



UPPSALA
UNIVERSITET

Horisontell genöverföring i allmänhet

och uppkomsten av den eukaryota cellen i synnerhet



Målning "Träd, landskap" av Pia Knöppel. Foto Tori Lund.

Anna Knöppel

Independent Project in Biology

Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2008

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Horisontell genöverföring (HGÖ), eller spridandet av genetiskt material över artgränserna, har blivit uppmärksammat som något som påskyndar evolutionshastigheten i stor skala hos bakterier (troligen även för arkéer) och vissa menar att det även har en betydande roll för evolutionen hos eukaryoter. Tre mekanismer är vitt accepterade för HGÖ hos bakterier, nämligen transduktion (bakterievirus fungerar som vektorer i överföringen), transformation (genetiskt material tas upp direkt från omgivningen och inkorporeras via rekombination i det egna genomet) och konjugation (genetiskt material överförs med hjälp av pili mellan två bakterieceller). Hos eukaryoter och mellan eukaryoter och bakterier är ett antal olika, mer eller mindre välutforskade, spridningsmekanismer kända vilka kan kategoriseras som direkt överföring (exempelvis genom fagocytos och konjugation mellan bakterier och växtceller) och indirekt överföring med hjälp av olika vektorer så som virus och parasiter. Den kanske mest kända horisontella genöverföringen över domänsgränserna är den omfattande överföringen av DNA från organeller till kärnan i eukaryota celler. Många biologer tror nu också att HGÖ är svaret på den svåra frågan ”Hur uppkom den eukaryota cellen?”. Det här påståendet grundas i huvudsak i att stora delar av det eukaryota genomet (mestadels metaboliska gener) verkar ha sitt ursprung hos bakterier medan andra delar (gener för transkription, translation och DNA underhåll) mest liknar gener hos arkéer.

Innehållsförteckning

Inledning.....	s 4
Omfattning och mekanismer för HGÖ.....	s 4
HGÖ bland bakterier och arkéer.....	s 4
HGÖ från bakterier till eukaryoter.....	s 6
Agrobacterium tumefaciens.....	s 6
HGÖ mellan endosymbionter och kärnan.....	s 6
HGÖ bland eukaryoter.....	s 7
Under vilka omständigheter sker HGÖ?.....	s 7
Endosymbionter	s 8
Uppkomsten av den eukaryota cellen.....	s 9
Diskussion.....	s 11
Tack.....	s 13
Referenser.....	s 14

Inledning

Vissa gener kommer att vara fördelaktiga endast i den typ av organism där de uppkom medan andra kommer att vara gynnsamma även om de färdas över artgränser och till och med domängränser (Philippe m fl 1999). Geners historia behöver därför inte sammanfalla med organismers historia (Gupta och Golding 1994; Gribaldo m fl 1999; Philippe m fl 1999).

Begreppet horisontell genöverföring (HGÖ) står för alla processer i vilka en organism överför genetiskt material till en cell vilken inte är dess avkomma. HGÖ innebär därigenom en snabb introduktion av nya gener till redan existerande genom med vilken organismer kringgår det tidskrävande steget av initieellt genskapande (Jain m fl 1999).

Det första fallet av HGÖ dokumenterades av Lederberg och Tatum (1946) vilka bevittnade att antibiotikaresistens kan överföras mellan olika *Escherichia coli*-stammar. Nu för tiden vet man att massiv HGÖ förekommer mellan bakterier (Rivera m fl 1998; Jain m fl 1999; Doolittle m fl 2003; Jain m fl 2003; Simonson 2005; Richardson och Palmer 2006) och att gener överförs mer eller mindre ofta även mellan domänerna och bland eukaryoter (Timmis m fl 2004). Därigenom har man upptäckt vilken betydande roll HGÖ har spelat för evolutionen hos ett mycket stort antal arter, främst bakterier.

Ett intressant exempel där gener bevisligen har vitt skilda ursprung hittar man i vårt eget genom, ett eukaryot genom. Här visar delar av genomet störst släktskap med bakterier medan andra delar är mest släkt med arkéer (Simonson m fl 2005). Många forskare tror därför nu att eukaryoterna kan ha uppkommit genom någon slags massiv HGÖ mellan genom från de två domänerna (Bult m fl 1996; Jain m fl 1998; Gophna m fl 2005; Simonson m fl 2005). En hypotes säger till exempel att eukaryoterna ska ha uppstått då mitokondrien, vilken från början härstammar från en α -proteobakterie, inkorporerades i en arkécell vilket möjliggjorde en gradvis genöverföring från organellen till arkéns genom (Lang m fl 1999; Roger 1999). HGÖ från organeller till kärnan fortgår fortfarande hos många eukaryoter, däribland alla kärlväxter.

Omfattning och mekanismer hos HGÖ

Det finns ett antal krav som måste uppfyllas för att en HGÖ ska lyckas. Först och främst måste det genetiska materialet komma in i cellen, antingen som naket DNA eller tillsammans med den cell som hyser det. Väl inne behöver genen inkorporeras i den nya cellens nukleära DNA samt kunna uttryckas till ett funktionellt protein vilket bör ha en selektiv fördel i populationen. Hos de flesta flercelliga organismer finns det ännu ett hinder om HGÖ ska ske: här måste genen ta sig in i de skyddade könscellerna för att kunna spridas till nästa generation. Trots alla dessa hinder finns det ett antal mer eller mindre styrda mekanismer för HGÖ.

HGÖ bland bakterier och arkéer

HGÖ har ojämförligen haft störst utbredning bland bakterier. Man tror att omkring 10-20 % av alla gener hos bakterier har kommit till med hjälp av HGÖ (Koonin m fl 2001). Men exempel finns där den här siffran är betydligt högre. I en studie av tre *Escherichia coli*-stammar hittades endast 39,2 % av generna i samtliga stammar (Welch m fl 2002) och motsvarande siffra låg på 51 % när man jämförde två sekvenserade ekotyper av den marina cyanobakterien *Prochlorococcus* (Rocap m fl 2003). Vissa forskare anser att på grund av att HGÖ skapar en homogenisering av bakteriernas genom, och därigenom gör att gränserna mellan arterna blir mer

eller mindre otydliga, behöver principerna för populationsgenetiken breddas så att de kan gälla även för högre taxonomiska kategorier (Gogarten och Townsend 2005). Jain m fl (1999) går längre och föreslår att man kan se på bakterierna som en enda jätte-organism vilket Doolittle (1998) och Fuhrman (1999) stödjer genom att anse att HGÖ har suddat ut mycket av den fylogenetiska historien som fanns dokumenterad i bakteriella genom.

