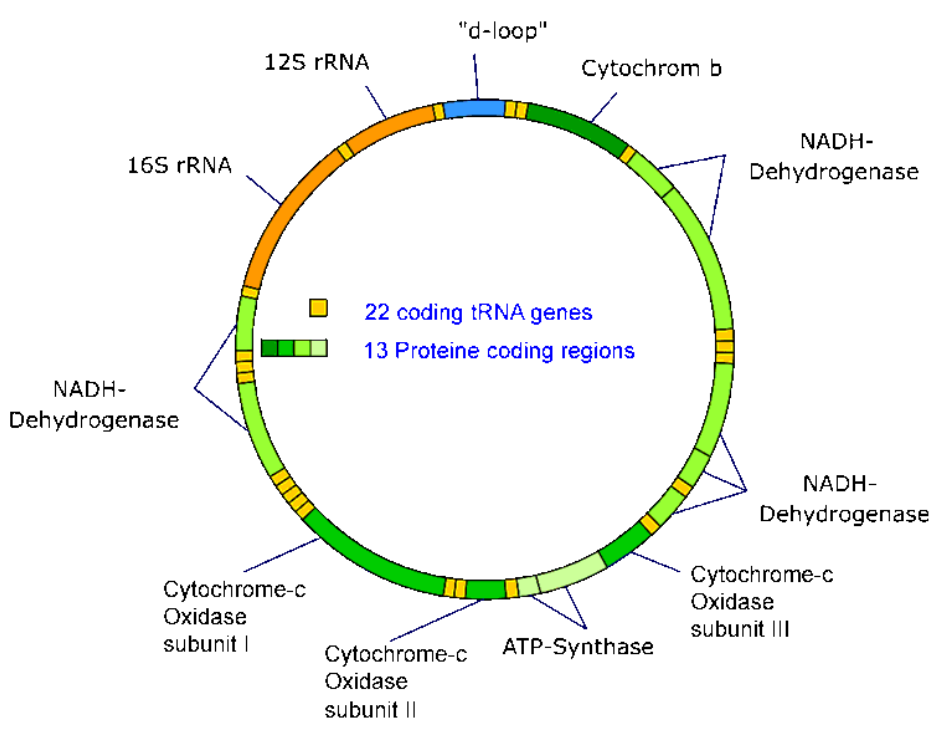
3 genes

?

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μιτοχονδριακό DNA



- Απλοειδές
- Μονογονεϊκή κληρονόμηση
- Απουσία επιδιορθωτικών μηχανισμών κατά την αντιγραφή
- Απουσία ανασυνδυασμού
- Περιβάλλον πλούσιο σε ελεύθερες ρίζες O_2
- ~10 φορές μεγαλύτερος εξελικτικός ρυθμός

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

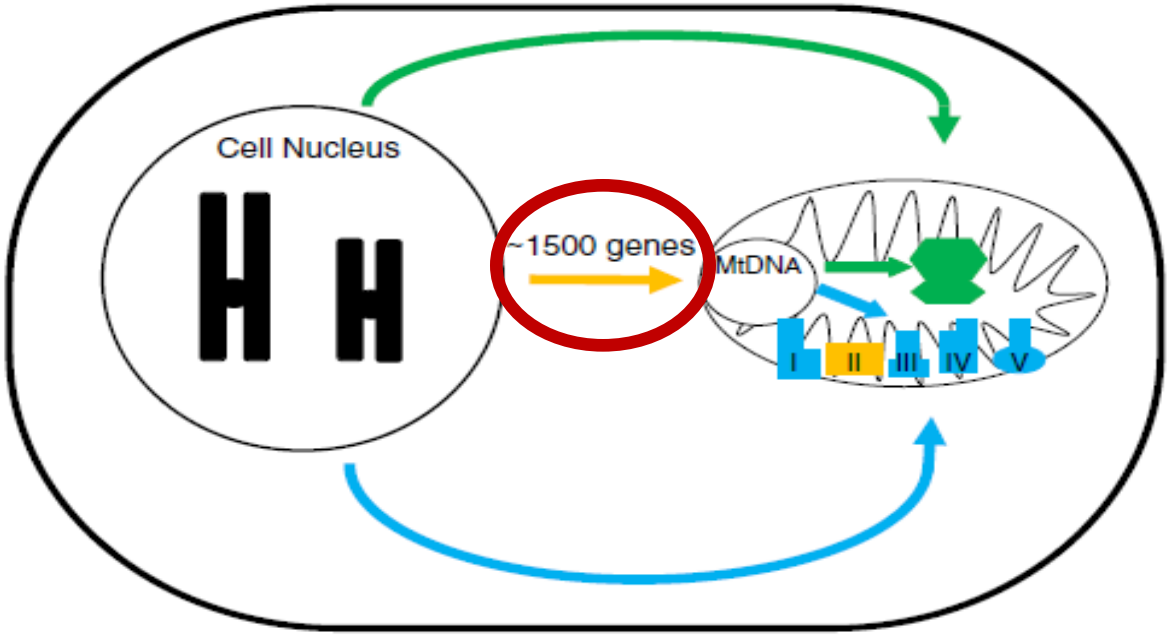
Επίπεδα συνεργασίας πυρηνικού – μιτοχονδριακού DNA

D. Bar-Yaacov et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1819 (2012) 1107–1111

- OXPHOS system
- Mitochondrial translation machinery.

} Encoded both by the mtDNA and the nuclear genome

- Mitochondrial factors encoded only by nucleus



▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επιπεδα συνεργασιας πυρηνικου – μιτοχονδριακου DNA

1ο: Αντιγραφή mtDNA
OriC(replication origin) – DNA πολυμεράση γάμμα

2ο: Μεταγραφή mtDNA
Γονίδια προκαρυωτικού τύπου (απουσία ιντρονίων) – RNA πολυμεράση + μεταγραφικοί παραγοντες

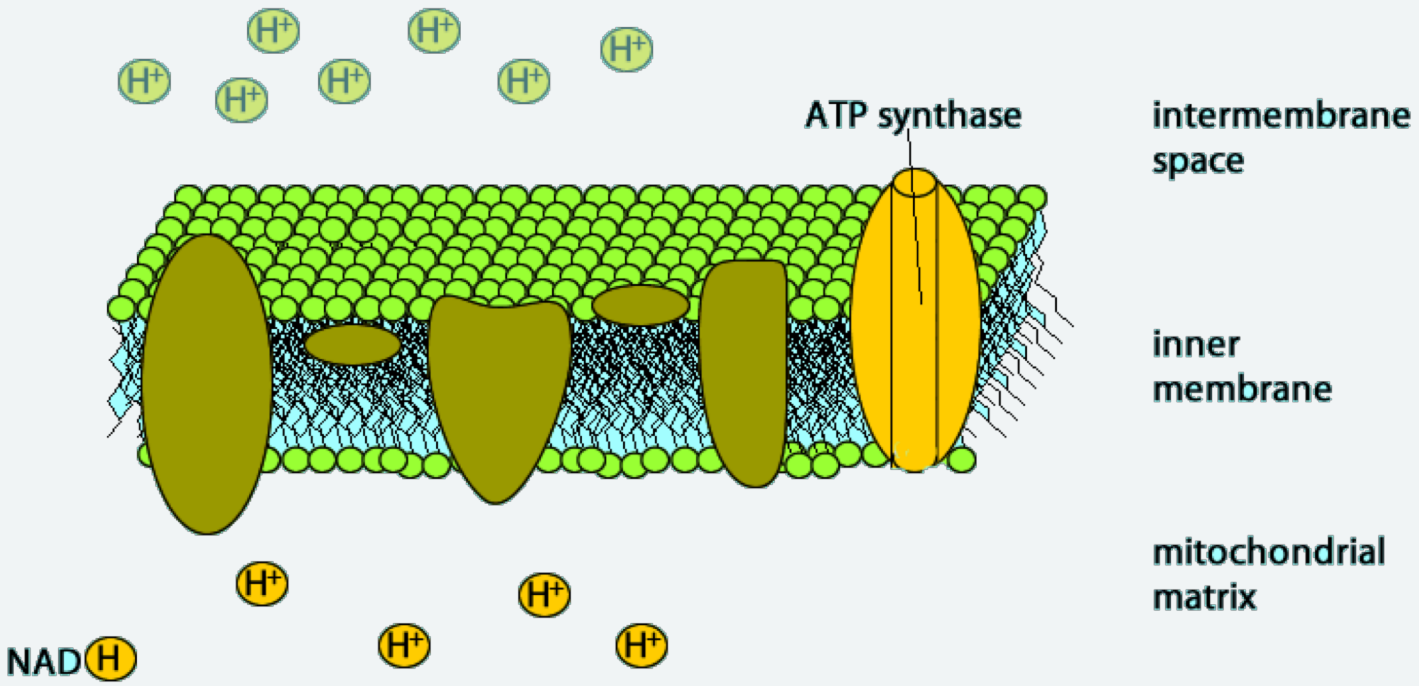
3ο: Μετάφραση mtDNA
tRNA + ριβοσωμικές υπομονάδες 12S, 16S – Ριβοσωμικές υπομονάδες

4ο: Οξειδωτική φωσφορυλίωση (OXPHOS)
13 γονίδια που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες - ~80 γονίδια συμπλόκου και συναρμογής

