

Horyzontalny Transfer Genów u roślin

dr hab. Grzegorz Góralski

- Karol Darwin rozmyślając nad rozwojem życia na Ziemi narysował w swoim notatniku prosty schemat, który miał ilustrować powstawanie nowych form życia.

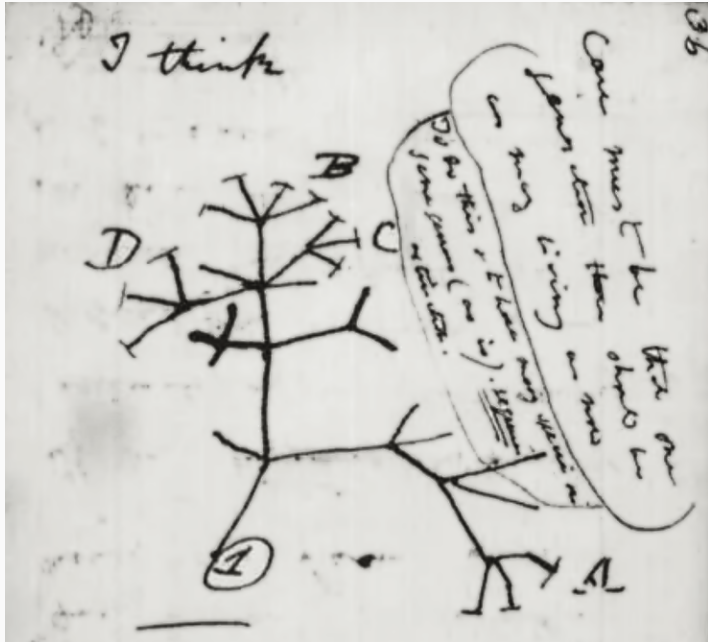
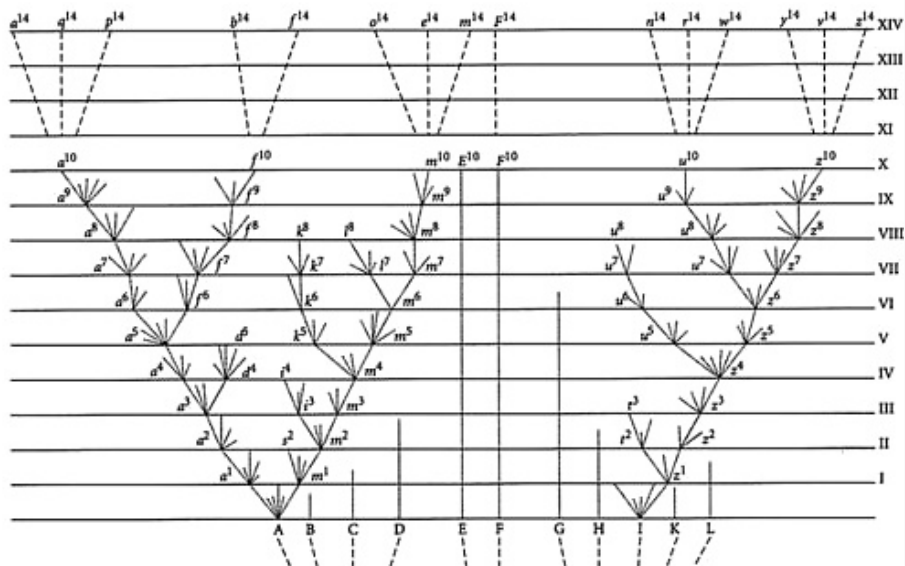


Figure 1: Rysunek z notatnika Darwina

- Przy czym rysunek ten kojarzył mu się raczej z koralowcem niż z drzewem.
- W swojej najłynniejszej książce, „O powstawaniu gatunków drogą doboru naturalnego” (1859), w której przedstawił swoją teorię ewolucji przedstawił znacznie bardziej złożone „drzewo życia”.