De flesta forskare är överens om att HGÖ är en mycket viktig bidragsgivare till bakteriell och troligtvis även arkéell genominnovation. Det är dock svårt att få fram en exakt siffra på hur stor ökningen är. Jain (2003) uppskattade exempelvis att innovationshastigheten hos bakterier har ökat 10^3 gånger på grund av HGÖ medan Lawrence (2002) menar att samma siffra ligger någonstans mellan 10^4 - 10^{10} gånger. Många anser att HGÖ, uppföljt av homolog rekombination, har tagit rollen som sexuell förökning har hos bakterier (Lawrence 2002). Det har till exempel fått till följd att viktiga egenskaper så som antibiotikaresistens, virulens, fotosyntes och kvävefixering har förvärvat eller modifierats (Doolittle m fl 2003).

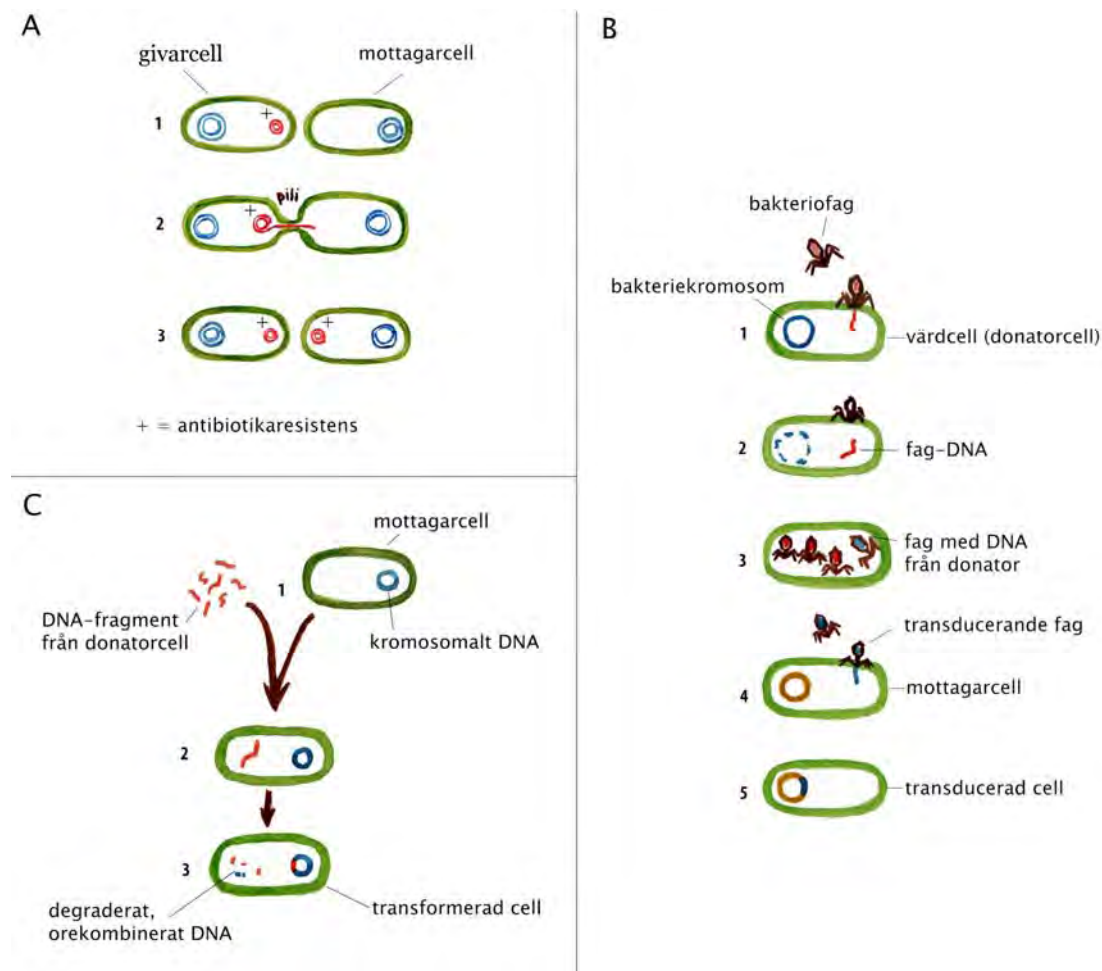


Fig. 1. Horisontell genöverföring hos bakterier. **A:** Bakteriell konjugation. Givarcellen överför en plasmid innehållande en gen som kodar för antibiotikaresistens till en mottagarcell med hjälp av pili. **B:** Transduktion. En bakteriofag infekterar en värdcell med sitt DNA (1) och fagenzym degraderar värdcellens DNA (2). Värdcellen syntetiserar nya fager som inkorporerar fag-DNA och ibland av misstag även värdcellens DNA (3). Den transducerade fagen sprider givarens DNA till en ny cell, där det (4) ibland inkorporeras i mottagarens kromosom genom rekombination (5). **C:** Transformation. Mottagarcellen tar upp främmande DNA från omgivningen (1). Rekombination kan ske mellan mottagarens DNA och det upptagna DNAt.

Omfattande studier har gjorts på HGÖ mellan bakterier och man vet här ganska väl hur överföringen går till (Lawrence 1997). Tre mekanismer är vitt accepterade och anses ske med en hög frekvens: bakteriell konjugation (genetiskt material överförs med hjälp av pili mellan två bakterieceller) (fig 1:A), transduktion (bakterievirus fungerar som vektorer i överföringen) (fig 1:B) och transformation (genetiskt material tas upp direkt från omgivningen och inkorporeras via rekombination i det egna genomet) (fig 1:C) (Lawrence 1997; Dreiseikelmann 1994).

