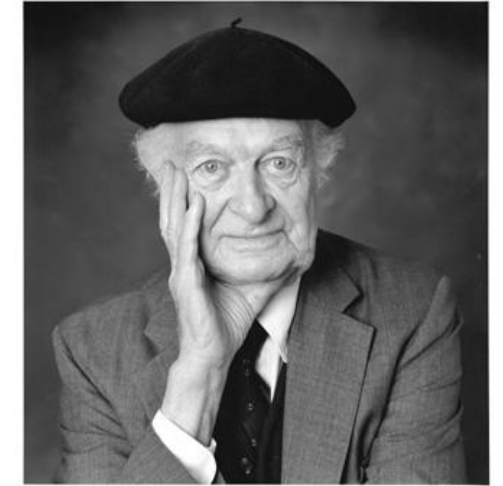
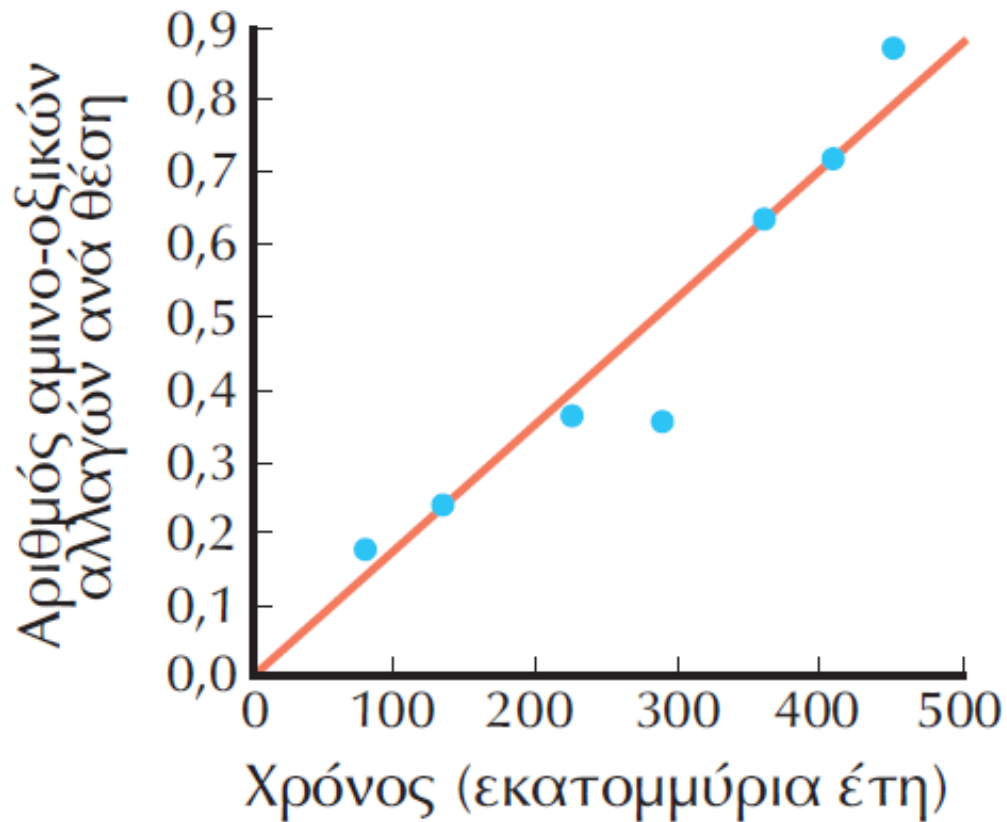


Μοριακό ρολόι

Παρατήρησαν ότι ο αριθμός των διαφορών των αμινοξέων στην αιμοσφαιρίνη μεταξύ διαφορετικών σπονδυλωτών μεταβάλλεται περίπου γραμμικά με το χρόνο (περίπου $1,2 \times 10^{-9}$ αμινοξικές αλλαγές ανά έτος), όπως υπολογίζεται από τα απολιθώματα.

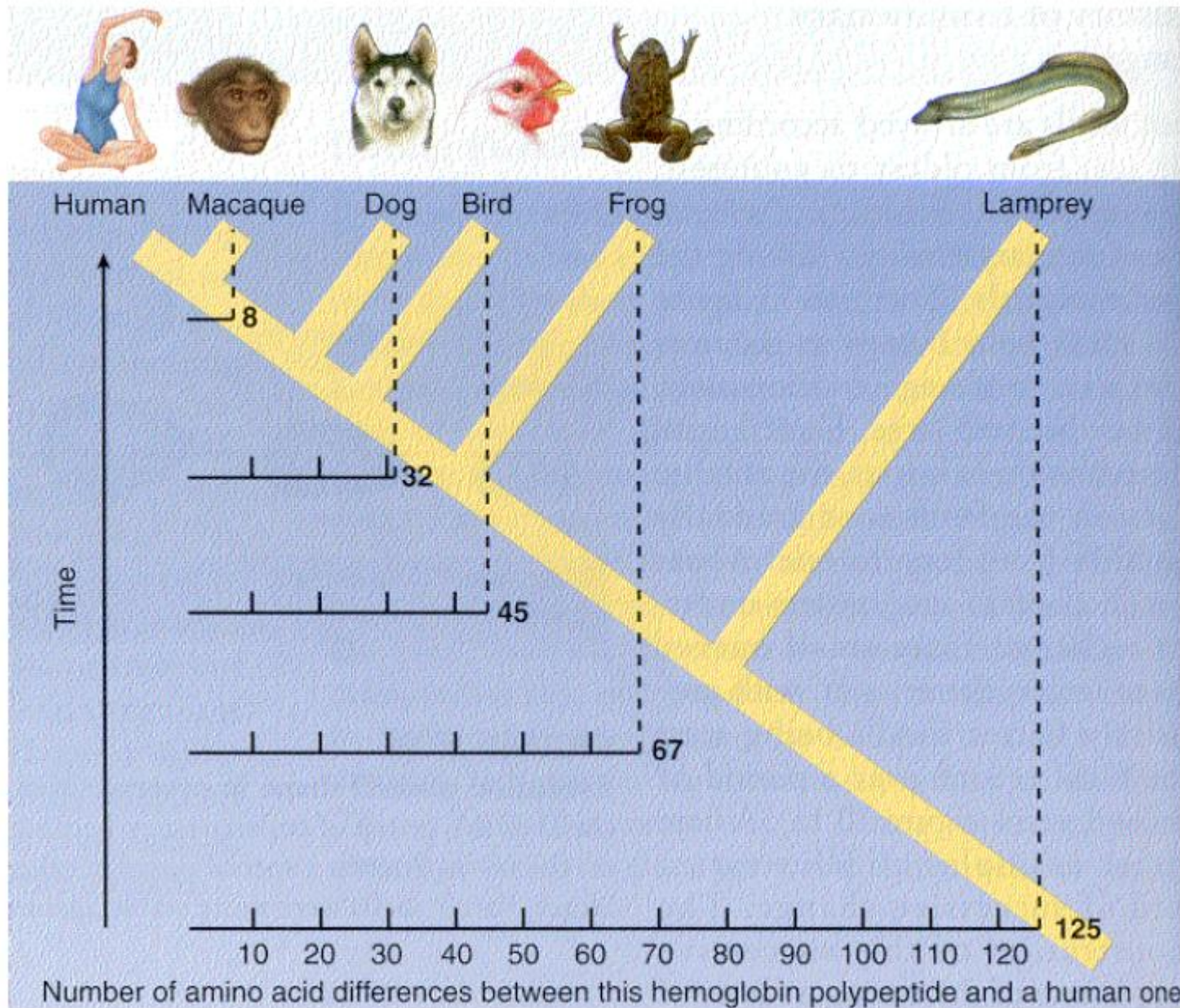


Οι E. Zuckerkandl και L. Pauling, (1962)

Διατύπωσαν την άποψη ότι ο ρυθμός εξέλιξης ενός συγκεκριμένου γονιδίου και της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί παραμένει σταθερός μέσα στο χρόνο, ακόμα και αν εξελίσσεται εντός πολύ διαφορετικών οργανισμών.