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Οξειδωτική φωσφορυλιωση

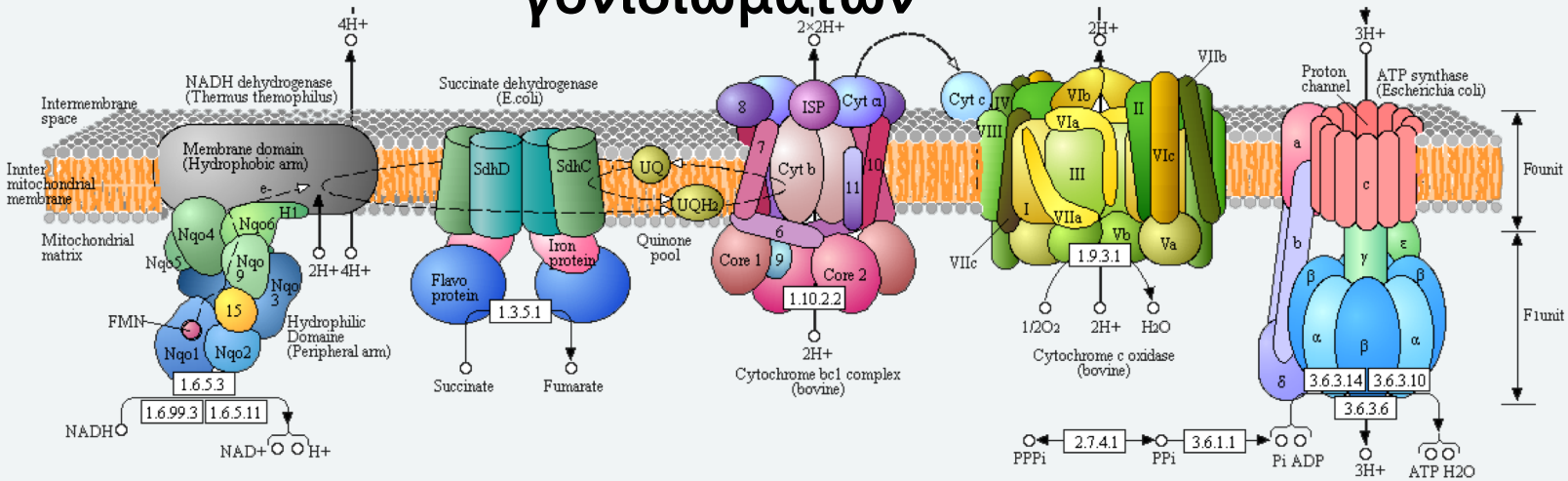


BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η Οξειδωτική Φωσφορυλίωση απαιτεί τη συνεργασία δύο γονιδιωμάτων



Συνολικά	44	4	10	13	20
mtDNA	7	0	1	3	2
nDNA	37	4	9	10	18

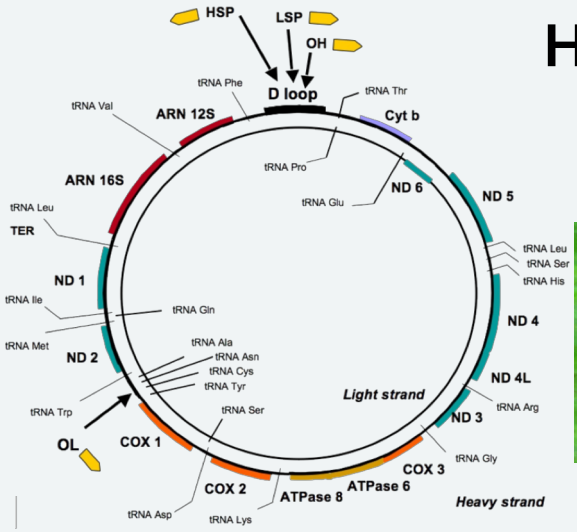
Πηγή: HGNC

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η Εξελικτική Πρόκληση



▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων

i) Κατασκευή χιμαιρικών κυτταρικών σειρών(cybrids)

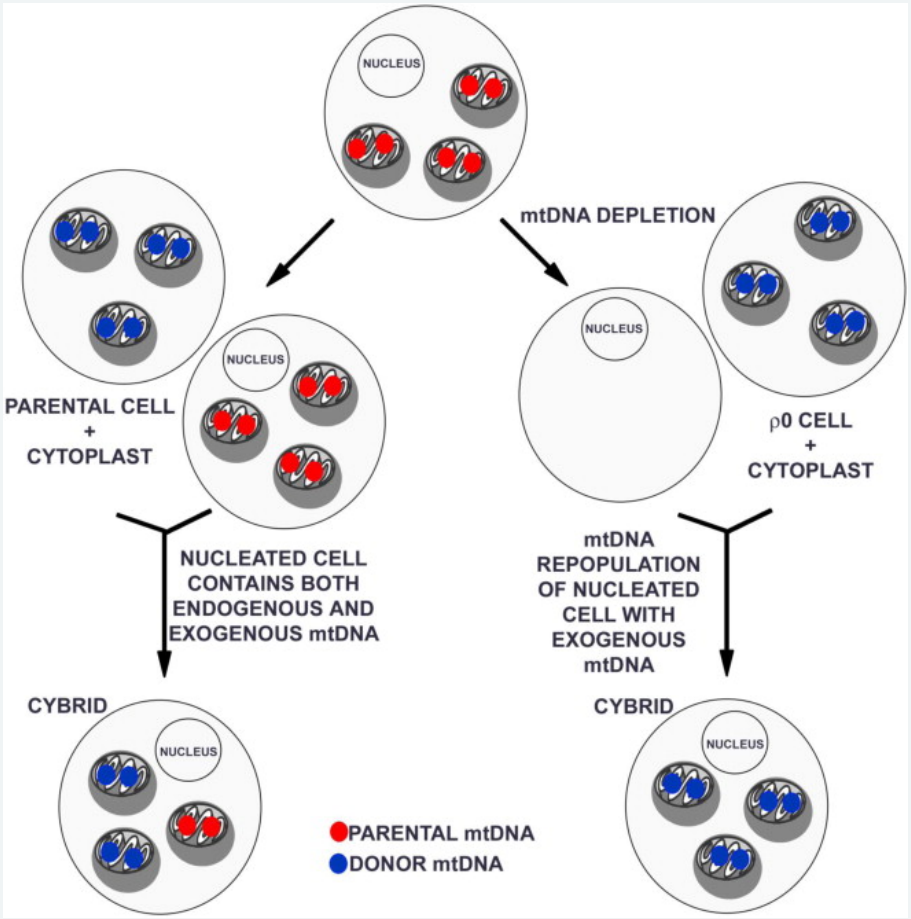
ii) Επιλεκτικές διασταυρώσεις ανάμεσα σε πληθυσμούς με διαφοροποιημένο mtDNA

iii) Ανάλυση αλληλουχιών και εκτίμηση εξελικτικών ρυθμών

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων



Καλλιεργεια κυτταρων σε μεσο με βρωμιουχο αιθιδιο για καταστροφη μιτοχονδριων

Εισαγωγη μιτοχονδριων

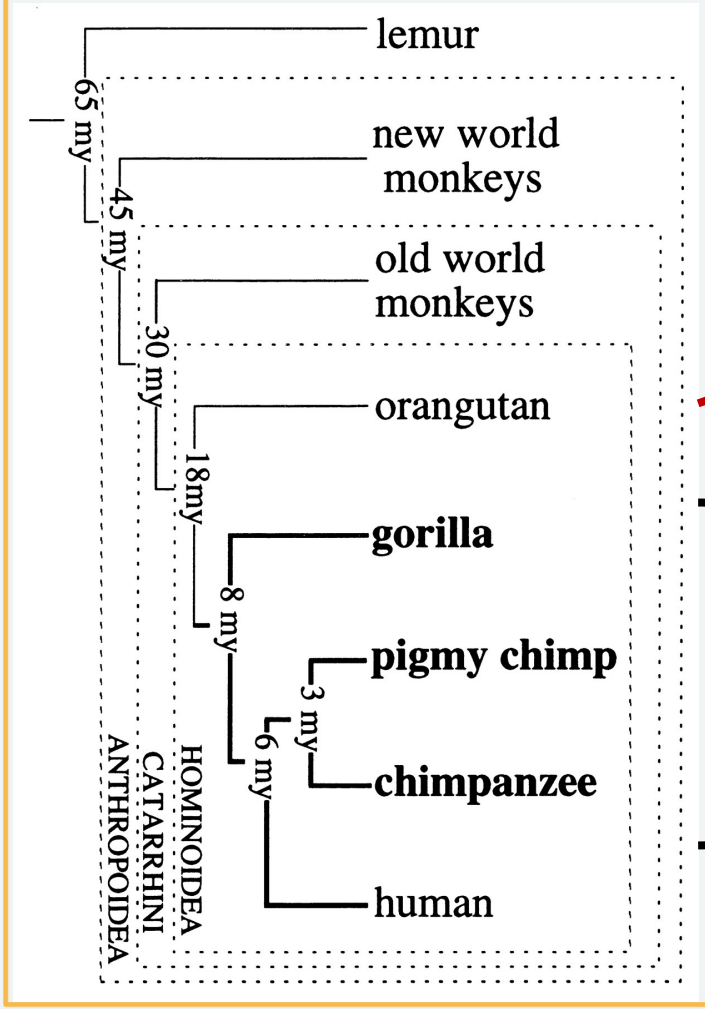
a. **Απο διαφορετικα ειδη**
b. **Απο πληθυσμους με διαφοροποιημενο mtDNA**

Εκτιμηση λειτουργιας OXPHOS

▷ Giannoulis Themistoklis

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων



Δεν παρατηρηθηκε κυτταρικη αναπτυξη

Αδυναμια σχηματισμου συμπλοκων

Επιτυχης μετασχηματισμος ανθρωπινων κυτταρικων σειρων – Διατηρηση λειτουργιας οξειδωτικης φωσφορυλιωσης