HGÖ från bakterier till eukaryoter

De två i särklass mest studerade fallen av HGÖ mellan bakterier och eukaryoter är genöverföring från organeller till kärnan samt överföring av DNA från *Agrobacterium tumefaciens* till växtceller (behandlas nedan). Dessa anses båda ske i stor utsträckning (Timmis m fl 2004). Utöver de här fallen vet man mycket lite om genöverföringen mellan dessa domäner och det är omtvistat huruvida HGÖ existerar i stor skala eller inte. Det verkar till exempel som att överföring av gener från bakterier till djur är extremt ovanligt även om det inte helt kan uteslutas (Andersson m fl 2001). En hypotes för överförandet från bakterier till encelliga eukaryoter som har fått ganska stor uppslutning säger att rekombination mellan nukleärt DNA och bakteriellt eller arkéellt DNA sker efter fagocytos av bakterier eller arkéer. Det här skulle kunna leda till en gradvis ersättning av nukleärt DNA med bakterie-DNA (Kondo m fl 2002). Ett exempel på en trolig HGÖ genom fagocytos är genen för *N*-acetylneuraminatlyas hos *Trichomonas vaginalis*, som bevisligen kommer från en bakterie i dess omgivning (Kondo m fl 2002). HGÖ med hjälp av fagocytos tros inte ske hos flercelliga eukaryoter eftersom könscellerna ligger skyddade och inte aktivt tar upp andra celler (Kondo m fl 2002; Doolittle 2000).

Agrobacterium tumefaciens

HGÖ från *A. tumefaciens* har studerats flitigt inom växtbiotekniken (fig 2). Överföringen går förenklat till så att T-DNA från Ti-plasmiden överförs via konjugation till en växtcell varvid det inkorporeras i kärnan. T-DNA:t kodar för gener för växthormonerna auxin och cytokinin (orsakar tumörtillväxt hos växten vilken fungerar som en utmärkt livsmiljö för *A. tumefaciens*) samt ett antal opiner (ovanliga aminosyror som växten inte kan ta tillvara men som *A. tumefaciens* använder som energikälla) (Kunik m fl 2001). Inom växtbiotekniken används *A. tumefaciens* i stor utsträckning vid framställning av transgena växter varvid hela eller delar av T-sekvensen byts ut mot andra gener (en virulensgen som sitter utanför T möjliggör överföring även om T inte finns kvar i plasmiden). På labb kringgår man att T inte hamnar i könsceller (*A. tumefaciens* infekterar normalt bara somatiska celler) genom att odla upp fullstora plantor från cellkulturer med hjälp av växthormon.

HGÖ mellan endosymbionter och kärnan

En permanent kontakt mellan eukaryoter och bakterier där gener överförs kontinuerligt från bakterien till eukaryoten sker mellan eukaryota celler och dess organeller (vilka härstammar från bakterier) (Knoop m fl 1995). Två skilda hypoteser för hur överföringen av mitokondriella gener går till är etablerade. Den första hypotesen menar att stora sjökar av mitokondriellt DNA tas upp direkt genom rekombination i kärnan, vilket det finns belägg för i bland annat en studie av *Arabidopsis thaliana* där en DNA-sekvens på hela 620 kb verkar ha tagits upp direkt från mitokondrien till kärnan (Henz och Martin 2001). Den andra hypotesen säger att mitokondriellt mRNA omvänt transkriberas till cDNA vilket därefter tas upp genom rekombination (Henz och Martin 2001). Knoop m fl (1995) anser att den senare hypotesen är mest trolig eftersom intronerna som hittas i mitokondrie-DNA:t oftast saknas i kärn-DNA:t.

HGÖ bland eukaryoter

Det är svårt att säga hur omfattande HGÖ bland eukaryoter är eftersom relativt få sekvenserade eukaryota genom finns att tillgå. Man har dock sett vissa mönster där graden av HGÖ hos djur och svampar verkar vara låg medan den är ganska hög hos encelliga fagocytotiska eukaryoter (exempelvis *Entamoeba*, *Giardia* och *Trichomonas*). Anledningen till att HGÖ är omfattande hos fagocytoter tros vara att bytet som bryts ner inuti cellen ofta avger DNA i närheten av kärnan vilket senare kan tas upp genom rekombination (Doolittle 1998; Keeling och Palmer 2006). Man tror däremot inte att de mekanismer som beskrivs för bakterier (transduktion, transformation och konjugation) är särskilt spridda hos encelliga eukaryoter. Hos jäst hittas ofta främmande DNA i närheten av telomeren vilket har lett till hypotesen om att en telomerisk sekvens skulle kunna avges till det främmande DNA:t så att en plats för rekombination skapas (Hall m fl 2005).

Hall m fl (2005) anser att HGÖ troligen är ovanlig mellan alla flercelliga eukaryoter på grund av det kritiska steget där generna måste ta sig in i de skyddade könscellerna. I de trots allt kända fallen sker överföringen dels direkt från cell till cell, dels indirekt med hjälp av olika vektorer. Vektorerna kan antingen vara olika typer av virus, till exempel "long terminal repeat"-retrovirus vilket är en transposon, eller någon typ av parasiter så som bladlöss och kvalster (Houck m fl 1991; Burt och Trivers 2006). Den direkta överföringen har man sett ske då organismerna lever mycket tätt in på varandra. Exempelvis har man kunnat detektera överföring av nukleärt DNA åt bägge hållen mellan parasiterande växter och deras värdväxter (Mower m fl 2004).

Den höga andelen transposoner i många flercelliga eukaryota genom (vårt eget genom består till exempel till mer än 40 % av transposoner och deras fossil) motsäger att HGÖ skulle vara ovanligt förekommande mellan flercelliga eukaryoter eftersom transposoner måste förflyttas horisontellt för att överleva i ett evolutionärt tidsperspektiv (Diao m fl 2006). Burt och Trivers (2006) beskriver transposonernas livscykel från att gå från en fullt fungerande transposon¹ till en parasiterande transposon² varvid den med tiden omvandlas till ett fossil³. De menar att transposonerna måste överföras horisontellt till en ny art medan de fortfarande är fullt fungerande minst en gång per livscykel för att inte för alltid duka under som fossil (Capy m fl 1994; Burt och Trivers 2006). De mest kända exemplen på att HGÖ av transposoner faktiskt har skett är *P*-elementet hos *Drosophila* (vilket invaderade genomet hos *D. melanogaster* så sent som på 1960-talet och snabbt gick till fixering i de vilda stammarna (Daniels m fl 1990)) och *mariner* (vilken nästan ser identisk ut där den hittats hos fruktflugor, *Anopheles gambiae* (mygga), *Haemotobia irritans* (hornfluga) och *Chrysoperla plorabunda* (guldögonslända) och detta trots att dessa insekter har varit skilda i mer än 265 miljoner år (Robertson och Lampe 1995)).