- Warto zauważyć, że drzewa Darwina nie były pierwszymi przedstawieniami „drzew życia”, wcześniej pojawiały się podobne rysunki, jednak nie miały one przedstawiać ewolucji życia i wynikających z ewolucji pokrewieństw organizmów ale raczej służyły uporządkowaniu organizmów, w niektórych przypadkach uwzględniając kolejność ich pojawiania się w zapisie kopalnym
- Poniżej dwa przykłady.

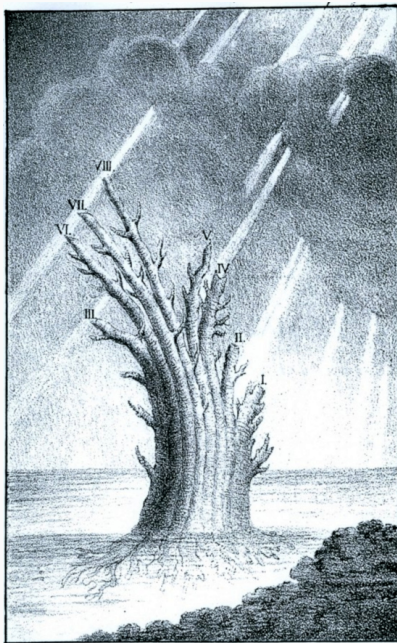


Figure 2: Carl Edward von Eichwald (1829) na podst. Petera Simona Pallasa (1766) ⁷

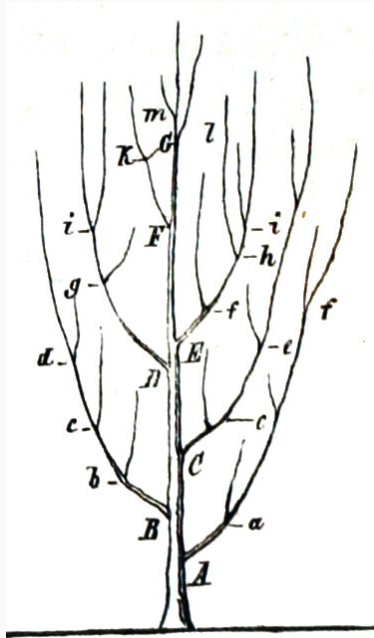


Figure 3: Heinrich Georg Bronn (1858)

- Do najbardziej znanych kontynuatorów i propagatorów teorii ewolucji Darwina należał Ernst Heinrich Haeckel.
- W „Generelle Morphologie”, dziele opublikowanym w 1866, przedstawił ewolucję organizmów w formie drzewa.

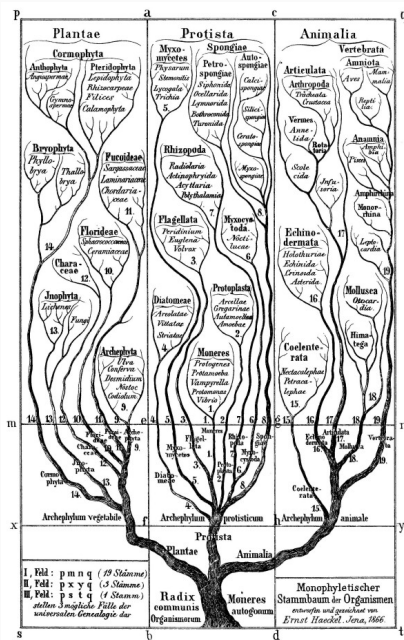
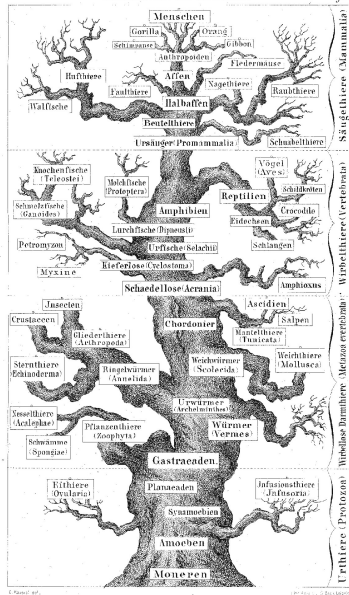


Figure 4: Haeckel 1866

- Osiem lat później (1874) Ernst Haeckel opublikował jeszcze bardziej malownicze drzewo, na którym przedstawił pochodzenie człowieka.