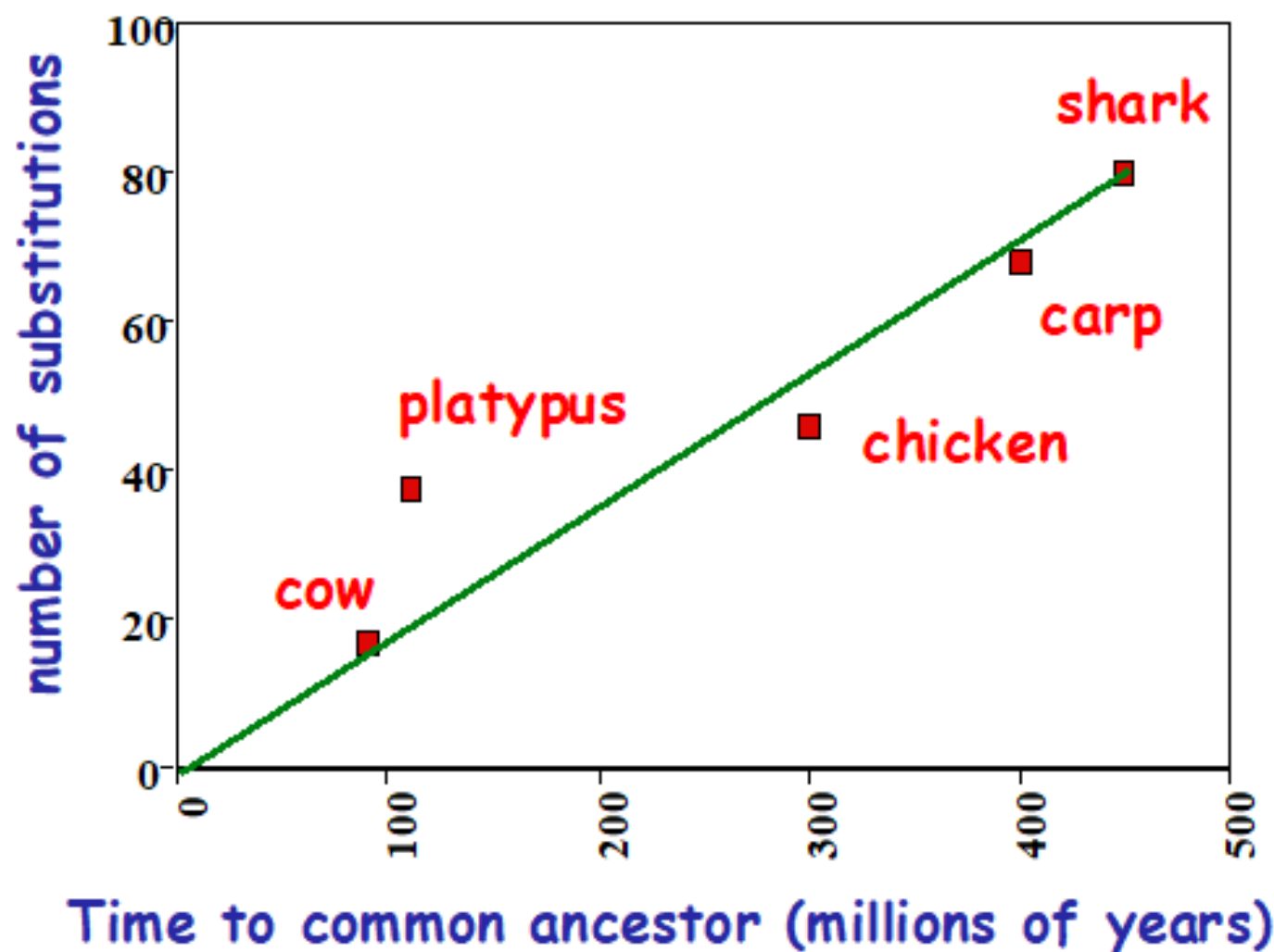
Επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοριακό ρολόι (molecular clock) προκειμένου να υπολογιστούν οι χρόνοι εξελικτικής απόκλισης (evolutionary divergence) ανάμεσα στα είδη.