Under vilka omständigheter sker HGÖ?

Genom att jämföra 20 000 gener tillhörande åtta olika frilevande bakterier och arkéer skapade Simonson m fl (2005) och Jain m fl (2003) en bild av vilka faktorer som är viktiga för den

1. En transposon som själv kodar för ett eller flera transposasproteiner med vilkens/vilkas hjälp den kan förflytta sig i genomet.

2. En transposon som parasiterar på andra transposoners transposas.

3. Ej längre transponerande transposon

slumpmässigt utan påverkas starkt av miljöfaktorer och genomstrukturen och att dessa faktorer medverkar i att skapa så kallade HGÖ-samhällen genom att sätta upp gränser för hur HGÖ lättast sker. De starkaste sambanden hittades mellan organismer med liknande genomstorlekar, GC-halt och energikälla. Men även syretolerans och maximum-, optimal- och minimitemperaturer hade betydelse. Intressant nog visade det sig att de tre faktorer som hade starkast understöd inte var beroende av närhet mellan organismerna, vilket indikerar att HGÖ-samhällen inte nödvändigtvis behöver innebära fysisk närhet. Anledningen till att genomstorleken och GC-halt hade stark positiv påverkan kan tänkas vara att de utgör en direkt effekt på insättningen av nytt DNA. Till exempel kan GC-halt begränsa antalet regulatoriska signaler som känns igen och därigenom kan det vara en fördel om gener med liknande GC-halt sätts in (Jain m fl 2003) (som kontrast kan här nämnas att en avvikande GC-halt ofta betraktas som indikator på att en gen har kommit till genom HGÖ hos bakterier (Ochman m fl 2000)). När det gäller temperaturen kan mesofila proteiner inaktiveras vid högre temperaturer och omvänt kan ett värmeälskande protein sluta fungera i kallare miljö eftersom enzymet kan behöva högre katalytiska temperaturer (Jain m fl 2003).

Men andra forskargrupper har fått andra resultat, resultat som mera tyder på att fysisk närhet är den viktigaste faktorn. Gogarten m fl (2002) visar till exempel att frekvensen lyckade överföringar beror på fem faktorer: fysisk närhet mellan organismerna, metabolisk kompatibilitet, anpassningar av organismer till deras abiotiska miljö, system för genuttryck och genöverföringsmekanismer. Till exempel har man sett att bakterien *Thermotoga maritima* delar mer än 20 % av sina öppna läsramar med arkéer i närheten av den (Bocchetta m fl 2000).

Endosymbionter

I början av 1900-talet såg man att eukaryota organeller hade gener som inte ärvdes via processer som beskrivs i Mendels lagar, men det var först på 1970-talet som det blev accepterat att organellerna faktiskt är de endosymbiotiska bakterier (Margulis 1970). Man är nu ganska säker på att mitokondrien härstammar från en α -proteobakterie och kloroplasten från en cyanobakterie.

Den mycket omfattande genöverföringen från organeller till kärnan måste ha haft stora konsekvenser för evolutionen av den eukaryota cellen (Timmis m fl 2004). Från början när α -proteobakterien först blev uppslukad av värdcellen fanns där varken membran-transportprotein eller proteinimportmaskineri för att leda proteiner från gener överförda till kärnan tillbaka till mitokondrien (Neupert 1997). Endast efter att proteinimporten tillbaka till mitokondrien hade evoluerat kunde organellgenomen börja krympa (Timmis m fl 2004) (det här skedde oberoende för kloroplasten). I början var den endosymbiotiska genöverföringen en kraftfull mekanism för naturlig variation som var helt unik hos eukaryoterna (Timmis m fl 2004). Det är ingen tvekan om att HGÖ mellan organeller och kärna har varit mycket omfattande. Till exempel tror man att hela 18 % av genomet hos backtrav (*Arabidopsis thaliana*) härstammar från kloroplasten (Martin m fl 2002) och det har föreslagits att merparten av generna i kärnan kommer från mitokondrien (Esser m fl 2004).

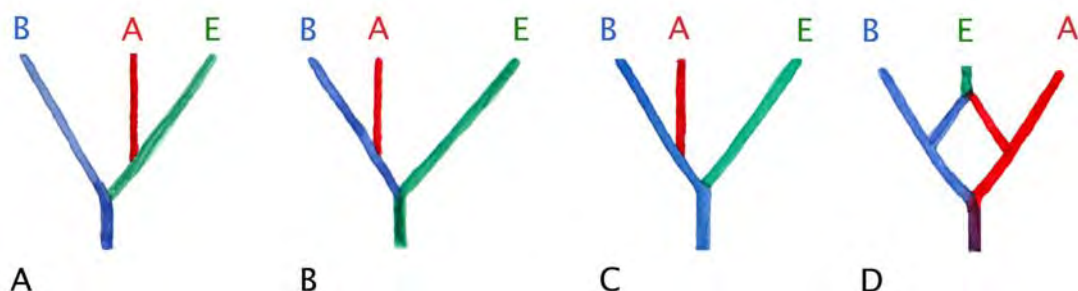
HGÖ från mitokondrien till kärnan har slutat hos högre djur hos vilka mitokondriegenomet nu endast kodar för mellan 12 och 13 proteiner (Boore 1999). Däremot fortgår överföringen fortfarande aktivt hos växter där man även mycket ofta detekterar en HGÖ av mitokondriella gener mellan olika arter (något som saknas för kloroplaster eller mitokondrier hos djur) (Won

och Renner 2003; Arimura m fl 2004; Sheahan m fl 2005). Exempelvis har man hittat extrema mängder av främmande mitokondriella gener i mitokondrier hos angiospermen *Amborella trichopoda*, vilka till och med innehåller mer främmande DNA än ursprungligt (Richardson och Palmer 2006). Anledningen till att HGÖ förekommer hos mitokondrier men inte hos kloroplaster hos växter kan förklaras med att växters mitokondrier har ett aktivt DNA upptagningssystem (Koulintchenko m fl 2003) vilket tros saknas hos kloroplaster (Richardson och Palmer 2006).

