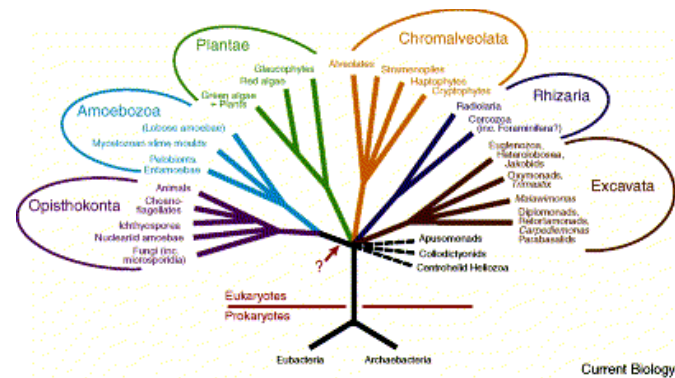
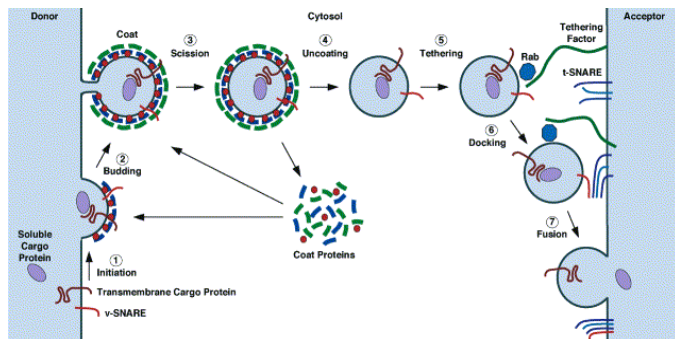


Εξελικτική βιολογία συστημάτων: Εξέλιξη της πολυπλοκότητας του συστήματος ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Λίλα Κουμάντου

koumandou@aua.gr



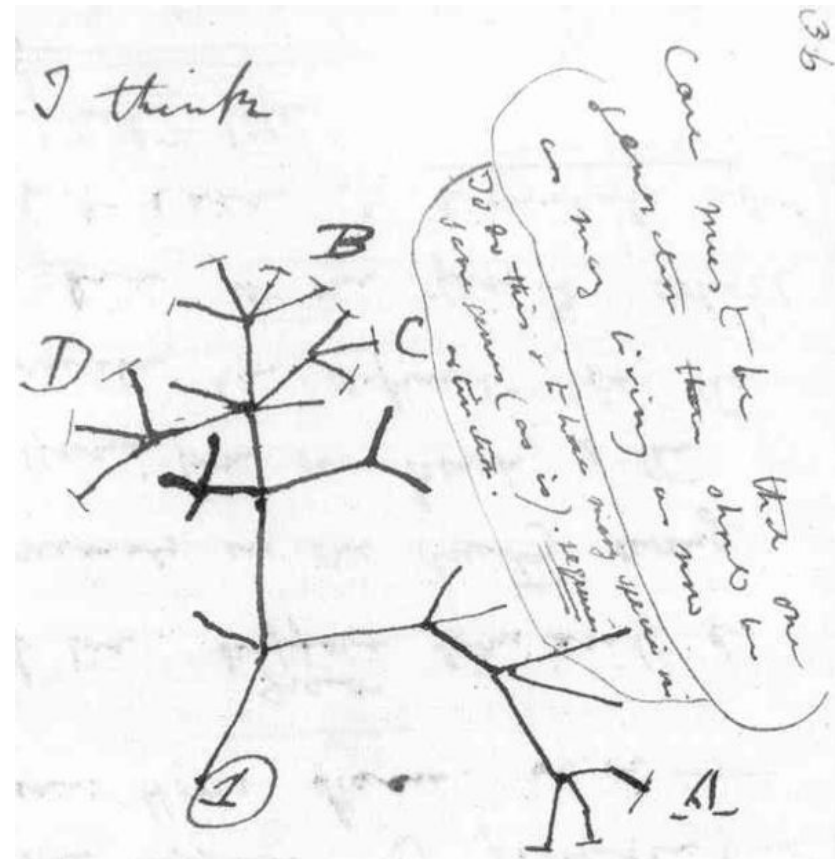
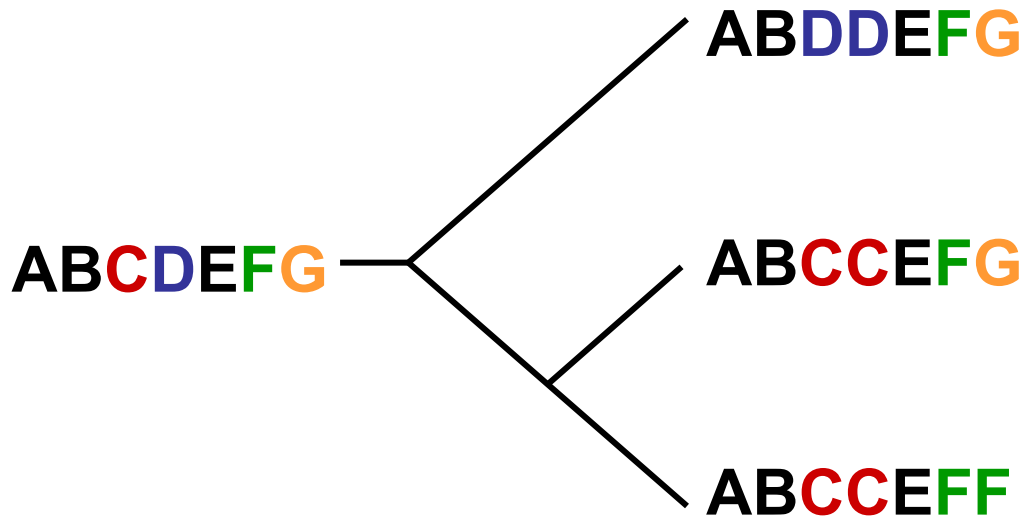
Σεμινάρια ΠΜΣ «Βιολογία Συστημάτων»

15 Απριλίου 2022

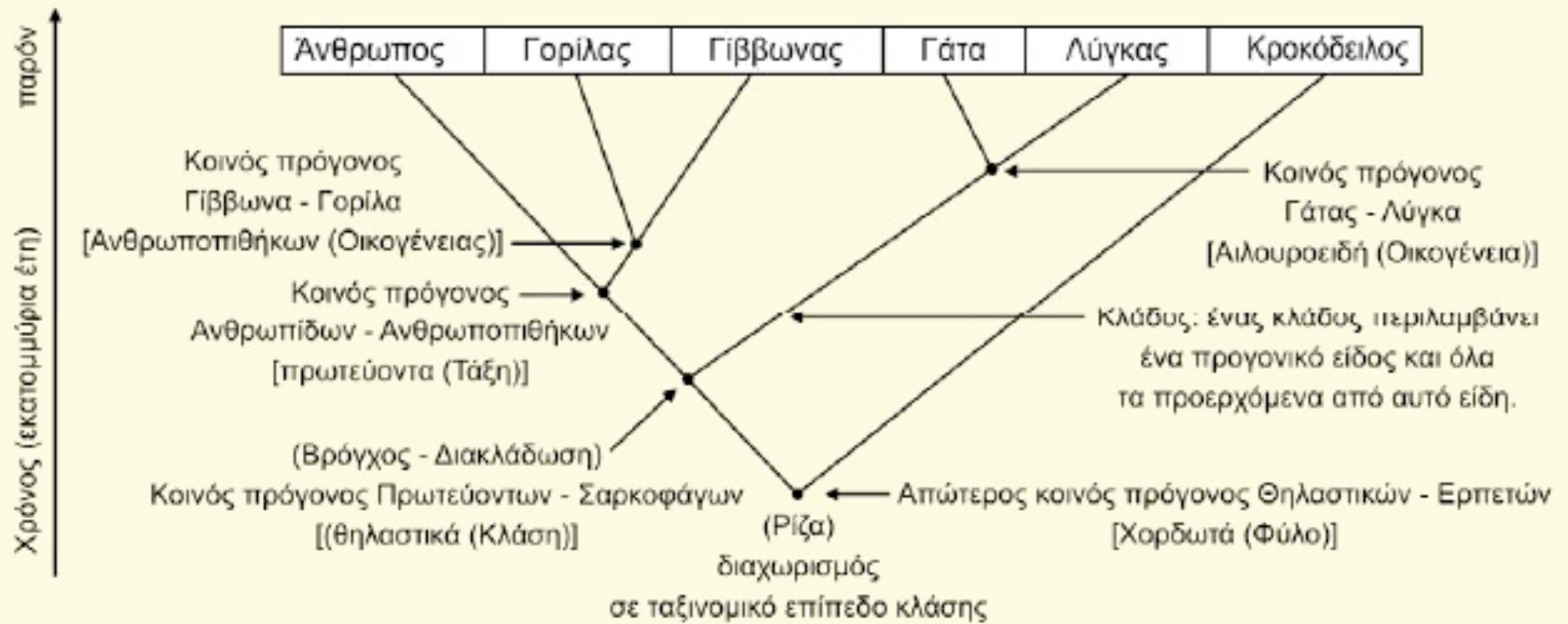
Επιμέρους ενότητες

- Εξελικτική βιολογία συστημάτων: συγκριτική γονιδιωματική και φυλογενετική ανάλυση
- Το σύστημα ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Ανασύσταση του συστήματος στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών οργανισμών
- Ανοιχτά ερωτήματα

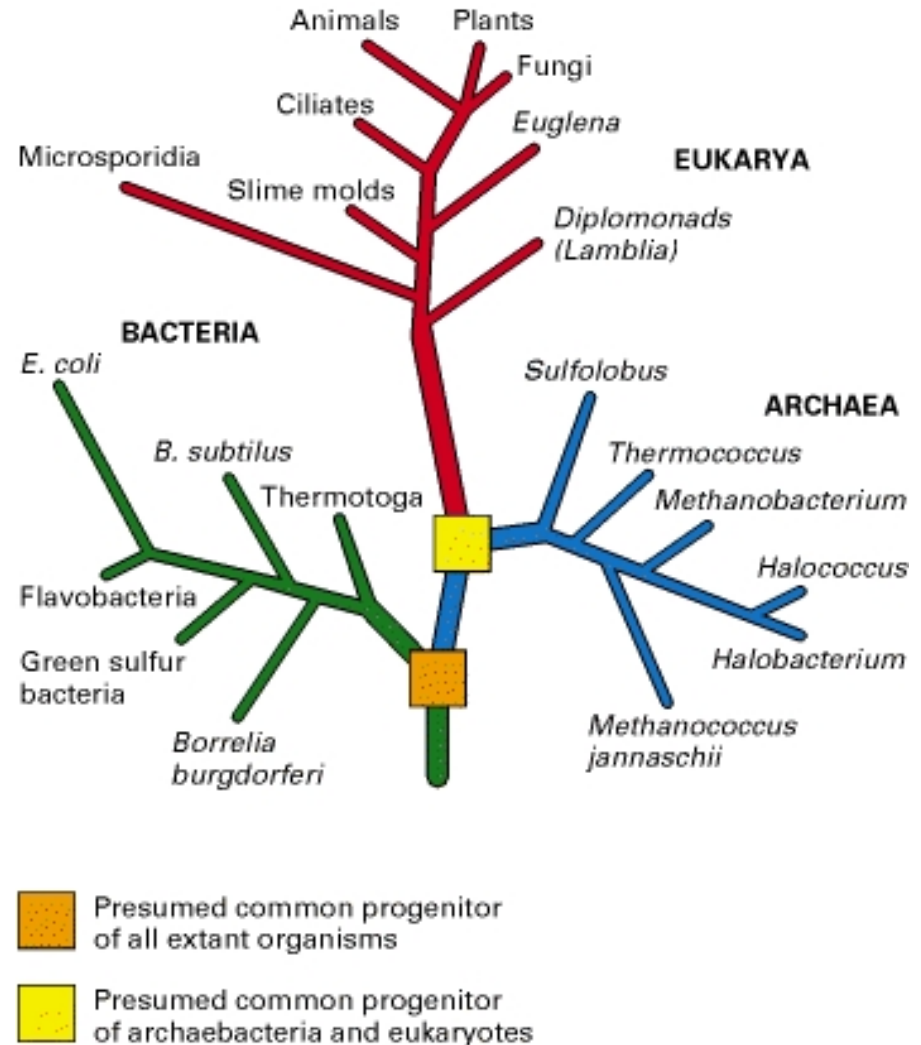
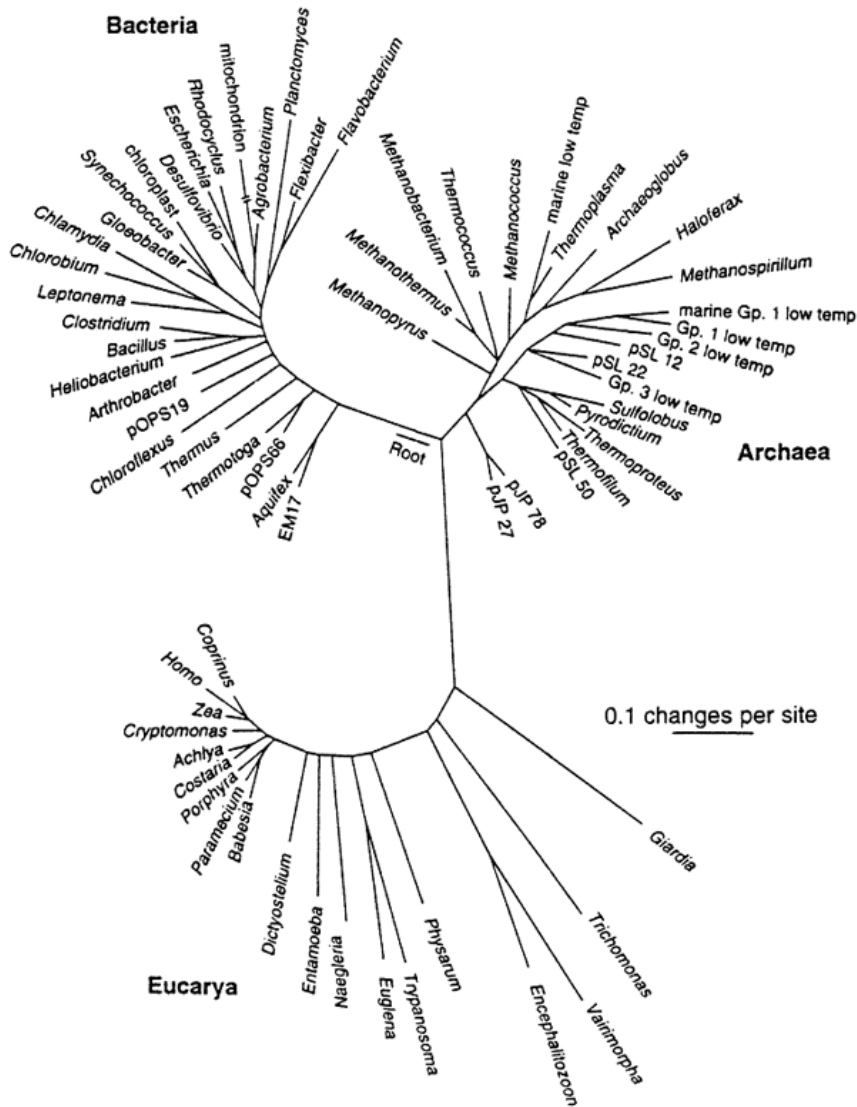
Φυλογενετική ανάλυση



Φυλογενετική ανάλυση



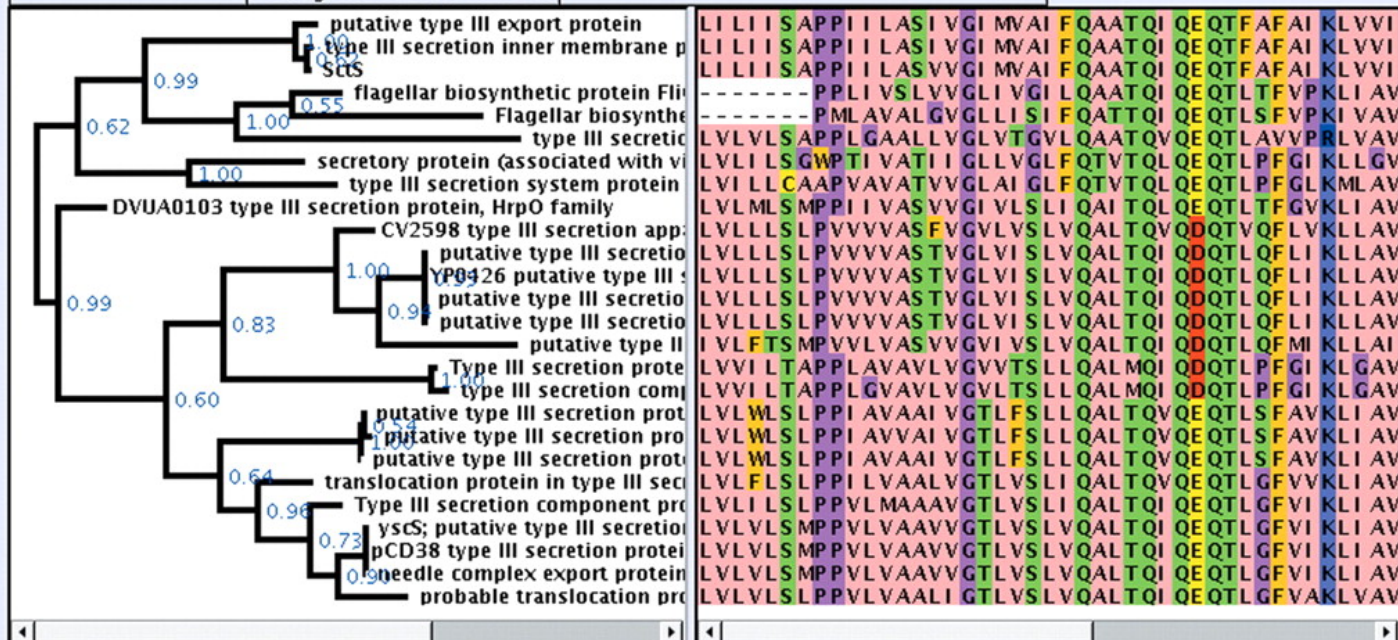
The Tree of Life



- NR Pace, Science 1997

prokaryote2 Alignment 72522

Tip Labels	Alignment length: 69	Tree inference program: MrBayes	Get NEXUS Data
desc	Number of sequences: 26	MCMC correlation: -0.416285 (lower is better)	List Proteins
	Number of distinct taxa: 22		
	Average conservation: 0.519		



Alignments sharing sequences with 72522

Alignment Id	Num Seqs	Num Shared Seqs	Length
88446	16	15	74
74274	31	25	73
49739	15	15	74
111612	6	6	87
83128	31	26	63
111921	5	5	85
82059	36	25	68