Οι αμινοξικές διαφορές της αιμοσφαιρίνης σε διάφορους οργανισμούς

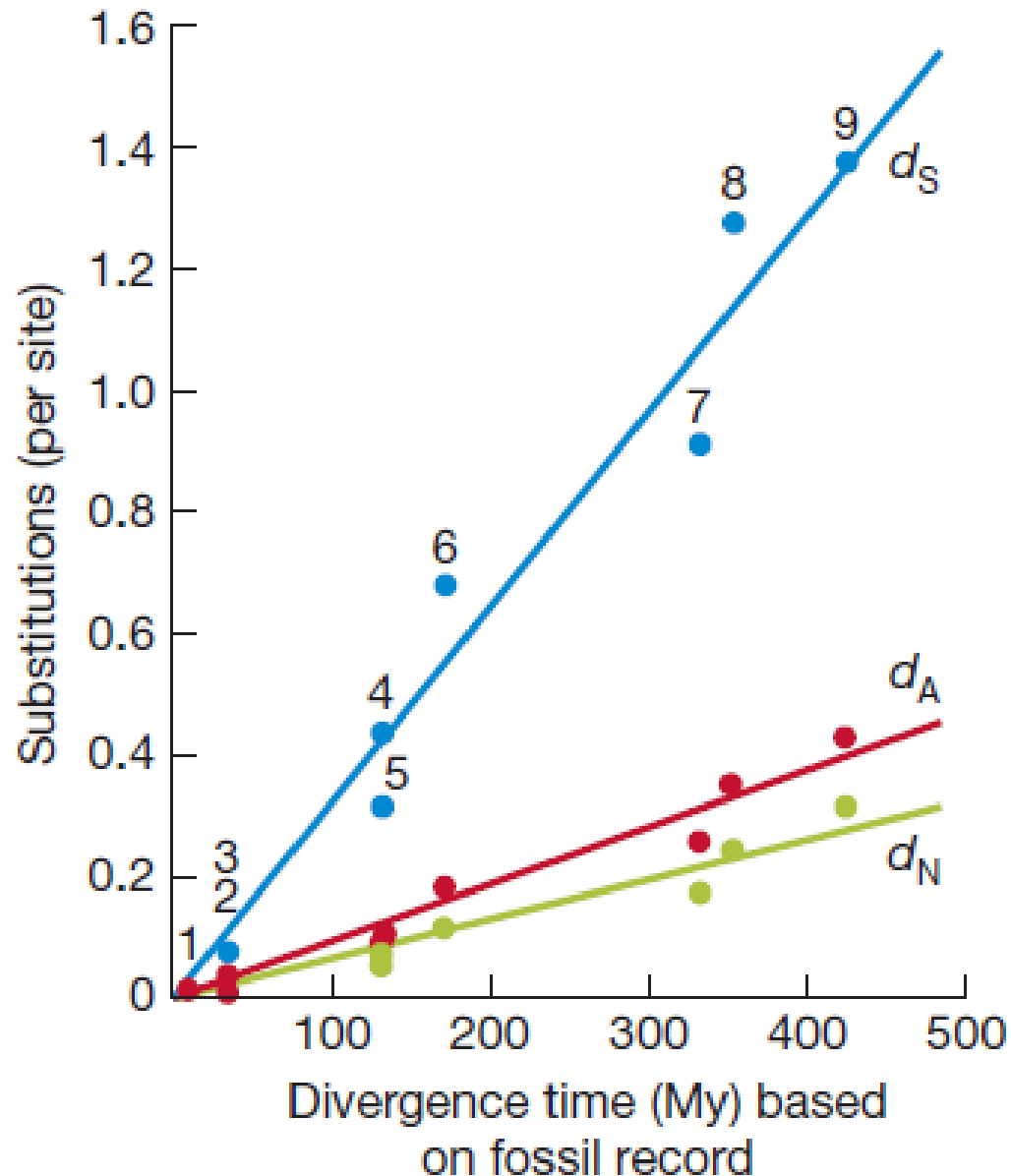


The molecular clock for alpha-globin:

Each point represents the number of substitutions separating each animal from humans



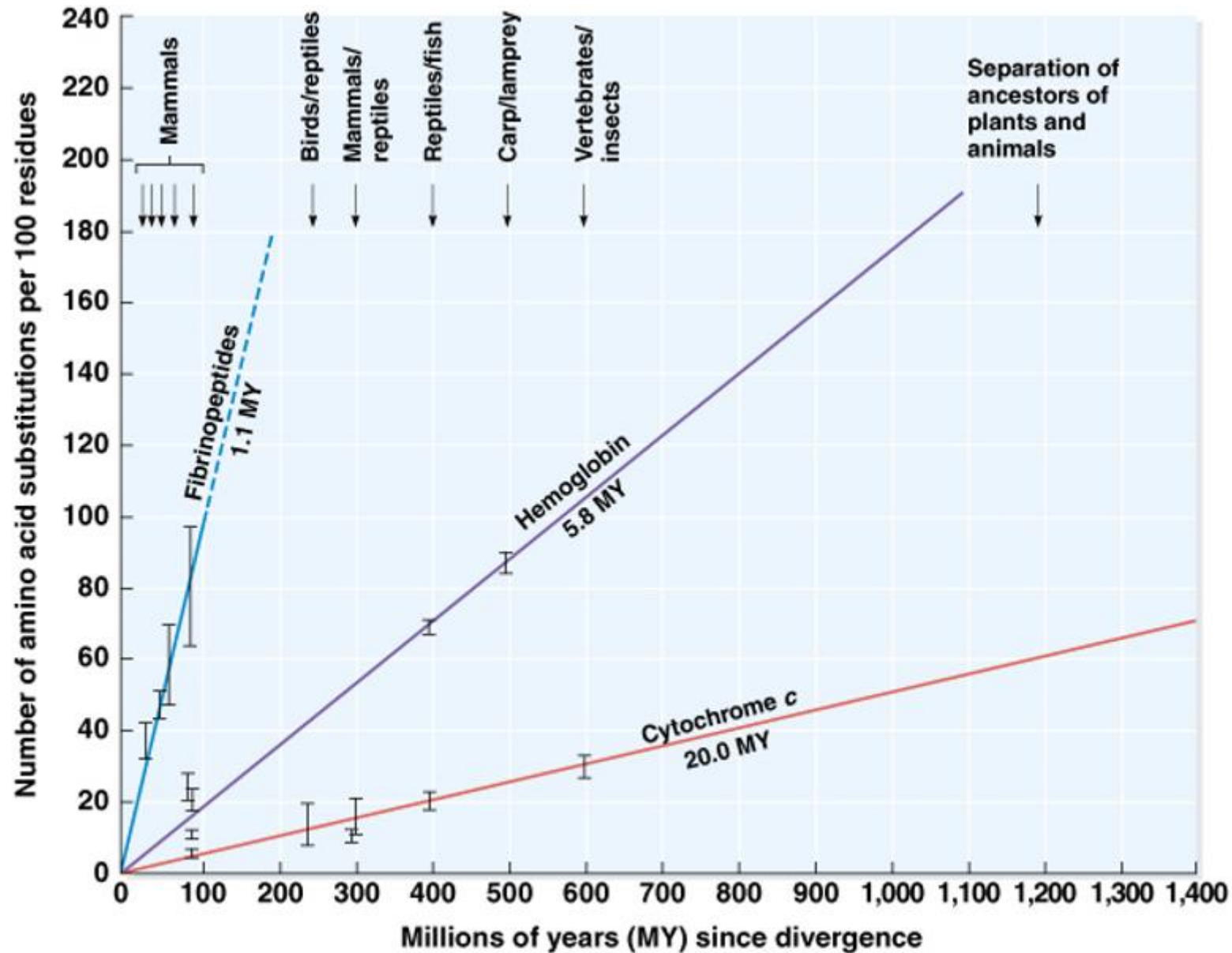
Τα μοριακά ρολόγια που βασίζονται σε διαφορετικά είδη δεδομένων «κτυπούν» με διαφορετικούς ρυθμούς.



Ο άξονας x δείχνει το χρόνο από τον πιο πρόσφατο κοινό πρόγονο ανθρώπων και εννέα άλλων σπονδυλωτών, (1 = χιμπατζή, 2 = οραγγουτάνιο, 3 = μακάκα, 4 = ποντίκι, 5 = αγελάδα, 6 = οβός, 7 = κοτόπουλο, 8 = δυτικός κοκκινωπός βάτραχος, 9 = ζέβρα), όπως καθορίστηκε από απολιθώματα.

Ο άξονας y καταγράφει τον αριθμό των αμινοξικών υποκαταστάσεων (d_A), τον αριθμό των συνώνυμων υποκαταστάσεων (d_S) και τον αριθμό των μη συνωνυμικών υποκαταστάσεων DNA (d_N) ανά θέση μεταξύ ανθρώπων και των υπολοίπων ειδών, με βάση 4198 τόπους.

Το μοριακό ρολόι χτυπά με διαφορετικούς ρυθμούς για διάφορες πρωτεΐνες.