Uppkomsten av den eukaryota cellen

Många forskare och forskargrupper har gett sig in på den svåra uppgiften med att försöka förstå varifrån den eukaryota cellen kommer. Men hitintills verkar få vara eniga. Många hypoteser har presenterats varibland vissa håller sig till den klassiska tanken om att eukaryoter och bakterier har en gemensam stamfader och att arkéer har utvecklats ur eukaryoterna (Woese m fl 1990) (fig 2:A). Andra har vänt upp och ner på trädet så att den ursprungliga cellen var en eukaryot och att bakterier och arkéer utvecklades därur (Forterre och Philippe 1999) (fig 2:B) och ytterligare förslag finns om att arkéerna skulle ha uppkommit ur bakterierna (Cavalier-Smith 2006) (fig 2:C).

Men det finns också ett stort antal forskare som menar att eukaryoter har uppstått genom någon slags massiv HGÖ mellan bakterier och arkéer (fig 3D). Dessa hypoteser bygger främst på att fylogenetiska träd baserade på gener för transkription, translation och DNA underhåll (informationsgener) grupperar eukaryoter tillsammans med arkéer, medan träd baserade på gener för biosyntes och metabolism placerar eukaryoterna ihop med bakterier (Bult m fl 1996; Gophna m fl 2005; Simonson m fl 2005). Informationsgener liknar också mest gener som kommer från arkéer medan metaboliska gener med stor sannolikhet ursprungligen kommer från eubakterier (Jain m fl 1998). Hos exempelvis jäst har det visat sig att 75 % av generna som var av bakteriell eller arkéell härkomst mest liknade eubakterier medan de resterande 25 % visar störst likhet med arkéer (Rivera m fl 1998; Esser m fl 2004; Simonson m fl 2005).



Figur 2. Olika hypoteser för uppkomsten av den eukaryota cellen. A: Klassisk hypotes. Arkéer är systergrupp till eukaryoterna vilka har ett gemensamt ursprung med bakterier (Woese m fl 1990). B: Bakterier och arkéer har utvecklats ur eukaryoter (Forterre och Philippe 1999). C: Arkéer är systergrupp till bakterier vilka har en gemensam stamfader med eukaryoterna (Cavalier-Smith 2006). D: Eukaryoter har uppstått genom en sammansmältning av en eller flera arkéer och bakterier (Gophna m fl 2005; Simonson m fl 2005; Jain m fl 1998; Bult m fl 1996).

Svaren på frågan hur generna från de två domänerna har slagit sig samman skiljer sig mycket åt. Åt den ena extremen menar man att näst intill alla bakteriella gener från början härstammar från den mitokondriella endosymbionten (Lang m fl 1999; Roger 1999) och åt andra hållet tänker man att det totala bidraget av gener från mitokondrien är litet och istället att de gener som härstammar från eubakterier kommer från ett stort antal bakterier i omgivningen (blandhypotes) (Doolittle 1998). I gråskalan tas det upp fusionshypoteser vilka innefattar en eller två symbionter tidigt i utvecklingen (Moreria och Lopez-Garcia 1998; Zillig 1991; Margulis m fl 2000). Till exempel tror vissa att cytoplasman formades från en eubakterie och att kärnan kom från en arkée eller från ett virus.

Diskussion

För att förstå hur cellers evolution har gått till är det mycket viktigt att veta var roten till livets träd ska placeras. Härmed blir det också högst centralt att veta hur och ur vad den eukaryota cellen uppstod. En annan anledning till att försöka komma underfund med hur den eukaryota cellen kom till är att många biologer tror att övergången från bakterie eller arké till eukaryot (om övergången gick åt det hållet, vill säga) var den största händelsen i den evolutionära historien. Härifrån kunde evolutionen accelerera. Vetskapen om hur uppkomsten har gått till skulle kunna svara på många obesvarade frågor.

De flesta forskare är nu överens om att eukaryoter är heterogenomiska, vilket bland annat visar sig genom att informationsgener ser ut att komma från arkéer och metaboliska gener från bakterier. Det här ger starkt stöd till alla hypoteser om eukaryoters uppkomst vilka innefattar någon form av HGÖ (fusionshypoteser och blandhypoteser). Inom gytret av HGÖ-hypoteserna tycks den stora frågan vara: När under evolutionen skedde dessa överföringar? Sker HGÖ kontinuerligt och i en ganska jämn takt eller uppstod den eukaryota cellen som svar på plötsliga sammanslagningar av två eller tre genom?

Margulis hör till förespråkarna för den sistnämnda hypotesen. Hon menar att symbios är den drivande kraften bakom evolutionen och att den eukaryota cellen uppstod genom en fusion av en arké med föregångarna till dagens organeller. Hon säger: "Life did not take over the globe by combat, but by networking" (Margulis och Sagan 1986). Därigenom blir Darwins "survival of the fittest" ofullständig. Många tror också att kärnan har uppstått ur en liknande mekanism, där en arké slås ihop med en bakterie. Ett starkt stöd för Margulis hypotes om att symbios skulle vara något oerhört viktigt gavs av ett tidigt experiment gjort av Jeon (1976). I försöket lyckades Jeon bli vittne till bildandet av en symbios där en bakterie blev integrerad i en amöba. I början dog amöborna av bakterieinfektionen men med tiden överlevde några och dessa blev, under loppet av några år, beroende av sina nya symbionter. Som bevis för beroendet lyckades man transplantera kärnan från en infekterad amöba till en icke infekterad (Jeon 1976). Om inget ytterligare gjordes dog den transplanterade amöban inom ett par dagar men om den däremot återinfekterades med bakterier överlevde amöban och började åter igen att tillväxa (Jeon 1976; Margulis och Sagan 1987). På det här viset fick man en inblick i hur endosymbionter dels kan bidra till betydande mekanismer för cellulär evolution, dels kan förklara introduktionen av nya arter.