Σκοπός της ανάλυσης ομοιότητας αλληλουχιών

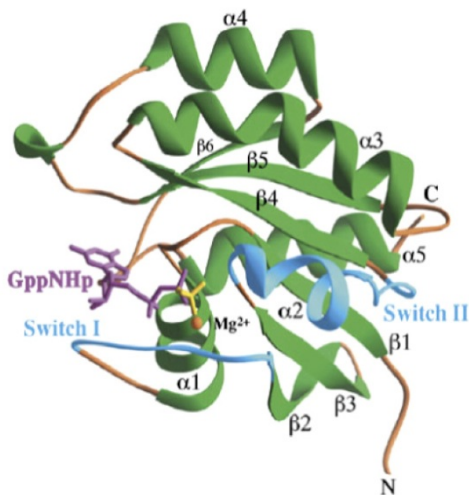
Αναζήτηση της λειτουργίας μια πρωτεΐνης

DNA

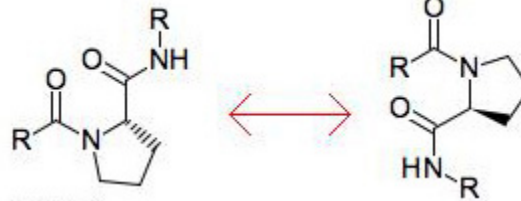
ATGCCGACCTTGCCTTTGTCTCGAAATATATTGAT
TACGGCTGGAACGGAAACAGCTTTATATAACTA

πρωτεΐνη

M P T L P L S K Y I D



δομή πρωτεΐνης



λειτουργία

Σκοπός της ανάλυσης ομοιότητας αλληλουχιών

Αναζήτηση λειτουργικά σημαντικών περιοχών

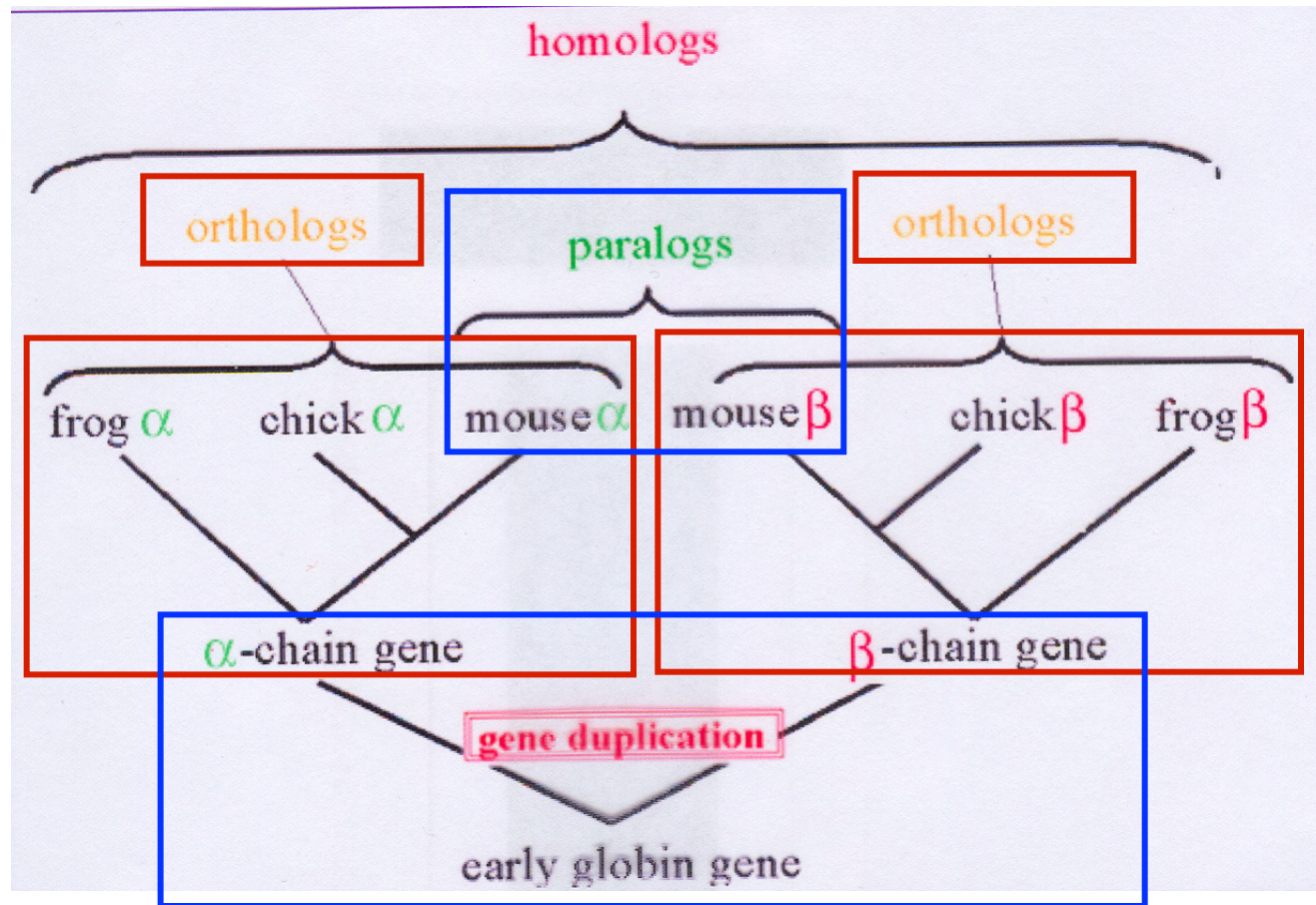
Cf Rab5c	1	MAGRGGGAARPNGPAAGNKICQFKLVLLGESAVGKSSLVLRFFVKGFHEYOES	60
TbRab5Ap	1	-----MSVSATPYKRQDAITARTVLLGESAVGKSSIALREARNNESSNOET	54
TbRab5Bp	1	-----MSVKTVAAPTCKYKIVLLGDSGVGKSSLVORLAKNEWCDNONS	51
Ypt51p	1	-----MNTSVTSIKLVLLGFAAVGKSSIVLREVSNDFAENKEPT	46
Cf Rab5c	61	QTVCLD-----DT-----TVKFEIWDTAGOERYHSLAPMYYRGAQAALVVYDITN	105
TbRab5Ap	55	RSVTVSATLQSGGGGAVANAASGTVKFEIWDTAGOERYRSLAPYYRGA	114
TbRab5Bp	52	YVCTVG-----DT-----AVNFDIWDTAGOERYKSLASMYRGA	96
Ypt51p	47	QRVTIN-----EH-----TVKFEIWDTAGOERFASLAPMYYRNAQAALVVYDVTK	91
Cf Rab5c	106	TDTEARAKNHWVKELQROASPNIIVIALAGNKADLASK---RAVEFOEAQAYADDNS-LLFM	161
TbRab5Ap	115	AESLKKKAOMWMREL RANADPTLLIILVGNK KDMES---LRQVS YEDGAAVAQ EEDVNGFF	171
TbRab5Bp	97	WETFERAKHWVREL-ATNSPETIVILVGNKSDLRGTSGC--VSSEEAAATYARELN-LLFS	152
Ypt51p	92	PQSEIKARHWVKELHEQASKDIIITALVGNKIDMLQEGGERKVAAREEGEKLAEEKG-LLFF	150
Cf Rab5c	162	ETSAKTAMNVNNEIFMAIAKKLIPKNEPQNAAGAP---SRNRGVDLQENSPASRSQ-CCSN	216
TbRab5Ap	172	EVSAKENVNVEEVFAKLARLLLEHGLGANS GPGSL-SGPRGAQRLEPPTROOKKEGGCAC	230
TbRab5Bp	153	EASAKDGGSGVSEVFMCIARIVASNNNTVHSGGV-----LGGQPNSTRRSSGCCG	203
Ypt51p	151	ETSAKTGENVNDVFLGIGEKIPLKTAEEQNSASNERESNNQRVDLNAANDGTSANSACSC	210

Field *et al*, JBC 1998

Συγκριτική γονιδιωματική: Ομόλογα, Ορθόλογα & Παράλογα Γονίδια

- **Αν δύο ή περισσότερα γονίδια έχουν αρκετά παρόμοια αλληλουχία, θεωρούνται ομόλογα**, δηλαδή πιθανότατα προήλθαν από το ίδιο προγονικό γονίδιο στον κοινό πρόγονο των ειδών που συγκρίνουμε. Το ίδιο ισχύει για τις πρωτεΐνες τις οποίες κωδικοποιούν αυτά τα γονίδια.
- **Τα ομόλογα γονίδια διαχωρίζονται σε ορθόλογα και παράλογα.**
- **Ορθόλογα γονίδια**: Προέρχονται από ειδογένεση.
- **Ορθόλογες πρωτεΐνες**: διαφορετικών οργανισμών συνήθως έχουν διατηρήσει παρόμοιες λειτουργίες ιδιαίτερα αν η εξελικτική απόσταση των οργανισμών δεν είναι μεγάλη.
- **Παράλογα γονίδια**: Έχουν προκύψει από γονιδιακό διπλασιασμό.
- **Πρωτεΐνες παραλόγων γονιδίων**: συνήθως διαφοροποιούνται λειτουργικά.

Ομόλογα, Ορθόλογα & Παράλογα Γονίδια



Ορθόλογα γονίδια: γονίδια της β αιμοσφαιρίνης στο βάτραχο και στο ποντίκι.

Παράλογα γονίδια: γονίδια της α και β αιμοσφαιρίνης στο ποντίκι.

Ορθόλογα γονίδια: αντίστροφο BLAST

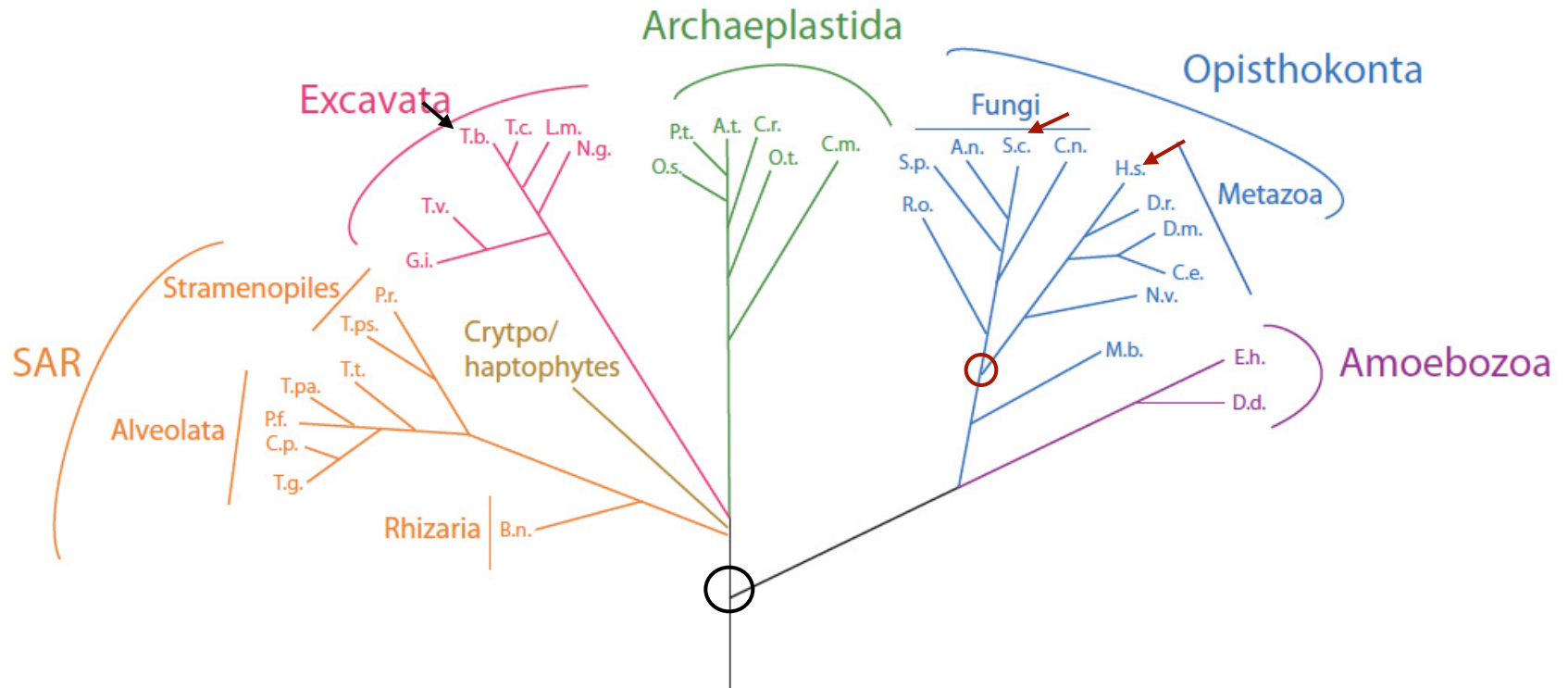
Reciprocal Best BLAST Hits

- S1, S2 are the gene sequence sets from two organisms
- BLASTP:
 - Query=S1, Subject=S2
 - Query=S2, Subject=S1



- Δουλεύουμε με πλήρως αποκωδικοποιημένα γονιδιώματα.
- Για εξελικτικά απομακρυσμένους οργανισμούς δουλεύουμε με πρωτεϊνικές αλληλουχίες (όχι DNA).

Συντηρημένες αλληλουχίες σε διάφορα είδη



LECA: Last Eukaryotic Common Ancestor

Query



Representative
predicted proteome
database
(Local, NCBI, other)



BLAST/psiBLAST/HMMer score
Predicted length of product
Presence and order of domains
Significant homology throughout sequence
Reverse BLAST

1



Preliminary clustering

Functional analysis
Location
Expression pattern
Phenotype

3



Phylogenetic verification and paralog assignment
Mr Bayes
PhyML
RAxML

2

Επιμέρους ενότητες

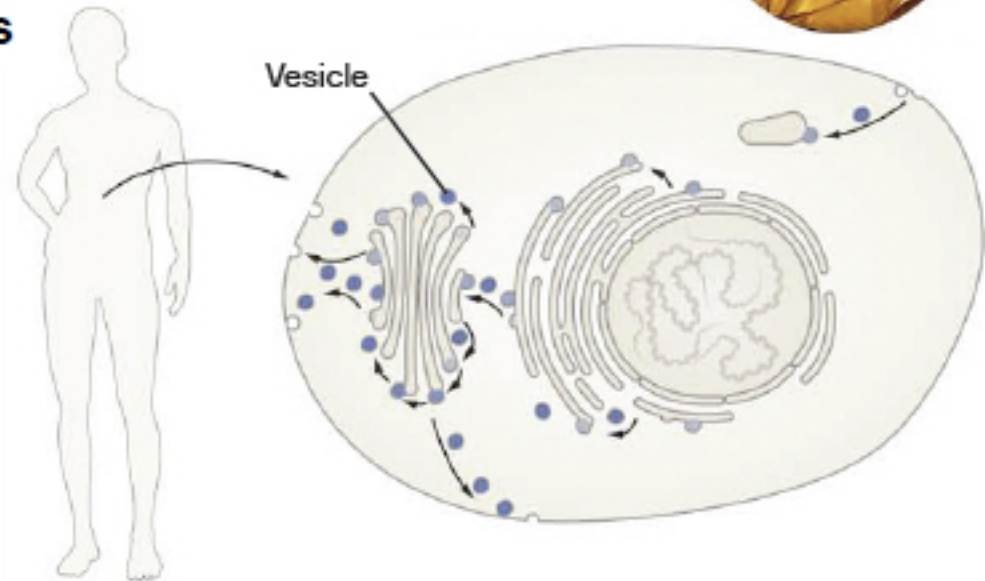
- Εξελικτική βιολογία συστημάτων: συγκριτική γονιδιωματική και φυλογενετική ανάλυση
- Το σύστημα ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Ανασύσταση του συστήματος στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών οργανισμών
- Ανοιχτά ερωτήματα

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2013



Machinery Regulating Vesicle Traffic, A Major Transport System in our Cells

Proper functioning of the cells in the body depends on getting the right molecules to the right place at the right time. Some molecules, such as insulin, need to be exported out of the cell, whereas others are needed at specific sites inside the cell. Molecules produced in the cell were known to be packaged into vesicles (pictured in blue), but how these vesicles correctly deliver their cargo was a mystery.



Randy W. Schekman



James E. Rothman

Thomas C. Südhof



Παραδείγματα του ρόλου της ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας σε ασθένειες

- Σημαντικός ρόλος στο νευρικό σύστημα και στην έκκριση ορμονών και ανοσολογικών παραγόντων
- Ρόλος στη νόσο Alzheimer: ενδοκύτωση και πέψη της amyloid precursor protein (APP), έκκριση β-amyloid peptide (Aβ), το οποίο ευθύνεται για τα νευρολογικά συμπτώματα
- Πολλοί ιοί και τοξίνες εισέρχονται στο κύτταρο με ενδοκύτωση μέσω υποδοχέα
- Πολλά βακτήρια εκμεταλλεύονται το σύστημα αυτό για να εισέλθουν στο κύτταρο ή για να αποφύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα

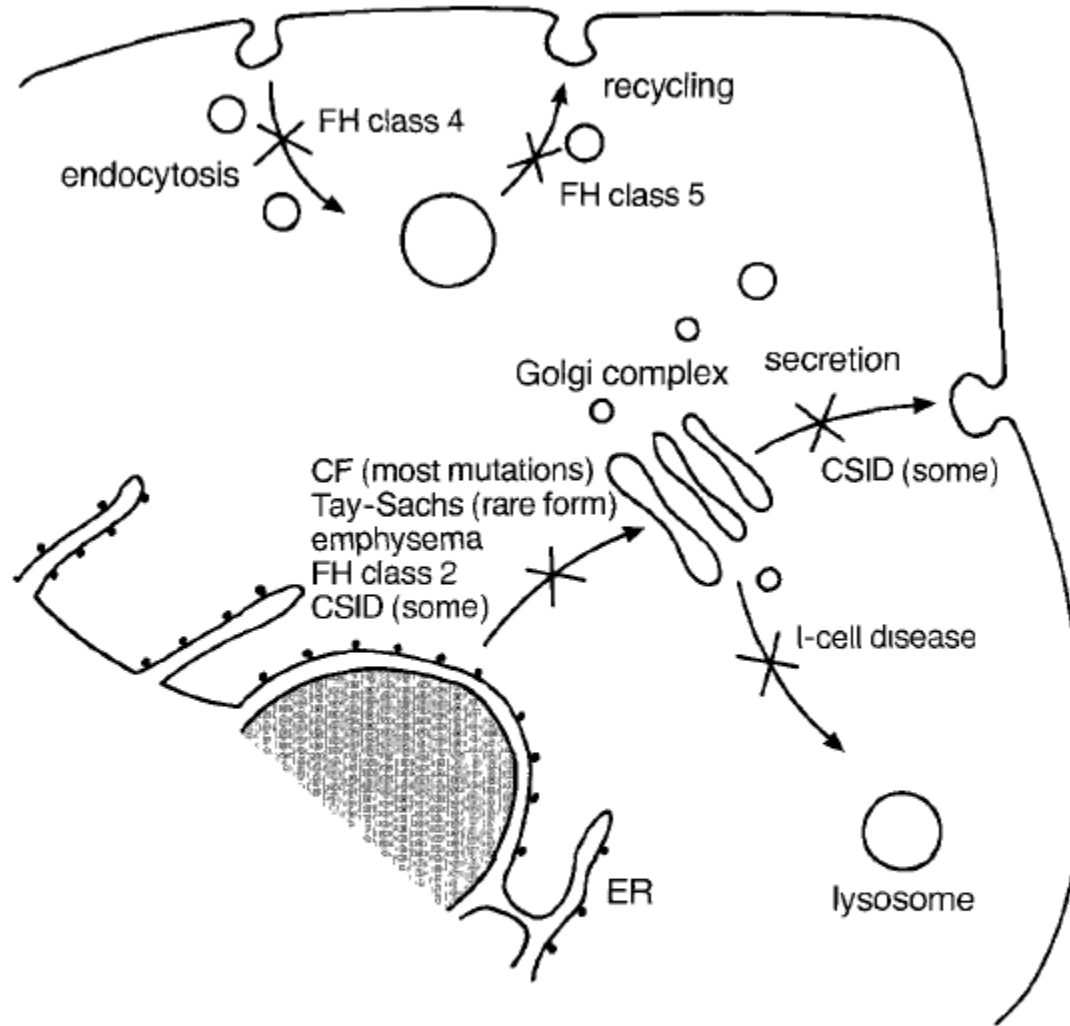
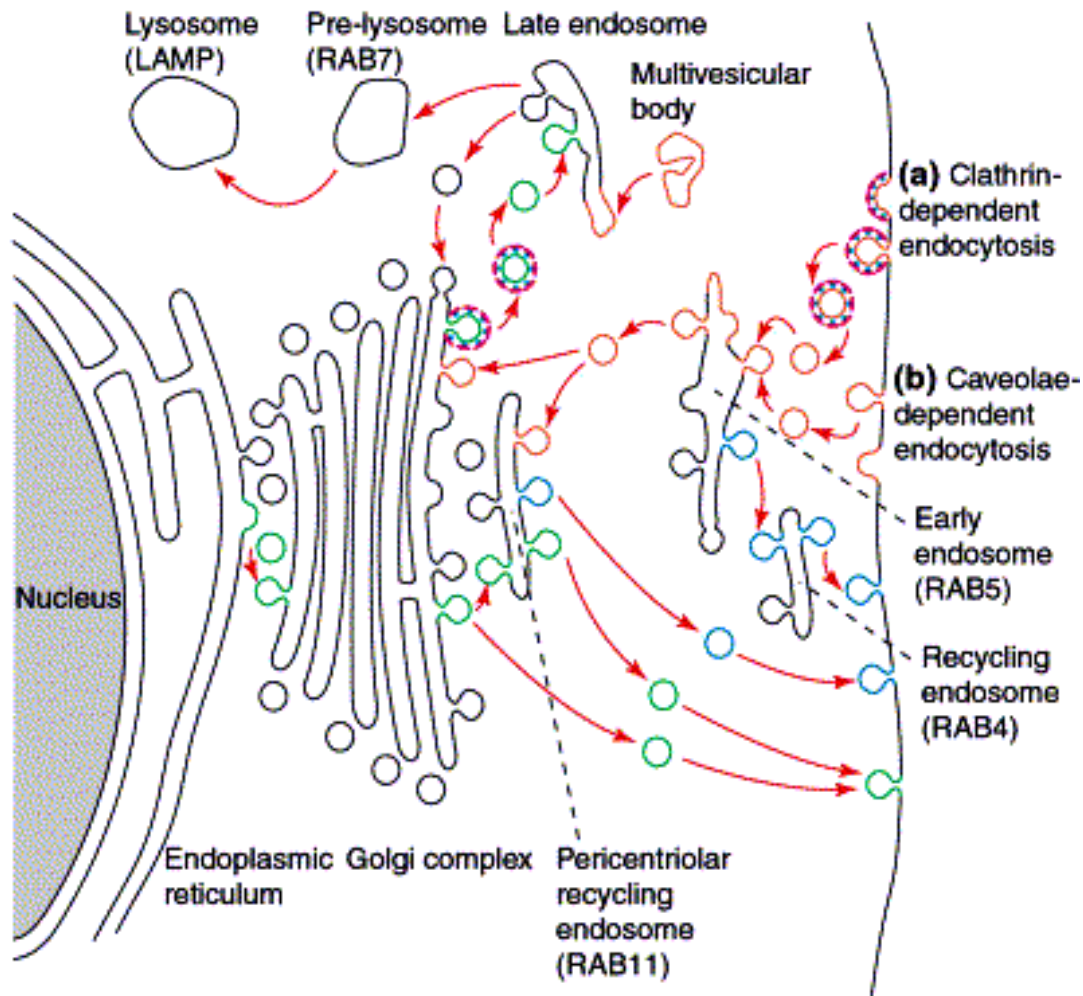