C. Kuntz, 1874.

C. Kuntz, 1874.

Figure 5: Haeckel 1874

- Drzewa Darwina, Haeckela i wiele innych, przedstawiających filogenezę organizmów, które możemy dzisiaj oglądać w książkach i publikacjach mają na celu pokazać pokrewieństwa i historię ewolucyjną badanych organizmów.
- Zgodnie z wizją Darwina, z jednego gatunku mogą powstać dwa, które następnie ewoluują niezależnie od siebie i mogą dać w wyniku kolejnych specjacji nowe gatunki a w konsekwencji taksony o wyższej randze (rodzaje, rodziny itd).
- Zwróćmy uwagę na ważną cechę tych drzew: gałąź, rozdziela się na dwie gałęzie, które „rosną” niezależnie od siebie i już się więcej nie spotykają.
- Schematycznie można to pokazać tak:

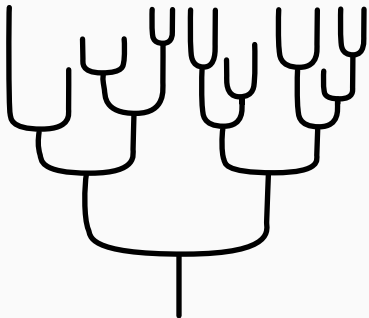


Figure 6: „Tradycyjne drzewo”

- Wraz z rozwojem biologii a zwłaszcza metod molekularnych, okazało się że taka wizja ewolucji jest jednak uproszczona.
- Najbardziej oczywistym wyłomem ją krzyżówki międzygatunkowe.
- Blisko spokrewnione gatunki mogą się krzyżować i tworzyć płodne hybrydy, zwłaszcza u roślin.
- Zatem w drzewie ewolucyjnym pojawiają się „oczka”:

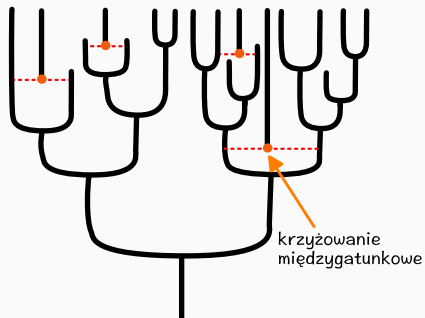
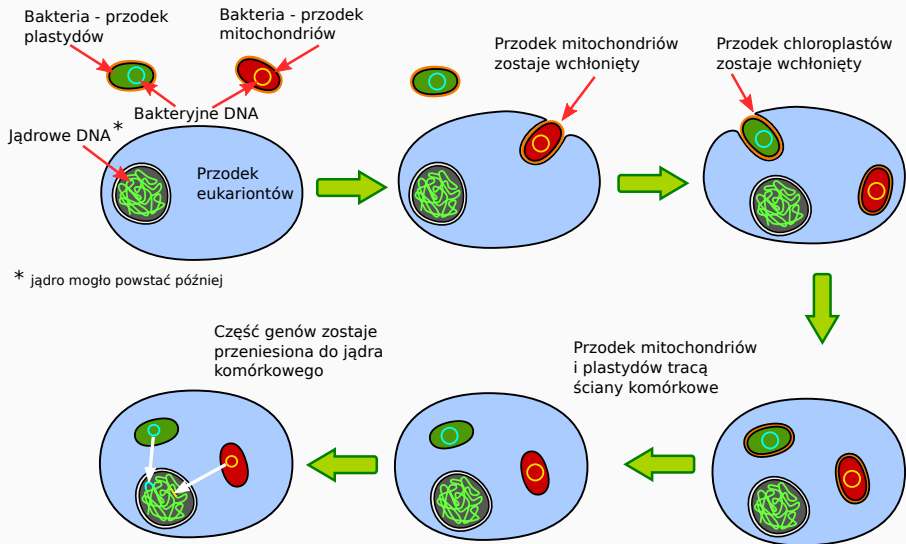