Ytterligare stöd för fusionshypoteser, så som endosymbionthypotesen, ges till exempel av att väldigt få sentida överföringar från bakterier eller arkéer till eukaryoter är kända. Logiskt sett borde man ju kunna detektera varifrån en sentida inkommen gen kommer om de eubakteriella generna i eukaryoterna ska ha kommit till kontinuerligt. Det här var en av tre anledningar varför man slöt sig till att generna med eubakteriell härkomst hos jäst (75 % av de icke "eukaryota" generna) kom ifrån en endosymbiont tidigt i utvecklingen av den eukaryota cellen. De resterande två anledningarna var att bara sex gener (0,7 % av generna med bakteriella eller arkéella homologer) var frånvarande hos andra eukaryoter och att jäst inte är aktiva fagocytoter. Den sistnämnda anledningen kan bli bortförklarad med att jäst i ett tidigare stadium under evolutionen kan ha varit fagocytotisk (jäst har fagocytotiska förfäder) (Cavalier-Smith 2002).

Lake och Rivera (2004) har även de lagt fram ett starkt stöd för fusionshypotesen där de använde sig av CR (betingad rekonstruktion) vilken är en kraftfull metod för att jämföra hela genomsekvenser. Metoden är bland annat kapabel att detektera just genomfusioner. Genom att

köra CR på genom från alla de tre domänerna (sammanlagt åtta genom) fick de fram ett "livets träd" som mer liknade en ring där de eukaryota organismerna sluter ringen (fig 3). Då endera bakterierna eller arkeerna togs bort från körningen öppnades ringen upp. Lake och Rivera (2004) fastställde härigenom: "we inferred that the eucaryotic nuclear genome was formed from the genome fusion of either a proteobacterium or a member of a large photosynthetic clade that includes the Cyanobacteria and the Proteobacteria, with an archaeal eocyte". Men i ett svar på artikeln av Lake och Rivera (2004) skriver Baptiste och Walsh (2005) "Rivera and Lake's conclusions could very well be true, but they are debatable as they are possibly an artifact of the conditioned reconstruction method and/or an overinterpretation."



Figur 3. Lake och Rivera (2004) anser att Livets träd inte är trädformat utan ringformat där eukaryoterna sluter ringen.

Den största motsägelsen med endosymbionthypotesen, och andra fusionshypoteser, är att de flesta nukleära eubakterielika gener inte placeras tillsammans med α -proteobakterier, cyanobakterier, eller med andra föreslagna symbionter i fylogenetiska träd (Embley och Hirt 1998). Därför måste dessa hypoteser innebära ett eller flera av antagandena; att sekvenseringen för symbionterna är inkomplett, att mycket HGÖ från bakterier och arkéer har skett efter fusionen vilket har gjort att genomen är mixade (Gogarten m fl 2002) eller att när gener förflyttas till kärnan ackumuleras vissa konstiga mutationer innan de blir fullt funktionsdugliga (Martin och Herrmann 1998). Sekvensdata stödjer därför bättre blandhypoteser (men dessa avvisades ofta av dem som håller på endosymbionthypotesen eftersom dagens bakterier saknar förmågan att fagocytera). Det är också mycket möjligt att vissa av de gener som tycks komma från organeller faktiskt har erhållits genom HGÖ från andra källor eftersom det kan vara mycket svårt att skilja mellan endosymbiotisk genöverförelse och överföring från eubakterier till eukaryoter med hjälp av fylogenetiska metoder (Martin 1999).

Men ett problem med både blandhypoteser och fusionshypoteser är att fagocytos varken hittas hos bakterier eller arkéer idag. Fagocytos hindras effektivt i dessa organismer på grund av deras hårda cellväggar samt att de saknar utvecklat cellskelett. Hypoteser som bygger på fagocytos kräver därför att en tillbakabildning av cellskelettet har skett samt att cellväggarna har tillkommit efter uppkomsten av eukaryoterna.

En hypotes som löser flera av de ovan nämnda problemen är föreslagen av Fedorov och Hartman (2001). De håller med om att den eukaryota kärnan är en sammanslagning av bakteriella gener och arkéegener från en mängd olika organismer. Men däremot hävdar de att värdcellen inte var en bakterie utan en så kallad kronocyt. Kronocyten skulle ha haft ett cytoskelett liknande det som finns i dagens eukaryoter och med vilkens hjälp den skulle kunna fagocytera föregångarna till kärnan. Kronocyten skulle även ha bidragit till redan fullt fungerande cytoskelett, ER, golgiapparat och viktiga intracellulära kontrollsystem så som kalmodulin, ubiquitin, inositolfosfater, cyklin och GTP-bindande proteiner. Men med Fedorovs och Hartmans hypotes uppstår en ny fråga: Varifrån kom kronocyten?

Utan kriterier för hur man ska avfärda eller acceptera dessa hypoteser är det mycket svårt att förespråka någon hypotes. Motsägelser hittas överallt. De skulle mycket väl, enligt mig, kunna vara så att Forterre har rätt, att den ursprungliga cellen var en komplex cell, likt en eukaryot, och att arkéer och sedan bakterier uppstod därur. Han anser, till skillnad från Margulis, att man bör fokusera mer på ledande evolutionära krafter så som differentiell genförlust och icke-ortolog ersättning av gener (Forterre och Philippe 1999). Om fusionshypoteser och blandhypoteser skriver han: "they imply a dramatic and quite unrealistic change in the rate of protein evolution in only one particular Bacterial or Archaeal lineage" (Forterre 2006). Jag kan dock tycka att det är något oralistiskt att eukaryoter skulle ha tappat alla de komplexa egenskaper som gör dem unika så som till exempel membranomsluten kärna, organeller, ER, golgiapparat, cytoskelett, sex och stora celler i jämförelse med arkéer och bakterier utan att spår av dem finns att hitta hos arkéer och bakterier. Men, å andra sidan, behöver dessa inte ha funnits i den gemensamma stamfadern. Man skulle även kunna tänka sig att den sista gemensamma stamfadern till de tre domänerna som en cellväggslös organism ur vilken de tre domänerna uppstod, alla med sina specifika lösningar på problemet med att kunna motstå det ökade turgortrycket i cellen som följde av dess alltmer komplexa metabolism (cellskelett hos eukaryoterna samt två typer av hårda cellväggar för bakterier och arkéer).