FIGURE 1

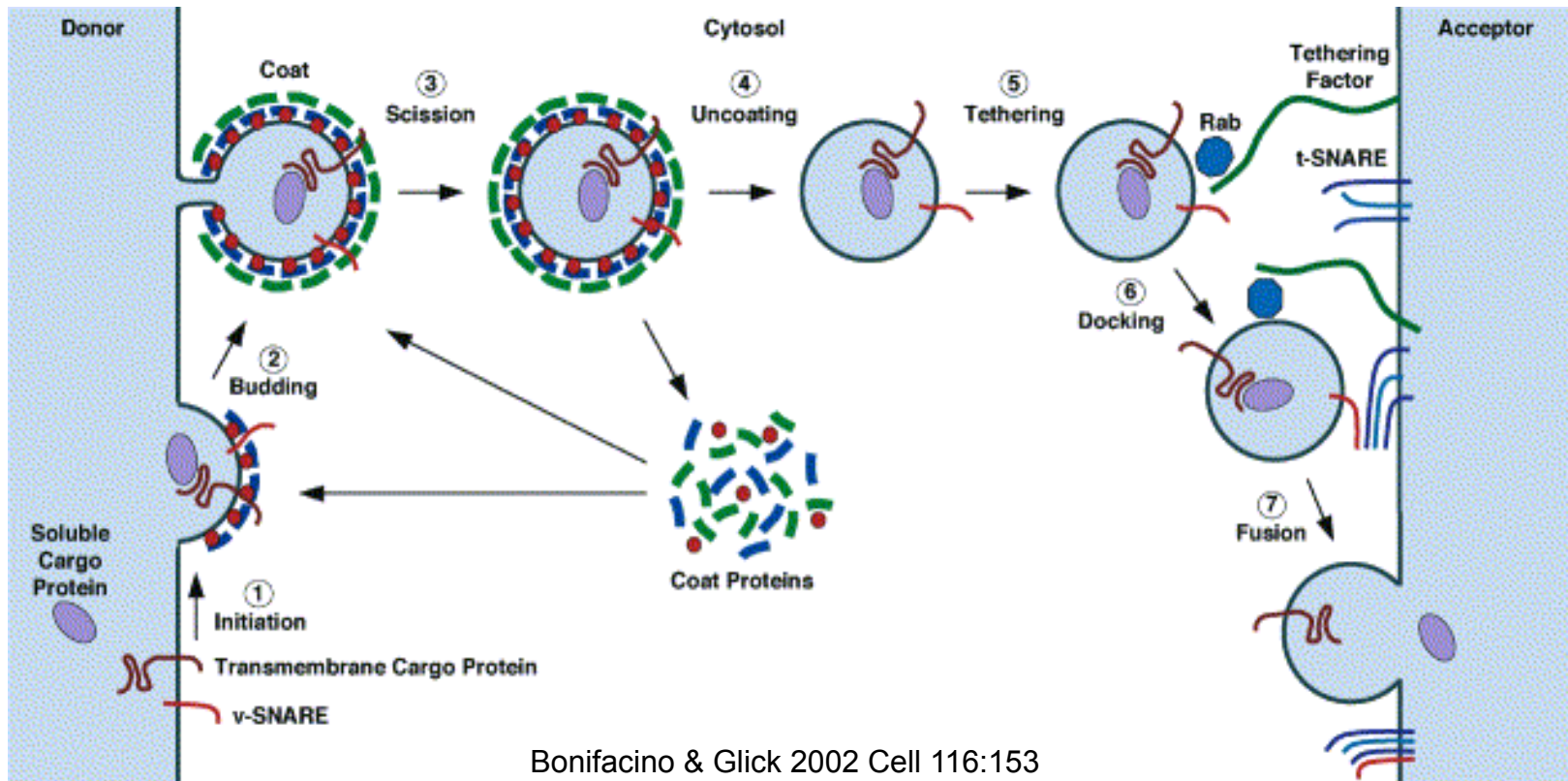
Protein trafficking events disrupted in some genetic diseases. CF, cystic fibrosis; FH, familial hypercholesterolaemia; CSID, congenital sucrase-isomaltase deficiency.

Κυκλοφορία μέσω μεμβρανικών κυστιδίων

Διάφοροι τύποι κυστιδίων: έκκρισης, ενδοκύτωσης, ανακύκλωσης

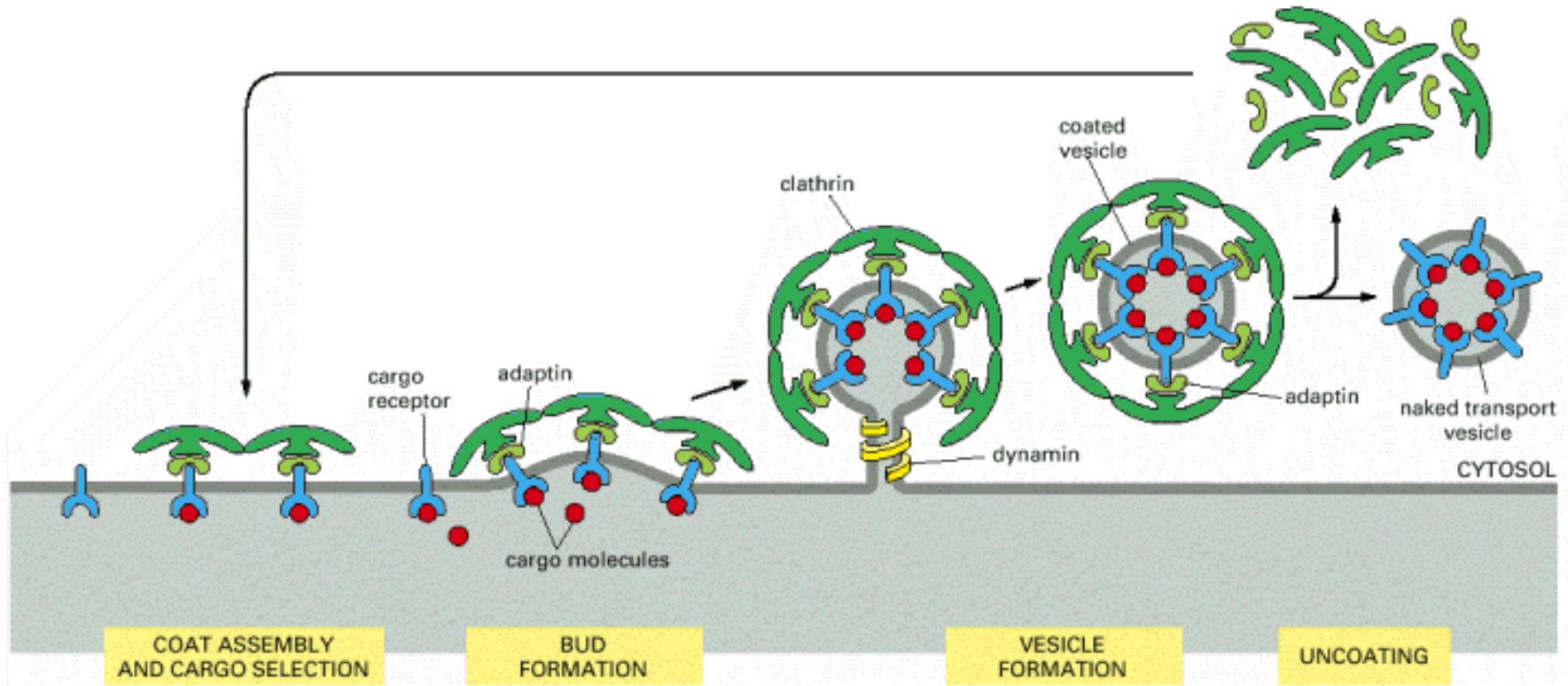


Κυκλοφορία μέσω μεμβρανικών κυστιδίων



- Δημιουργία κυστιδίων (υποδοχείς, πολυμερή επικάλυψης, adaptins, GTPases)
- Μετακίνηση κυστιδίων (κυτταρικός σκελετός, GTPases)
- Σύντηξη κυστιδίων (SNARES, tethering factors, GTPases)

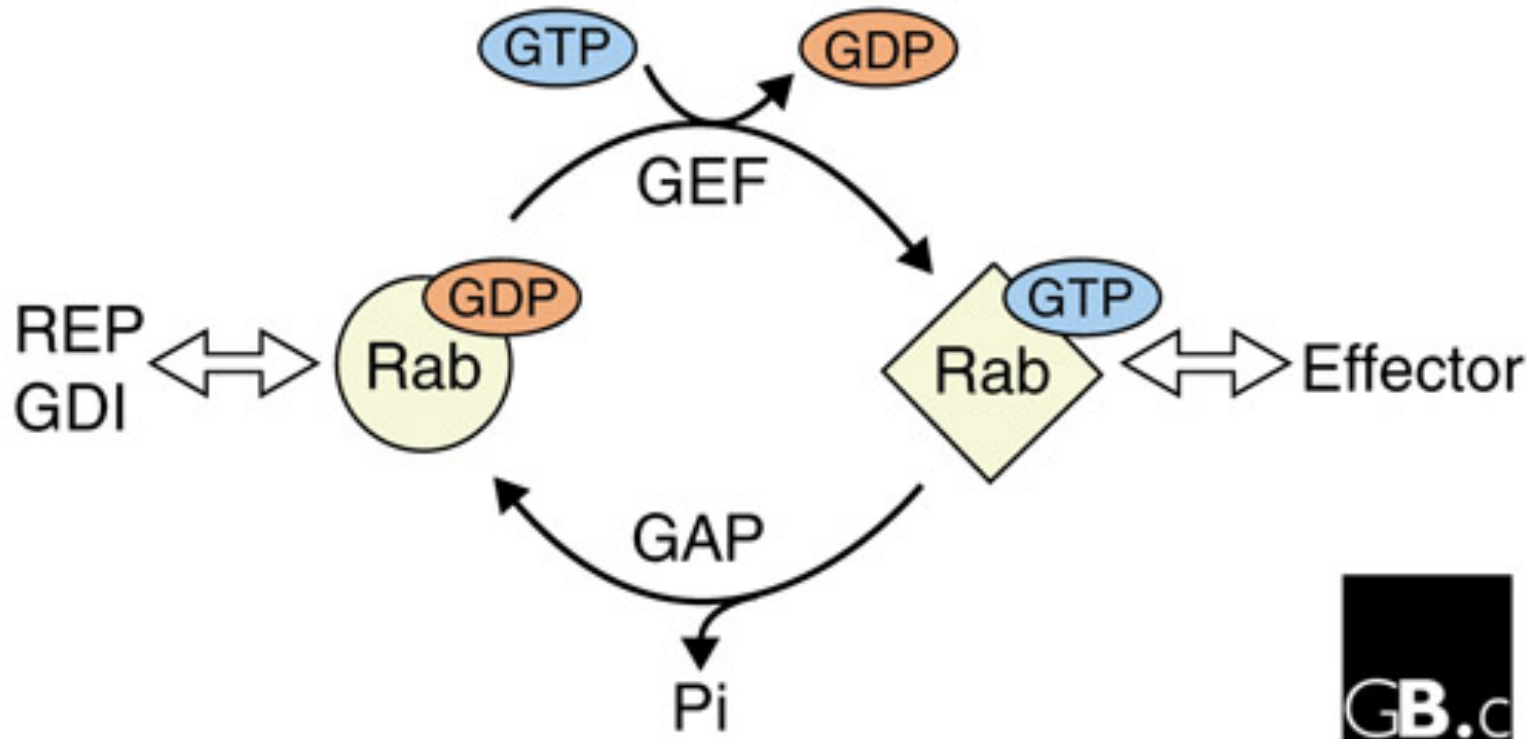
Δημιουργία κυστιδίων



Alberts *et al*, Molecular Biology of the Cell, 4th edition, Figure 13.8

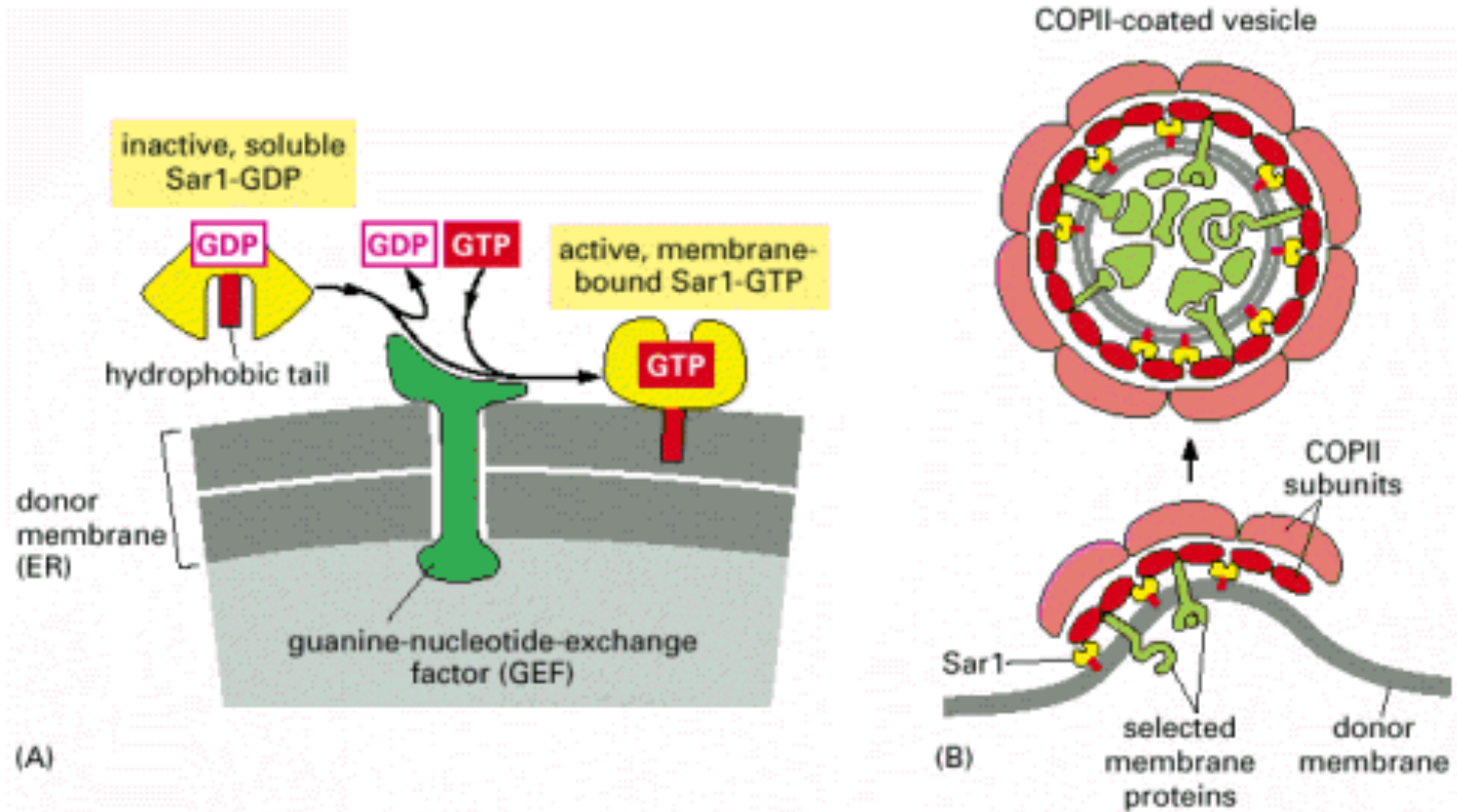
Υποδοχείς, πολυμερή επικάλυψης, adaptins, GTPases