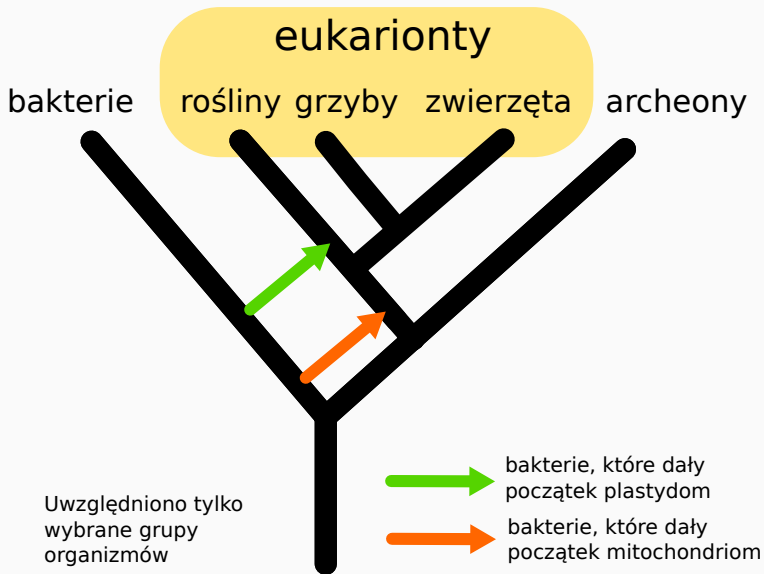
Figure 7: Drzewo uwzględniające krzyżowanie międzygatunkowe

- Czasem w wyniku badań okazuje się, że dla danej grupy organizmów otrzymujemy raczej sieć niż drzewo.
- Poniżej przykład z pracy Chao, YS., Ebihara, A., Chiou, WL. et al. Reticulate evolution in the *Pteris fauriei* group (Pteridaceae). Sci Rep 12, 9145 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11390-7>

- Innym przykładem, który wymyka się „drzewiastej” wizji ewolucji jest endosymbioza, a zwłaszcza endosymbiotyczne pochodzenie komórki eukariotycznej.
- Jak dzisiaj wiadomo, najpierw mitochondria a później plastydy, które były poprzednio wolnożyjącymi bakteriami, stały się organellami w komórkach eukariotycznych.



- Zatem doszło przynajmniej dwukrotnie do „fuzji” dość odległych ewolucyjnie organizmów.



- Jednak na dzisiejszym wykładzie skupimy się na innym, zjawisku, czyli na horyzontalnym transferze genów.
- **Horyzontalny transfer genów** (ang. *horizontal gene transfer* - HGT), zwany też poziomym transferem genów (ang. *lateral gene transfer* - LGT) to zjawisko przenoszenia materiału genetycznego między organizmami bez udziału procesów płciowych.
-

- HGT jest zjawiskiem częstym zwłaszcza u prokariontów i protistów, u których odkryto go najwcześniej.
- Widać to na przykład kiedy tworzy się dla prokariontów drzewa filogenetyczne na podstawie różnych genów.

- Poniższa ilustracja pochodzi z pracy: Sousa Filipa L., Thiergart Thorsten, Landan Giddy, Nelson-Sathi Shijulal, Pereira Inês A. C., Allen John F., Lane Nick and Martin William F. 2013. Early bioenergetic evolution Phil. Trans. R. Soc. B3682013008820130088
<http://doi.org/10.1098/rstb.2013.0088>
- Przedstawia drzewo filogenetyczne utworzone dla 100 gatunków bakterii i archeonów na podstawie 48 genów.
- Im mniej przeźroczyste gałęzie tym zgodność większa zgodność drzewa wspólnego dla wszystkich badanych genów i dla drzewa otrzymanego ze wszystkich genów razem.