För att bringa klarhet i det stora problemet med förståelsen av eukaryoternas uppkomst krävs det fortfarande en hel del arbete. Jag tror att en sekvensering av många hela, eller åtminstone stora delar av, genom (främst eukaryota) följt av en jämförelse av dessa, skulle få oss att komma en bra bit på vägen. Med dagens kunskap står det dock helt klart att HGÖ har spelat en central roll i formandet av celler från alla de tre domänerna och att möjligheten finns att själva uppkomsten av den eukaryota cellen var ett svar på en massiv HGÖ.

Tack

Till Karin Carlson, Ann Blücker, Frida Johnsson och Noora Tirkkonen för all värdefull hjälp.

Referenser

- Adams, K.L. och Palmer, J.D. 2003. Evolution of mitochondrial gene content: gene loss and transfer to the nucleus. *Mol Phylogenet Evol.* **29**: 380–95
- Andersson J. O., Doolittle, W. F. och Nesbø, C. L. 2001. Are there bugs in our genome? *Science.* **292**: 1848–1850
- Boore, J.L. 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res.* **27**: 1767–80
- Bult, C.J., White, O., Olsen, G.J., Zhou, L., Fleischmann, R.D., Sutton, G.G., Blake, J.A., FitzGerald, L.M., Clayton, R.A., Gocayne, J.D., Kerlavage, A.R., Dougherty, B.A., Tomb, J.F., Adams, M.D., Reich, C.I., Overbeek, R., Kirkness, E.F., Weinstock, K.G., Merrick, J.M., Glodek, A., Scott, J.L., Geoghagen, N.S. och Venter, J.C. 1996. Complete genome sequence of the methanogenic archaeon, *Methanococcus jannaschii*. *Science.* **23**: 1058–73.
- Burt, A. och Trivers, R. 2006. Genes in conflict The biology of selfish genetic elements. Burt, A. och Trivers. Transposable elements: Horizontal transmission and Long-Term Persistence. pp 267–271. The Belknap Press of Harvard University Press, London.
- Capy, P., Anxolabéhère, D. och Langin, T. 1994. The strange phylogenies of transposable elements: are horizontal transfers the only explanation? *Trends Genet.* **10**: 7–12.
- Cavalier-Smith T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. *Int J Syst Evol Microbiol.* **52**: 297–354
- Cavalier-Smith T. 2006. Rooting the tree of life by transition analyses. *Biol Direct.* **11**: 19.
- Daniels, S.B., Peterson, K.R., Strausbaugh, L.D., Kidwell, M.G. och Chovnick, A. 1990. Evidence for horizontal transmission of the P transposable element between *Drosophila* species. *Genetics.* **124**: 339–35.
- Diao, X., Freeling, M. och Lisch, D. 2006. Horizontal transfer of a plant transposon. *PLoS Biol.* **4**: e5.
- Doolittle, W.F., Boucher, Y., Nesbø, C.L., Douady, C.J., Andersson, J.O. och Roger, A.J. 2003. How big is the iceberg of which organellar genes in nuclear genomes are but the tip? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **29**: 39–57.
- Doolittle, W.F. 1998. You are what you eat: a gene transfer ratchet could account for bacterial genes in eukaryotic nuclear genomes. *Trends in Genetics.* **14**: 307–311.
- Doolittle, W. F. 2000. Uprooting the tree of life. *Sci Am.* **282**: 90–5.
- Dreiseikermann, B. 1994. Translocation of DNA across bacterial membranes. *Microbiol Rev.* **58**: 293–316.

- Embley TM, Hirt RP. 1998. Early branching eukaryotes? *Curr Opin Genet Dev.* **8**: 624–9.
- Esser, C., Ahmadinejad, N., Wiegand, C., Rotte, C., Sebastiani, F., Gelius-Dietrich, G., Henze, K., Kretschmann, E., Richly, E., Leister, D., Bryant, D., Steel, M.A., Lockhart, P.J., Penny, D. och Martin, W. 2004. A genome phylogeny for mitochondria among α -proteo bacteria and a predominantly eubacterial ancestry of yeast nuclear genes. *Mol Biol Evol.* **21**: 1643–60.
- Hartman, H. och Fedorov, A. 2002. The origin of the eukaryotic cell: a genomic investigation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **5**: 1420-5
- Forterre, P. 2006. Three RNA cells for ribosomal lineages and three DNA viruses to replicate their genomes: a hypothesis for the origin of cellular domain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **7**: 3669–74.
- Forterre, P. och Philippe, H. 1999. Where is the root of the universal tree of life? *Bioessays.* **21**: 871–9.
- Fuhrman, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature.* **10**: 541-8
- Gogarten, J.P., Doolittle, W.F. och Lawrence, J.G. 2002. Prokaryotic evolution in light of gene transfer. *Mol Biol Evol.* **19**: 2226–38.
- Gogarten, J.P. och Townsend, J.P. 2005. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. *Nat Rev Microbiol.* **3**: 679-87
- Gophna, U., Doolittle, W. F. och Charlebois, R. L. 2005. Weighted genome trees: refinements and applications. *J. Bacteriol.* **187**: 1305–1316
- Gribaldo, S., Lumia, V., Creti, R., de Macario, EC., Sanangelantoni, A. och Cammarano, P.J. 1999. Discontinuous occurrence of the hsp70 (dnaK) gene among Archaea and sequence features of HSP70 suggest a novel outlook on phylogenies inferred from this protein. *Bacteriol.* **181**: 434–43.
- Gupta, R.S. och Golding, G.B. 1994. Evolution of HSP70 gene and its implications regarding relationships between archaebacteria, eubacteria, and eukaryotes. *J Mol Evol.* **37**: 573–82.
- Hall C., Brachat, S. och Dietrich, F.S. 2005. Contribution of horizontal gene transfer to the evolution of *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell.* **4**: 1102–15.
- Houck, M.A., Clark, J.B., Peterson, K.R. och Kidwell, M.G. 1991. Possible horizontal transfer of *Drosophila* genes by the mite *Proctolaelaps regalis*. *Science.* **253**: 1125-29
- Jain, R., Rivera, M.C. och Lake, J.A. 1999. Horizontal gene transfer among genomes: the complexity hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **30**: 3801–06.
- Jain, R., Rivera, M.C., Moore, J.E. och Lake, J.A. 2003. Horizontal gene transfer accelerates genome innovation and evolution. *Mol Biol Evol.* **20**: 1598–602.