Κύκλος ενεργοποίησης της Rab GTPάσης



Stenmark & Olkkonen 2001 Genome Biology

Δημιουργία κυστιδίων

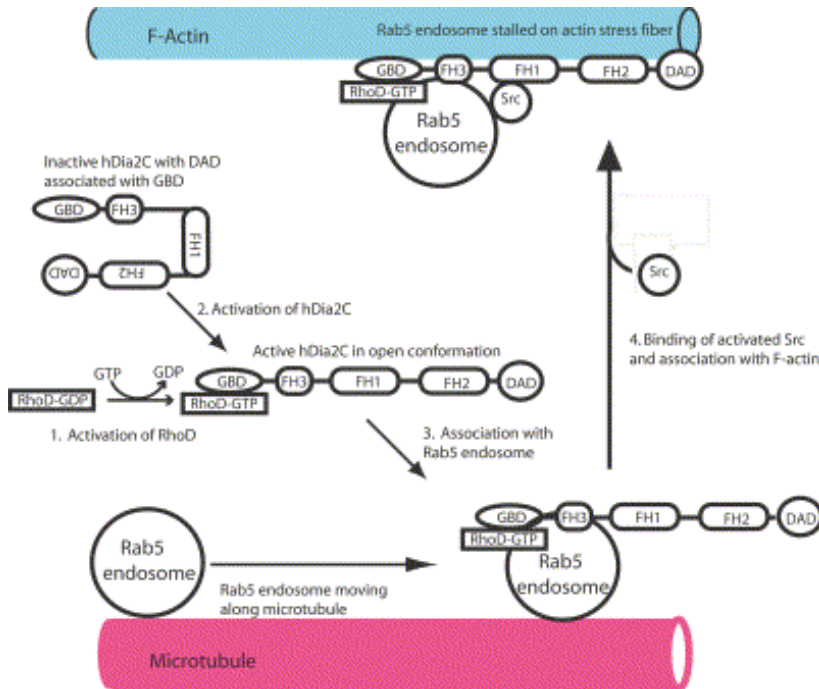


Alberts *et al*, Molecular Biology of the Cell, 4th edition, Figure 13.10

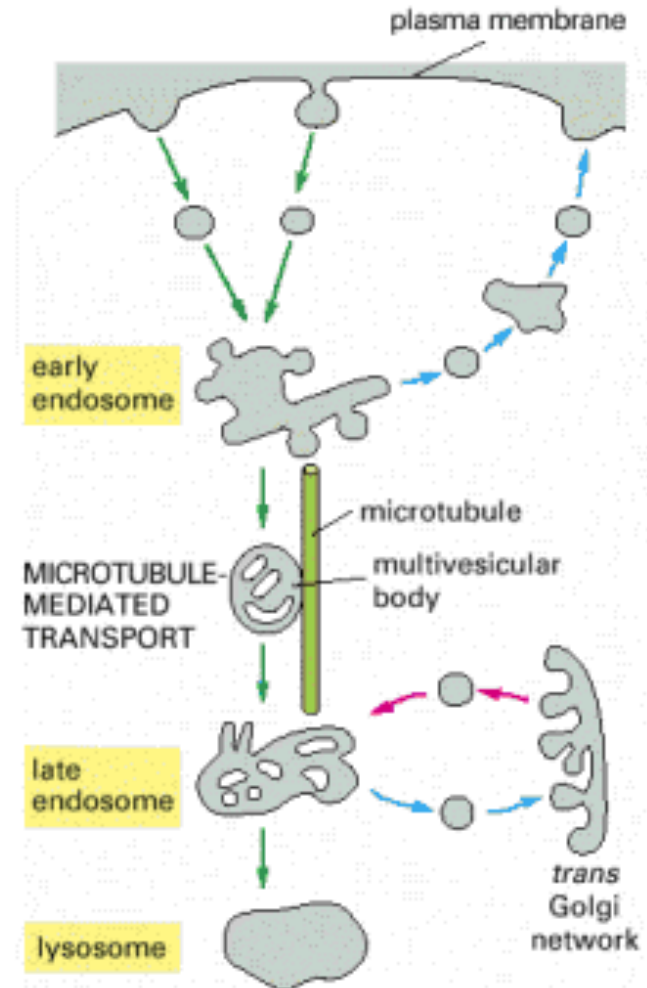
Υποδοχείς, πολυμερή επικάλυψης, adaptins, GTPases

Μετακίνηση κυστιδίων

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΣΚΕΛΕΤΟΣ (ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΙ),
GTPases



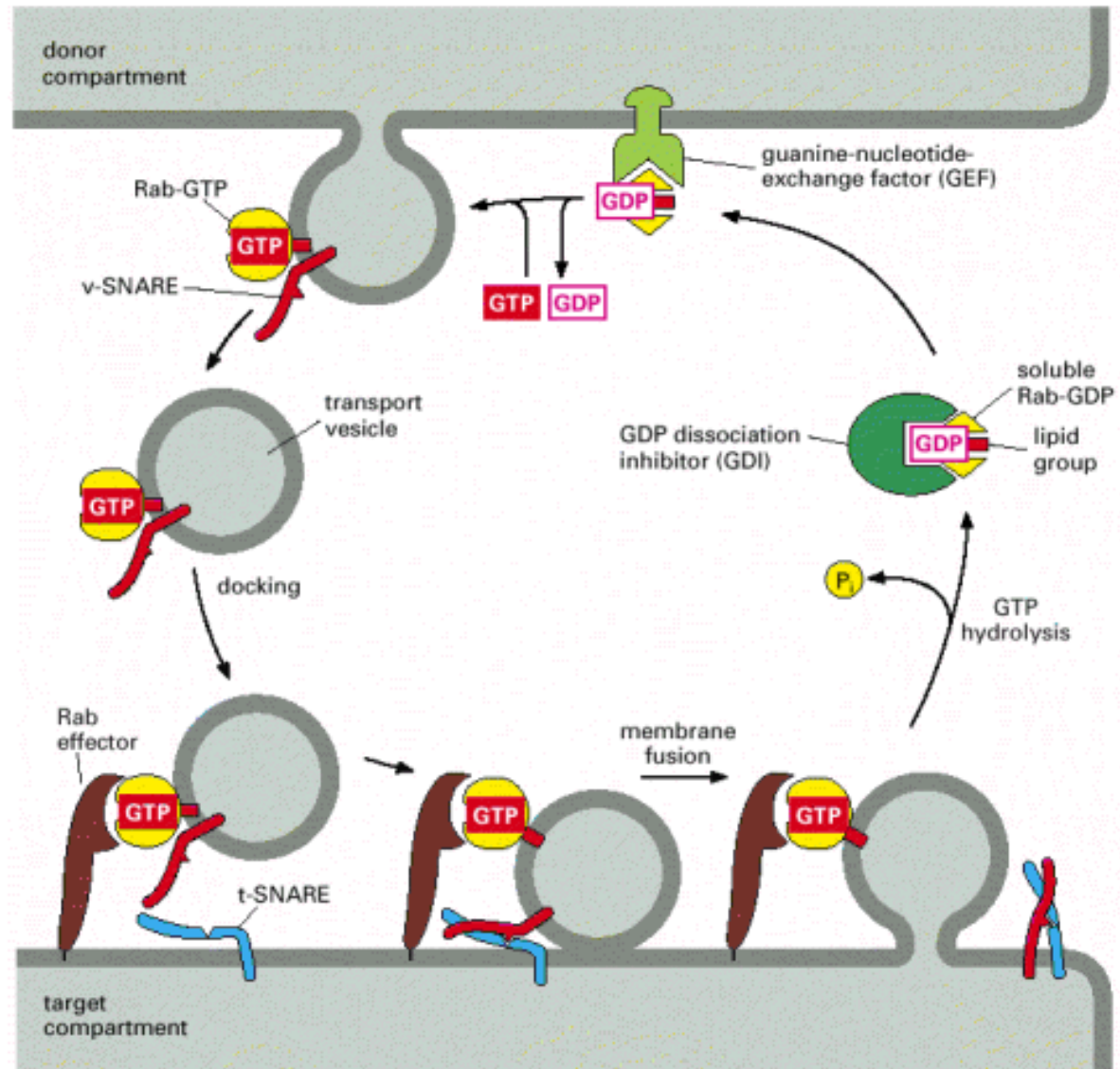
Randazzo 2003 Developmental Cell 4:287



Alberts *et al*, Molecular Biology of the Cell, 4th edition, Figure 13.49

Σύντηξη κυστιδίων

tethering factors,
SNARES,
GTPases, GAPs, GEFs



Alberts *et al*, Molecular Biology of the Cell, 4th edition, Figure 13.14

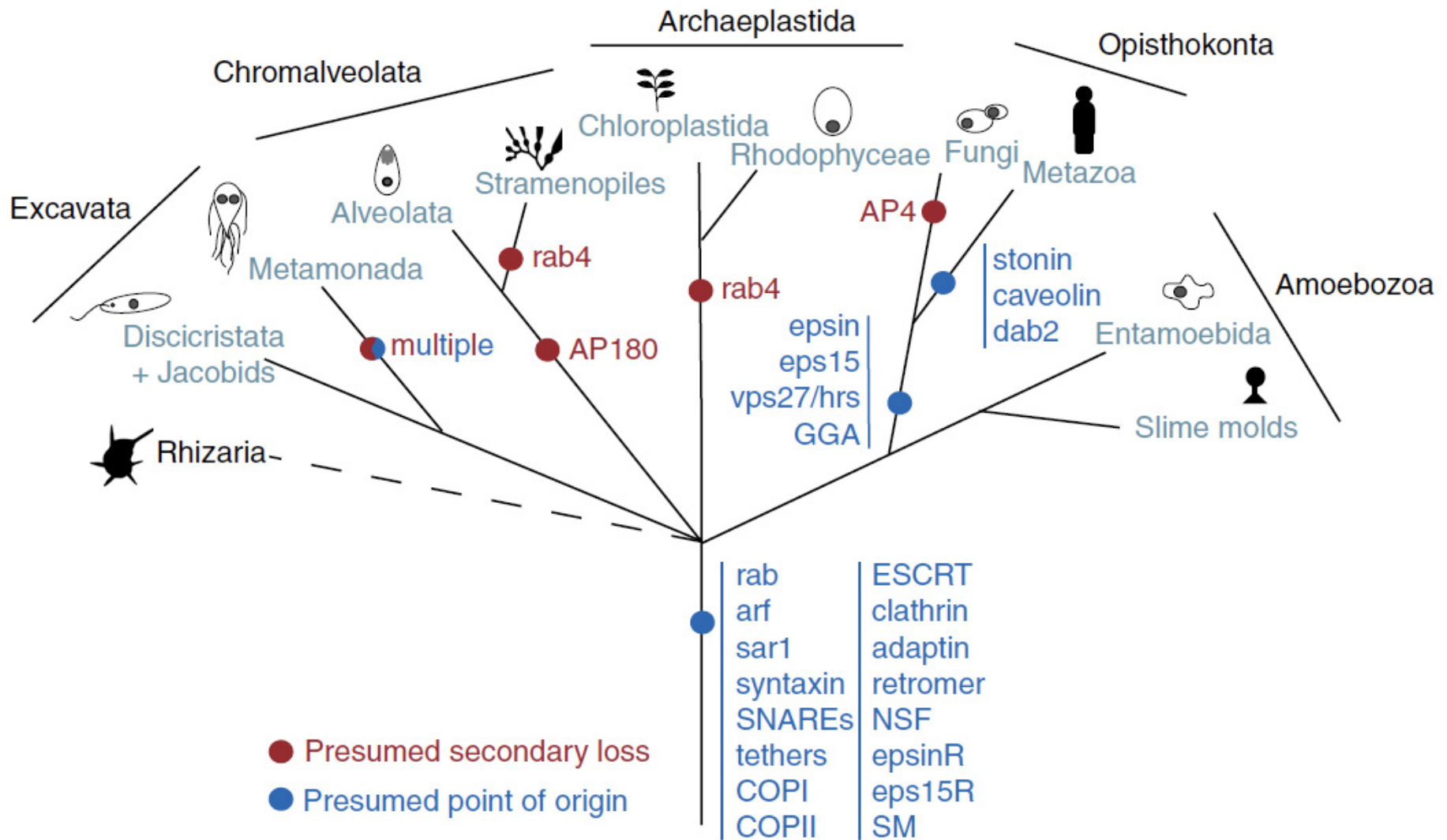
Η ενδοκυτταρική κυκλοφορία στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

- Το σύστημα ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας είναι πολύπλοκο, εμπλέκει πολλά διαφορετικά είδη πρωτεϊνών, και κάθε πρωτεΐνη δρα μόνο σε συγκεκριμένα σημεία του κυττάρου.
- Δεδομένου ότι αυτό το σύστημα υπάρχει στα ευκαρυωτικά κύτταρα, αλλά όχι στα προκαρυωτικά (βακτήρια και αρχαία), προκύπτει το ερώτημα πώς αναπτύχθηκε αυτή η ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα.
- Για να απαντηθεί αυτό το ερώτημα, χρησιμοποιούμε τεχνικές συγκριτικής γονιδιωματικής και φυλογενετικής ανάλυσης εξετάζοντας τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτών και τι ειδικές τροποποιήσεις έχουν διαμορφωθεί σε συγκεκριμένα είδη (π.χ. στον άνθρωπο).

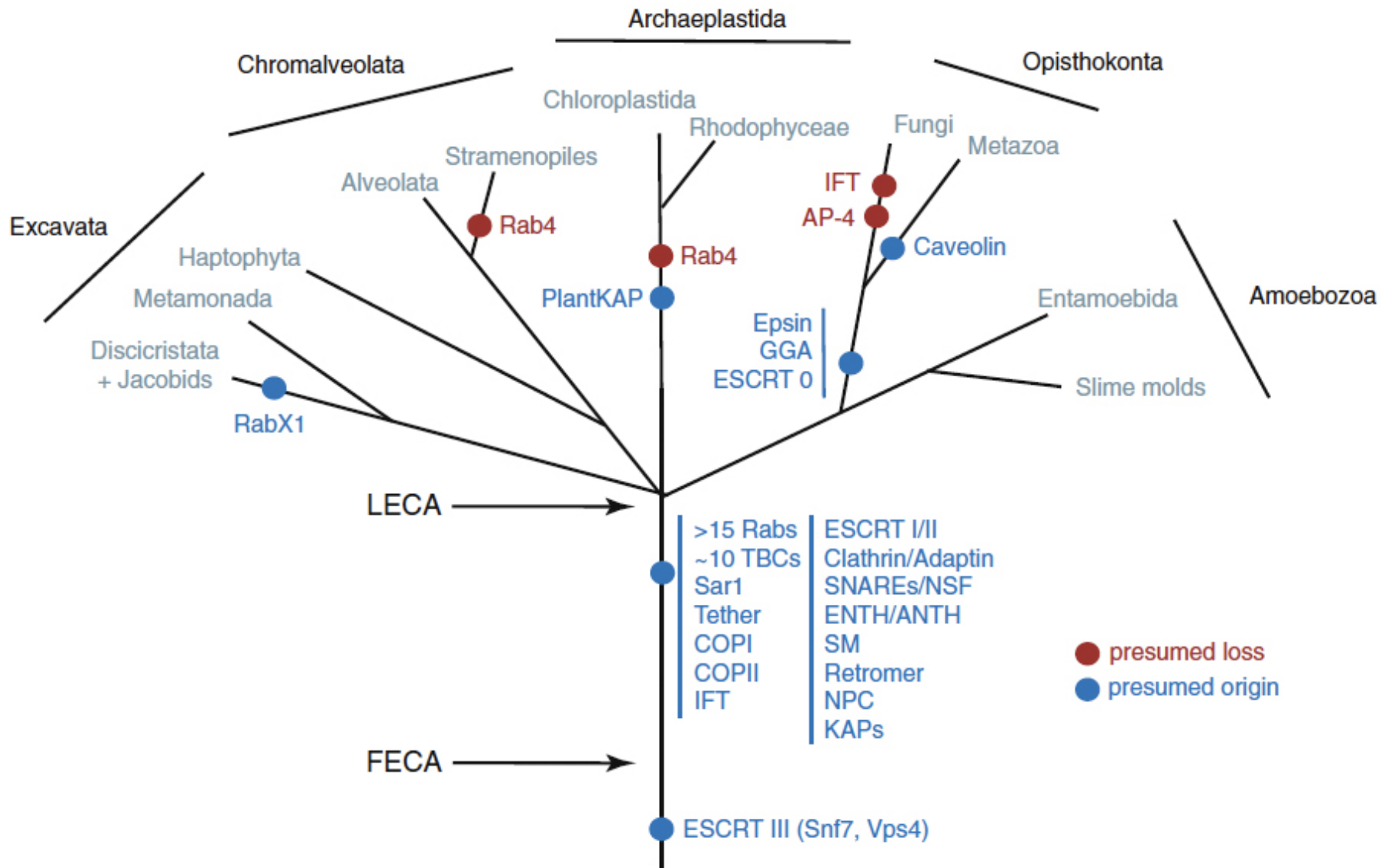
Επιμέρους ενότητες

- Εξελικτική βιολογία συστημάτων: συγκριτική γονιδιωματική και φυλογενετική ανάλυση
- Το σύστημα ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Ανασύσταση του συστήματος στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών οργανισμών
- Ανοιχτά ερωτήματα

Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο;



Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο;