ΠΙΝΑΚΑΣ 13.2. Ρυθμοί απόκλισης διαφορετικών πρωτεϊνών

Πρωτεΐνη	Αμινοξικές υποκαταστάσεις ανά θέση ανά δισεκατομμύριο έτη
Ινωδοπεπτίδια	8,3
Πανγκρεατική ριβονουκλεάση	2,1
Λυσοζύμη	2,0
α-σφαιρίνη	1,2
Μυοσφαιρίνη	0,89
Ινσουλίνη	0,44
Κυτόχρωμα C	0,3
Ιστόνη H4	0,01

Δεδομένα από Kimura M. 1983. *The neutral theory of molecular evolution*, Cambridge University Press, Cambridge, Πίνακας 4.1, and Li. W.-H. 1997. *Molecular evolution*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, Πίνακας 7.1.

Οι υπολογισμοί βασίζονται σε πρωτεϊνικές αλληλουχίες από ένα ευρύ φάσμα πολυκύτταρων ευκαρυωτών.

Οι ιστόνες είναι υπεύθυνες για τη συσκευασία του ευκαρυωτικού DNA και έχουν διατηρήσει την ίδια βασική λειτουργία. Από την άλλη μεριά, τα ινωδοπεπτίδια απομακρύνονται από τα το μόριο του ινωδογόνου κατά την πήξη του αίματος και η λεπτομερής τους αλληλουχία μοιάζει άσχετη.

Για παράδειγμα, η ιστόνη H4 είναι πολύ συντηρημένη σε όλους τους ευκαρυώτες και ανάμεσα στα μπιζέλια και τον άνθρωπο διαφέρει μόνο σε 2 από τα 100 αμινοξέα.

Αντίθετα, τα ινωδοπεπτίδια αποκλίνουν εκατοντάδες φορές ταχύτερα.

Αυτά τα πρότυπα ερμηνεύονται πρωταρχικά από τις διαφορές στο βαθμό περιορισμού της λειτουργία τους.

Κυτόχρωμα c, ένα εξελικτικά συντηρημένο ένζυμο

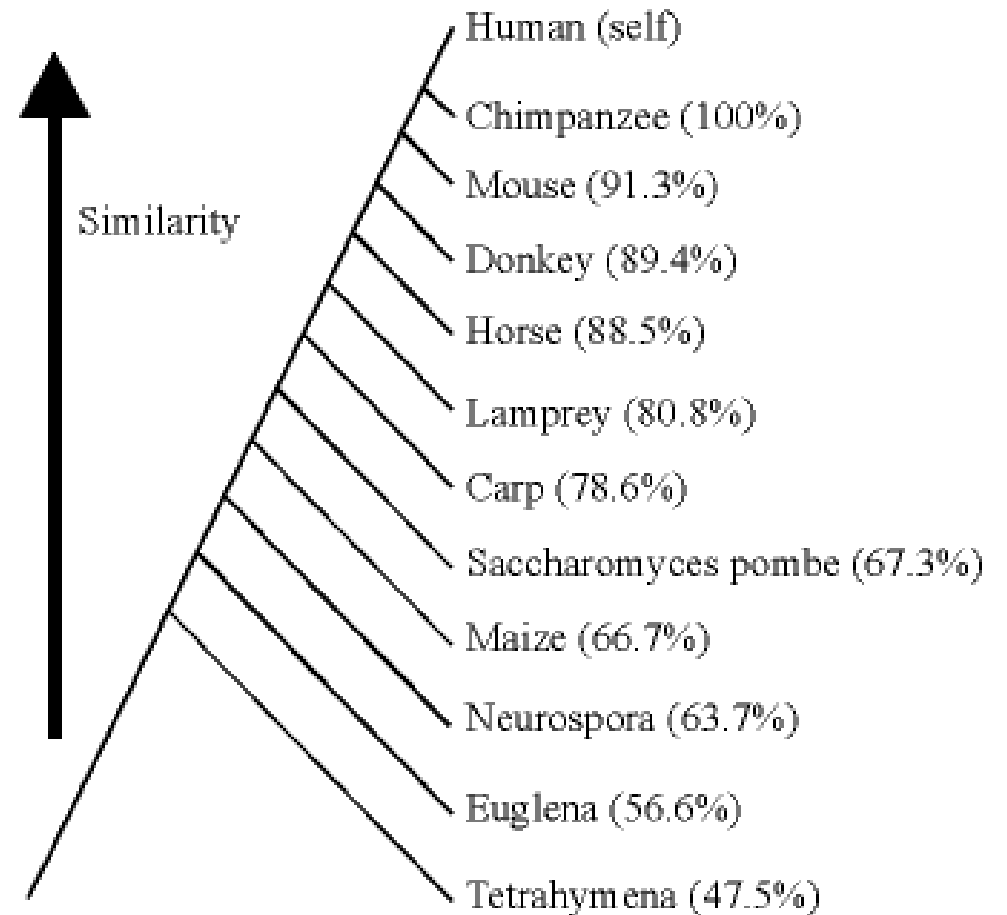
Αλληλουχία αμινοξέων γνωστή για περισσότερα από 100 είδη

- Ορισμένες περιοχές συσσωρεύουν αλλαγές σχετικά γρήγορα
- Ορισμένα αμινοξικά κατάλοιπα είναι αμετάβλητα (π.χ. εκείνα που αλληλεπιδρούν με την ομάδα της αίμης και είναι απαραίτητα για τη λειτουργία της πρωτεΐνης)

Οι παρατηρούμενες μεταβολές μπορεί:

- να έχουν ουδέτερο αποτέλεσμα
- να αντιπροσωπεύουν δευτερεύουσες προσαρμοστικές τροποποιήσεις μεταξύ των ειδών
- να υποδεικνύουν μείζονες μεταβολές στο ένζυμο (π.χ., πολική → μη πολική υποκατάσταση)

Cytochrome C Protein Sequences Compared to Humans
(Percent Homology)