- Jeon, K.W. och Jeon, M.S. 1976. Endosymbiosis in amoebae: recently established endosymbionts have become required cytoplasmic components. *J Cell Physiol.* **89**: 337–44.
- Keeling, P.J. och Palmer, J.D. 2001. Lateral transfer at the gene and subgenomic levels in the evolution of eukaryotic enolase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **98**: 10745–50.
- Knoop, V., Ehrhardt, T., Lättig, K. och Brennicke, A. 1995. The gene for ribosomal protein S10 is present in mitochondria of pea and potato but is absent from those of *Arabidopsis* and *Oenothera*. *Curr Genet.* **27**: 559–64.
- Kondo, N., Nikho, N., Ijichi, N., Shimada, M. och Fukatsu, T. 2002. Genome fragment of *Wolbachia* endosymbiont transferred to X chromosome of host insect. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **99**: 14280–85.
- Koonin, E.V., Makarova, K.S. och Aravind, L. 2001. Horizontal gene transfer in prokaryotes: quantification and classification. *Annu Rev Microbiol.* **55**: 709–42.
- Kunik, T., Tzfira, T., Kapulnik, Y., Gafni, Y., Dingwall, C. och Citovsky, V. 2001. Genetic transformation of HeLa cells by *Agrobacterium*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **13**: 1871–6
- Lake, J.A. och Rivera, M.C. 2004. Deriving the genomic tree of life in the presence of horizontal gene transfer: conditioned reconstruction. *Mol Biol Evol.* **21**: 681–690
- Lang, B. F., Gray, M. W. och Burger, G. 1999. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annu Rev Genet.* **33**: 351–397.
- Lawrence, M.C., Barbosa, J.A., Smith, B.J., Hall, N.E., Pilling, P.A., Ooi, H.C. och Marcuccio SM. 1997. Structure and mechanism of a sub-family of enzymes related to N-acetylneuraminase lyase. *J Mol Biol.* **266**: 381–99.
- Lederberg, J. och Tatum, E.L. 1946. Novel genotypes in mixed cultures of biochemical mutants of bacteria. pp 113. Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biology.
- Margulis, L. 1970. Origin of Eukaryotic Cells. pp 349. Yale Univ Press, New Haven.
- Margulis, L., Dolan, M. F. och Guerrero, R. 2000. The chimeric eukaryote: origin of the nucleus from the karyomastigont in amitochondriate protists. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **97**: 54–6959.
- Margulis, L. och D. Sagan. 1986. Microcosmos. Summit Books, New York.
- Martin, W. 1999. Mosaic bacterial chromosomes: a challenge en route to a tree of genomes. *Bioessays.* **21**: 99–104
- Martin, W., Rujan T., Richly E., Hansen A., Cornelsen S., Lins, T., Leister, D., Stoebe, B., Hasegawa, M. och Penny, D. 2002. Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **99**: 12246–51

- Mower, J.P., Stefanović, S., Young, G.J. och Palmer, J.D. 2004. Plant genetics: gene transfer from parasitic to host plants. *Nature*. **432**: 165–6.
- Neupert, W. 1997. Protein import into mitochondria. *Ann Rev Biochem*. **66**: 683–717.
- Ochman, H., Lawrence, J.G. och Groisman, E.A. 2000. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*. **405**: 299–304.
- Philippe, H., Budin, K. och Moreira, D. 1999. Horizontal transfers confuse the prokaryotic phylogeny based on the HSP70 protein family. *Mol Microbiol*. **31**: 1007–10.
- Richardson, A.O. och Palmer, J.D. 2007. Horizontal gene transfer in plants. *J Exp Bot*. **58**: 1–9.
- Rivera, M.C., Jain, R., Moore, J.E. och Lake, J.A. 1998. Genomic evidence for two functionally distinct gene classes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **26**: 6239–44.
- Robertson, H.M. och Lampe D.J. 1995. Evolution of DNA transposons in eukaryotes. In: Mobile DNA II, eds. Craig, N.L., Craigie, R., Gellert, M., Lambowitz, A.M. Washington, D.C.: ASM Press, pp.1093–110
- Rocap, G., Larimer, F. W., Lamerdin, J., Malfatti, S., Chain, P., Ahlgren, N. A., Arellano, A., Coleman, M., Hauser, L., Hess, W.R., Johnson, Z.I., Land, M., Lindell, D., Post, A.F., Regala, W., Shah, M., Shaw, S.L., Steglich, C., Sullivan, M.B., Ting, C.S., Tolonen, A., Webb, E.A., Zinser, E.R. och Chisholm, S.W. 2003. Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature* **424**: 1042–47
- Roger, A. J. 1999. Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *Am Nat*. **154**: 146–63.
- Simonson, A.B., Servin, J.A., Skophammer, R.G., Herbold, C.W., Rivera, M.C. och Lake, J.A. 2005. Decoding the genomic tree of life. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **1**: 6608–13.
- Timmis, J.N., Ayliffe, M.A., Huang, C.Y. och Martin, W. 2004. Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat Rev Genet*. **5**: 123–35.
- Welch, R.A., Burland, V., Plunkett, G., Redford, P., Roesch, P., Rasko, D., Buckles, E.L., Liou, S.R., Boutin, A., Hackett, J., Stroud, D., Mayhew, G.F., Rose, D.J., Zhou, S., Schwartz, D.C., Perna, N.T., Mobley, H.L., Donnenberg, M.S. och Blattner, F.R. 2002. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **24**: 17020–24.
- Woese, C.R., Kandler, O. och Wheelis, M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **87**: 4576–9
- Won, H. och Renner, S.S. 2003. Horizontal gene transfer from flowering plants to *Gnetum*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **100**: 10824–29
- Zillig, W. 1991. Comparative biochemistry of Archaea and Bacteria. *Curr Opin Genet Dev*. **1**: 544–51.