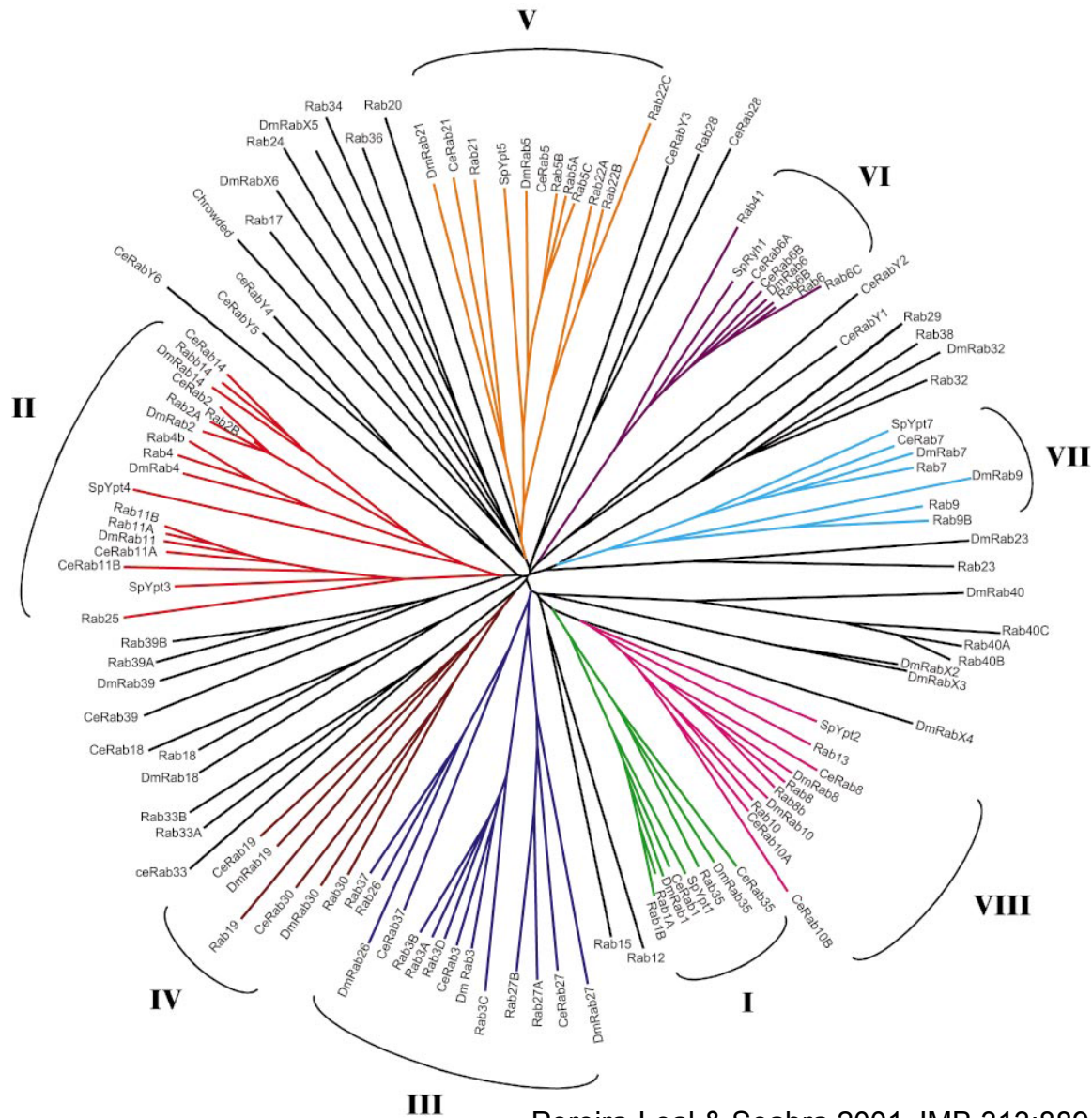


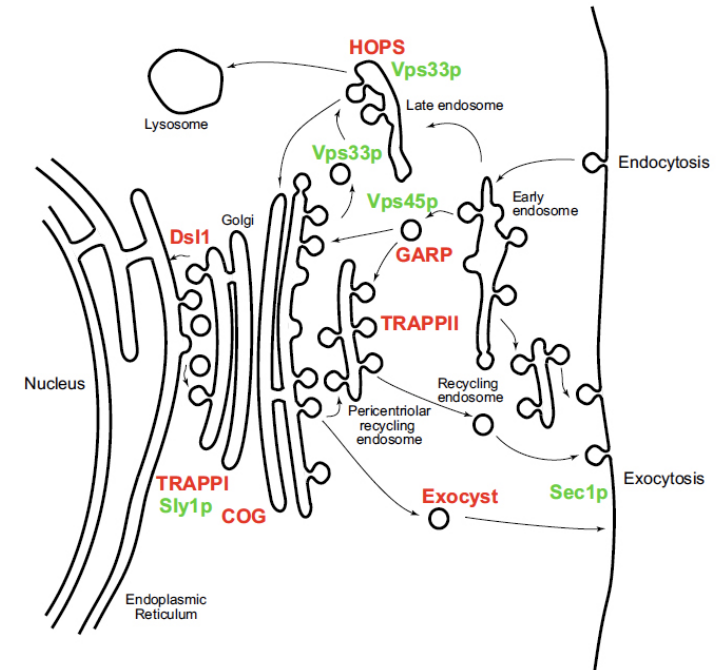
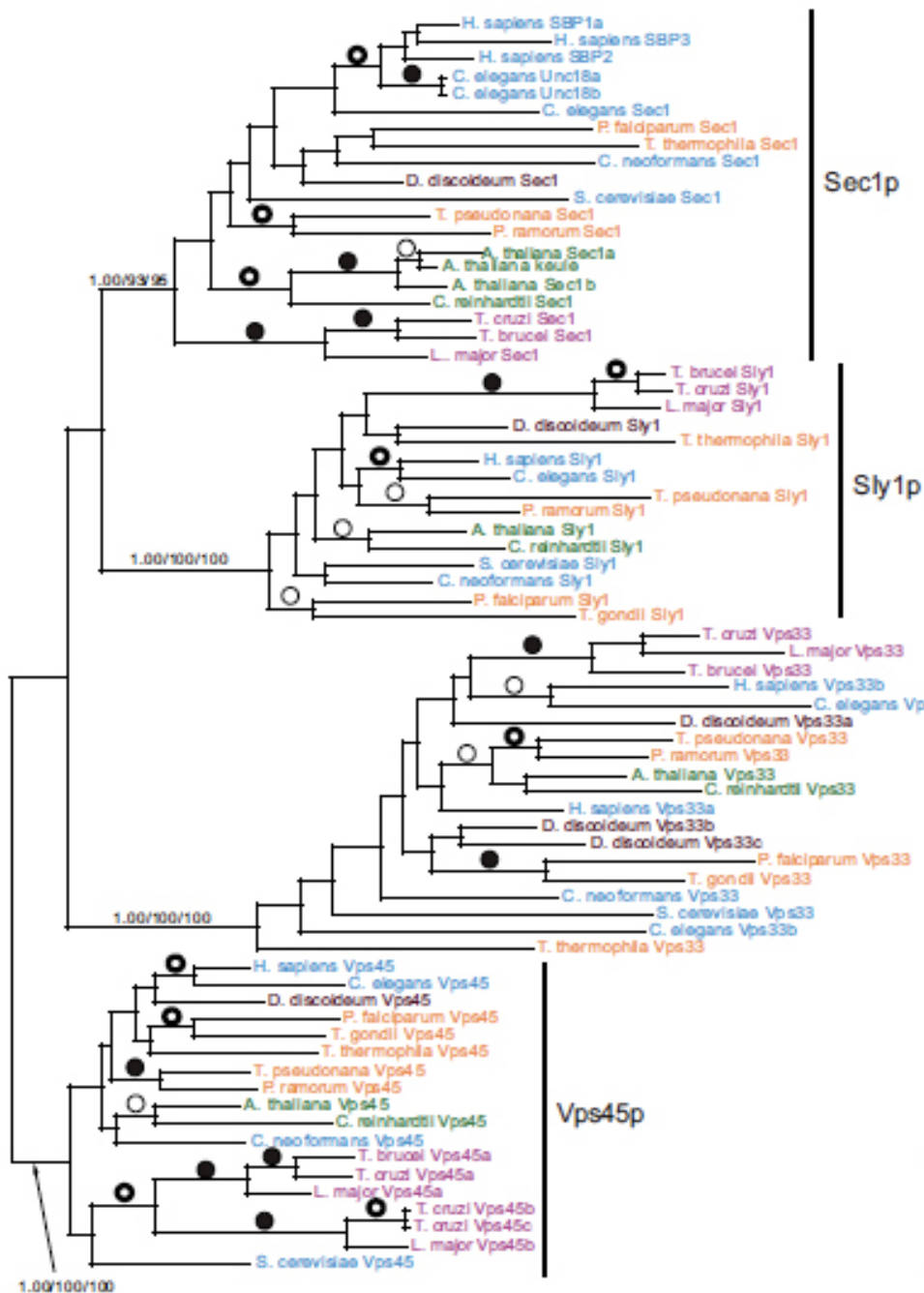
Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο;

Πολλά παράλογα της Rab GTPάσης

Τα διαφορετικά είδη Rab GTPάσης (π.χ. Rab5, Rab7) δρουν σε διαφορετικά μέρη του κυττάρου.

Ένα είδος Rab GTPάσης δρα στο ίδιο σημείο σε διαφορετικούς οργανισμούς (π.χ. ορθόλογα της Rab5 πάντα στο ενδόσωμα, ορθόλογα της Rab7 στο λυσόσωμα).

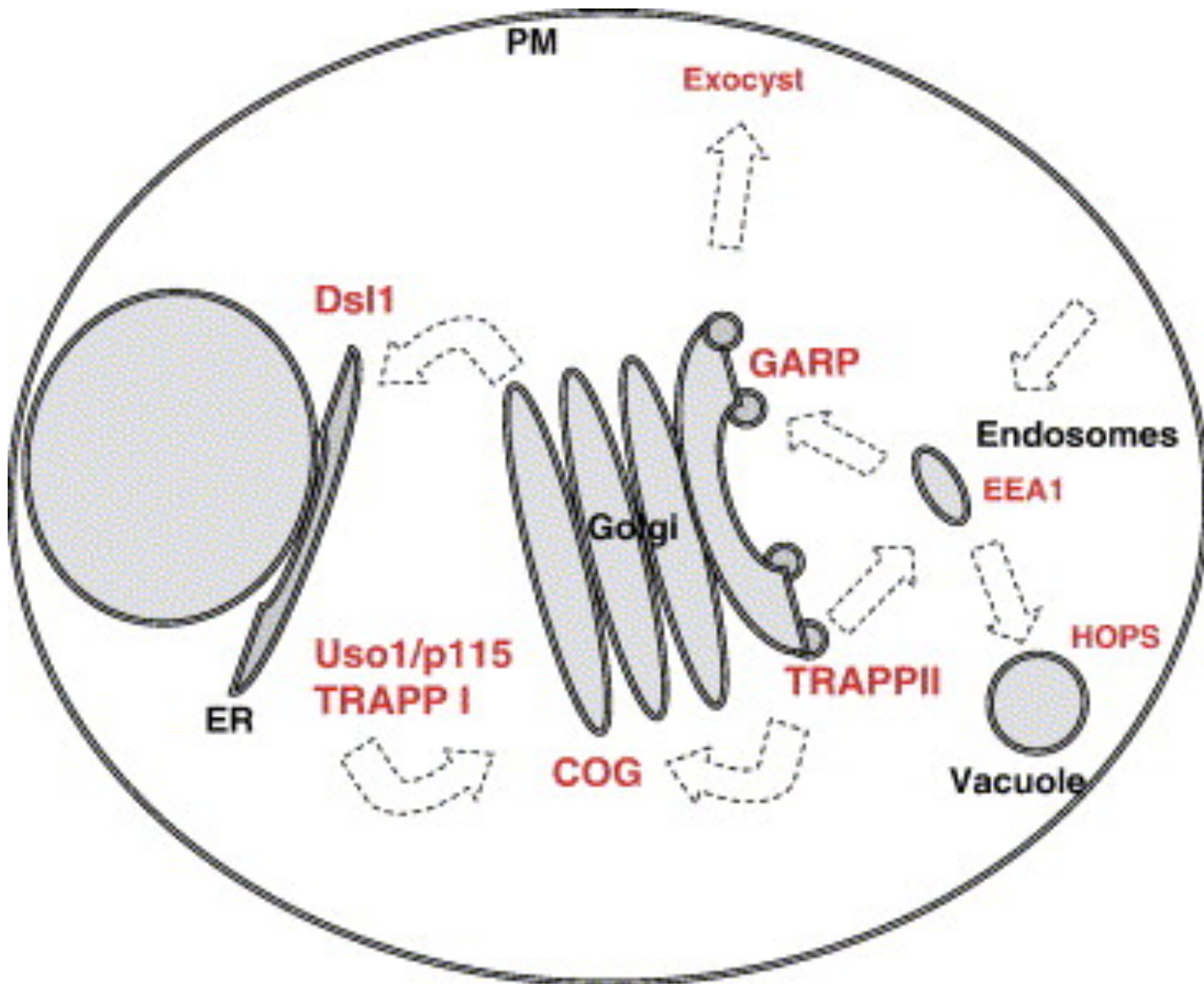




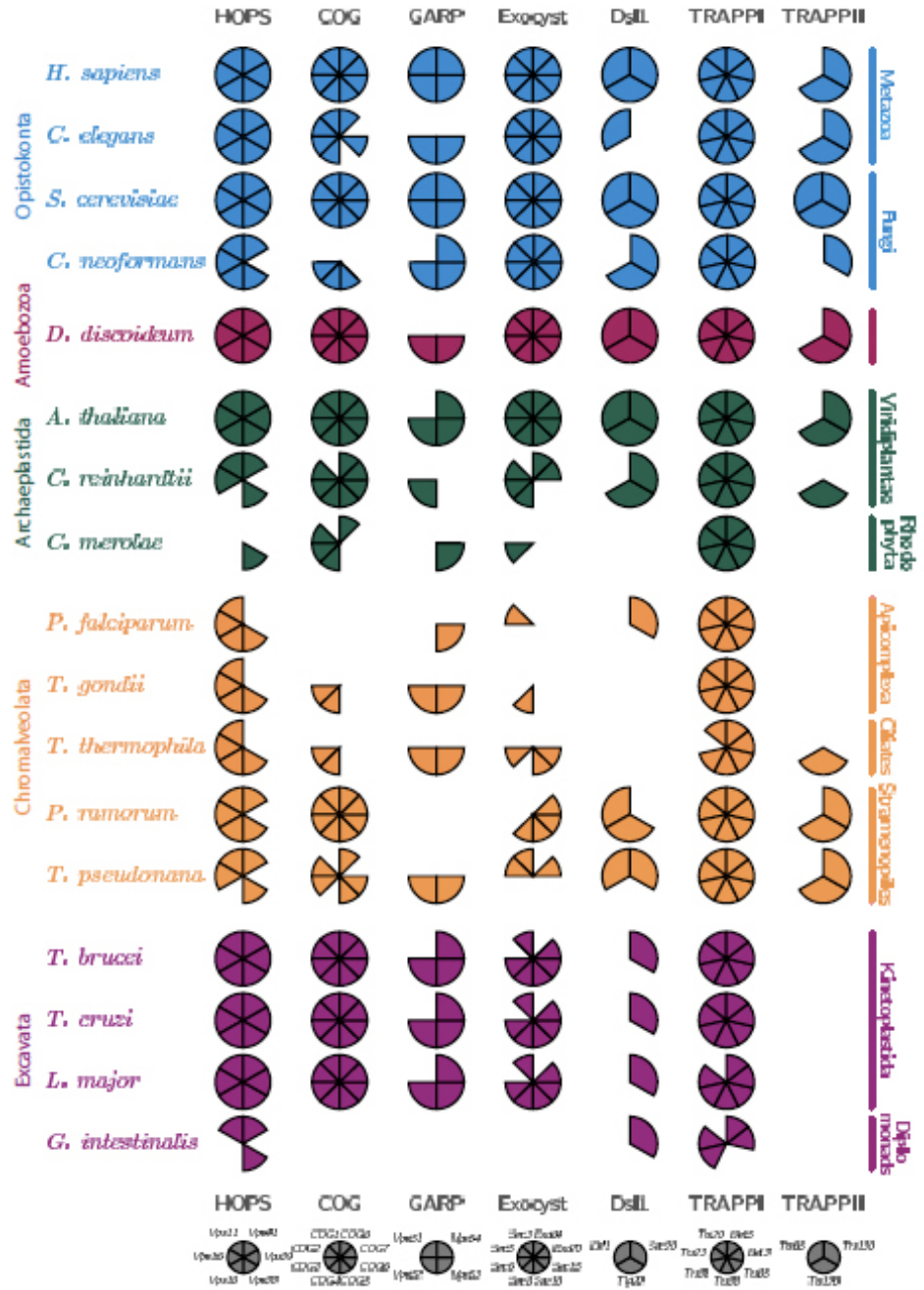
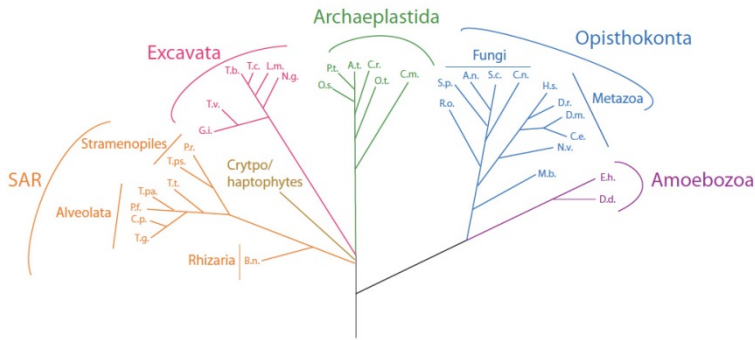
Πολλά παράλογα syntaxin-binding πρωτεϊνών



Παράγοντες πρόσδεσης (tethering factors)

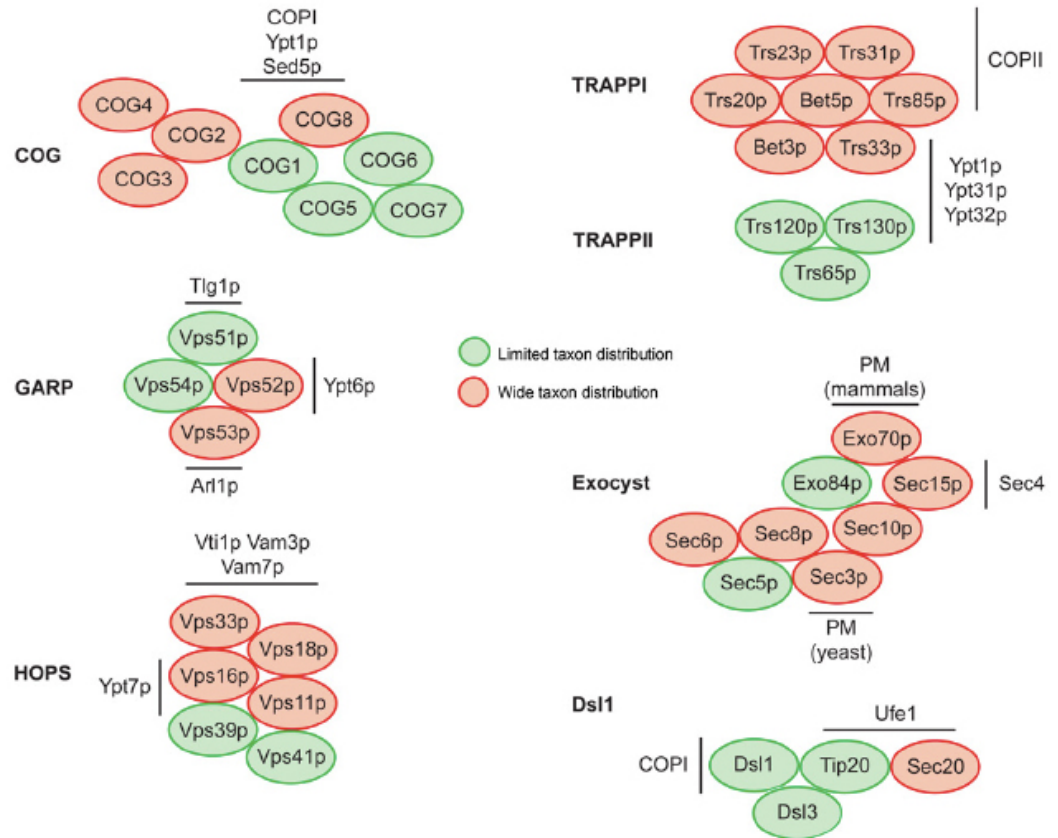
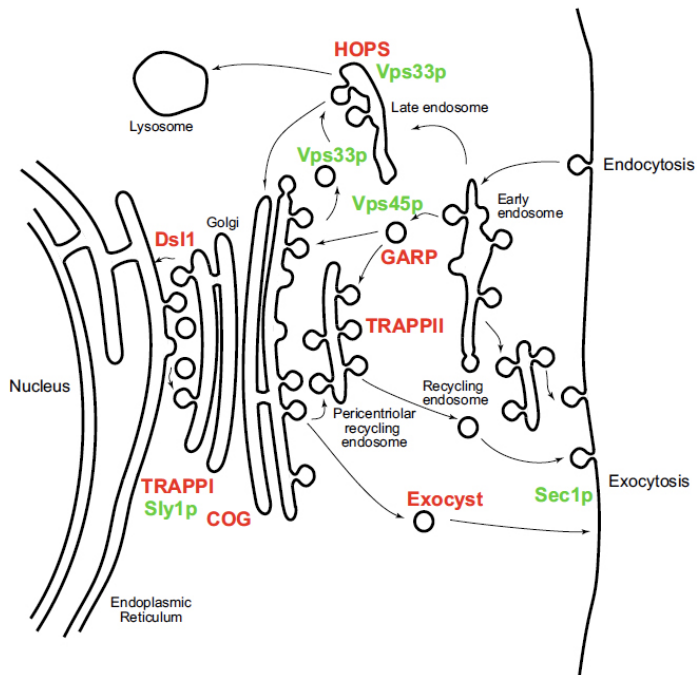