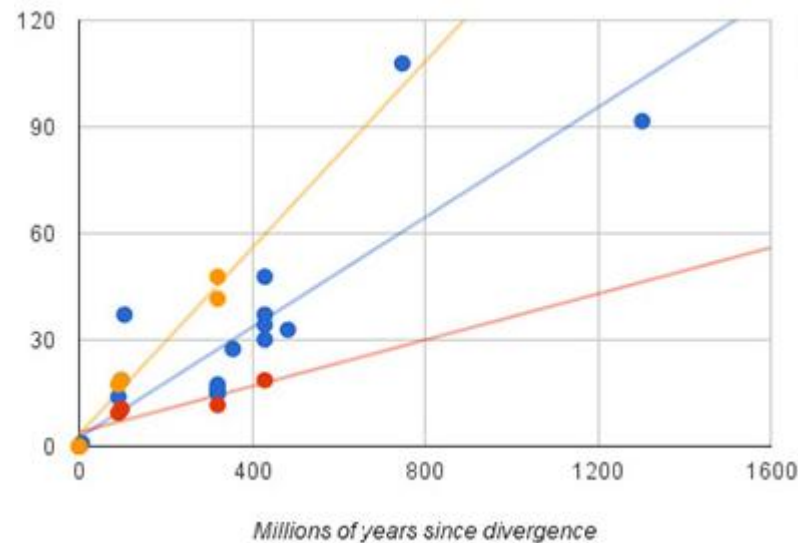
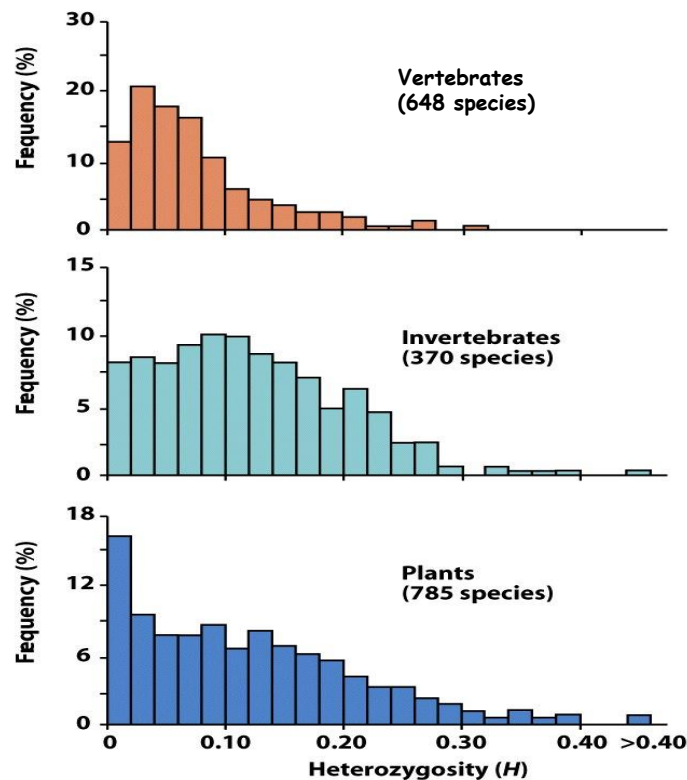


Συνολικά, εξελικτικά συντηρητικό ένζυμο υποδηλώνει ότι μόνο οι ελάχιστον τροποποιήσεις είναι ανεκτές.

ΘΕΩΡΙΑ ΤΗΣ ΟΥΔΕΤΕΡΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ

Οι παρατηρήσεις:

1. της ύπαρξης εκτεταμένης ποικιλομορφίας πρωτεϊνικών μορίων στη φύση (αλλοένζυμα) και
2. Η υπόθεση του μοριακού ρολογιού (molecular clock) που διατυπώθηκε το 1962 (Zuckerkandl and Pauling).



Οδήγησαν

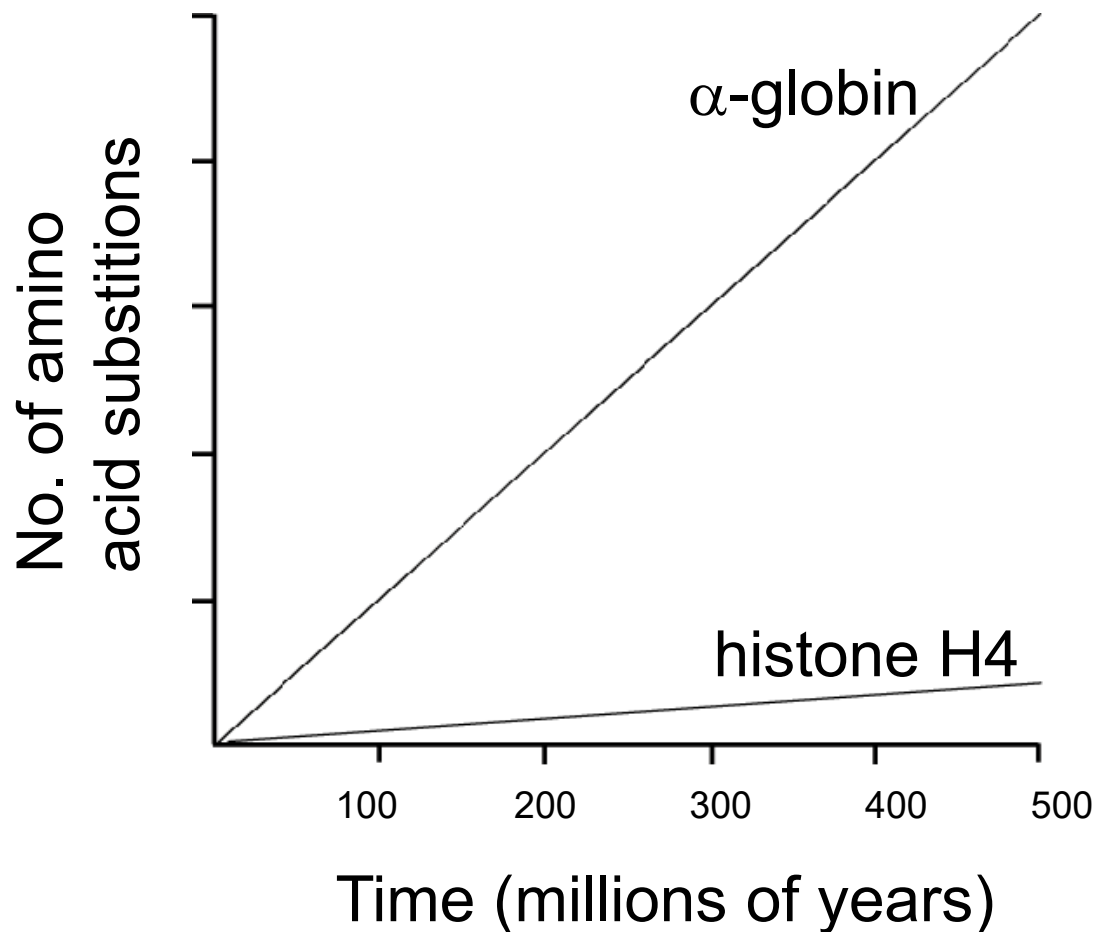
Τον Motoo Kimura το 1968 στη διατύπωση της **θεωρίας της ουδέτερης μοριακής εξέλιξης** (The neutral theory of molecular evolution)



Τα βασικά σημεία της ουδέτερης Θεωρίας εξέλιξης

1. Ο ρυθμός (rate) εξέλιξης μιας πρωτεΐνης είναι γενικά σταθερός για κάθε της σημείο/θέση, ανά έτος. (Αυτή είναι η θεωρία του μοριακού ρολογιού)
2. Ο ρυθμός της ουδέτερης απόκλισης (αντικαταστάσεις ουδέτερων αλληλομόρφων) είναι ίσος με το μεταλλακτικό ρυθμό.
Ο ρυθμός αυτός δεν επηρεάζεται από το μέγεθος του πληθυσμού το οποίο εξετάζεται.
3. Οι ρυθμοί της πρωτεϊνικής εξέλιξης ποικίλλουν ανάλογα με το βαθμό επιλεκτικών περιορισμών (constraints).
 - «Επιλεκτικός περιορισμός» είναι η ικανότητα της πρωτεΐνης, ή μη, να «ανέχεται» τυχαίες μεταλλαγές.
 - Για πολύ «περιοριζόμενα» μόρια, οι περισσότερες μεταλλαγές είναι θνησιγόνες και λίγες είναι ουδέτερες.
 - Για ασθενώς «περιοριζόμενα» μόρια, οι περισσότερες μεταλλαγές είναι ουδέτερες και λίγες είναι θνησιγόνες.