30% μειωση σε σχεση με κυτταρα χωρις μετασχηματισμο

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων

Mus musculus x

Mus spretus

Mus musculus x

Rattus norvegicus

Mus musculus x

Otomys irroratus

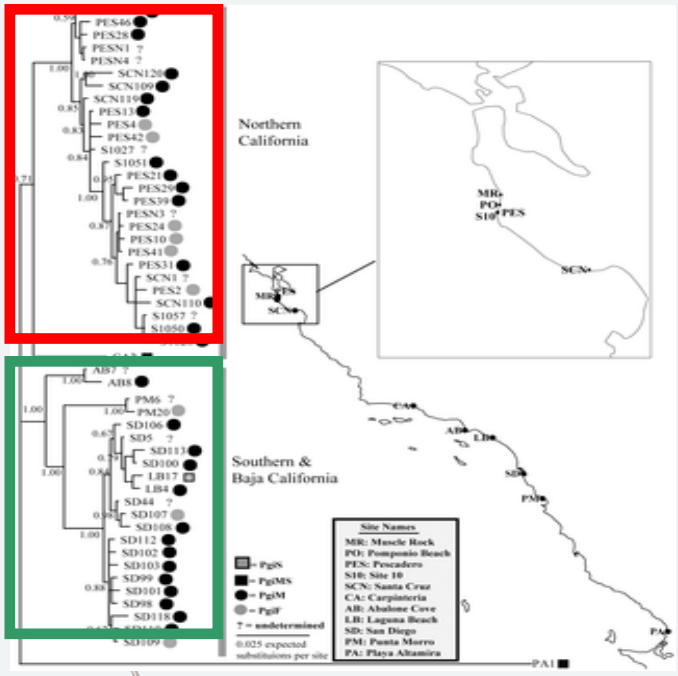
- Σχηματισμος υβριδικων κυτταρων με φυσιολογικα επιπεδα OXPHOS
- Σχηματισμος υβριδικων κυτταρων
  - Μεταγραφη και μεταφραση mtDNA
  - Μειωμενη λειτουργια συμπλοκου I και III
- Δυσκολια σχηματισμου κυτταρων
  - Μειωμενη λειτουργια συμπλουκου III και IV

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

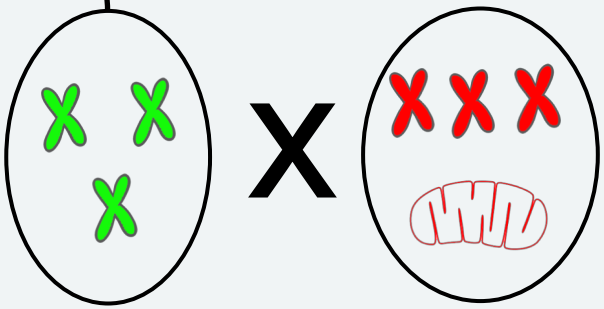
B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

The mother's curse – Ενδοειδικό επίπεδο

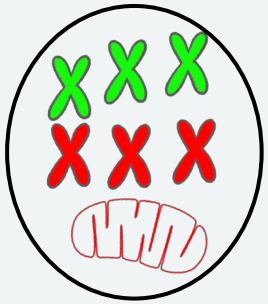


Tigriopus californicus

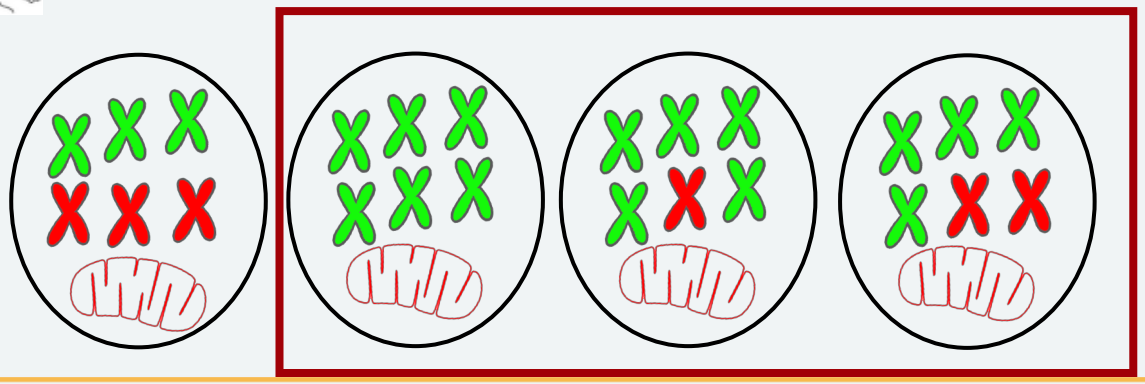
Διαφοροποίηση mtDNA



F1 γενιά



F2 γενιά



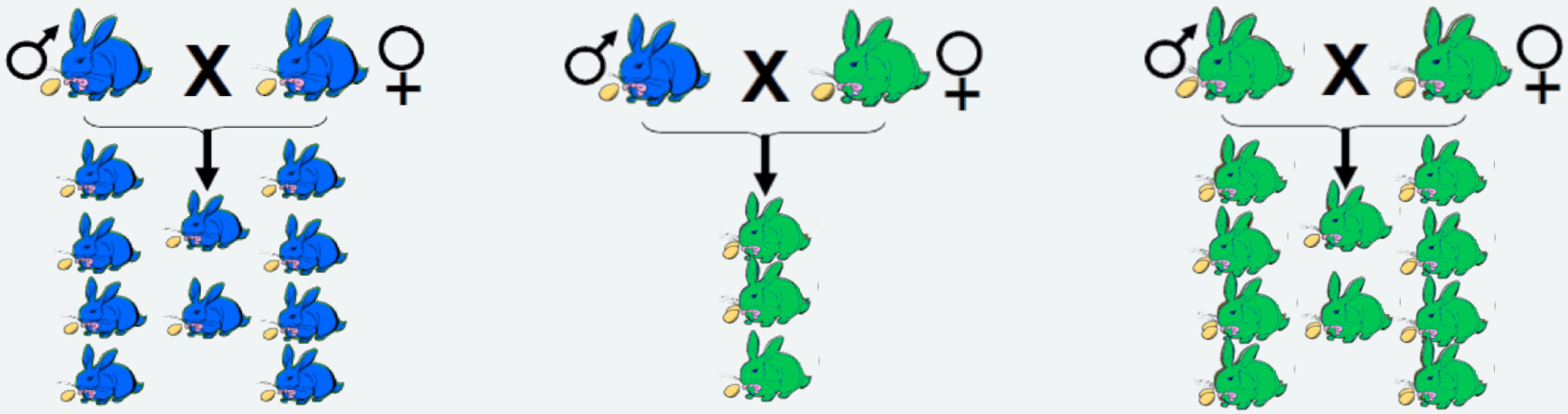
Edmands S.Evolution.53:1757-68.1999
Ellison & Burton. Evolution.60:1382-91.2008
Rawson & Burton. PNAS. 99:12955-58. 2002

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η κατάρα της μάνας στον ευρωπαϊκό λαγό