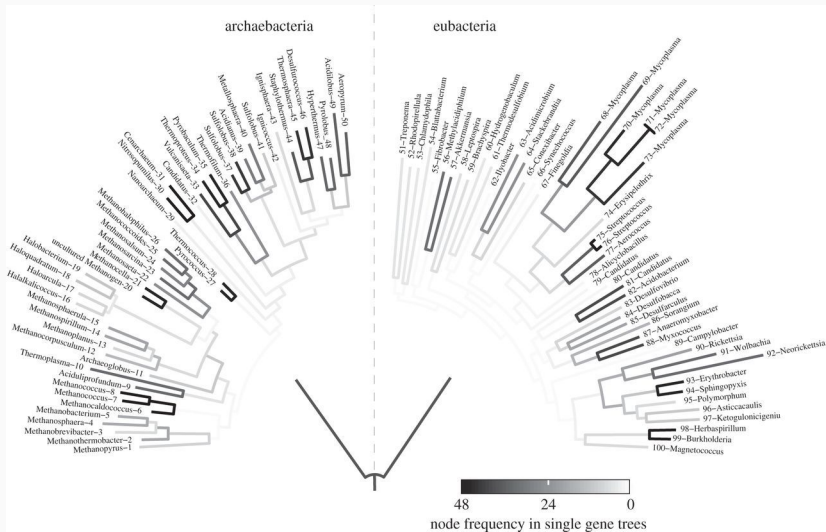


Figure 9: Sousa et al. 2013

- Jak widać u podstawy drzewo „zanika”.
- Jest tak ponieważ prokaryoty często wymieniają fragmenty DNA włącznie z aktywnymi genami, zatem dochodzi do przenoszenia materiału genetycznego nawet między mało spokrewnionymi organizmami.
- W powyższych badaniach, żadne drzewo utworzone dla 48 badanych genów nie było zgodne z drzewem dla wszystkich.
- Mamy tu zatem do czynienia raczej z siecią wymieniających się materiałem genetycznym organizmów.
- Oczywiście utrudnia to badania filogenetyczne.

- Późniejsze badania wykazały, że HGT występuje także u złożonych eukariontów: zwierząt, grzybów i roślin.
- Skupimy się na tych ostatnich.
- Okazuje się, że wiele z istotnych cech, które pozwoliły na sukces ewolucyjny roślin lądowych, zostało uzyskanych przez te organizmy właśnie dzięki horyzontalnemu transferowi genów.
- Oto kilka przykładów cech, które uzyskały rośliny dzięki HGT

Przystosowanie paproci do słabego oświetlenia

- Paprocie znane są z przystosowania do życia w słabym oświetleniu.
- Ich zdolność do rozwoju w takich warunkach została powiązana z ewolucją chimerycznego fotoreceptora - neochromu, który łączy w jednym genie moduły fitochromu i fototropiny reagujące na światło czerwone i niebieskie, optymalizując w ten sposób fotosyntezę.
- Okazało się, że neochrom paprocie uzyskały od glików drogą HGT.

Gen chroniący przed owadami u paproci

- U paproci znaleziono gen *Tma12*, o właściwościach insektobójczych
- Paprocie najprawdopodobniej uzyskały go dawno temu, drogą HGT od bakterii
- Gen ten u transgenicznej bawełny, chroni ją przed mączlikami.

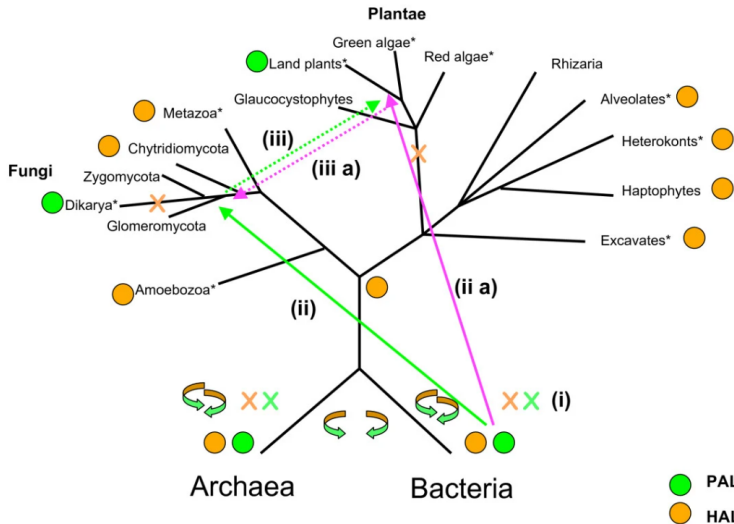
Fotosynteza C₄ u *Alloteropsis*

- Geny niezbędne do fotosyntezy C₄ u traw *Allotheropsis* zostały przeniesione poprzez minimum cztery epizody HGT od gatunków, które oddzieliły się od tej linii ok. 20 mln. lat temu