Πολλά είδη παραγόντων πρόσδεσης

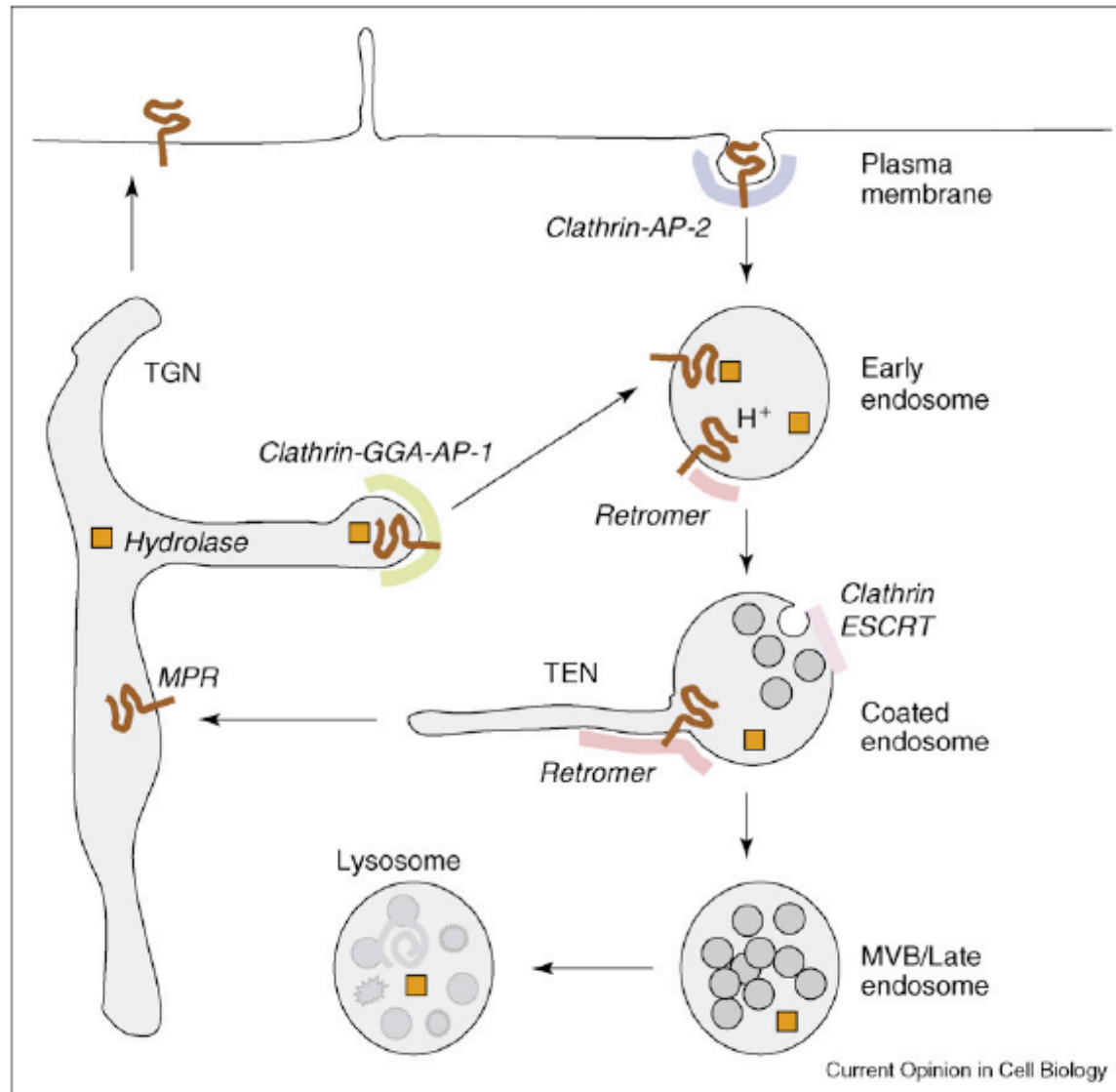


Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο;

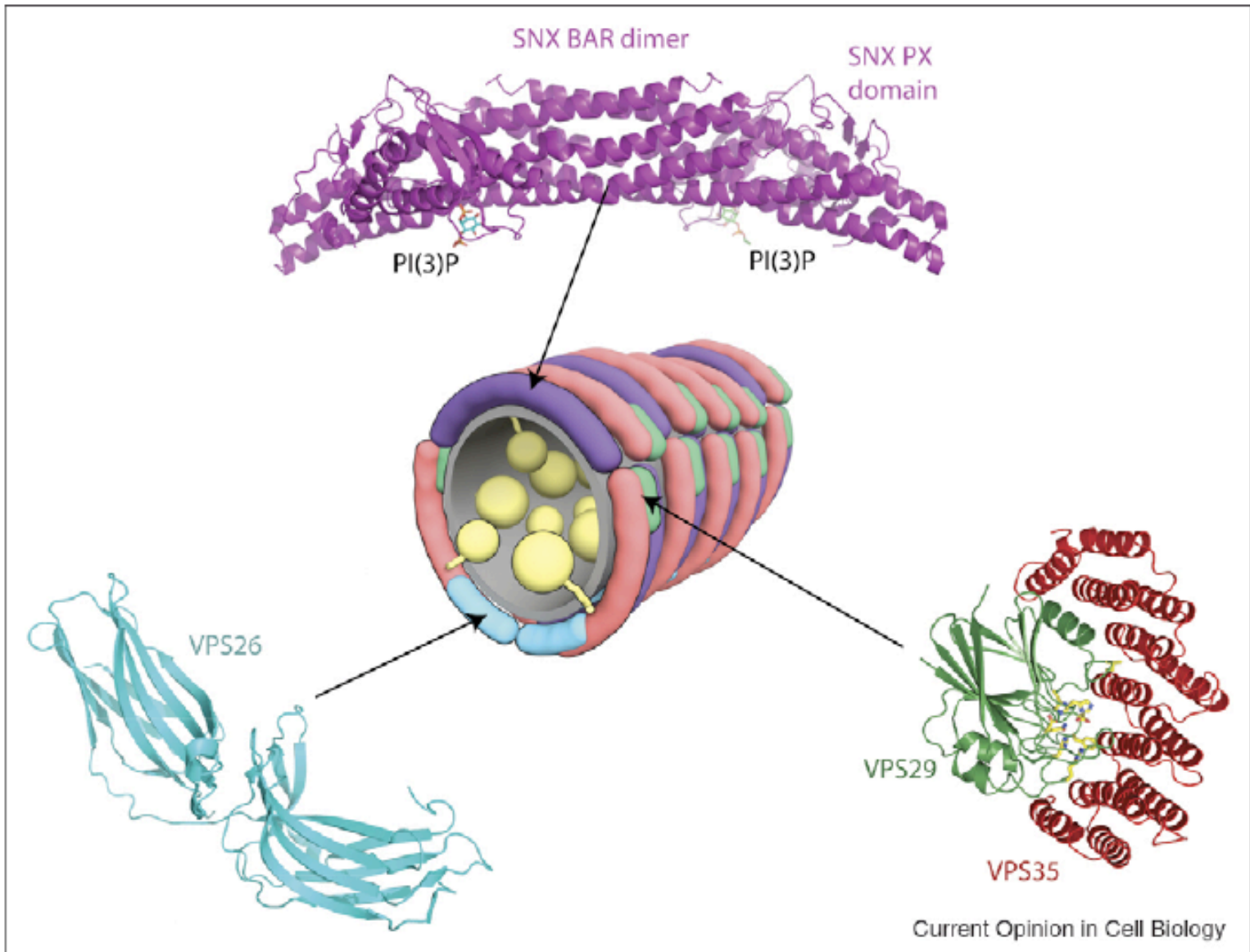
Πολλά είδη
παραγόντων
πρόσδεσης



Retromer complex



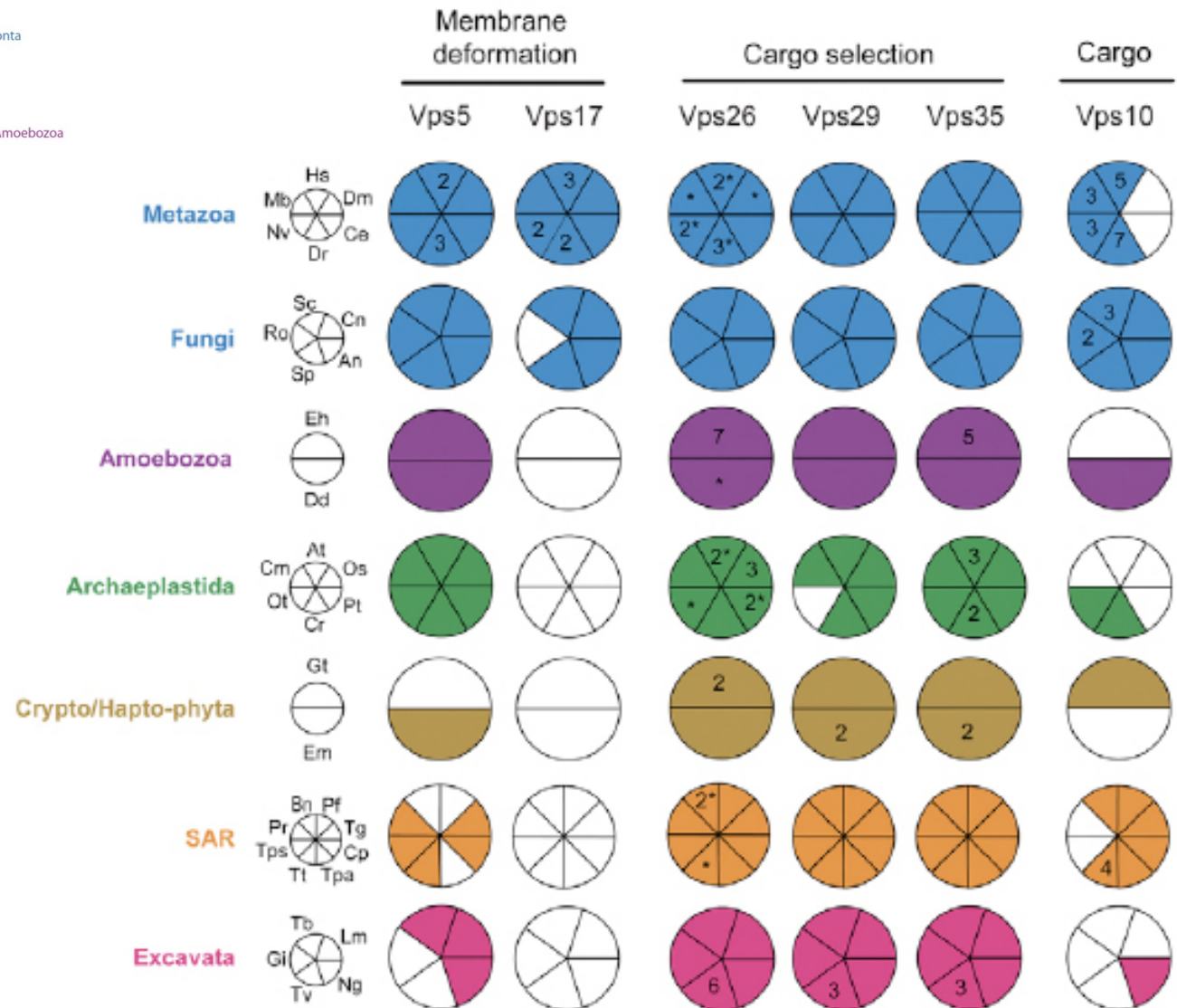
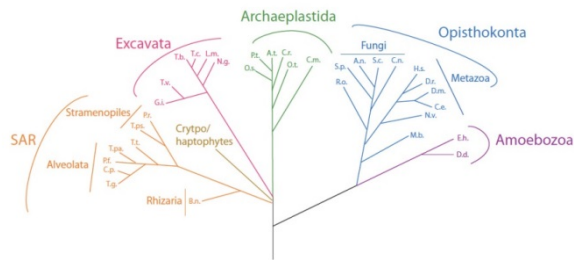
Retromer complex

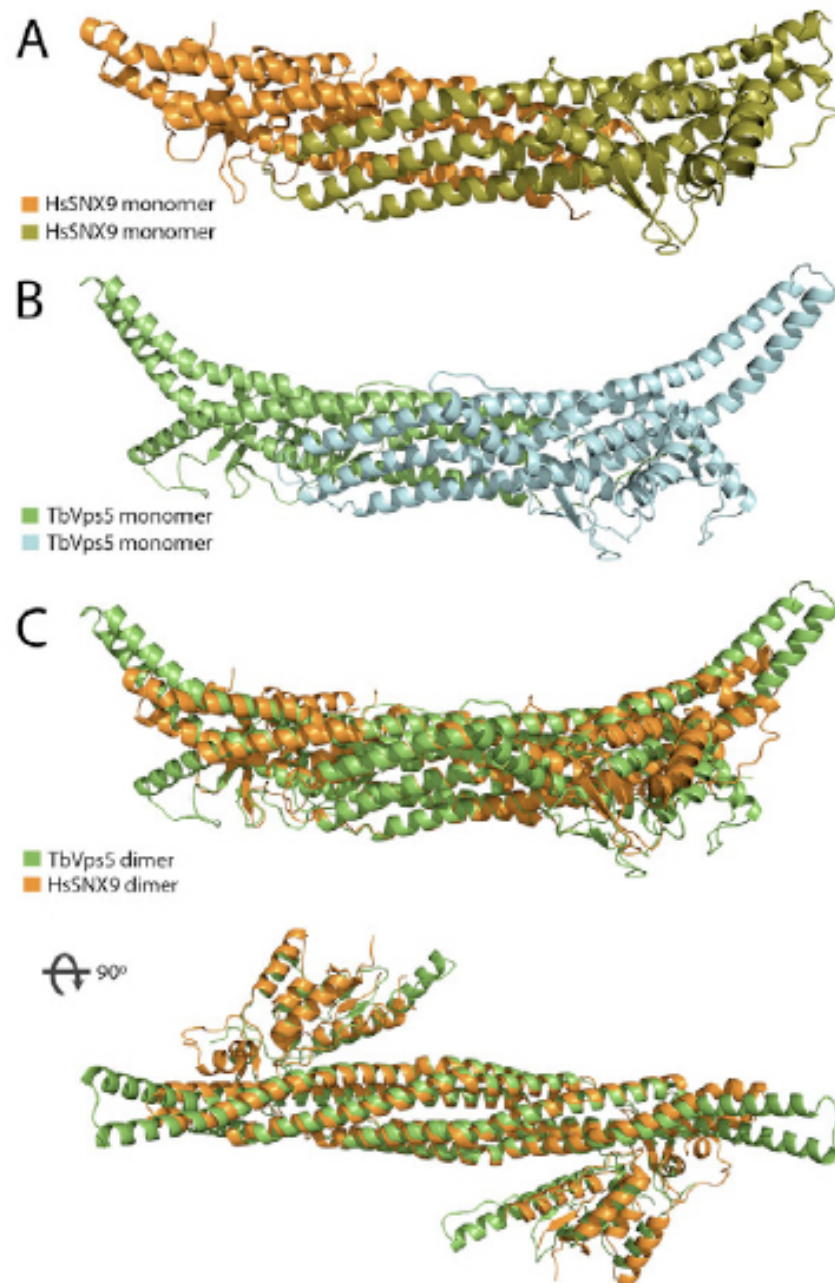


Current Opinion in Cell Biology

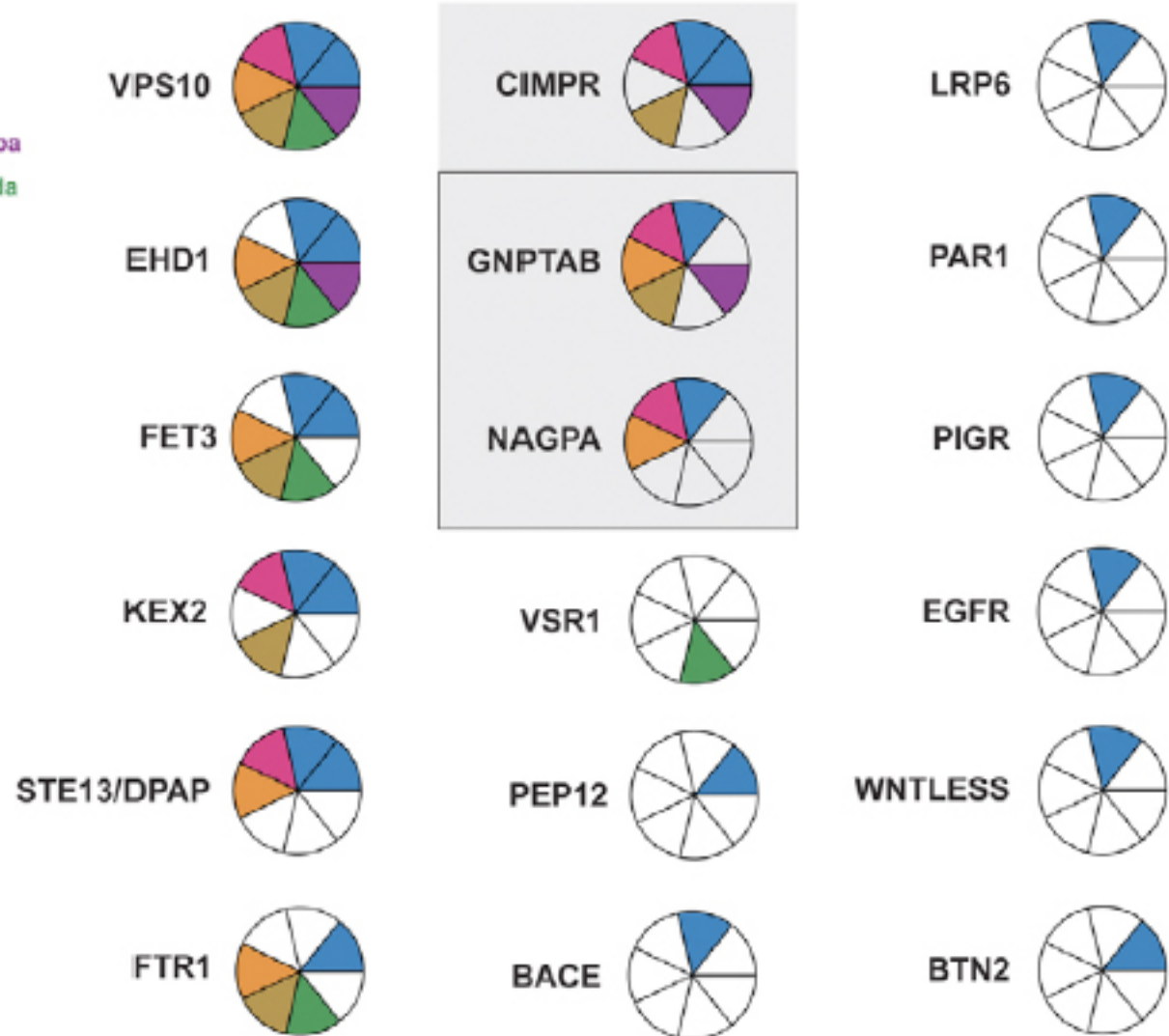
Bonifacino & Hurley 2008

Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο; (retromer)