Ευρωπαϊκή Γενεαλογία

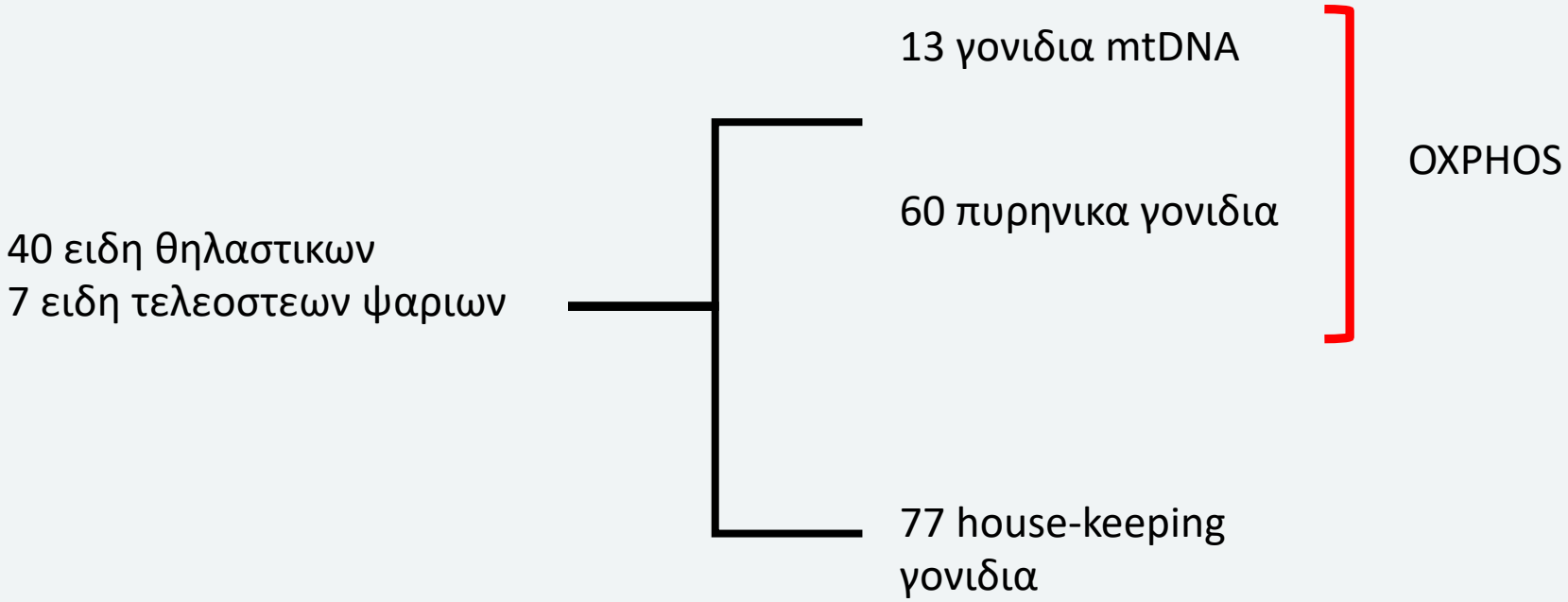
Ανατολική Γενεαλογία

Smith et al. Mol Ecol.19:36-43.2010

▷ Giannoulis Themistoklis

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

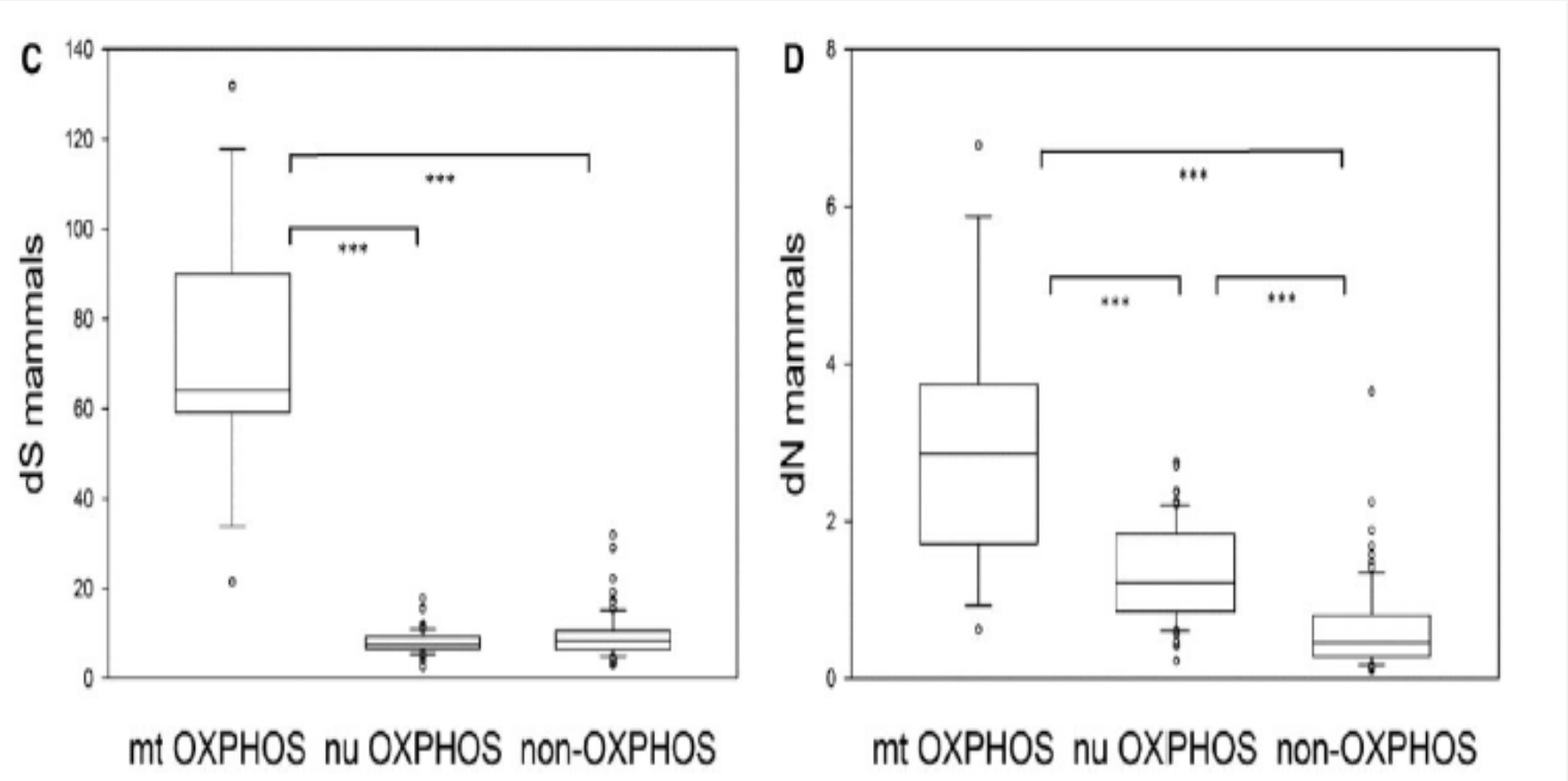
Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων



▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων

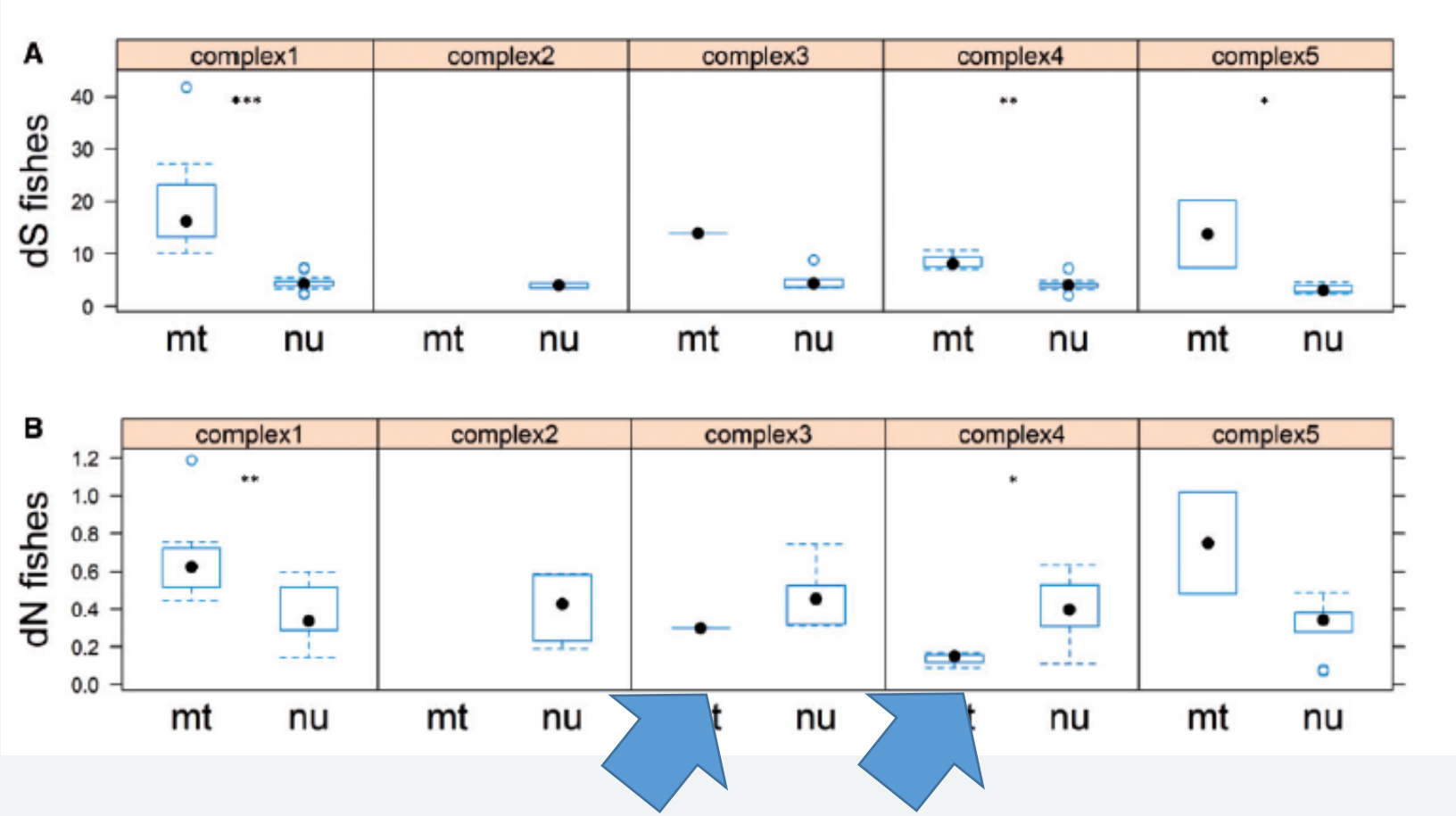


BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων

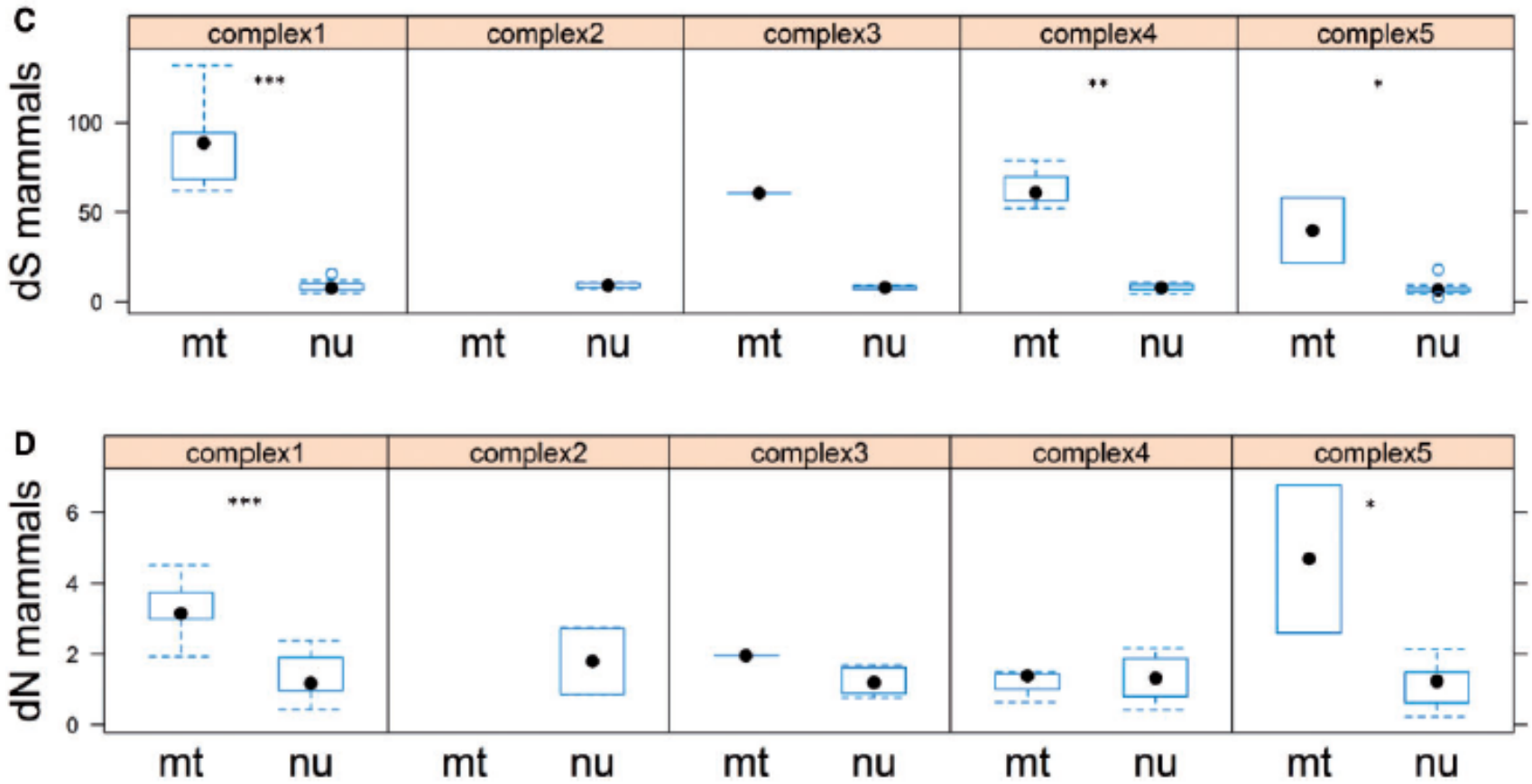


BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων



BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μελετες συνεξελιξης πυρηνικων – μιτοχονδριακων γονιδιων Συμπερασματα

- Μη συνωνυμες μεταλλαξεις πυρηνικων γονιδιων versus συνωνυμες μεταλλαξεις
- Μη συνωνυμες μεταλλαξεις στα mtCOX γονιδια περιορισμενες λογω λειτουργιας
- Αυξημενος ρυθμος μεταλλαξεων στα nu OXPHOS σε σχεση με τα control γονιδια

↓

Συνεξελιξη μιτοχονδριακων και πυρηνικων γονιδιων που συνεργαζονται

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

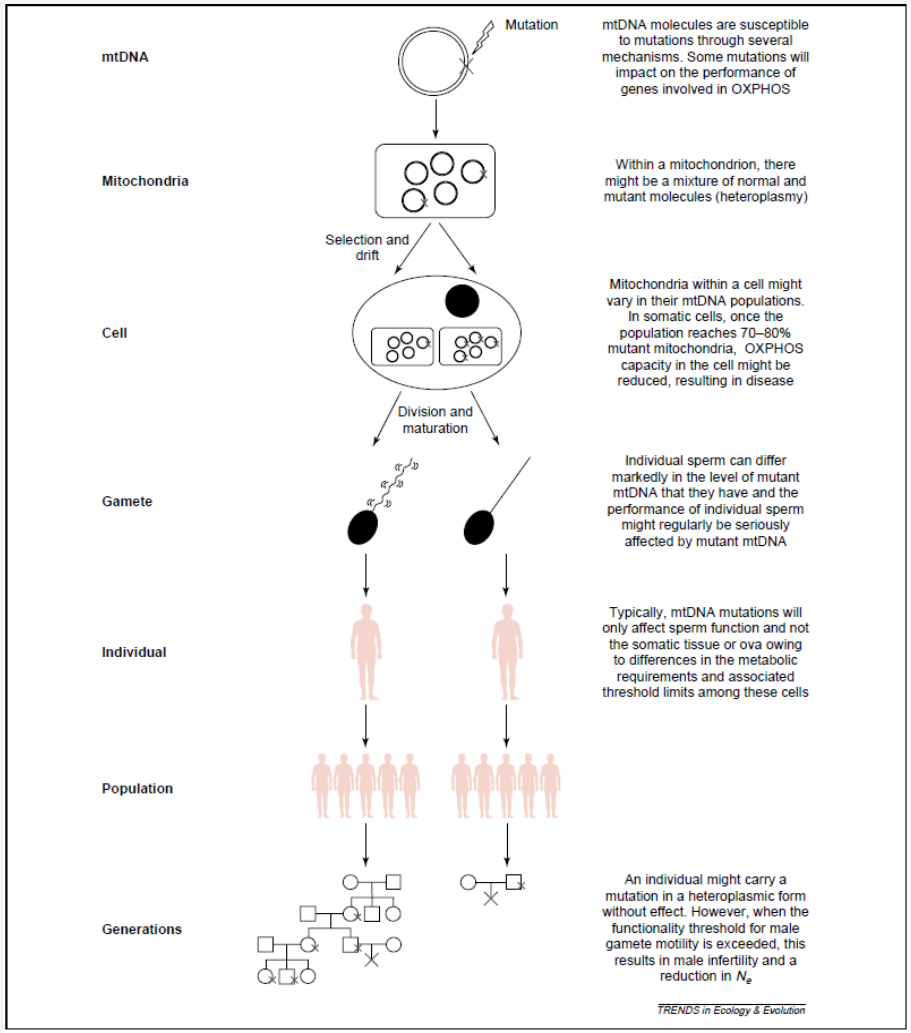
mtDNA και προσαρμογη

- Πολυμορφισμοι mtDNA σχετιζονται με προσαρμογη σε περιβαλλον και διατροφη
- Ταχυς ρυθμος εξελιξης → δημιουργια νεων απλοτυπων → γρηγοροτερη προσαρμογη
- Θεωρουνταν εξελικτικα ουδετερο
- Μελετες υποδεικνυουν τη δραση αρνητικης και θετικης επιλογης σε συγκεκριμενα κωδικονια του mtDNA
- Η επιλογη δρα με ενα μοντελο sex-biased

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

mtDNA και προσαρμογη – Η καταρα της μητερας



Μεταλλαξεις του mtDNA

Ωαρια με χαμηλες ενεργειακες αναγκες

Σπερματοζωαρια με υψηλες ενεργειακες αναγκες

Καμια/μικρη επιδραση στο φαινοτυπο → Δεν επιλεγονται αρνητικα

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

mtDNA και προσαρμογη – Το παραδειγμα της πτησης

Συστημα OXPHOS υπευθυνο για μεταφορα ηλεκτρονιων διαμεσου της μεμβρανης για παραγωγη ATP

Ασυμβατοτητα γονιδιων / Δυσλειτουργια → «δραπετευση» ηλεκτρονιων και παραγωγη ROS

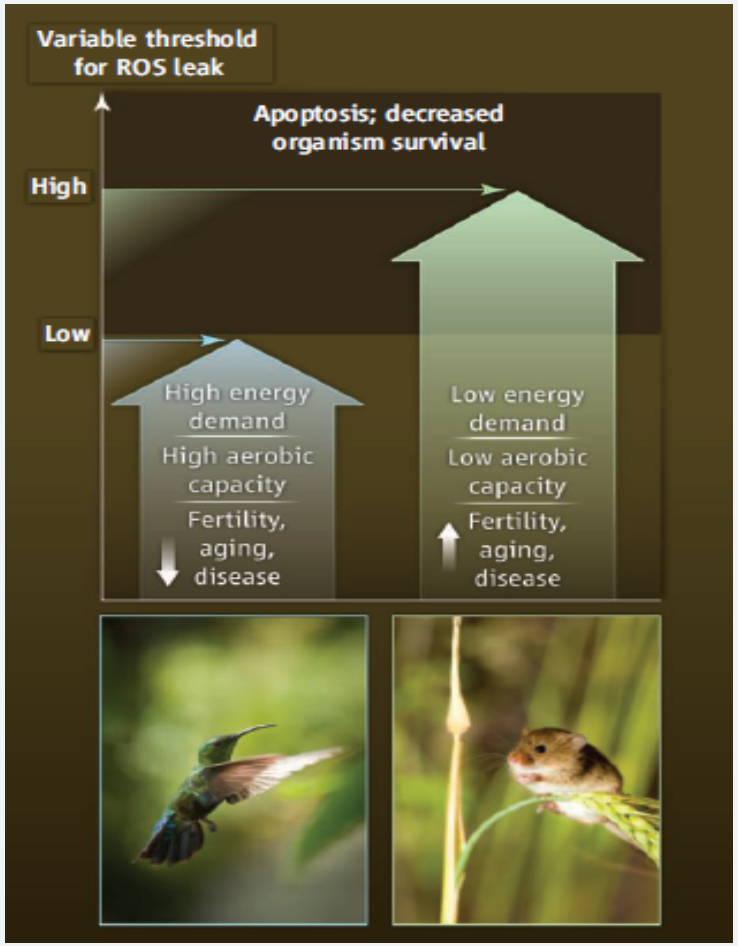
«Δραπετευση» ηλεκτρονιων → μειωμενη παραγωγη ATP