Flawonoidy i lignina

- Enzym PAL (*Phenylalanine Ammonia Lyase*) niezbędny do syntezy flawonoidów i ligniny został na wczesnych etapach ewolucji roślin lądowych przeniesiony do nich od bakterii lub grzybów.
- Poniższa ilustracja pochodzi z pracy: Emiliani, G., Fondi, M., Fani, R. et al. A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: a key adaptation of plants to land. Biol Direct 4, 7 (2009). <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-7>

Eukarya



* Available complete genome data

Co sprzyja HGT

- HGT jest ułatwiony w przypadku organizmów jednokomórkowych - przeniesiony i zintegrowany z genomem biorcy gen jest bezpośrednio przekazywany komórkom potomnym.
- U organizmów wielokomórkowych sytuacja jest bardziej skomplikowana - przeniesiony gen musi znaleźć się w linii komórek, które wytworzą gamety (w przypadku rozmnażania płciowego).
- Znane są jednak transfery pomiędzy bakteriami i grzybami, bakteriami i roślinami, bakteriami i zwierzętami, grzybami i zwierzętami czy grzybami i roślinami.
- Wydaje się zatem, że nie istnieją żadne bariery genetyczne „zakazujące” przenoszenia się materiału genetycznego pomiędzy nawet odległymi ewolucyjnie organizmami.

- Przekazanie przeniesionego genu do następnych pokoleń jest bardziej prawdopodobne jeśli spory, zygoty czy zarodki mają bezpośredni kontakt z otoczeniem - mogą wtedy łatwiej „pobrać” obce geny i przekazać dalej.
- Także inne rodzaje bliskiego kontaktu między organizmami mogą sprzyjać HGT.

- Ciekawym przypadkiem jest *Amborella trichopoda* posiadająca ogromny genom (3,9 milionów pz).
- Badania wykazały, że w jej genomie znajdują się ślady wielu epizodów HGT.
- Większość genów mitochondrialnych posiada jedną lub więcej kopii uzyskanych od mszaków, zielenic i innych okrytonasiennych.
- Co więcej, wiele z tych transferów obejmowało wiele genów a nawet całe genomy mitochondrialne.
- Autorzy przypuszczają, że jest to związane z trybem życia rośliny - jest ona często pokryta licznymi epifitami - taki bezpośredni kontakt sprzyja przenoszeniu genów.

- Ostatnio także odkryto liczne przypadki HGT między trawami.
- Możliwe, że transfery są tak częste dzięki dużych ilości pyłku (rosnące blisko siebie łagiewki pyłkowe różnych gatunków mogą wymieniać materiał genetyczny).
- Zwraca się także uwagę na to, że korzenie rosnących blisko siebie roślin mogą się zrastać i wymieniać materiał genetyczny.

- Jak widać, zjawisko HGT kojarzone jest z bliskim fizycznym kontaktem między organizmami różnych gatunków.
- Innym przykładem bliskich kontaktów między roślinami jest zjawisko pasożytnictwa.
- **Hemipasożyty** (półpasożyty) - prowadzą fotosyntezę, pobierają od gospodarza wodę i sole mineralne.
- **Holopasożyty** (pasożyty całkowite) - nie prowadzą fotosyntezy, pobierają od gospodarza także substancje organiczne.
- Możemy też je podzielić na **obligatoryjne** (muszą pasożytować) i **fakultatywne** (mogą pasożytować, ale nie muszą)
- Holopasożyty są oczywiście pasożytami obligatoryjnymi, często używa się te terminy jako synonimy.