Ο βαθμός περιορισμού καθορίζει το ρυθμό της εξέλιξης



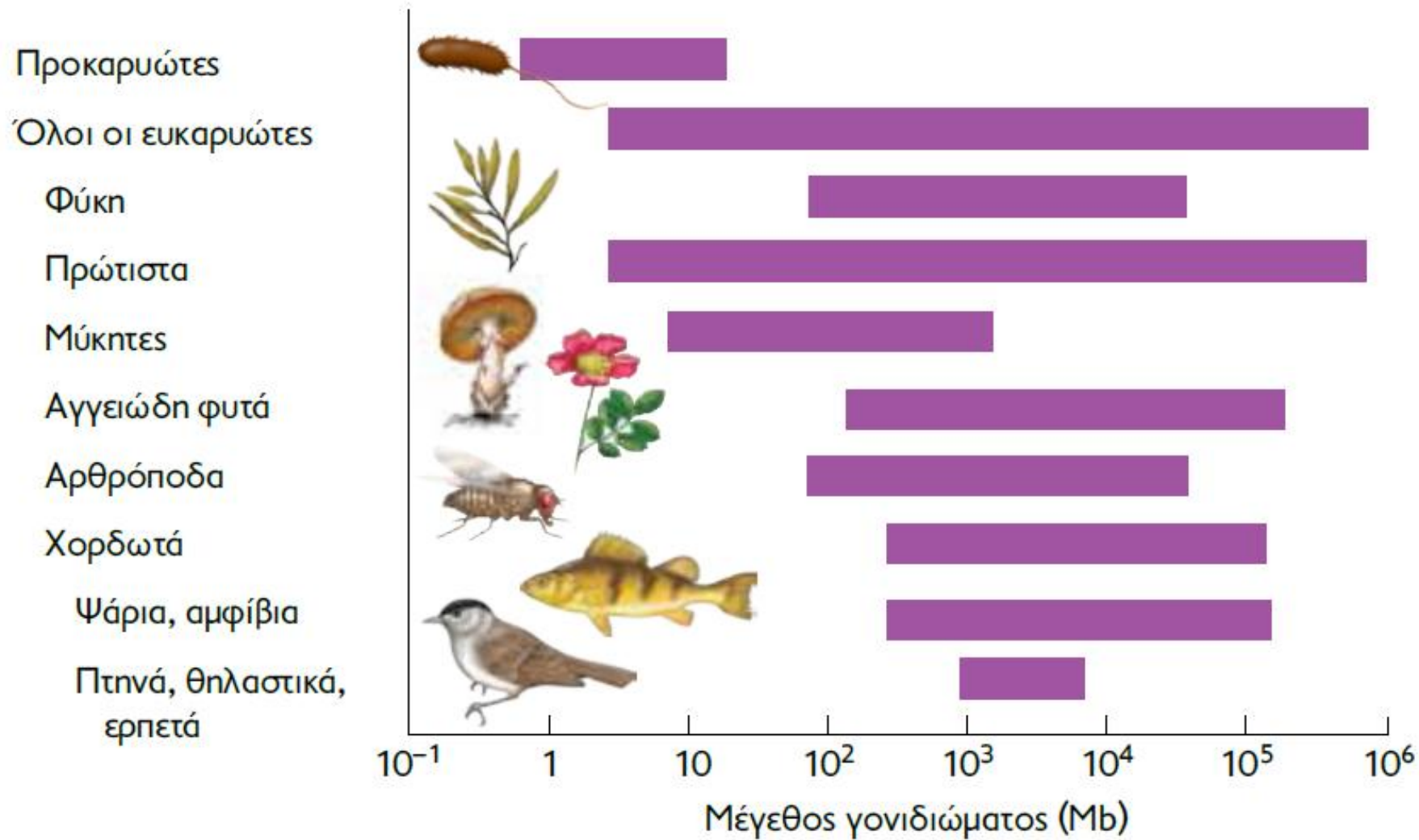
Χαμηλός περιορισμός →
ταχύτερος ρυθμός εξέλιξης

Υψηλός περιορισμός →
χαμηλότερος ρυθμός εξέλιξης

Η εξέλιξη των γονιδίων και των γονιδιωμάτων



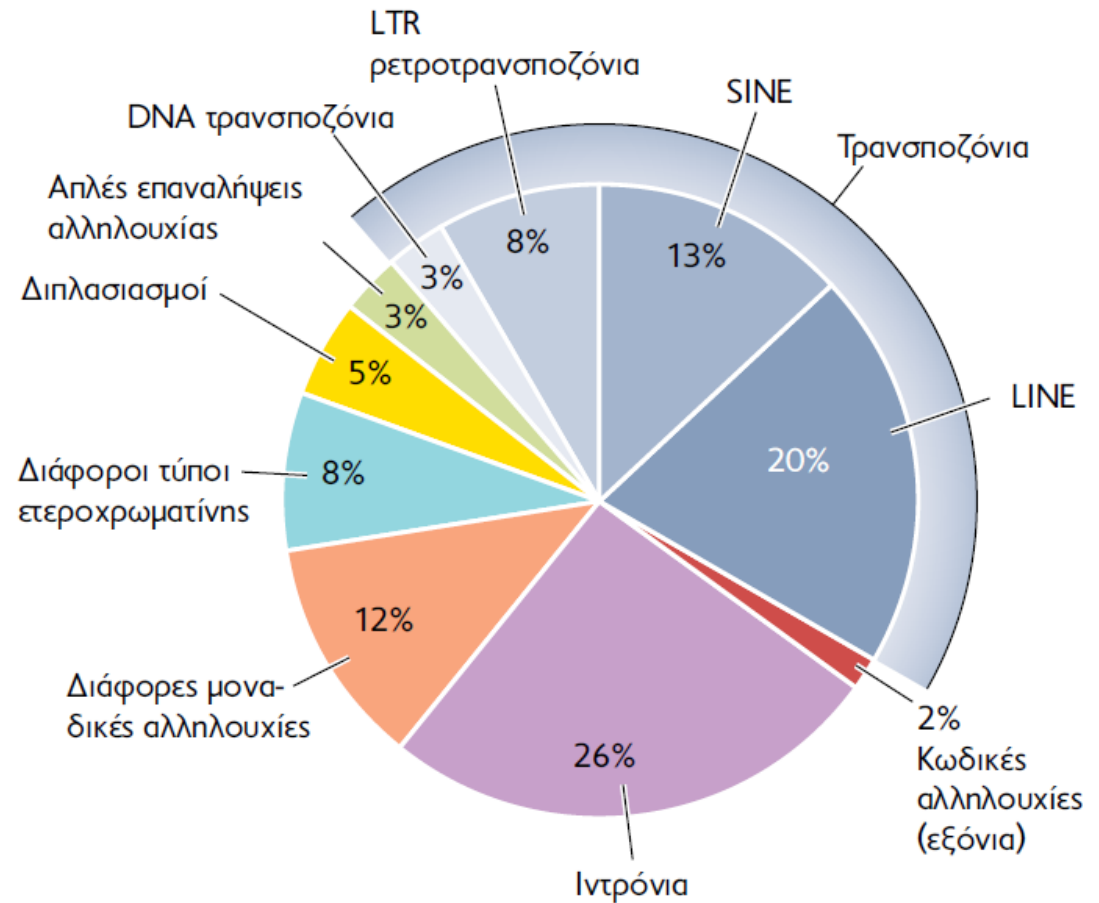
Διακύμανση του μεγέθους των γονιδιωμάτων



Ορισμένα πρώτιστα (μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί) έχουν γονιδιώματα που είναι εκατοντάδες φορές μεγαλύτερα από εκείνα οποιουδήποτε θηλαστικού.

ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

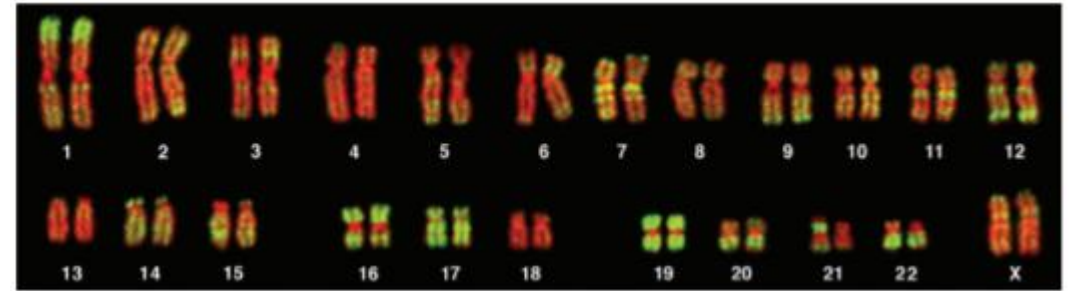
- Στα ευκαρυωτικά, σχεδόν όλα τα γονίδια έχουν εσώνια. Αυτά επιτρέπουν στο mRNA να συναρμολογηθεί με διαφορετικούς τρόπους (**εναλλακτική συρραφή**) για να δημιουργηθεί μια ποικιλία πρωτεϊνών.
- Οι χρωσωμικές μεταλλαγές που φέρνουν σε επαφή εξώνια από διαφορετικά γονίδια δημιουργήσαν νέα γονίδια με νέες λειτουργίες. Για παράδειγμα, το φυτό *Arabidopsis* συρράπτει μερικά από τα γονίδια του με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται.
- Ένα άλλο εκπληκτικό χαρακτηριστικό του γονιδιώματος είναι ότι μερικές φορές **γονίδια αλληλεπικαλύπτονται**, έτσι ώστε ένα τμήμα του χρωμοσώματος να κωδικοποιεί δύο διαφορετικές πρωτεΐνες.



- Στο ανθρώπινο γονιδίωμα λιγότερο από το 2% του DNA αντιστοιχεί στις αλληλουχίες που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.
- Διαφορετικά είδη μεταθετών στοιχείων (SINEs, LINEs, LTR retrotransposons, και DNA transposons) μαζί αποτελούν σχεδόν το ήμισυ του γονιδιώματος,
- ενώ τα εσώνια αποτελούν περισσότερο από το ένα τέταρτο.

Μεταθετά στοιχεία (transposable elements, TE), ή τρανσποζόνια.

- Αποτελούν σχεδόν το μισό του γονιδιώματός μας.
- Είναι μικρού μήκους αλληλουχίες DNA ικανές να εισάγουν επιπλέον αντίγραφα του εαυτού τους στο γονιδίωμα.



Σε αυτή τη φωτογραφία των χρωμοσωμάτων που απαρτίζουν το ανθρώπινο γονιδίωμα, περιοχές που είναι πλούσιες στο τρανσποζόνιο *Alu* φθορίζουν σε πράσινο χρώμα.

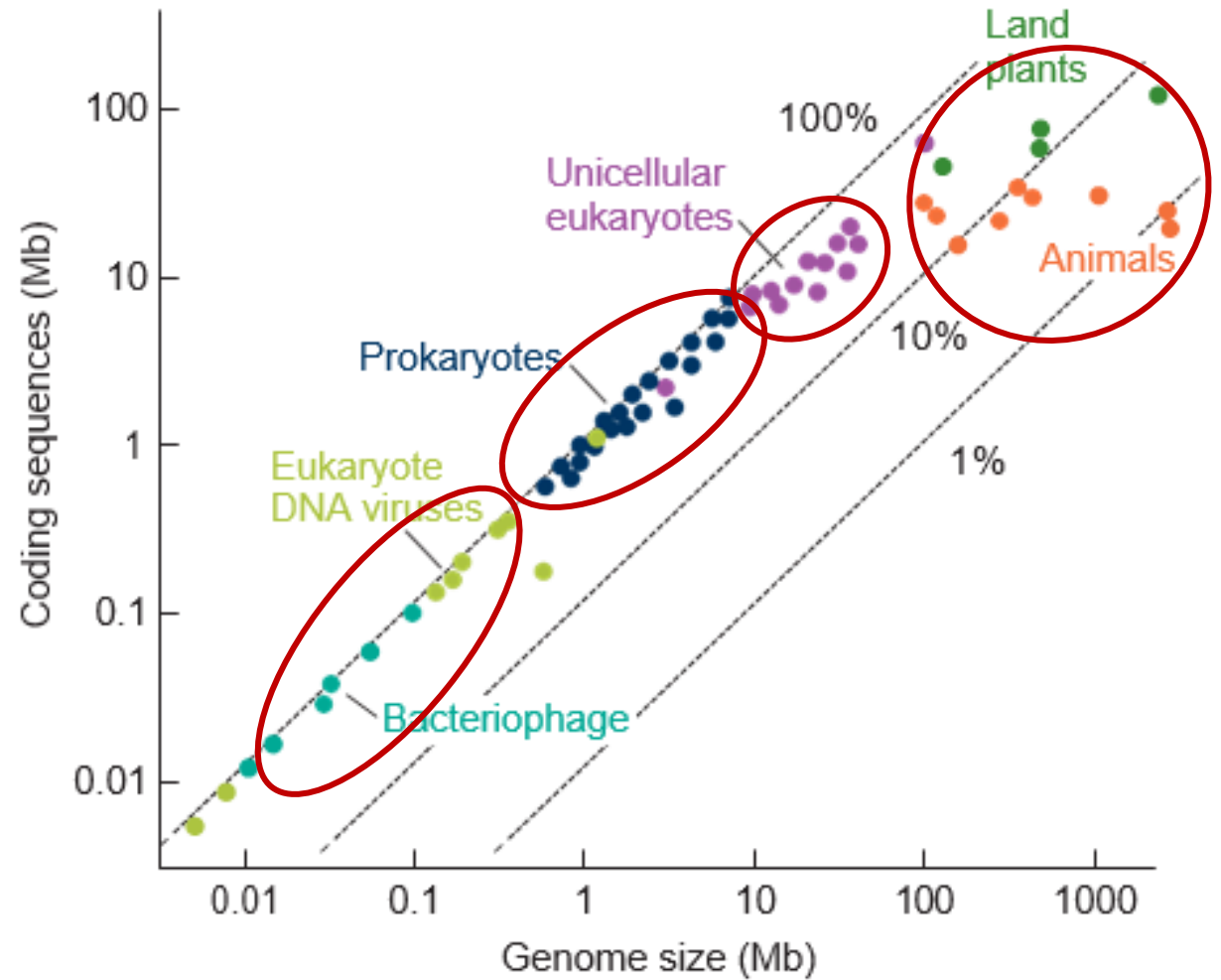
Το πιο άφθονο TE στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το οποίο ονομάζεται *Alu*, έχει μήκος περίπου 300 bp. Καθένας από εμάς διαθέτει περισσότερα από ένα εκατομμύριο αντίγραφα *Alu* που συνολικά συνιστούν ποσοστό μεγαλύτερο του 10% του γονιδιώματός μας.