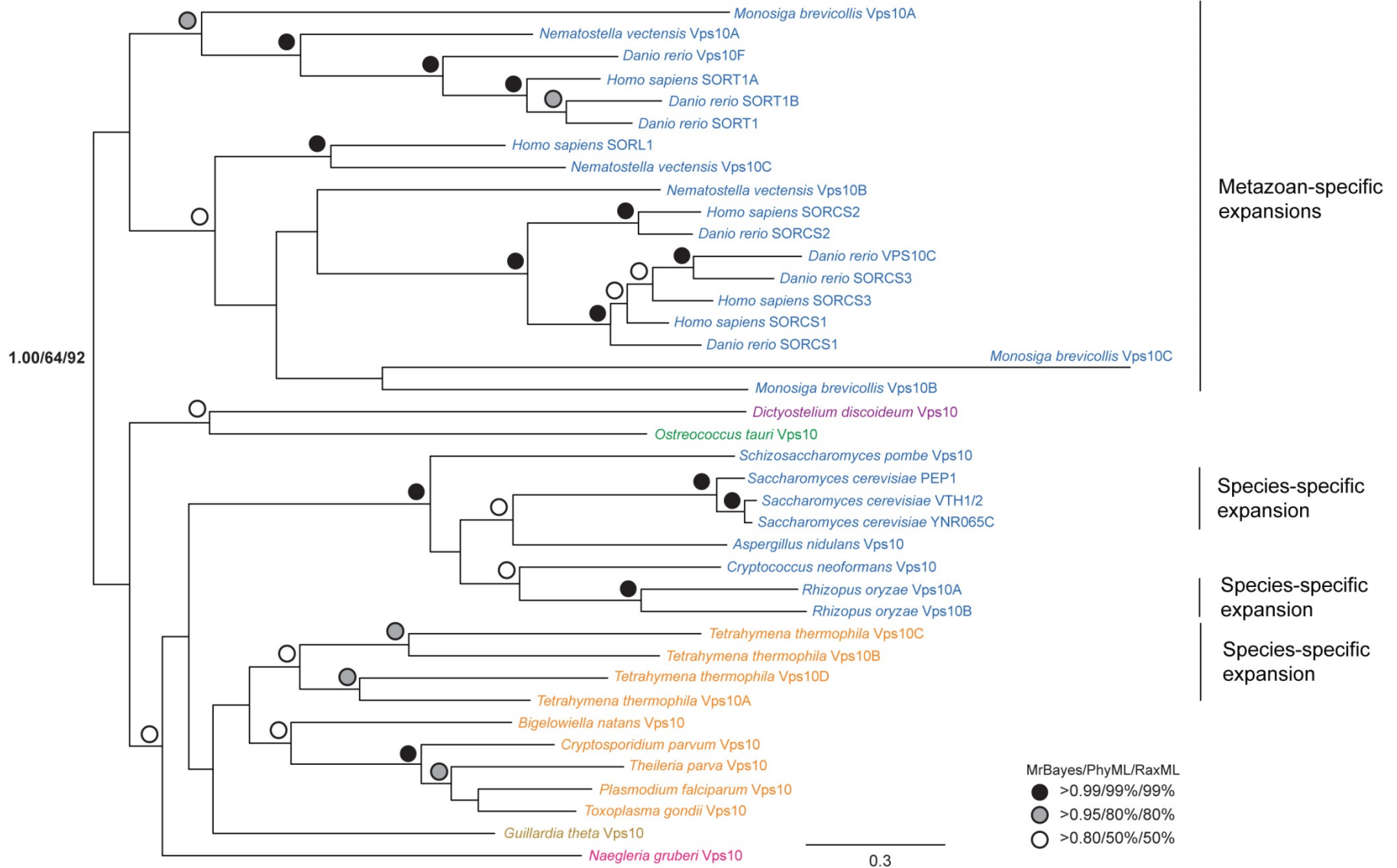




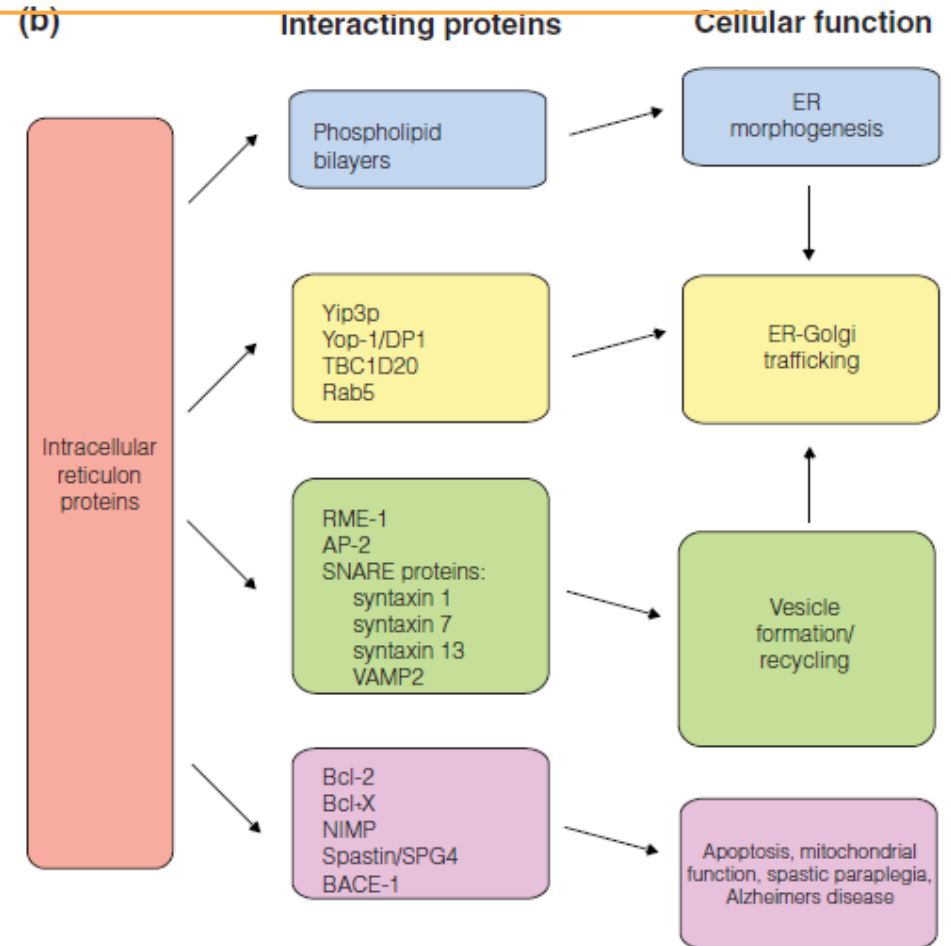
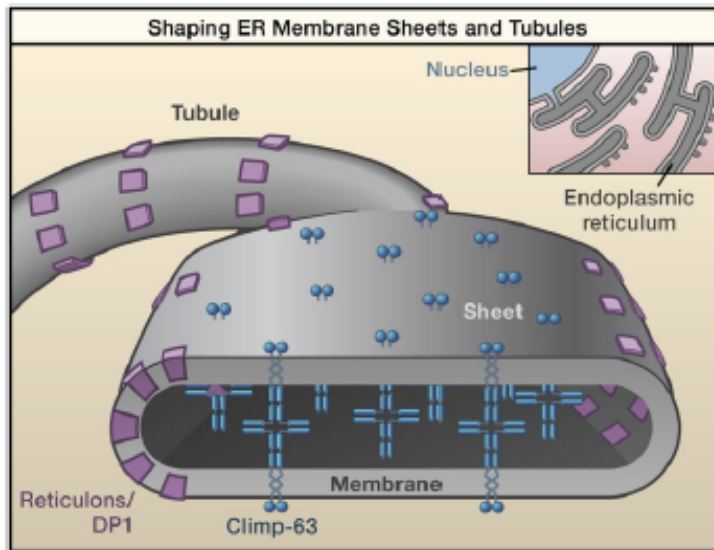
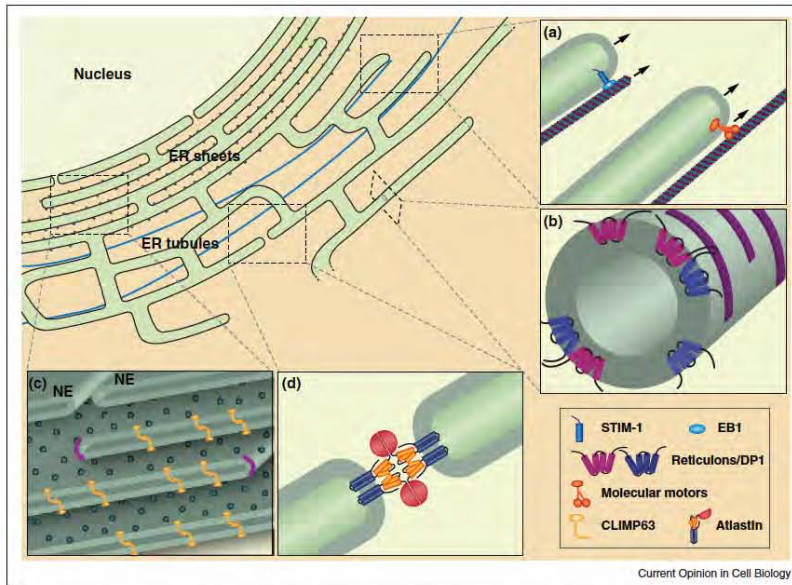
Τι υπάρχει στον κοινό πρόγονο; (retromer cargo)



Φυλογενετική ανάλυση του Vps10

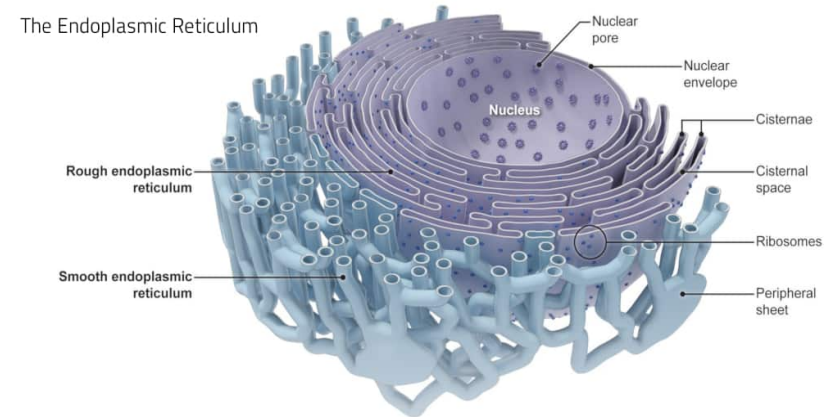


Reticulons – δομή του ενδοπλασματικού δικτύου



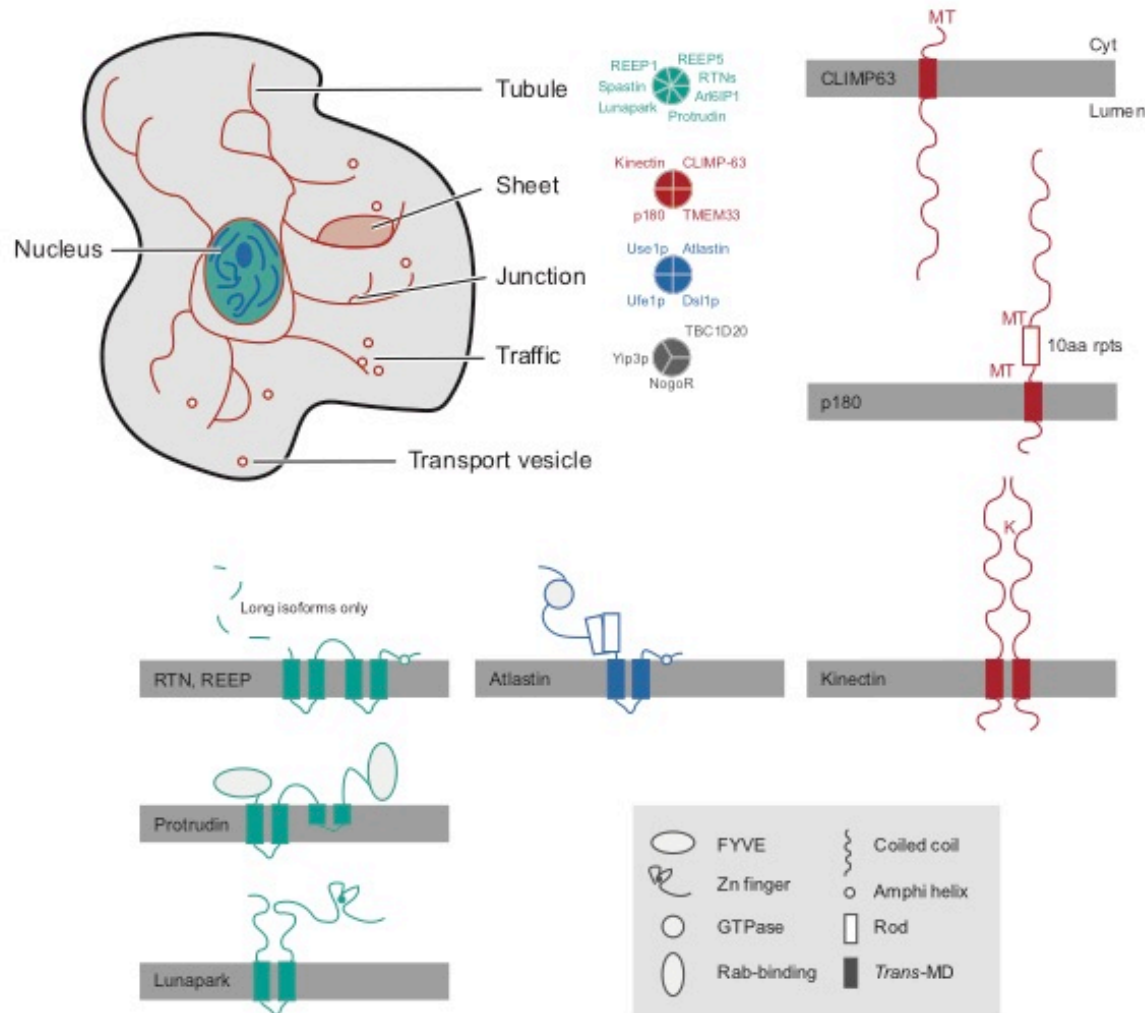
Reticulons – δομή του ενδοπλασματικού δικτύου

Functions	Proteins	
Endoplasmic reticulum (ER) formation	Reticulons	
	REEP 5 / Yop1p	
	<i>Tubules</i>	REEP1
	Lunapark	
	Protrudin	
	Arl6IP1	
	Spastin	
	<i>ER junctions</i>	Atlastin / Sey1p
	Use1p - Dsl1p	
	<i>Cisternae</i>	Reticulons
	CLIMP-63	
	Kinectin	
	TMEM33	
	ER-microtubules	STIM1
	Spastin	
CLIMP-63		
REEP1		
Endomembrane trafficking	Reticulons	
	Spastin	
	Use1p - Dsl1p	
	TBC1D20	
	Yip3p	
VAPs		
Other functions	NogoR	
	Caspr	

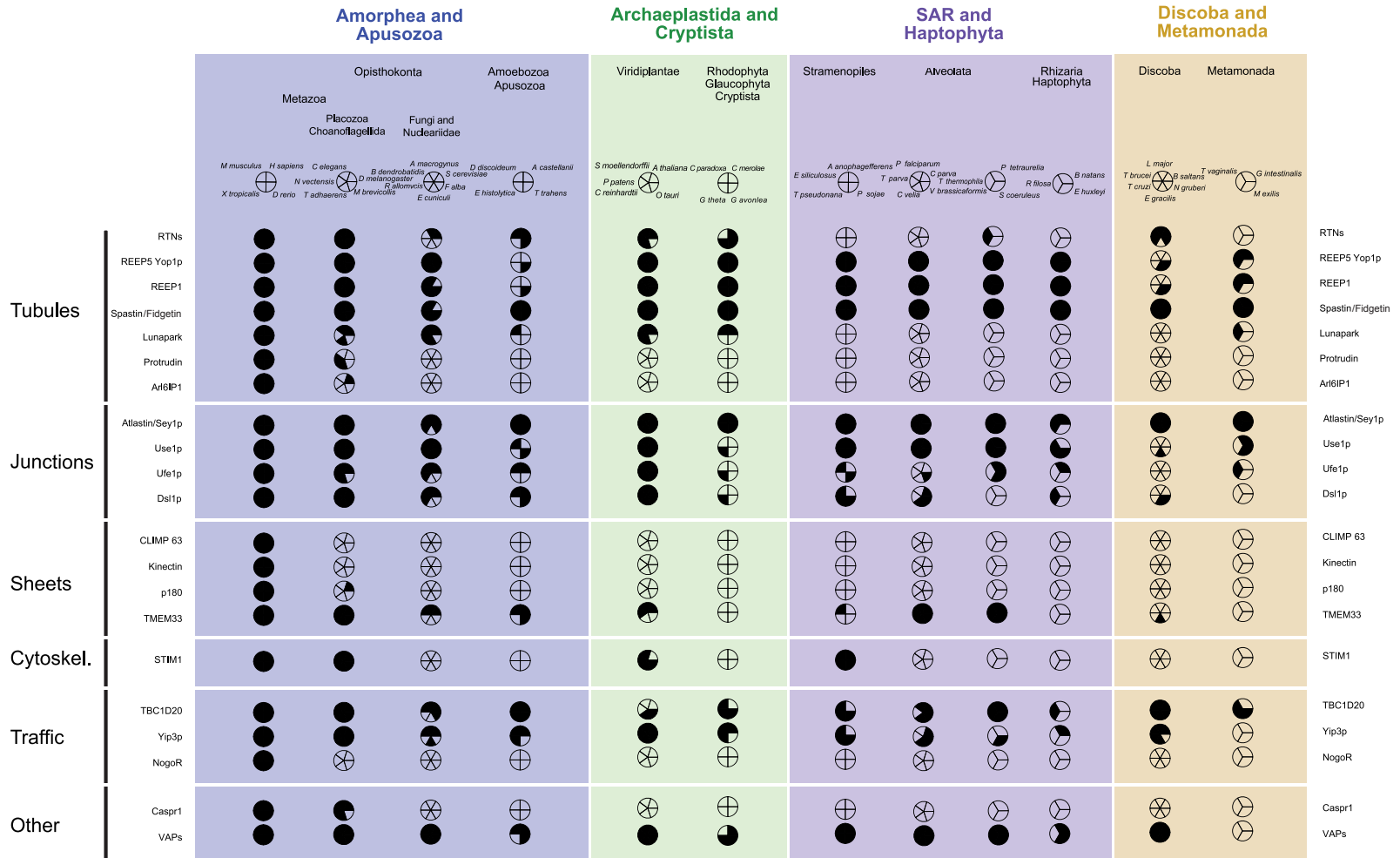


Membrane system consisting of sheets and tubules
 Functions: lipid biosynthesis, calcium storage, protein folding and processing

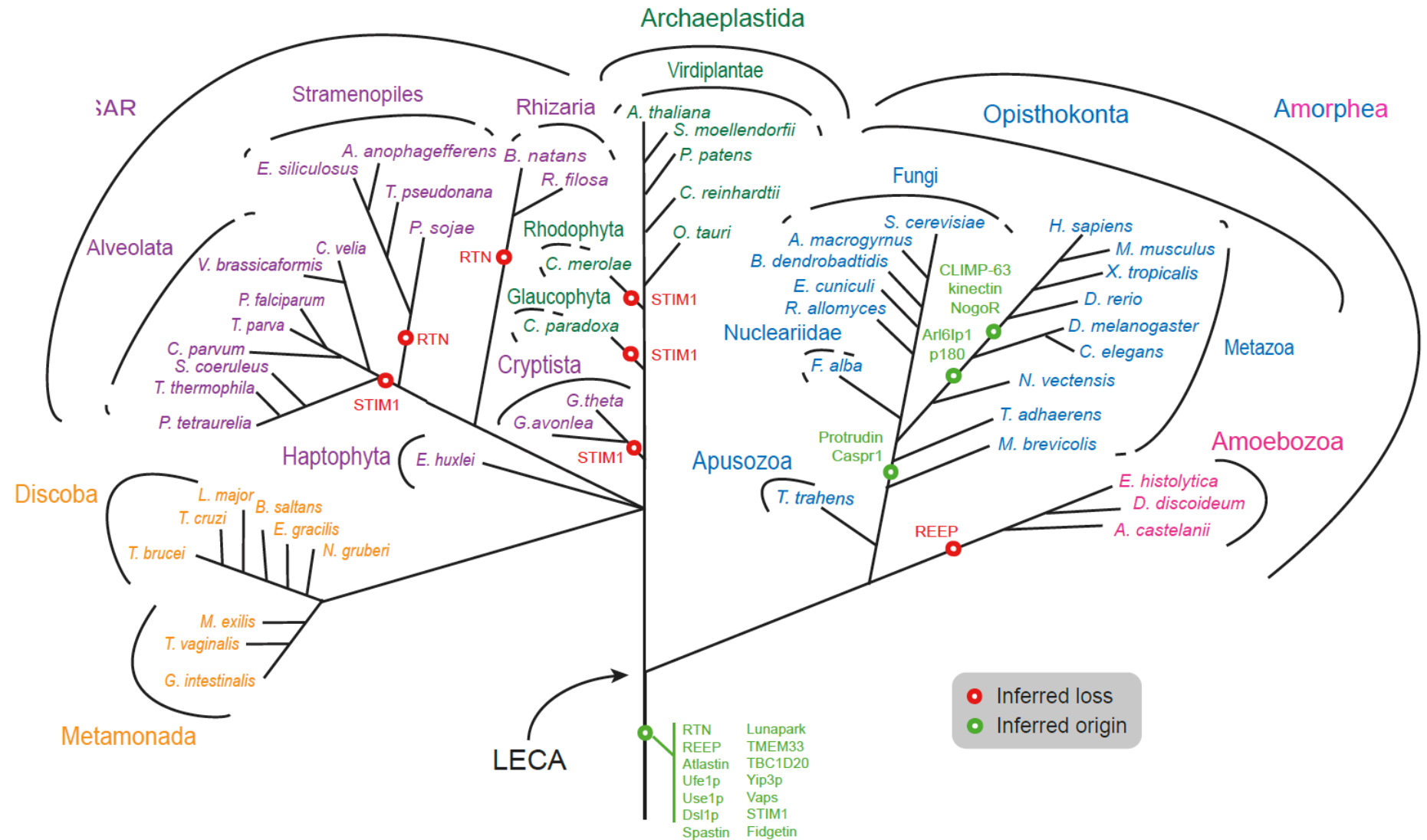
Reticulons – δομή του ενδοπλασματικού δικτύου