- Holopasożyty wydają się być lepszymi kandydatami do transferów genów.
- Rzeczywiście, badania wspierają taki pogląd.
- Na przykład, zbadano pięć gatunków z rodziny Orobanchaceae: dwa holopasożytnicze (*Orobanche minor* i *Aeginetia indica*) i trzy pasożyty fakultatywne (*Pedicularis keiskei*, *Phtheirospermum japonicum* i *Melampyrum roseum*).
- U holopasożytów znaleziono 106 obcych genów jądrowych, u pasożytów fakultatywnych nie znaleziono żadnego.

- Znaleziono także wiele innych przypadków HGT, przy czym nie tylko przeniesionych od żywiciela do pasożyta ale także od pasożyta do żywiciela.
- Na przykład u *Plantago* zidentyfikowano dwa transfery genu *atp1* od pasożytów *Bartsia* i *Cuscuta*.

- Jednym z kluczowych pytań dotyczących HGT jest to, jaki kwas nukleinowy przenosi informację genetyczną między roślinami.
- Teoretycznie, istnieją dwie możliwości: DNA i mRNA.
- DNA wydaje się najbardziej oczywistym kandydatem - przeniesione fragmenty mogą po prostu wbudować się w genom biorcy.
- Z drugiej strony wiadomo, że między pasożytem i gospodarzem występuje „RNA traffic” - wraz substancjami odżywczymi w tkankach przewodzących przedostają się cząsteczki mRNA.
- Trzeba jednak pamiętać, że aby gen wbudował się do genomu biorcy, musi dojść do odwrotnej transkrypcji.
- Geny przeniesione drogą mRNA można zidentyfikować np. po braku intronów (jeśli dany gen je ma), śladach ogona poli-A czy śladach edycji mRNA.
- Badania wykazują, że obie drogi (przez DNA i mRNA) się zdarzają, choć ta pierwsza wydaje się częstsza.

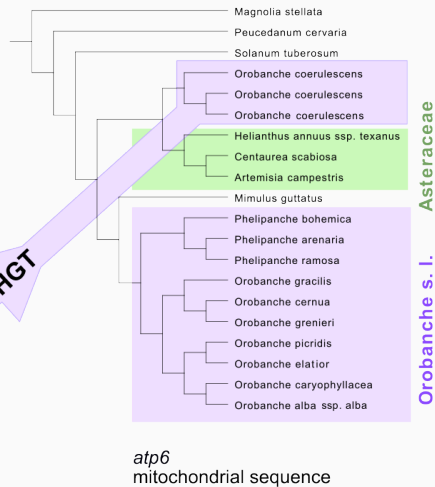
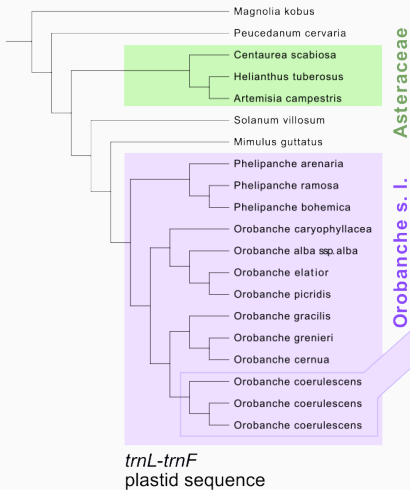
- Kolejnym zagadnieniem związanym z HGT jest rodzaj genomu biorącego udział w transferze.
- W komórce roślinnej znajdują się trzy genomy: jądrowy, plastydowy i mitochondrialny.
- Z tych trzech genom plastydowy wydaje się szczególnie „oporny” na takie zmiany.
- Z kolei mitochondria i genom mitochondrialny roślin mają wiele cech, które sprzyjają transferom, jak: mechanizm pobierania DNA, liczne i duże przestrzenie między genami, gdzie mogą się wbudowywać obce sekwencje, fuzje między mitochondriami, etc.
- Rzeczywiście, przypadki zidentyfikowanego HGT, dotyczą głównie genów jądrowych i mitochondrialnych.