Το *Alu* πολλαπλασιάζεται δημιουργώντας αντίγραφα του εαυτού του: η αλληλουχία DNA μεταγράφεται σε RNA, το οποίο στη συνέχεια μεταγράφεται αντίστροφα σε DNA και εισάγεται σε κάποια άλλη θέση του γονιδιώματος.

Μολονότι τα μεταθετά στοιχεία είναι σε μεγάλο βαθμό επιβλαβή για τους ξενιστές τους, κάποιες φορές παράγουν μια ωφέλιμη μεταλλαγή. Πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα TE ενδεχομένως να ευθύνονται για την εξελικτική προέλευση των ιντρονίων, τα οποία είναι σήμερα τόσο σημαντικά για τη γονιδιακή ρύθμιση.

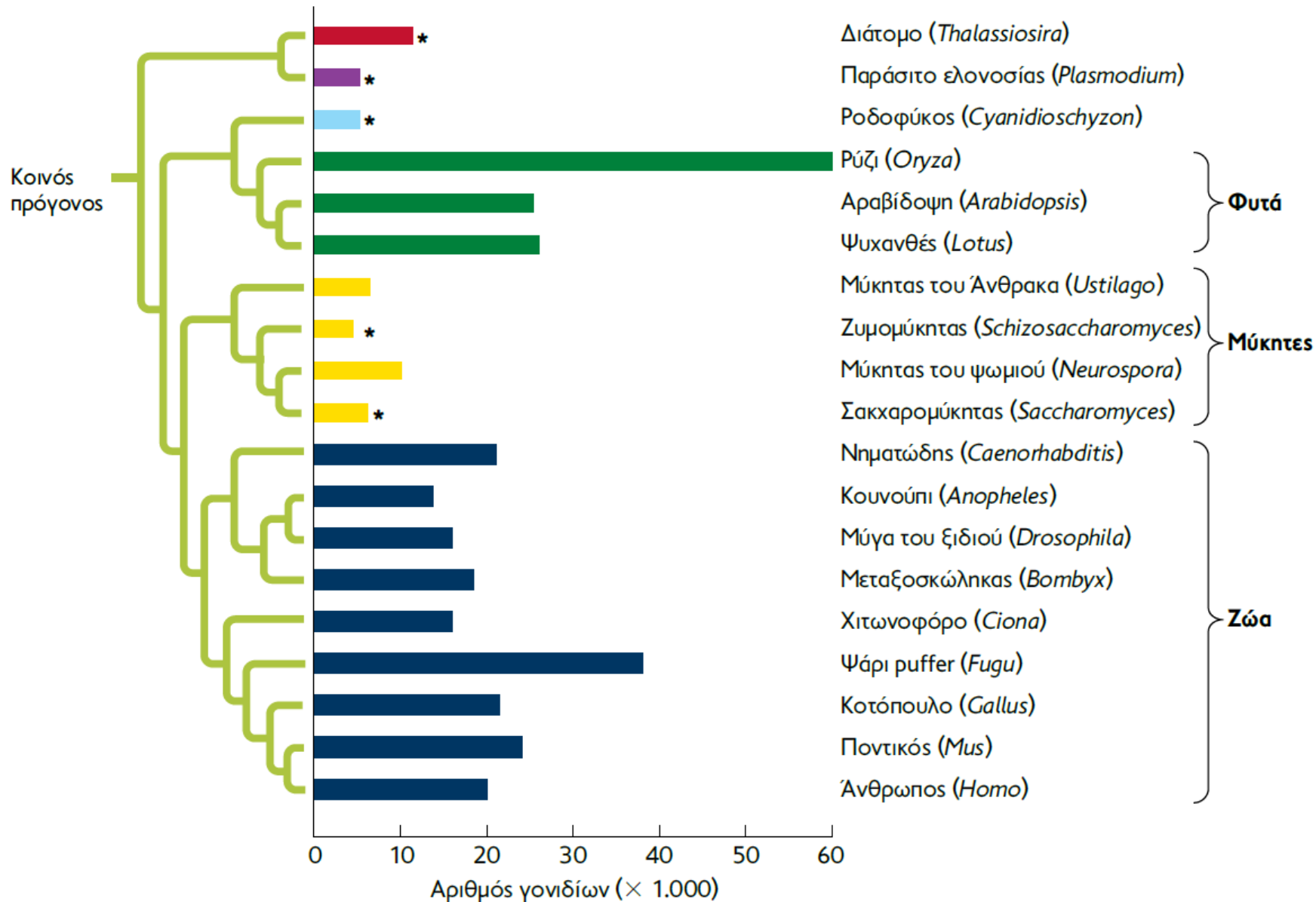
ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ

- Οι ιοί και οι προκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν ελάχιστο ή καθόλου μη κωδικοποιητικό DNA, έτσι ώστε σχεδόν το 100% του γονιδιώματός τους είναι αλληλουχία κωδικοποίησης.
- Αντίθετα, τα γονιδιώματα των περισσότερων ζώων και φυτών αποτελούνται κυρίως από μη κωδικοποιητικό DNA, το οποίο ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό σε ποσότητα. Σε ορισμένα είδη, λιγότερο από 1 % του γονιδιώματος είναι αλληλουχία κωδικοποίησης.
- Οι μονοκύτταροι ευκαρυώτες δείχνουν ένα ενδιάμεσο πρότυπο.



Η σχέση του δέντρου της ζωής μεταξύ του συνολικού περιεχομένου DNA του γονιδιώματος και της ποσότητας της αλληλουχίας του που κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες. Οι τρεις διακεκομμένες γραμμές υποδεικνύουν το ποσοστό του γονιδιώματος που αντιστοιχεί στις ακολουθίες κωδικοποίησης.

Φυλογενετική διάταξη του αριθμού των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σε ευκαρυώτες



- Οι πολυκύτταροι ευκαρυώτες με οργάνωση ιστών (φυτά και ζώα) έχουν περισσότερα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σε σχέση με τους περισσότερους μονοκύτταρους ευκαρυωτικούς, αλλά και πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς χωρίς διακριτούς ιστούς (που υποδεικνύονται με αστερίσκους).
- Το ρύζι έχει περισσότερο από διπλάσιο αριθμό γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σε σύγκριση με άλλα φυτά που αναπτύσσουν άνθη.
- Το ψάρι puffer έχει σχεδόν διπλάσιο αριθμό γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες από τον άνθρωπο.