Reticulons – δομή του ενδοπλασματικού δικτύου

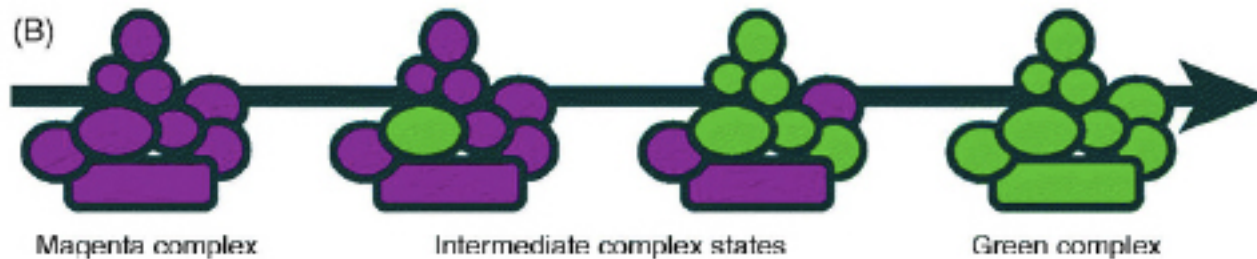


Reticulons – δομή του ενδοπλασματικού δικτύου



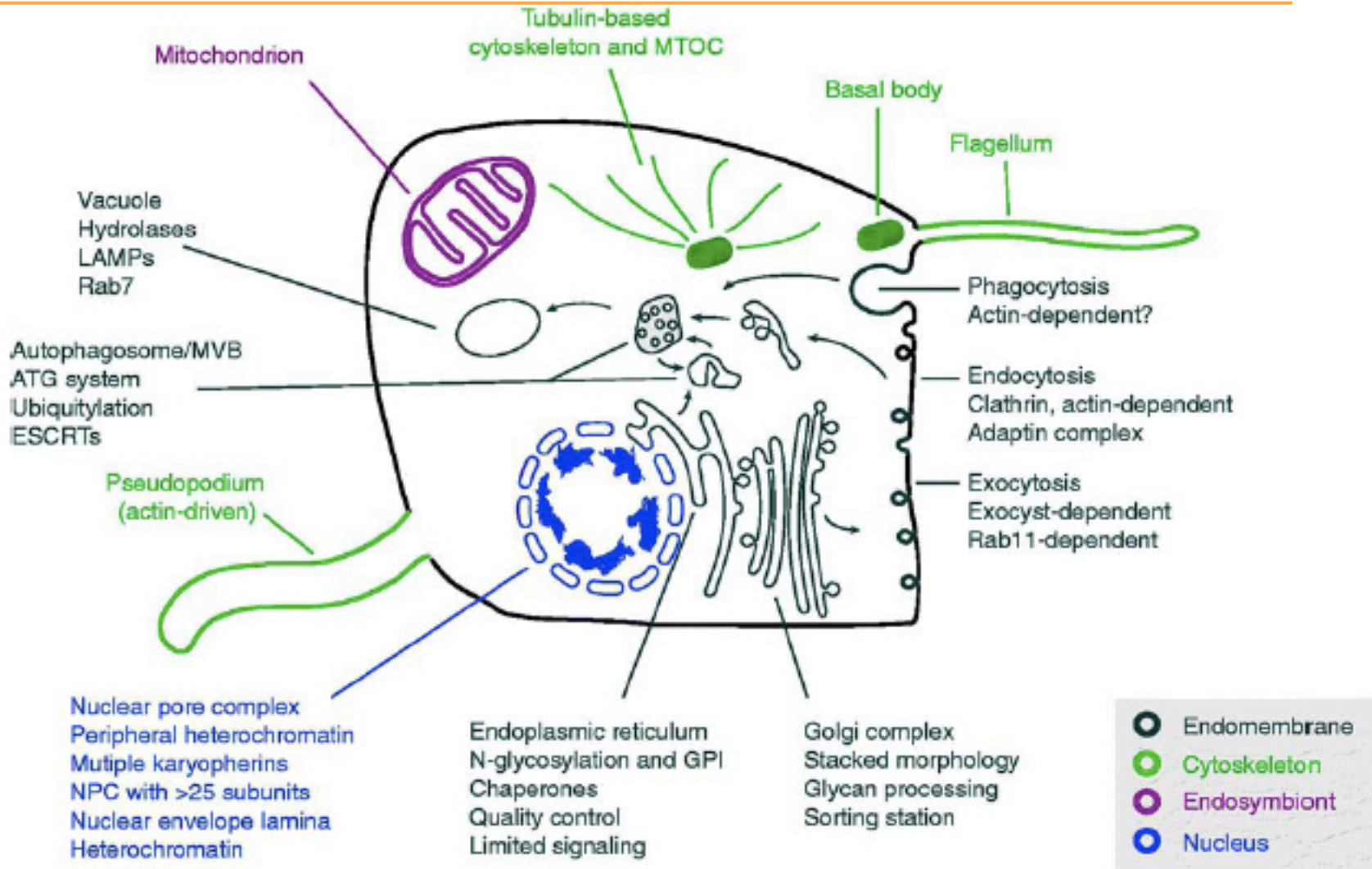
Εξέλιξη της πολυπλοκότητας/ποικιλόμορφίας

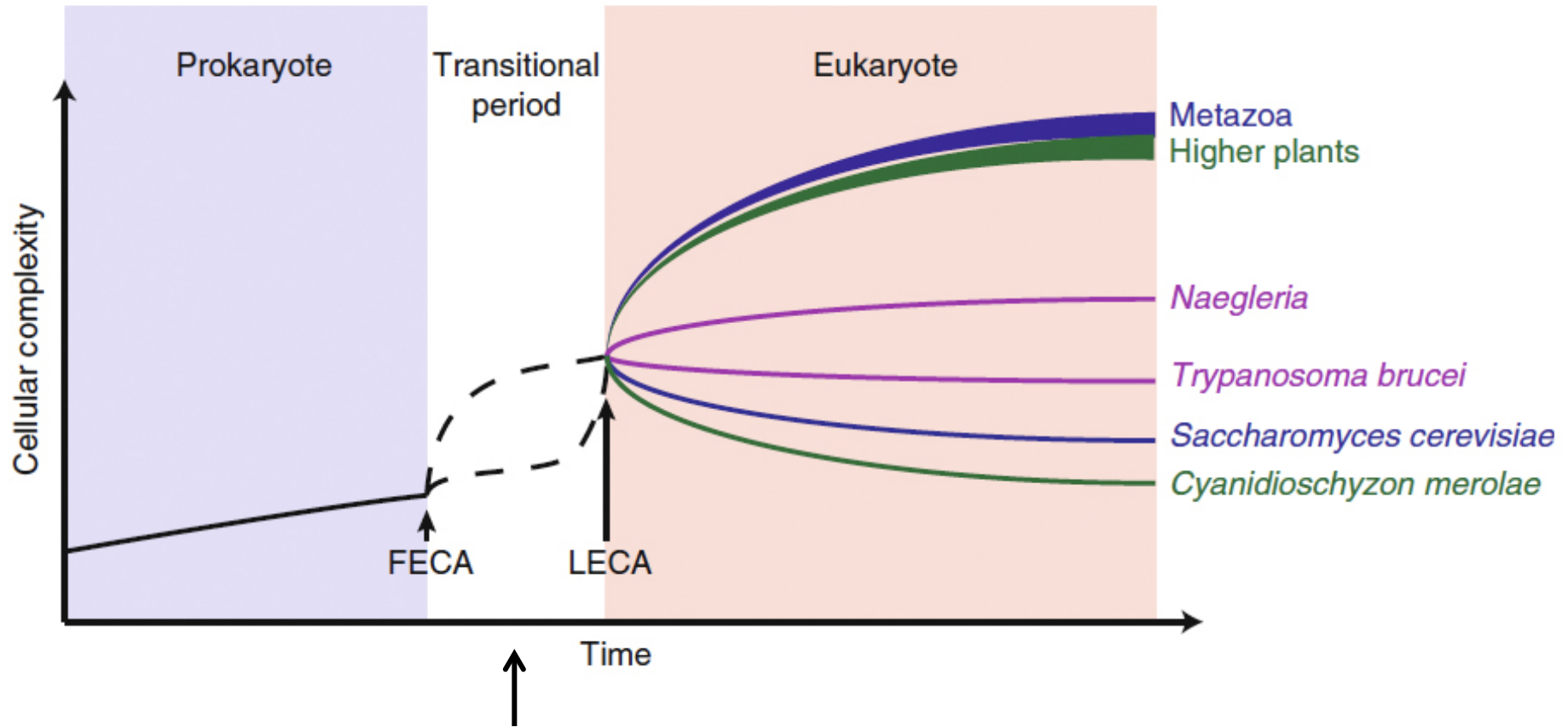
- Διαφοροποίηση μέσω διπλασιασμού γονιδίων (παράλογα γονίδια)
 - κάποια ήδη στον κοινό πρόγονο
 - μεταγενέστερη επέκταση σε συγκεκριμένα είδη



- Διαφορετικά σύμπλοκα που εκτελούν την ίδια λειτουργία σε διαφορετικά μέρη του κυττάρου (π.χ. παράγοντες πρόσδεσης)
- Εξάλειψη γονιδίων, κυρίως σε παρασιτικούς οργανισμούς (π.χ. RME-8)

Τι υπήρχε στον κοινό πρόγονο;





Powerful energy source (mitochondrion)
 Evolvable protein families (paralogous families)
 Recombination (meiosis)
 Life stage differentiation (heterochromatin)

Επιμέρους ενότητες

- Εξελικτική βιολογία συστημάτων: συγκριτική γονιδιωματική και φυλογενετική ανάλυση
- Το σύστημα ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Ανασύσταση του συστήματος στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών οργανισμών
- Ανοιχτά ερωτήματα

Ανοιχτά ερωτήματα

- Γιατί τόση πολυπλοκότητα ήδη στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών;
- Τι υπήρχε στους προκαρυωτικούς οργανισμούς;
- Πώς ακριβώς αναπτύχθηκε ο πρώτος ευκαρυωτικός οργανισμός;
- Τεχνικά θέματα:
 - άνιση κατανομή γονιδιωμάτων που έχουν αλληλουχηθεί
 - αδυναμία εύρεσης ομολογίας μέσω BLAST
 - Ανάγκη πειραματικής επαλήθευσης «ομολόγων» σε διάφορους οργανισμούς
- Εφαρμογές στη βιοϊατρική

Εφαρμογές στη βιοϊατρική

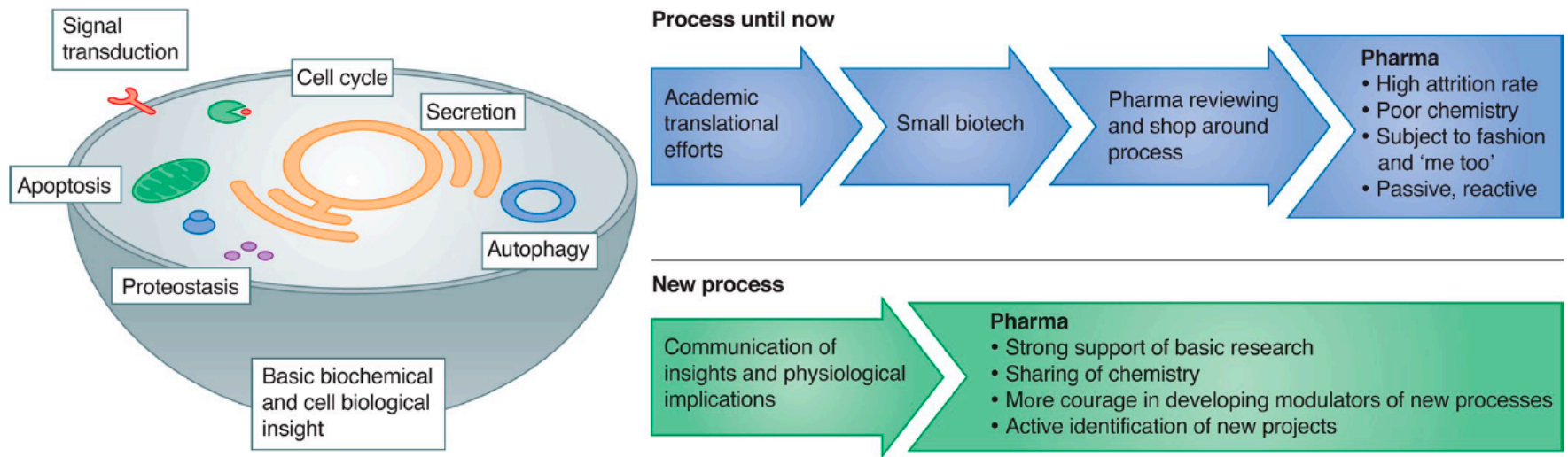


Figure 1. **Streamlining the drug discovery process.** Schematic representation of the current way in which basic research makes its way to the pharmaceutical industry and our suggestions for improvements that would support and increase therapeutic innovation and its translation to the clinic.

> [J Biol Chem](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100306). Jan-Jun 2021;296:100306. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100306. Epub 2021 Jan 19.

SARS-CoV-2 infects cells after viral entry via clathrin-mediated endocytosis

Armin Bayati ¹, Rahul Kumar ¹, Vincent Francis ¹, Peter S McPherson ²

Affiliations + expand

PMID: 33476648 PMID: [PMC7816624](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33476648/) DOI: [10.1016/j.jbc.2021.100306](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100306)

[Free PMC article](#)

Εφαρμογές στη βιοϊατρική

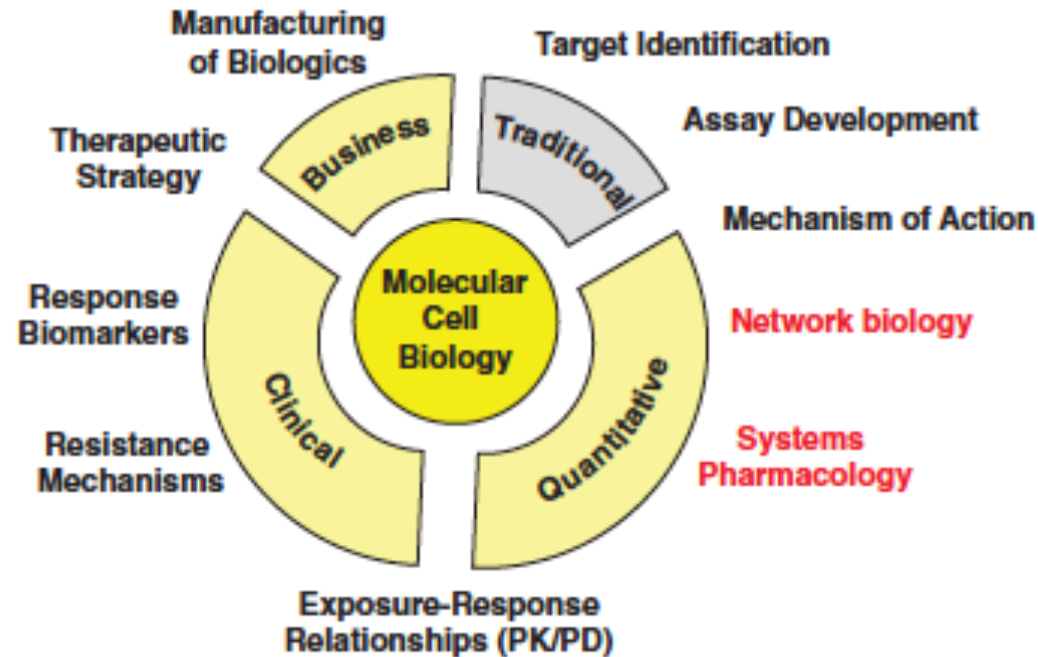


FIGURE 1: Traditional and emerging roles for cell biologists in drug development and pharmacology. Traditionally, cell biologists have worked on the earliest phases of drug discovery, during the identification and validation of targets. However, by expanding their horizons and adding new skills, cell biologists can become well-suited to other roles later in development, roles in which the stakes are higher and sophisticated understanding of the underlying biology less common. Some of these fields are traditional (e.g., pharmacokinetics and pharmacodynamics [PK/PD]; black) and others are newly emerging (e.g., systems pharmacology; red).

Βιβλιογραφία

- Hug L, Baker B, Anantharaman K, et al. 2016. A new view of the tree of life. Nat Microbiol 1:16048. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>
- <https://www.slideshare.net/leightonp/comparative-genomics-and-visualisation-part-2>
- http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2013/press.html
- Bonifacino JS, Glick BS. 2004. The mechanisms of vesicle budding and fusion. Cell 116(2):153-66. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)01079-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)01079-1)
- Alberts et al, Molecular Biology of the Cell, 4th edition
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26859/>
- Stenmark H, Olkkonen VM. 2001. The Rab GTPase family. Genome Biol. 2(5):REVIEWS3007. <https://doi.org/10.1186/gb-2001-2-5-reviews3007>
- Dacks JB, Field MC. 2007. Evolution of the eukaryotic membrane-trafficking system: origin, tempo and mode. Journal of Cell Science 120: 2977-2985.
<https://doi.org/10.1242/jcs.013250>
- Koumandou VL, Wickstead B, Ginger ML, van der Giezen M, Dacks JB, Field MC. 2013. Molecular paleontology and complexity in the last eukaryotic common ancestor. Crit Rev Biochem Mol Biol. 48(4):373-96. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.82144>

Βιβλιογραφία

- Koumandou VL, Dacks JB, Coulson RM, Field MC. 2007. Control systems for membrane fusion in the ancestral eukaryote; evolution of tethering complexes and SM proteins. *BMC Evol Biol.* 7:29.
- Bonifacino JS, Hurley JH. 2008. Retromer. *Curr Opin Cell Biol.* 20(4): 427–436. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2008.03.009>
- Koumandou VL, Klute MJ, Herman EK, Nunez-Miguel R, Dacks JB, Field MC. 2011. Evolutionary reconstruction of the retromer complex and its function in *Trypanosoma brucei*. *J Cell Sci.* 124(Pt 9):1496-509. <https://doi.org/10.1242/jcs.081596>.
- Koumandou VL, Boehm C, Horder KA, Field MC. 2013. Evidence for recycling of invariant surface transmembrane domain proteins in African trypanosomes. *Eukaryot Cell* 12(2):330-42. <https://doi.org/10.1128/EC.00273-12>.
- Yang YS, Strittmatter SM. 2007. The reticulons: a family of proteins with diverse functions. *Genome Biol.* 8(12): 234. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-12-234>
- Yang N, Shen HM. 2020. Targeting the Endocytic Pathway and Autophagy Process as a Novel Therapeutic Strategy in COVID-19. *Int J Biol Sci* 16(10):1724-1731. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45498> Available from <http://www.ijbs.com/v16p1724.htm>
- Aridor M, Hannan LA. 2000. Traffic Jam: A Compendium of Human Diseases that Affect Intracellular Transport Processes. *Traffic* 1(11):836-851 <https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2000.011104.x>