- Od lat prowadzimy badania nad HGT u przedstawicieli holopasożytniczych Orobanchaceae, głównie u rodzajów *Orobanche* i *Phelipanche*.
- Rodzina Orobanchaceae jest wybitnie bogata w gatunki holopasożytnicze ale zawiera także hemipasożyty i autotrofy, zatem jest dobrym modelem do badań nad pasożytnictwem i związanymi z nim procesami ewolucyjnymi.



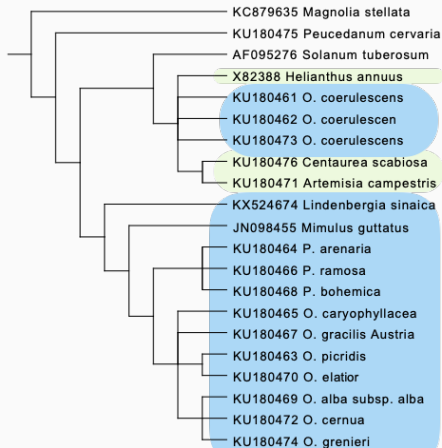
Figure 10: *Orobanche flava*

- Na razie udało nam się opublikować pierwszy przypadek transferu mitochondrialnego *atp6* u holopasozyticznych Orobanchaceae.
- Dotyczył on mitochondrialnego genu *atp6*.
- Po utworzeniu drzew filogenetycznych obejmujących badane Orobanchaceae oraz gatunki z innych rodzin, także zawierających żywiciela (Asteraceae), dla sekwencji *trnL-trnF* oraz genu *atp6* ukazał się taki wynik:

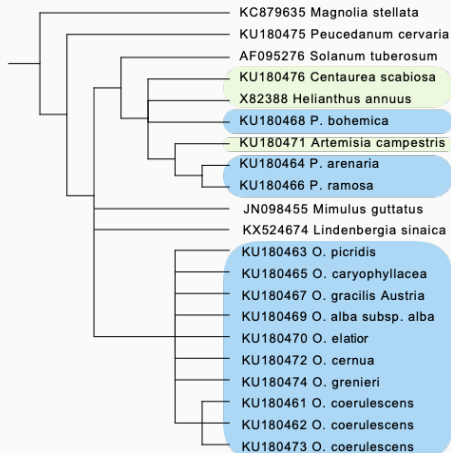


- Drzewo *trnL-trnF* pokazywało właściwe zależności filogenetyczne, natomiast *atp6* dla *Crobanche coerulescens* ewidentnie „przeskoczył” na gałąź Asteraceae, gdzie znajdują się żywiciela tego gatunku.
- Taka niezgodność wskazuje na transfer od żywiciela do pasożyta.
- To był pierwszy znaleziony przez nas transfer, ale okazało się, że dla trzech badanych gatunków *Phelipanche* także uzyskaliśmy podobny wynik.

HGT1



HGT2



- Bliższa analiza wykazała, że najprawdopodobniej były to dwa oddzielne przypadki transferu genu *atp6*, jeden do *O. coerulescens* lub nieodległego przodka, drugi do przodka badanych gatunków *Phelipanche*
- Co więcej, okazało się, że geny mają charakter mozaikowy - częściowo składają się z fragmentów oryginalnego genu, a częściowo z fragmentów przeniesionego genu, przy czym są to różne fragmenty dla obu transferów.



■ 'Core' region of HGT
■ 'Border' region of HGT

- Na koniec uzupełnijmy sobie nasze schematyczne drzewo życia o HGT:

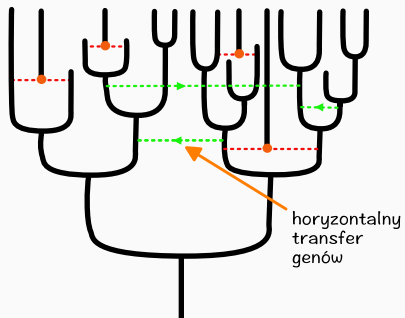


Figure 11: Drzewo z HGT