Παραγωγη ROS → μεταλλαξεις DNA / βλαβες στα μιτοχονδρια → αποπτωση

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

mtDNA και προσαρμογη – Το παραδειγμα της πτησης



Οργανισμοι με υψηλες ενεργειακες απαιτησεις (πχ πτηνα)

«Τελεια» συνεργασια του συμπλοκου (ταχεια μεταφορα ηλεκτρονιων)

Μειωμενη αναπαραγωγικη επιτυχια

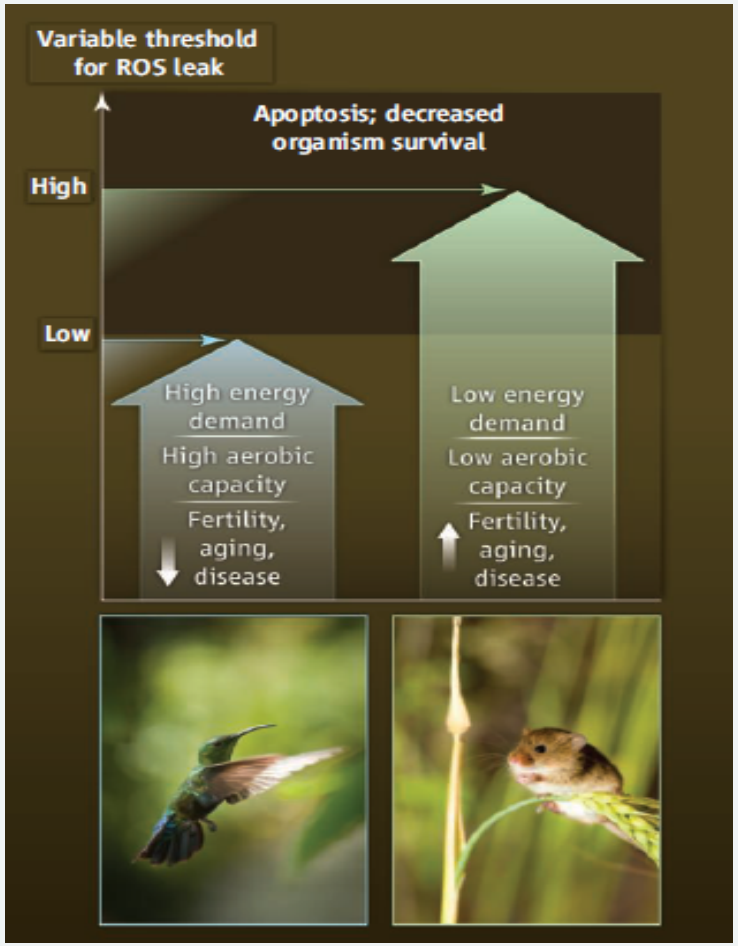
Αυστηρη επιλογη γονιδιων που σχετιζονται με την παραγωγη ενεργειας

Μειωμενη δραση ασθενειων που σχετιζονται με μιτοχονδριακες δυσλειτουργιες

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

mtDNA και προσαρμογη – Το παραδειγμα της πτησης



Οργανισμοι με χαμηλες ενεργειακες απαιτησεις

Δεν απαιτουν την «τελεια» συνεργασια του συμπλοκου

Αυξημενη αναπαραγωγικη επιτυχια (καθε συνδυασμος επιτρεπεται)

Ελαστικη επιλογη γονιδιων που σχετιζονται με την παραγωγη ενεργειας

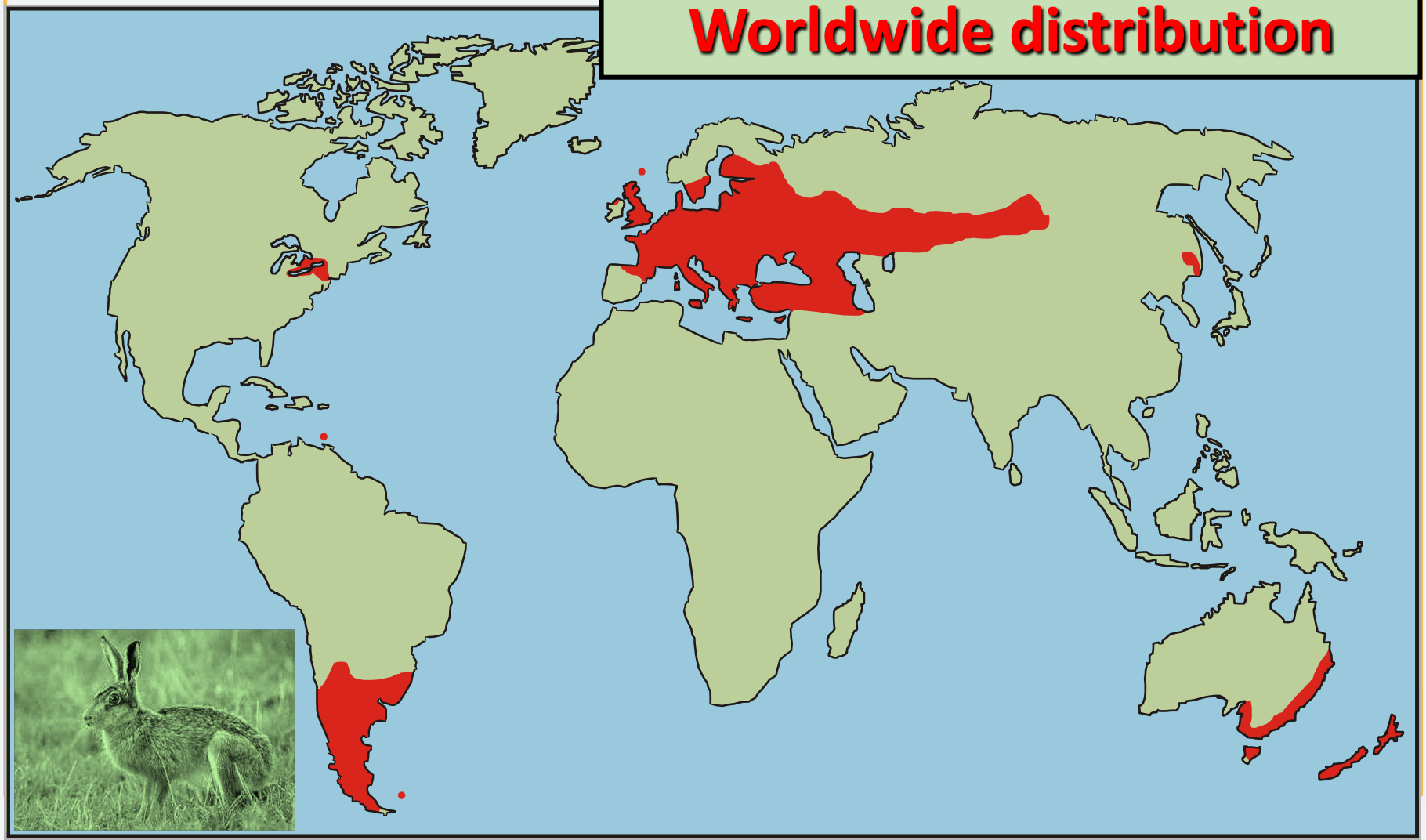
Αυξημενη δραση ασθενειων που σχετιζονται με μιτοχονδριακες δυσλειτουργιες

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συνεξελιξη - Ευρωπαϊκος λαγος (*Lepus europaeus*)



BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

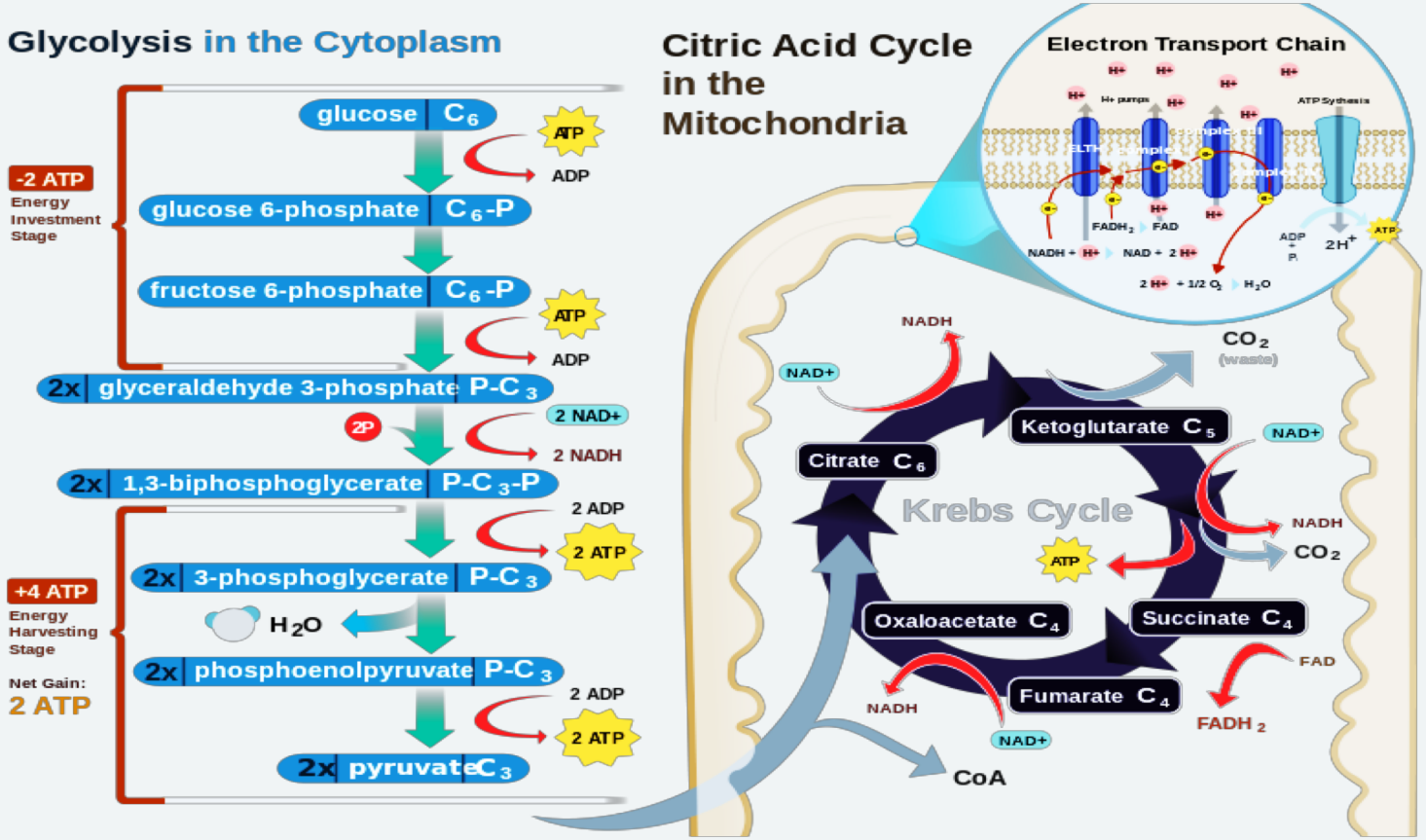
Lepus europaeus' Phylogeography

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συνεξελιξη - Ευρωπαϊκος λαγος (*Lepus europaeus*)



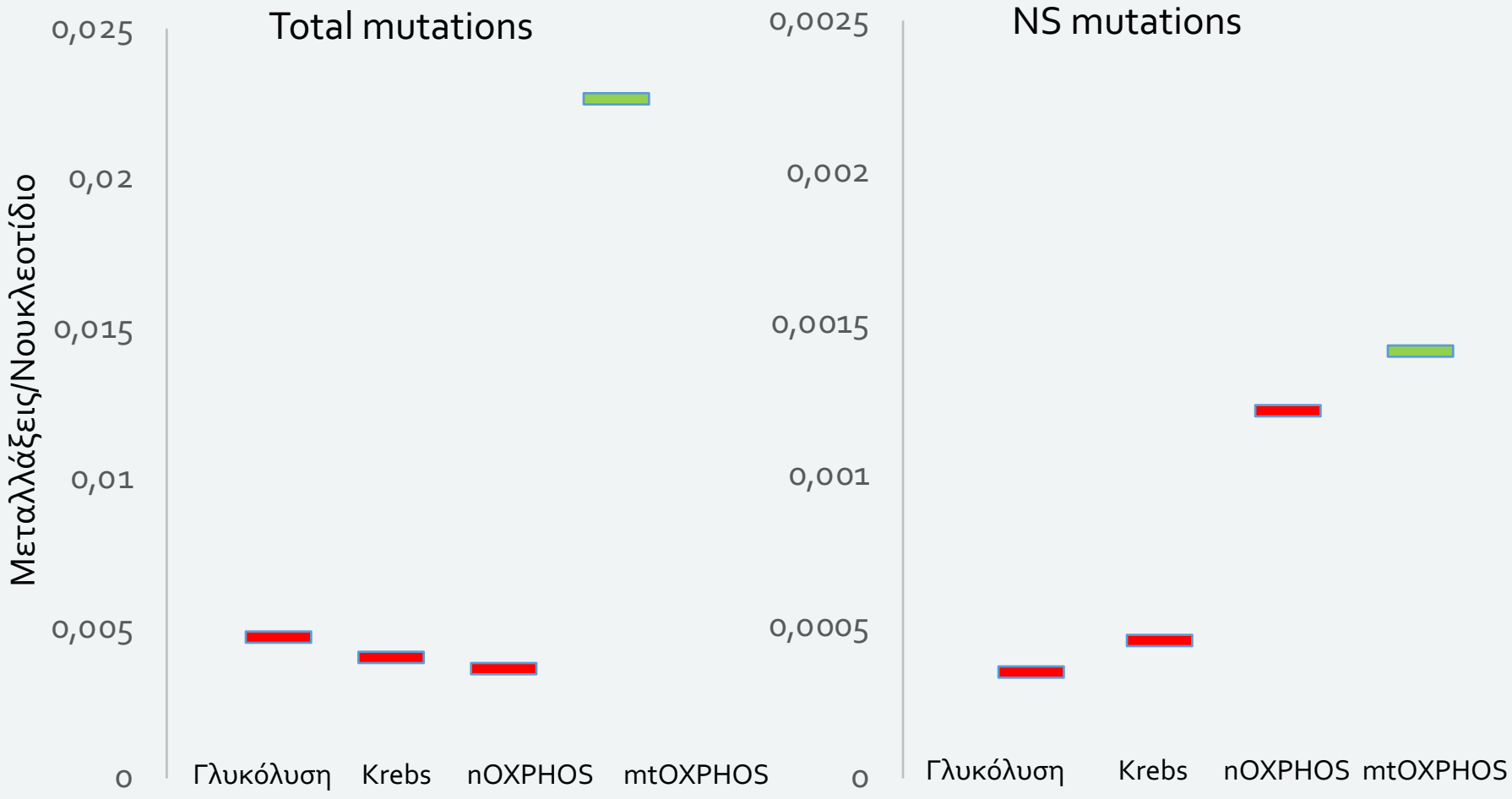
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

L. europaeus

Ρυθμοί μεταλλάξεων ανά διεργασία



Amoutzias et al.PLoS One.11(7):e0159939.2016

BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

L. europaeus

Σχετικοί Ρυθμοί μεταλλάξεων

Amoutzias et al.PLoS One.11(7):e0159939.2016

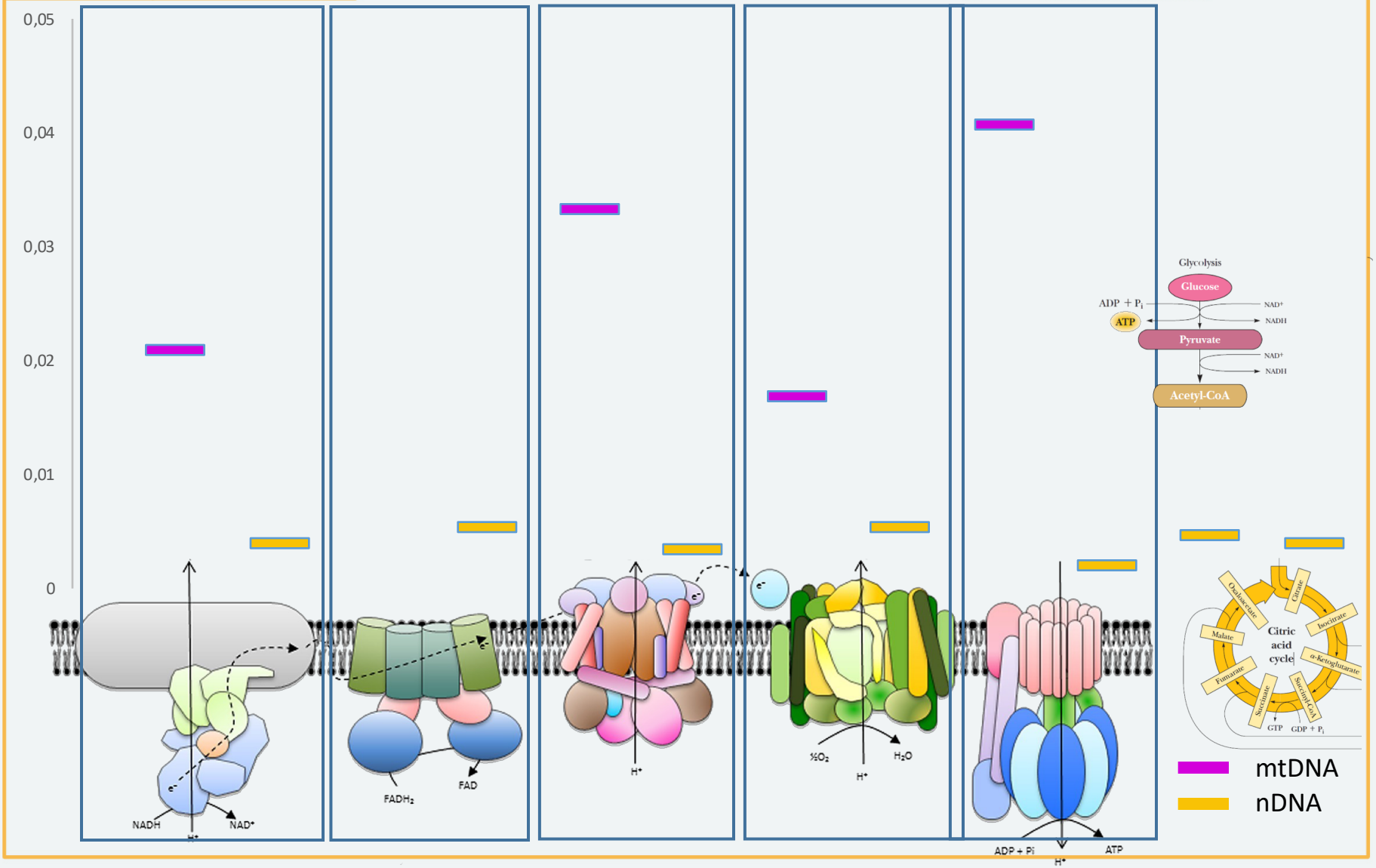
BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

L. europaeus

Ρυθμοί μεταλλάξεων ανά σύμπλοκο



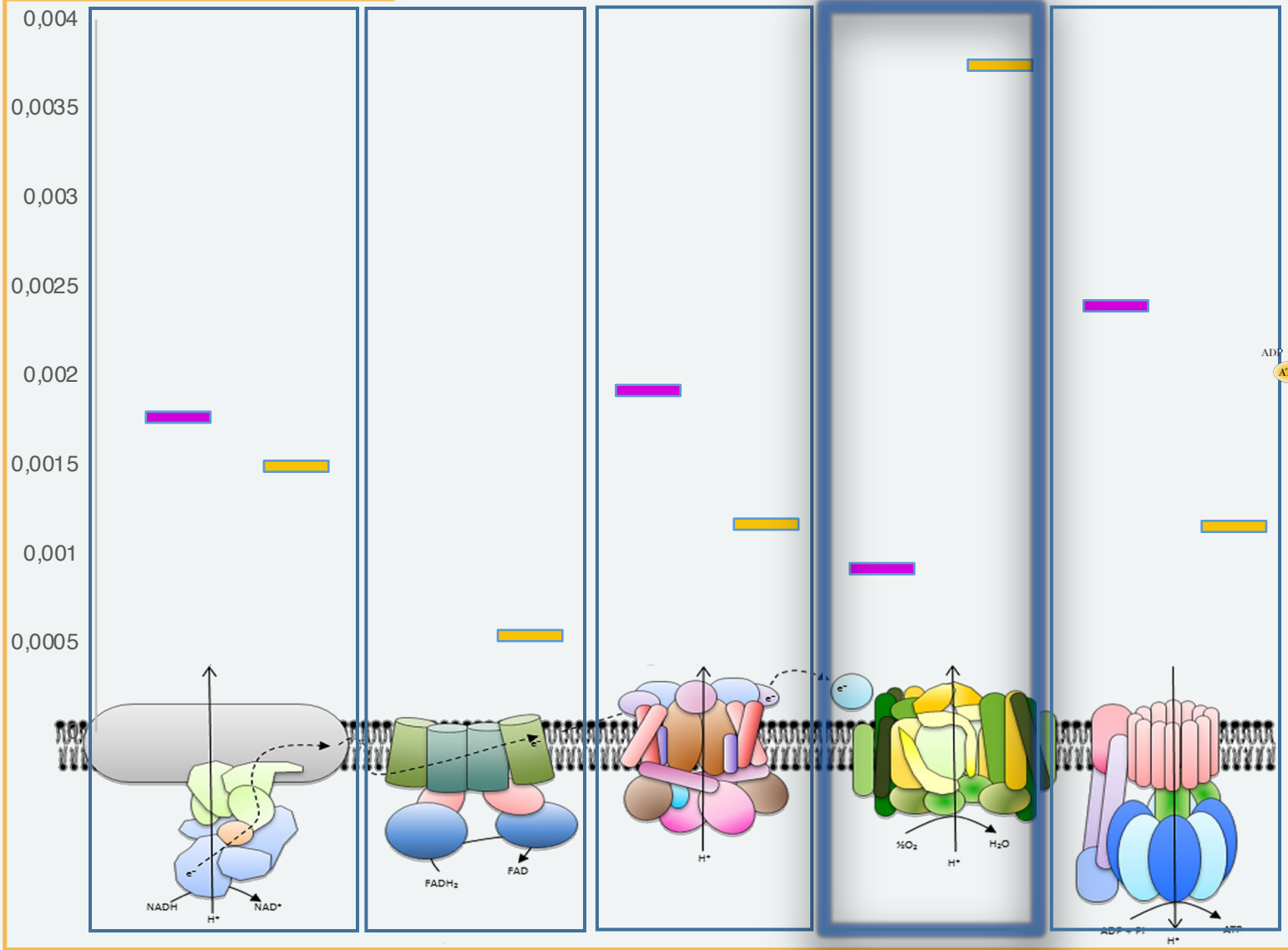
BIOZ
Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

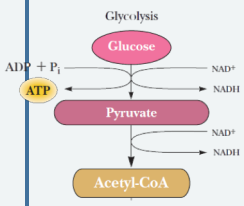
▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

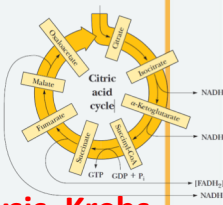
B&B
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

L. europaeus

Ρυθμοί dns ανά σύμπλοκο







Glycolysis Krebs

mtDNA

nDNA

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συζήτηση

Η βέλτιστη λειτουργικότητα του OXPHOS επιτυγχάνεται από ομάδες συμπροσαρμοσμένων γονιδίων μιτοχονδρίου/πυρήνα

↓

Κάθε πληθυσμός/είδος εμφανίζει μια δική του «εξελικτική τροχιά», μέσω της **συνεξέλιξης των αλληλεπιδρώντων γονιδίων**

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συζήτηση

Η μοναδική εξελικτική πορεία κάθε ταξινομικής ομάδας οδηγεί σε γενετική **διαφοροποίηση στο μιτοπυρηνικό επίπεδο**

↓

Η διαφοροποίηση ενισχύεται σε περιπτώσεις αναπαραγωγικής απομόνωσης και **απουσίας γονιδιακής ροής**

▷ Γιαννούλης Θεμιστοκλής

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συζήτηση

Η απουσία γονιδιακής ροής προκύπτει από την απώλεια αρμοστικότητας των απογόνων και αποτελεί το πρώτο βήμα σε διαδικασίες **ειδογένεσης**

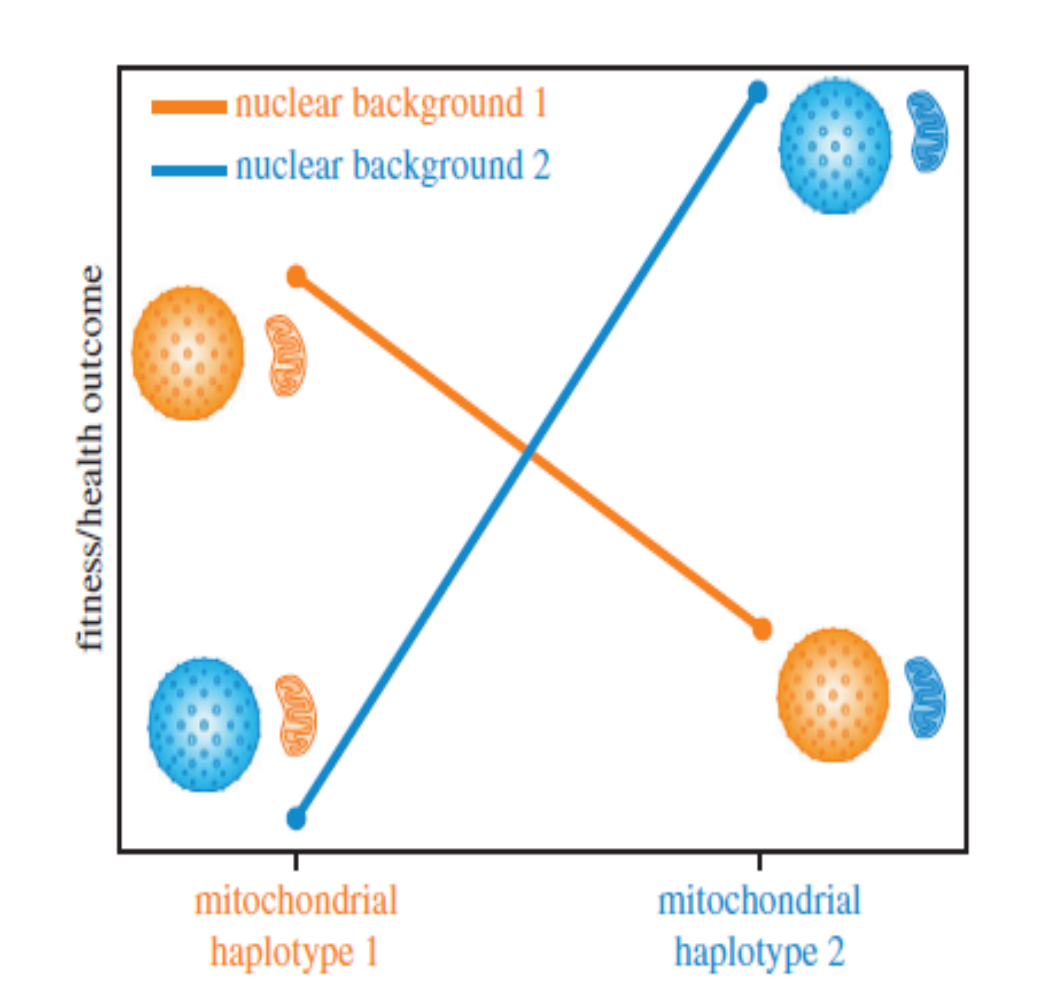
G.E. Hill

"Η διαδικασία της ειδογένεσης είναι η διαδικασία της διαφοροποίησης των συμπροσαρμοσμένων γονιδίων μιτοχονδρίου και πυρήνα, τα οποία είναι σε θέση να ορίσουν ένα είδος και να διατηρήσουν την ταυτότητά του"

▷ Giannoulis Themistoklis

B&B Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συμπερασματα – Η εννοια του ειδους



Μιτο-πυρηνικη συμβατοτητα ως ο βασικος μοχλος

BIOZ

Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας

Thank you!

Themistoklis Giannoulis

Laboratory of Genetics, Comparative and Evolutionary Biology

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας