



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ: «ΣΥΝΟΔΕΥΟΝΤΑΣ»
ΤΑ ΕΙΔΗ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ**

ΙΩΑΝΝΙΔΟΥ ΚΑΜΠΟΥΡΗ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΛΑΡΙΣΑ 2019

ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ: «ΣΥΝΟΔΕΥΟΝΤΑΣ» ΤΑ ΕΙΔΗ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ

-

HEAT SHOCK PROTEINS: “CHAPERONING” SPECIES TOWARDS ADAPTATION

Υπεύθυνος καθηγητής: Μαμούρης Ζήσης, Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μέλη Τριμελούς Επιτροπής:

ΜΑΜΟΥΡΗΣ ΖΗΣΗΣ	Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
ΜΟΥΤΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας Σπονδυλωτών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
ΘΕΟΛΟΓΙΑ ΣΑΡΑΦΙΔΟΥ	Επίκουρος Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον κ. Μαμούρη Ζήση, επιβλέποντα καθηγητή της εργασίας μου, για την ανάθεση της μελέτης αυτής, καθώς και τις καθηγήτριες Μούτου Αικατερίνη και Σαραφίδου Θεολογία, που είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Ευχαριστώ επίσης όλα τα μέλη του εργαστηρίου Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας, και ιδιαίτερα τον Θέμη Γιαννούλη για την καθοδήγησή του και τη βοήθειά του όλο αυτό το διάστημα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την στήριξη που μου έδωσε όλα αυτά τα χρόνια, και τους φίλους μου για την συνεχή τους εμπύχωση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ είναι μια οικογένεια υψηλά συντηρημένων πρωτεϊνών, των οποίων πρωταρχική λειτουργία είναι να δρουν ως μοριακοί συνοδοί, δηλαδή να βοηθούν στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών, ώστε να διατηρήσουν τη λειτουργική τους μορφή. Μελέτες έχουν δείξει πως οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ παίζουν κύριο ρόλο στην απόκριση των οργανισμών σε συνθήκες θερμικού στρες, όπου οι πρωτεΐνες του οργανισμού, όπως και άλλα μόρια σημαντικά για τη διατήρηση της λειτουργίας του οργανισμού, διαταράσσονται με επιπτώσεις που μπορεί να καταλήξουν ακόμα και στον θάνατο.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε με σκοπό να διαπιστωθεί εάν οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ συνδέονται με την προσαρμογή των ειδών. Για τον λόγο αυτό διεξήχθη μια συγκριτική μελέτη για πρωτεΐνες του πιο κοινού και καλύτερα χαρακτηρισμένου μέλους της οικογένειας αυτής, των πρωτεϊνών θερμικού σοκ μεγέθους 70 kDa, μεταξύ δύο ομάδων θηλαστικών που είναι προσαρμοσμένα σε θερμότερα και ψυχρότερα περιβάλλοντα, ώστε να καταγραφούν οι διαφορές που μπορεί να οφείλονται για την διαφορετική τους προσαρμοστικότητα.

Λέξεις-κλειδιά: Πρωτεΐνες Θερμικού Σοκ, Μοριακοί Συνοδοί, Θερμικό Σοκ, Συγκριτική Μελέτη, Θερμοανθεκτικότητα, Απάντηση στο θερμικό σοκ, HSP70, Προσαρμογή

ABSTRACT

The Heat Shock Proteins (HSPs) family consists of highly conserved proteins, whose primary purpose is to act as molecular chaperones, leading to the correct folding of other proteins in order for them to achieve their functional form. Studies have shown that HSPs play an important role during heat stress conditions, when many of an organism's proteins and other important molecules get negatively affected. This disruption can have an impact on the species well-being, and can even lead to death.

The ultimate goal of this thesis is to ascertain if heat shock proteins are associated with different temperature adaptation habits among species. To do that, a comparative research was conducted for the proteins of the most common member of the molecular chaperone family, the 70 kDa Heat Shock Proteins (HSP70), between two mammal groups who are adapted to colder and warmer climates, in order to get better insight of the heat shock response mechanisms.

Key-words: Heat Shock Proteins, Molecular Chaperones, Heat Shock, Comparative Research, Thermotolerance, Heat Shock Response, HSP70, Adaptation

Πίνακας Περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 Μοριακοί συνοδοί.....	9
1.2 Τα μέλη της υπο-οικογένειας Hsp70	11
1.3 Δομή των Hsp70	12
1.4 Κύκλος λειτουργίας Hsp70 ως μοριακών συνοδών.....	13
1.5 Αλληλεπιδράσεις και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις.....	15
1.6 Θερμοανθεκτικότητα και Απάντηση στο Θερμικό Σοκ.....	15
1.7 Προσαρμογή	17
1.8 Γονιδιωματική και Βιοπληροφορική	18
1.8.1 Ensembl.....	19
1.8.2 Catalogue of Life	19
1.8.3 Map of Life.....	20
1.8.4 Aliview	20
ΣΚΟΠΟΣ	21
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	22
3.1 Καταγραφή και Ταξινόμηση Οργανισμών.....	23
3.2 Κατανομή των οργανισμών	28
3.3 Καταγραφή θερμοκρασιακών δεδομένων	29
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	34
4.1 Καταγραφή.....	34
4.2 Αναζήτηση αλληλουχιών HSP70.....	35
4.3 Στοίχιση αλληλουχιών	36
4.4 Υπολογισμοί.....	38
4.5 Δομική συσχέτιση.....	40
4.5.1 HspA1A	40
4.5.2 HspA1B	40

4.5.3	HspA1L.....	40
4.5.4	HspA2.....	40
4.5.5	HspA4.....	41
4.5.6	HspA4L.....	41
4.5.7	HspA5.....	41
4.5.8	HspA6.....	41
4.5.9	HspA8.....	41
4.5.10	HspA9.....	42
4.5.11	HspA12A	42
4.5.12	HspA12B	42
4.5.13	HspA13.....	42
4.5.14	HspA14.....	43
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	44
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
	ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	52
	ΤΥΠΟΙ	54

Εικόνες

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ	10
ΕΙΚΟΝΑ 2: ΔΟΜΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ HSP70.....	13
ΕΙΚΟΝΑ 3: ΚΥΚΛΟΣ ΔΡΑΣΗΣ HSP70.....	14
ΕΙΚΟΝΑ 4: ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ HSR	17
ΕΙΚΟΝΑ 5: ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ (1970-2018)	18
ΕΙΚΟΝΑ 6: ENSEMBL	23
ΕΙΚΟΝΑ 7: CATALOGUE OF LIFE	24
ΕΙΚΟΝΑ 8: MAP OF LIFE.	28
ΕΙΚΟΝΑ 9: CLIMATE CHANGE KNOWLEDGE PORTAL.....	29
ΕΙΚΟΝΑ 10: ΒΙΟΜΑΡΤ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	34
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ ΒΙΟΜΑΡΤ	35
ΕΙΚΟΝΑ 12: ΣΤΟΙΧΙΣΗ ΣΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ALIVIEW.	37
ΕΙΚΟΝΑ 13: ΣΤΟΙΧΙΣΗ ΣΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ALIVIEW, ΑΦΟΥ ΕΧΟΥΝ ΣΒΗΣΤΕΙ ΤΑ ΚΕΝΑ.	37

Πίνακες

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ HSP70.....	12
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ.....	26
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ	30
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ.....	39

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

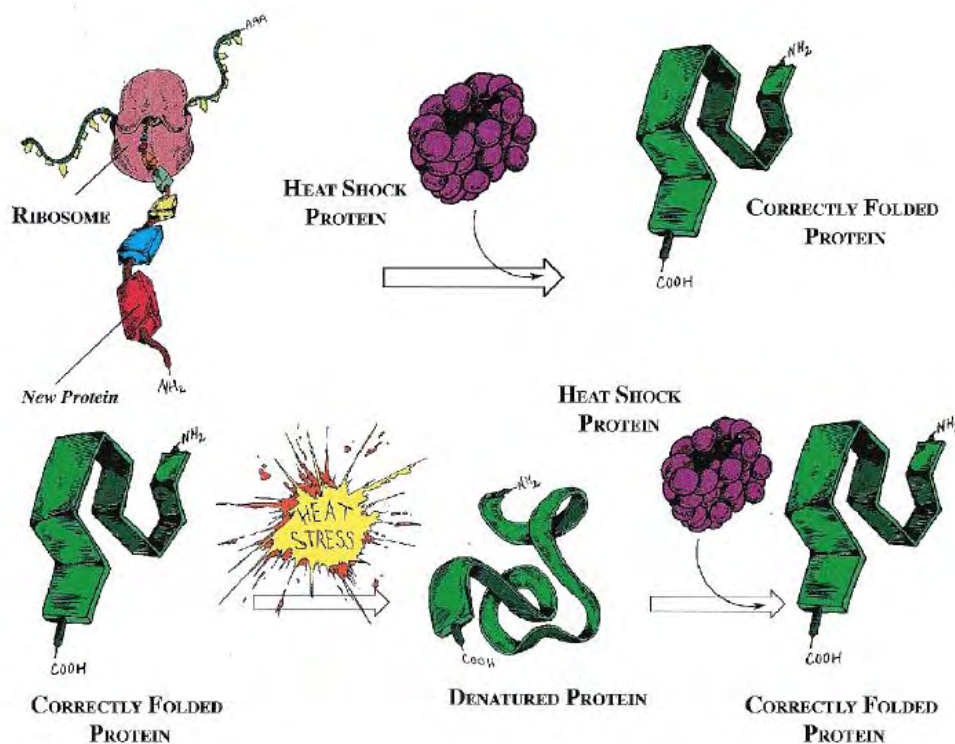
Οι πρωτεΐνες αποτελούν θεμέλιο λίθο όλων των βιολογικών διαδικασιών. Για να γίνουν λειτουργικά ενεργές, οι νεοσυντιθέμενες πολυπεπτιδικές αλυσίδες πρέπει να αναδιπλωθούν ώστε να αποκτήσουν μια μοναδική τρισδιάστατη διαμόρφωση, με βάση τις πληροφορίες που είναι κωδικοποιημένες στην αμινοξική τους αλληλουχία (Hartl, 1996). Παρόλο που σε συνθήκες *in vitro*, οι πρωτεΐνες μπορούν να αναδιπλωθούν και να αποκτήσουν τη λειτουργική τους δομή αυθόρμητα, χωρίς κάποια βοηθητικά μόρια, *in vivo* τα πράγματα είναι διαφορετικά (Barral et al., 2004). Η θερμότητα είναι ένας από τους πολλούς παράγοντες που μπορεί να μεταβάλλουν όχι μόνο τη δομή και συνεπώς τη λειτουργία των πρωτεϊνών, αλλά και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους, αποτελώντας σοβαρό κίνδυνο για την υγεία και, συνεπώς, την επιβίωση.

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins, HSPs) αποτελούν μια οικογένεια πρωτεϊνών που εμφανίζονται σε όλους τους μελετημένους οργανισμούς, με την αλληλουχία των αντίστοιχων γονιδίων να είναι υψηλά συντηρημένη μεταξύ τους. Το όνομά τους υποδηλώνει και την κύρια συνθήκη κάτω από την οποία εκφράζονται, που είναι η έκθεση ενός οργανισμού σε θερμοκρασιακές συνθήκες με τις οποίες δεν είναι εξοικειωμένος, δηλαδή σε συνθήκες θερμικού στρες (Whitley et al., 1999). Πλέον έχει αποδειχθεί ότι η έκφραση των γονιδίων επάγεται κάτω από ποικιλία στρεσογόνων ερεθισμάτων περιβαλλοντικής, φυσιολογικής και χημικής φύσης (Beere, 2004). Λόγω αυτού, είναι πιθανό να τις συναντήσουμε στην βιβλιογραφία αναφερόμενες και ως «πρωτεΐνες του στρες» (Whitley et al., 1999). Η οικογένεια των πρωτεϊνών θερμικού σοκ δρουν ως μοριακοί συνοδοί, δηλαδή ως μόρια υπεύθυνα για την απομόνωση των πεπτιδίων, μέχρι αυτά να λάβουν μια ορθή τρισδιάστατη διαμόρφωση, καθώς και η επιδιόρθωσή τους μετά από κάποια τέτοιου είδους βλάβη. Είναι συνεπώς, μόρια με κυτταροπροστατευτικό ρόλο.

1.1 Μοριακοί συνοδοί

Οι μοριακοί συνοδοί παίζουν ρόλο στην κρίσιμη διαδικασία της τρισδιάστατης αναδίπλωσης νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών που δημιουργούνται στα κύτταρα. Για την ακρίβεια, εξασφαλίζουν ότι τα νεοσυντιθέμενα πολυπεπτίδια περνούν σωστά από έναν κύκλο αναδίπλωσης - αποπύκνωσης έως ότου αποκτήσουν τη λειτουργική τους διαμόρφωση (Hartl, 1996). Αν ένα πεπτίδιο παραμένει αποπυκνωμένο, υπάρχει η

πιθανότητα να δημιουργήσει συσσωματώματα με άλλα πεπτίδια, τα οποία είναι τοξικά για τον οργανισμό (Whitley et al., 1999). Οι πρωτεΐνες αυτές επίσης βοηθούν στην επιδιόρθωση μετουσιωμένων πρωτεϊνών ή επάγουν την αποικοδόμησή τους μετά από έκθεση σε συνθήκες στρες ή τραυματισμό (Mayer & Bukau, 2005) (Εικόνα 1). Εκτός αυτών, έχει πλέον αποδειχθεί ότι επάγουν μονοπάτια απόπτωσης, σε περίπτωση που η βλάβη που δημιουργήθηκε είναι μη αντιστρεπτή (Barral et al., 2004; Beere, 2004). Η γενικότερη κατηγορία των μοριακών συνοδών περιλαμβάνει τις υπο-οικογένειες HSP40, HSP60, HSP70, HSP90, HSP100 και τις μικρές πρωτεΐνες θερμικού σοκ (small Heat shock proteins, sHsps). Τα ονόματα των διάφορων πρωτεϊνών θερμικού σοκ υποδηλώνουν και το μοριακό τους βάρος (η Hsp70, για παράδειγμα, είναι η πρωτεΐνη θερμικού σοκ με μοριακό βάρος 70-kDa) (Whitley et al., 1999). Τα μέλη της οικογένειας δρουν συντονισμένα τόσο μεταξύ τους, όσο και με διάφορους συμπαράγοντες ώστε να εκτελέσουν τις παραπάνω λειτουργίες.



Εικόνα 1: Δύο από τις λειτουργίες των πρωτεϊνών θερμικού σοκ, ως μοριακοί συνοδοί. Πάνω: Με τη δημιουργία νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών, οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ υποβοηθούν την σωστή αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας σε λειτουργική πρωτεΐνη. Κάτω: Μετά από έκθεση σε συνθήκη στρες, οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ βοηθούν στην επαναδίπλωση ή την αποικοδόμηση κατεστραμμένων ή μετουσιωμένων πρωτεϊνών (Whitley et al., 1999).

1.2 Τα μέλη της υπο-οικογένειας Hsp70

Η οικογένεια των πρωτεϊνών θερμικού σοκ 70 είναι μια από τις πιο συντηρημένες εξελικτικά πρωτεϊνικές οικογένειες (Radons, 2016). Οι πρώτες αναφορές για τις Hsp70 έγιναν το 1962, όταν κατά λάθος ανέβηκε η θερμοκρασία του επωαστικού θαλάμου που αναπτύσσονταν ιστοί της *Drosophila busckii*, γεγονός που οδήγησε στη δημιουργία εξογκωμάτων στα χρωμοσώματα, η παρουσία των οποίων εξηγείται ως μεταβολή στην μεταγραφική ενεργότητά τους λόγω του θερμικού σοκ (Ritossa, 1962). Πλέον οι Hsp70 αποτελούν το πιο καλά χαρακτηρισμένο μέλος των πρωτεϊνών που επάγονται από το στρες. Είναι μονομερείς πρωτεΐνες που έχουν βρεθεί στο κυτοσόλιο βακτηρίων, αρχαίων και ευκαρυωτών, καθώς και στον ευκαρυωτικό πυρήνα, τα μιτοχόνδρια, τους χλωροπλάστες και το ενδοπλασματικό δίκτυο (Barral et al., 2004). Τα προκαρυωτικά συστήματα έχουν μία μορφή Hsp70 (την DnaK), ενώ οι ευκαρυώτες έχουν έναν μεγαλύτερο αριθμό γονιδίων που κωδικοποιούν για διάφορες ισομορφές της πρωτεΐνης (Fernández-Fernández & Valpuesta, 2018). Ο αριθμός αυτός δεν είναι σταθερός στην βιβλιογραφία, καθώς έχει γίνει λόγος για την ύπαρξη από 11 μέχρι 17 γονιδίων που κωδικοποιούν για τα μέλη αυτής της οικογένειας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν 15 διαφορετικά γονίδια, που διαφέρουν μεταξύ τους ελαφρώς ως προς την αμινοξική τους αλληλουχία, τα επίπεδα έκφρασης και την χρωμοσωμική τους θέση (Radons, 2016). Οι Hsp70 εκφράζονται και σε φυσιολογικές καταστάσεις στα κύτταρα, αλλά σε μικρότερες συγκεντρώσεις από ότι όταν ο οργανισμός έρχεται αντιμέτωπος με κάποιο στρεσογόνο ερέθισμα.

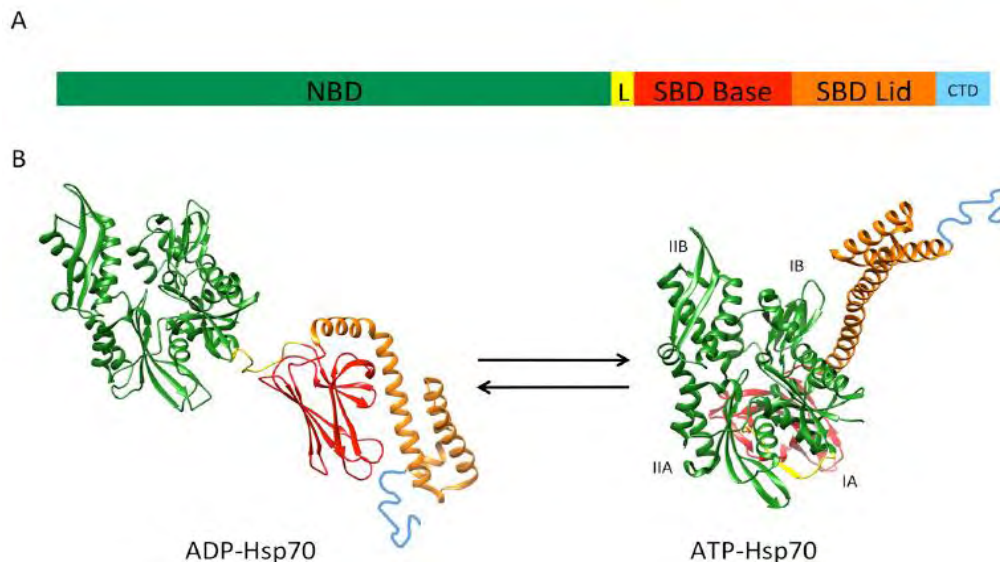
Όνομα Γονιδίου	Χρωμοσωμική θέση	HGNC ID
HSPA1A	6p21.33	5232
HSPA1B	6p21.33	5233
HSPA1L	6p21.33	5234
HSPA2	14q23.3	5235
HSPA4	5q31.1	5237
HSPA4L	4q28.1	17041
HSPA5	9q33.3	5238
HSPA6	1q23.3	5239
HSPA7	1q23.3	5240
HSPA8	11q24.1	5241
HSPA9	5q31.2	5244
HSPA12A	10q25.3	19022

HSPA12B	20p13	16193
HSPA13	21q11.2	11375
HSPA14	10p13	29526

Πίνακας 1: Τα γονίδια της οικογένειας HSP70 του ανθρώπου, οι θέσεις τους στο χρωμόσωμα και οι χαρακτηριστικοί HGNC κωδικοί τους (οι κωδικοί είναι μοναδικοί και παρέχονται από την HUGO Gene Nomenclature Committee. Οι κωδικοί δεν αλλάζουν, ακόμα και αν αλλάξει η ονομασία του γονιδίου.) (Yates et al., 2017)

1.3 Δομή των Hsp70

Ως άκρως συντηρημένα μόρια, οι Hsp70 έχουν ένα κοινό δομικό πρότυπο. Η ανάλυση της δομής τους δείχνει ότι αποτελούνται από 2 κύριες περιοχές. Η πρώτη, N-τελική περιοχή με μοριακό βάρος 44-kDa, είναι η περιοχή πρόσδεσης νουκλεοτιδίων (Nucleotide Binding Domain, NBD), και παίζει ρόλο στην πρόσδεση και την υδρόλυση του ATP. Δομικά, αποτελείται από 2 λοβούς με μια αύλακα ανάμεσά τους, στη βάση της οποίας προσδέεται το ATP. Μια ενδιάμεση περιοχή φέρει σημεία ευαίσθητα σε πρωτεάσες, και ακολουθείται από μια C-τελική περιοχή με μοριακό βάρος 28-kDa όπου προσδέονται τα πεπτιδία – στόχοι και ομο-συνοδά μόρια (Substrate Binding Domain, SBD) (Εικόνα 2). Η υπομονάδα NBD είναι συντηρημένη σε όλα τα μέλη της οικογένειας HSP70, με εξαίρεση τα προϊόντα των 2 γονιδίων HSPA12 που κωδικοποιούν για μια πιο αποκλίνουσα μορφή της. Αποτελείται από 4 υπομονάδες (IA, IB, IIA, IIB) που περιβάλλουν τον θήλακα πρόσδεσης του ATP (Flaherty M., 1990). Η SBD διαχωρίζεται περαιτέρω σε ένα N-τελικό β-πτυχωτό φύλλο (SBDβ), που ονομάζεται αλλιώς Βάση (Base) (Fernández-Fernández & Valpuesta, 2018) και μια C-τελική υπομονάδα με δομή α-έλικας (SBDα) που λειτουργεί ως εύκαμπτο καπάκι (Lid) (Zhu et al., 1996). Οι ευκαρυωτικές HSP70 του κυτοσολίου περιέχουν επίσης στο C-τελικό άκρο ένα ρυθμιστικό μοτίβο EEVD (Glu-Glu-Val-Asp) που εμπλέκεται στην πρόσδεση με συμπαραγοντες καθώς και με άλλες HSP (Εικόνα 2).



Εικόνα 2: (A) Σχηματική αναπαράσταση της γενικής δομής των πρωτεϊνών Hsp70. Το μήκος των τμημάτων είναι σε αναλογία με το μήκος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. (B) Δομή ανοιχτής και κλειστής διαμόρφωσης των Hsp70. (Fernández-Fernández & Valpuesta, 2018).

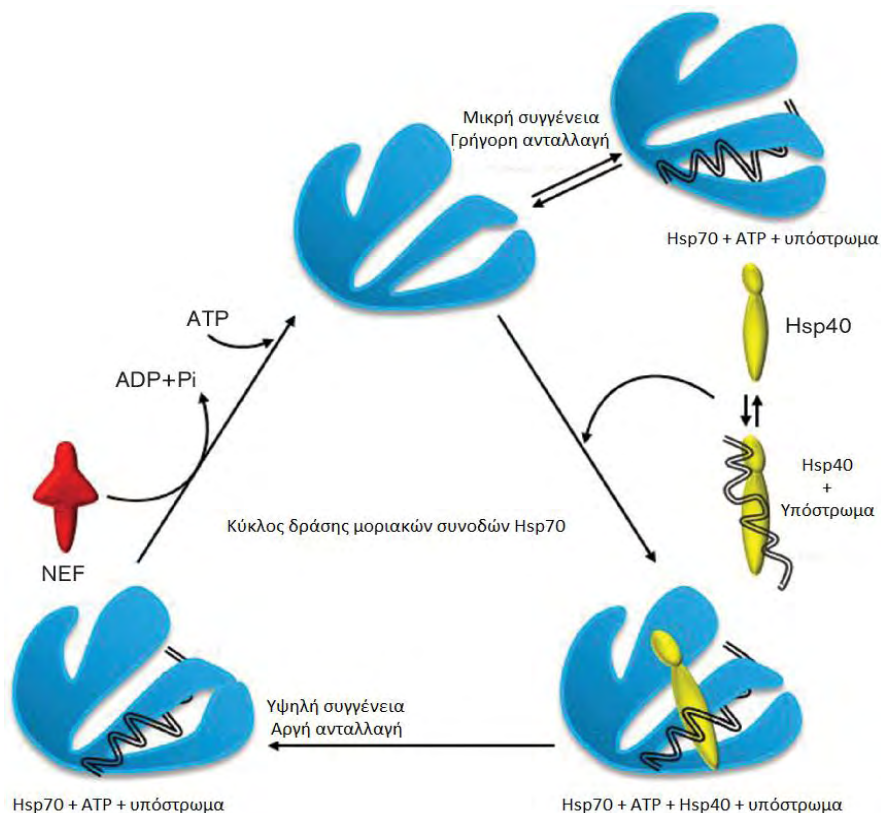
1.4 Κύκλος λειτουργίας Hsp70 ως μοριακών συνοδών

Οι Hsp70 ως μοριακοί συνοδοί στηρίζονται στις διαμορφωτικές αλλαγές που προκύπτουν λόγω της υδρόλυσης του ATP για να βοηθήσουν την αναδίπλωση, την αποσυσσωμάτωση και την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών (Fernández-Fernández & Valpuesta, 2018). Κεντρικό ρόλο στη λειτουργία τους παίζει η μετάβαση από την ανοιχτή στη κλειστή διαμόρφωση και αντίστροφα της περιοχής SBD. Στην ανοιχτή διαμόρφωση, προσδεσμένη με ATP, οι υπομονάδες SBD α και SBD β βρίσκονται αγκυροβολημένες η μία μακριά από την άλλη, καθώς και από την NBD, η αύλακα πρόσδεσης του υποστρώματος είναι ανοιχτή και η συνοδός εμφανίζει χαμηλή συγγένεια για το υπόστρωμά της, το οποίο προσκολλάται και απελευθερώνεται από αυτή με μεγάλη ταχύτητα. Η SBD αναγνωρίζει ένα μοτίβο που υπάρχει στις περισσότερες πρωτεΐνες περίπου κάθε 30 με 40 βάσεις. Αυτό το μικρό μοτίβο 5 καταλοίπων συνήθως βρίσκεται θαμμένο στον πυρήνα της πρωτεΐνης, συνεπώς η αναγνώρισή του από τη μοριακή συνοδό αποτελεί σήμα μη – ορθής αναδίπλωσης (Fernández-Fernández & Valpuesta, 2018).

Η υδρόλυση του ATP πραγματοποιείται με τη βοήθεια των πρωτεϊνών J-υπομονάδας (J-Domain Proteins, JDPs), που είναι μέλη της οικογένειας HSP40, και η

ανταλλαγή ATP-ADP με τη βοήθεια των NEFs (Nucleotide Exchange Factors), όπως η Bag-1. Ομοδιμερείς Hsp40 προσδένονται στο μη-αναδιπλωμένο ή το μετουσιωμένο πολυπεπτίδιο μέσω της C-τελικής SBD περιοχής της, για να αποφευχθεί η συσσωμάτωσή του με άλλες πρωτεΐνες. Αφού η Hsp40 κατευθύνει το πεπτίδιο στην Hsp70, αλληλεπιδρά με την περιοχή ATPάσης της Hsp70, επάγοντας μια διαμορφωτική αλλαγή που καταλήγει σε υδρόλυση του ATP και το κλείσιμο του θήλακα σύνδεσης του υποστρώματος (Radons, 2016). Στη συνδεδεμένη με ADP, πλέον, κατάσταση, η αγκυροβόληση των 2 υπομονάδων διακόπτεται και η μοριακή συνοδός εμφανίζει πλέον μεγάλη συγγένεια με το υπόστρωμα, καθώς και χαμηλούς ρυθμούς δέσμωσης - αποδέσμωσης του. Στη διαμόρφωση αυτή η SBD προσκολλάται στην επιφάνεια των υπομονάδων IA και IIA, ώστε η σχισμή να είναι καλυμμένη (Bertelsen et al., 2009). Στο τέλος της διαδικασίας, το ADP απομακρύνεται από τη συνοδό μέσω παραγόντων ανταλλαγής νουκλεοτιδίων (Nucleotide Exchange Factors, NEFs), ώστε το πεπτιδικό υπόστρωμα να μπορέσει να απελευθερωθεί. Το υπόστρωμα μπορεί να είναι αναδιπλωμένο, έχοντας λάβει την λειτουργική του δομή, να επαναπροσδεθεί στην Hsp70, ή να σχηματίσει συσσωματώματα με άλλες, μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες, οπότε ο κύκλος συνεχίζεται.

Εικόνα 3: Προτεινόμενος κύκλος δράσης των μοριακών συνοδών Hsp70 (Radons, 2016) (τροποποιημένη).



1.5 Αλληλεπιδράσεις και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ αλληλεπιδρούν, όπως αναφέρθηκε, με άλλες πρωτεΐνες συνοδούς που παίζουν ρόλο στη δράση τους. Οι πρωτεΐνες Hsp40/DnaJ προσδένονται στα υποστρώματα των Hsp70, βοηθώντας στην εξειδίκευση και την στόχευσή τους. Οι Bag-1 και Hsp105/Hsp110 παίζουν ρόλο στην απελευθέρωση του ADP και την αποδέσμευση της Hsp70 από το υπόστρωμά της, ενώ η HIP τα σταθεροποιεί (Cloutier & Coulombe, 2013).

Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις είναι χημικές διεργασίες που ακολουθούν τη σύνθεση των πρωτεϊνών, και μπορεί να επηρεάσουν τη δραστικότητα και το δίκτυο αλληλεπιδράσεων τους. Οι διεργασίες αυτές για τις πρωτεΐνες Hsp70 περιλαμβάνουν τη φωσφορυλίωση, την ακετυλίωση και τη μεθυλίωση. Δεν έχει αναλυθεί σε μεγάλο βαθμό ο ρόλος της φωσφορυλίωσης στην δραστικότητα των μοριακών συνοδών, ωστόσο φαίνεται πως συμβαίνει κατά βάση μετά το θερμικό σοκ (Dundjerski et al., 1999). Η ακετυλίωση χρησιμεύει στην στόχευση των πρωτεϊνών προς αποικοδόμηση, ενώ η μεθυλίωση σε κατάλοιπα λυσίνης και αργινίνης φαίνεται πως σχετίζεται με την μετακίνηση της Hsp70 από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα. Η απομεθυλίωση προάγει την μίτωση, ενεργοποιώντας την κινάση Aurora B η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει την ιστόνη H3 (Cloutier & Coulombe, 2013).

1.6 Θερμοανθεκτικότητα και Απάντηση στο Θερμικό Σοκ

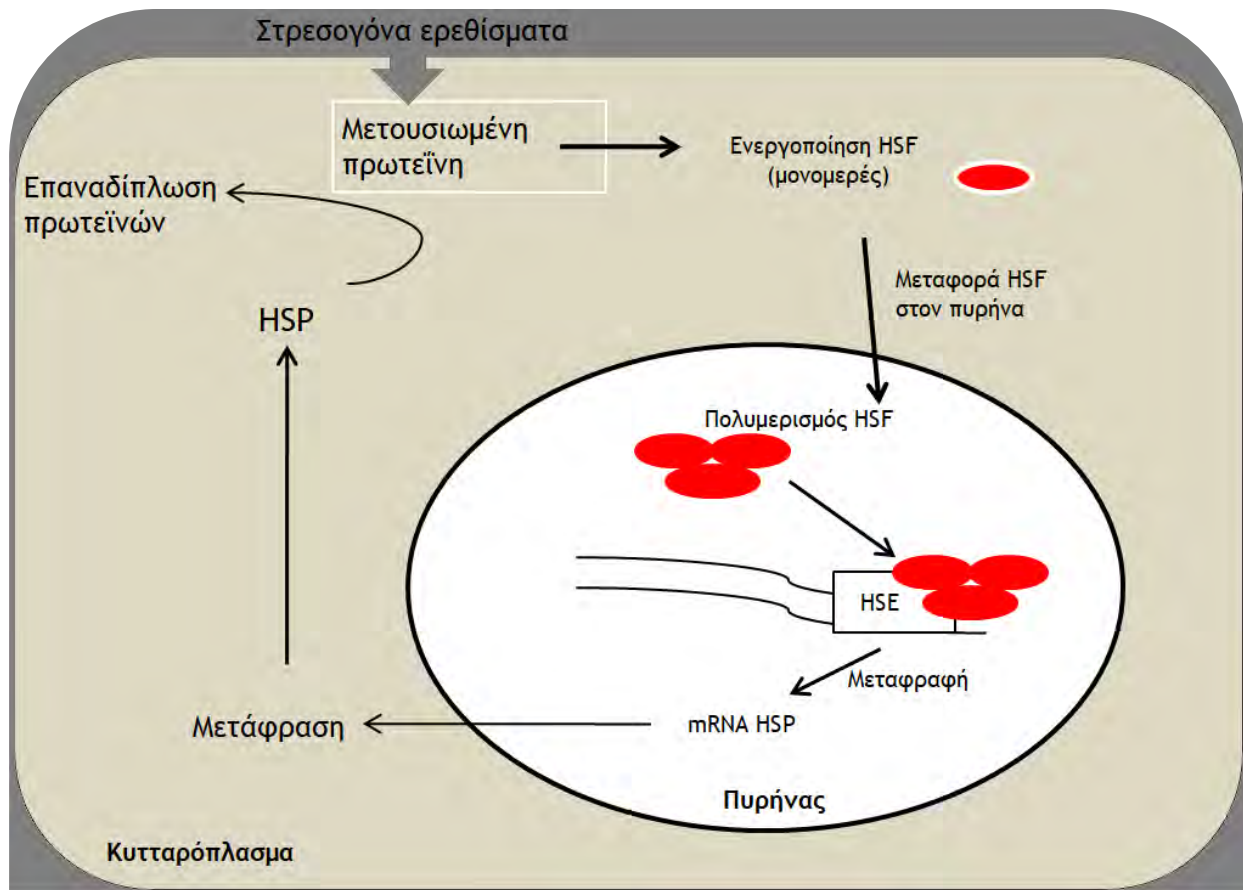
Το στρες ορίζεται ως κάποιος περιβαλλοντικός περιορισμός, που διαφέρει από τις ιδανικές για ένα είδος συνθήκες και μπορεί εν δυνάμει να παρεμποδίσει την ανάπτυξη (Jacob et al., 2017). Το θερμικό στρες, συγκεκριμένα, προκαλεί ορισμένες ανωμαλίες στη λειτουργία των κυττάρων που οδηγούν σε αλλαγές σε βιολογικά μόρια, μεταβάλλουν τις κυτταρικές λειτουργίες, ρυθμίζουν μεταβολικές διαδικασίες, προκαλούν βλάβες μέσω οξειδωτικού στρες και ενεργοποιούν μηχανισμούς απόπτωσης και νέκρωσης, καταλήγοντας τελικά στην κυτταρική επιβίωση, την προσαρμογή ή τον θάνατο, ανάλογα με τη διάρκεια και την επιτυχία αυτών των μεταβολών. Ένας οργανισμός βρίσκεται στην θερμοουδέτερη γι αυτόν ζώνη, όταν δε χρειάζεται να

δαπανήσει ενέργεια για να διατηρήσει την φυσιολογική θερμοκρασία του σώματός του μέσω ομοιόστασης. Θερμορύθμιση είναι η διαδικασία κατά την οποία οι οργανισμοί εξισορροπούν την παραγωγή θερμότητας με τους μηχανισμούς απώλειας θερμότητας με απώτερο σκοπό να διατηρούν μια σταθερή θερμοκρασία. Όταν αυτή η ενεργειακή ισορροπία διαταραχτεί, ο οργανισμός ενεργοποιεί την απάντηση στο θερμικό σοκ (Heat Shock Response, HSR).

Η έκφραση θερμοανθεκτικών γονιδίων και η αύξηση της έκφρασης πρωτεϊνών θερμικού σοκ φαίνεται πως είναι οι πιο συνηθισμένες απαντήσεις των οργανισμών όταν έρχονται αντιμέτωποι με θερμοκρασίες στις οποίες δεν είναι εξοικειωμένοι. Τα μέλη της απάντησης στο θερμικό σοκ περιλαμβάνουν:

- τους παράγοντες θερμικού σοκ (Heat Shock Factors, HSFs),
- το στοιχείο απόκρισης στο θερμικό σοκ (Heat Shock Element, HSE) και
- τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs).

Η κυτταρική απάντηση στο θερμικό σοκ στα θηλαστικά ελέγχεται σε μεταγραφικό επίπεδο, και ρυθμίζεται από μια οικογένεια HSF που κωδικοποιούνται από τα αντίστοιχα HSF γονίδια. Η συντονισμένη δράση διαφορετικών HSF παρέχει στα κύτταρα επαρκή προστατευτική δραστηριότητα έναντι σε διάφορα είδη περιβαλλοντικού στρες. Υπάρχουν διάφορες ισομορφές HSF σε διαφορετικά είδη. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, οι HSF προϋπάρχουν ως μονομερή στο κυτταρόπλασμα σε φυσιολογικές συνθήκες (Pirkkala, 2002). Εκεί βρίσκονται σε ανενεργή μορφή συνδεδεμένοι με HSP, μέχρι να λάβουν σήμα για κάποιο στρεσογόνο ερέθισμα μέσω της αποπύκνωσης κάποιας πρωτεΐνης. Τότε αποδεσμεύονται από τις HSP, φωσφορυλιώνονται από πρωτεϊνικές κινάσες και μεταφέρονται στον πυρήνα, όπου σχηματίζουν τριμερή. Στην ενεργή τους πλέον μορφή προσδένονται σε HSE που βρίσκονται στην περιοχή κοντά στον υποκινητή των γονιδίων HSP, ενισχύοντας την μεταγραφή τους (Shamovsky & Nudler, 2008). Μόλις το κύτταρο επανέλθει στην φυσιολογική κατάσταση, η περίσσεια ελεύθερων μοριακών συνοδών οδηγεί σε μείωση της έκφρασης των παραγόντων θερμικού σοκ, μέσω αρνητικής ανάδρασης (Richter et al., 2010). Οι HSPs βρίσκονται στα κύτταρα ακόμα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, αλλά σε μικρότερες συγκεντρώσεις από ότι σε καταστάσεις στρες (Ghazaei, 2017).



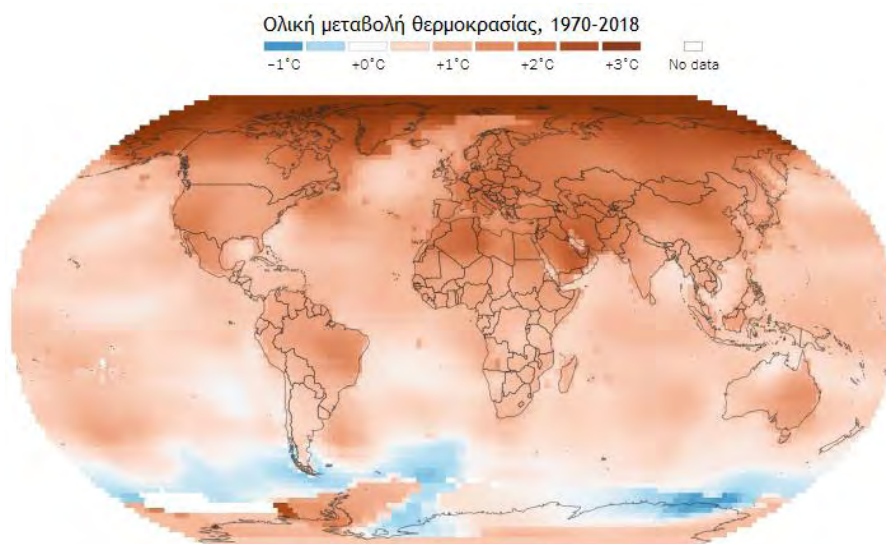
Εικόνα 4: Ενεργοποίηση της HSR (τροποποιημένη) (Gurta et al., 2013).

1.7 Προσαρμογή

Υπάρχουν πολλά φαινοτυπικά και γενετικά χαρακτηριστικά που μπορούν να μεταβληθούν ώστε ένας οργανισμός να προσαρμοστεί σε νέες γι αυτόν συνθήκες. Αυτοί οι μηχανισμοί επιτρέπουν στον οργανισμό να επιβιώσει σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον (Sejian et al., 2018). Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για να διαπιστωθεί ότι οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ συνδέονται με την προσαρμογή των ειδών σε αλλαγές στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος τους (Collier et al., 2012; Gurta et al., 2013; Sejian et al., 2018; Shaji et al., 2017). Παρατηρείται ότι αρκετά είδη έχουν μεταβάλλει την γεωγραφική τους κατανομή προς υψηλότερα υψόμετρα, όπως και τον κύκλο της ζωής τους γενικότερα, λόγω της αύξησης της μέσης θερμοκρασίας (Collier et al., 2012). Οι κύριες HSP με κυτταροπροστατευτικό ρόλο κατά το θερμικό στρες σε ζώα κτηνοτροφικού ενδιαφέροντος είναι οι HSP70, HSP90 και HSP27. Μεταξύ αυτών, η HSP70 έχει χαρακτηριστεί ως ο βιοδείκτης της ποσοτικοποίησης του θερμικού στρες

στα θηλαστικά (Archana et al., 2017). Οι βιοδείκτες είναι ουσίες που υποδεικνύουν την βιολογική κατάσταση ή μια πιθανή αλλαγή σε επίπεδα έκφρασης γονιδίων ή στην κατάσταση πρωτεϊνών. Τέτοιοι δείκτες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση του μηχανισμού απόκρισης στο στρες στην κτηνοτροφία. Συγκεκριμένα, το θερμικό στρες μειώνει παράγοντες όπως η ανάπτυξη, η αναπαραγωγή, η παραγωγή γάλακτος και η ποιότητα του κρέατος (Sejian et al., 2018).

Με το πέρασμα του χρόνου, παρατηρείται όλο και μεγαλύτερη αύξηση της μέση θερμοκρασίας του πλανήτη (Εικόνα 5). Το γεγονός αυτό σημαίνει παράλληλα ότι οι συνθήκες που επικρατούν σε κάθε βιότοπο μεταβάλλονται με γρήγορους ρυθμούς, ασκώντας μια εξελικτική πίεση τους αντίστοιχους πληθυσμούς. Ένας από τους τρόπους απόκρισης στην πίεση αυτή, είναι η απόκριση μέσω των HSP.



Εικόνα 5: Ολική μεταβολή της θερμοκρασίας για τα έτη 1970-2018. Το 2018 ήταν ο τέταρτος θερμότερος χρόνος που έχει καταγραφεί (στην πρώτη πεντάδα βρίσκονται τα έτη 2014-2018). Πηγή: NASA| By the New York Times (<https://www.nytimes.com/interactive/2019/02/06/climate/fourth-hottest-year.html>).

1.8 Γονιδιωματική και Βιοπληροφορική

Η εξέλιξη των εργαλείων γονιδιωματικής και βιοπληροφορικής έχουν βοηθήσει πολύ την συγκριτική έρευνα. Μια βάση δεδομένων είναι μια οργανωμένη συλλογή πληροφοριών, αποθηκευμένη στο διαδίκτυο και προσβάσιμη μέσω αυτού. Στην περίπτωση των βιολογικών επιστημών, οι βάσεις αυτές παρέχουν δεδομένα από

επιστημονικά πειράματα, δημοσιευμένη βιβλιογραφία και υπολογιστική ανάλυση. Οι βιολογικές βάσεις δεδομένων μπορεί να χωριστούν σε ευρείες κατηγορίες, όπως γονιδιωματικές, δομικές, λειτουργικές, βάσεις νουκλεοτιδικών και πρωτεϊνικών αλληλουχιών, ανάλογα με τις πληροφορίες που περιέχουν.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τόσο βάσεις δεδομένων, όσο και εργαλεία βιοπληροφορικής.

1.8.1 Ensembl

Το project της Ensembl (Zerbino et al., 2018; <https://www.ensembl.org/index.html>) ξεκίνησε το 1999, μερικά χρόνια πριν ολοκληρωθεί η αλληλούχηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Στόχος του project ήταν να κάνει ευρέως διαθέσιμες πληροφορίες αλληλούχησης, γονιδιακών τόπων και άλλων βιολογικών δεδομένων μέσω του διαδικτύου. Έκτοτε, η βάση δεδομένων έχει επεκταθεί και περιέχει πληροφορίες συγκριτικής γονιδιωματικής και ρυθμιστικών στοιχείων. Μέσω της βάσης δεδομένων της Ensembl, είναι δυνατό να ανακτηθούν δεδομένα αλληλούχησης σε μορφή FASTA για να χρησιμοποιηθούν κατόπιν στη σύγκριση. Ένα αρχείο με αυτό το format αρχίζει με μια γραμμή όπου αναγράφονται διάφορες πληροφορίες, όπως το όνομα του οργανισμού, και ακολουθείται από τις νουκλεοτιδικές ή αμινοξικές αλληλουχίες με τη συντομογραφία τους (ένα γράμμα). Φυσικά, όταν πρόκειται για πλήρεις αλληλουχήσεις γονιδιωμάτων ή πρωτεϊνών, τα αρχεία αυτά θα έχουν πολύ μεγάλο μέγεθος και πληροφορία. Από τον μεγάλο αυτό όγκο δεδομένων πρέπει να βρεθεί κάποιος τρόπος να επιλεγούν οι πληροφορίες που είναι αναγκαίες για την συγκεκριμένη μελέτη. Σε τέτοιες περιπτώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν τα εργαλεία της βιοπληροφορικής.

1.8.2 Catalogue of Life

Το Catalogue of Life (CoL) (Orrell et al., 2018; <https://www.catalogueoflife.org/>) είναι μια βάση δεδομένων που παρέχει πληροφορίες ταξινόμησης για πάνω από 1,8 εκατομμύρια είδη, και συνεχίζει να εξελίσσεται. Στη βάση αυτή είναι διαθέσιμα και άλλα στοιχεία, όπως η κοινή και η επιστημονική ονομασία του προς αναζήτηση οργανισμού, συγγενικά του είδη μέχρι και πληροφορίες για είδη που έχουν πλέον εξαφανιστεί.

1.8.3 Map of Life

Το Map of Life (Jetz et al., 2012; <https://mol.org/>) παρέχει γεωγραφικές πληροφορίες για την βιοποικιλότητα σε ένα φιλικό προς τον χρήστη περιβάλλον. Οι πληροφορίες αυτές περιλαμβάνουν ακριβείς χάρτες κατανομής, οικοσυστήματα και προστατευόμενες περιοχές. Στην αρχική σελίδα (Εικόνα 6) δίνεται η δυνατότητα αναζήτησης με βάση ένα συγκεκριμένο είδος ή μιας συγκεκριμένης γεωγραφικής περιοχής, μελέτης προτύπων κατανομής και συντήρησης, μοτίβων βιοποικιλότητας και άλλων βάσεων δεδομένων που χρησιμοποιούνται από την ίδια.

1.8.4 Aliview

Στις συγκριτικές μελέτες είναι απαραίτητα εργαλεία που θα κάνουν εφικτή τη σωστή σύγκριση των αλληλουχιών μεταξύ τους, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της στοίχισης (ή alignment). Η στοίχιση είναι ένας τρόπος διευθέτησης αλληλουχιών DNA, RNA ή πρωτεϊνών ώστε να αναγνωριστούν όμοιες περιοχές που μπορεί να υποδηλώνουν λειτουργικές, δομικές ή εξελικτικές σχέσεις μεταξύ τους. Το Aliview (Larsson, 2014) είναι ένα πρόγραμμα που επιτρέπει την στοίχιση αλληλουχιών, την οπτικοποίηση και την επεξεργασία τους.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι να διαπιστωθεί εάν οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ ευθύνονται για την προσαρμογή των ειδών κατά τις θερμοκρασιακές μεταβολές του περιβάλλοντός τους. Για τον λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε συγκριτική ανάλυση των αλληλουχιών των πρωτεϊνών θερμικού σοκ της οικογένειας 70 μεταξύ δύο ομάδων που περιλαμβάνουν οργανισμούς από την ταξινομική ομάδα των θηλαστικών. Τα μέλη της κάθε ομάδας είναι προσαρμοσμένα σε διαφορετικές θερμοκρασίες, οπότε η σύγκριση θα συσχετίσει συγκεκριμένα τις HSP70 με την προσαρμοστικότητα.

Για τον σκοπό αυτό έγινε χρήση εργαλείων βιοπληροφορικής και ποικίλων βάσεων δεδομένων γονιδιωματικής, από τις οποίες ανακτήθηκαν δεδομένα για τις υπό μελέτη πρωτεΐνες.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Καταγραφή και Ταξινόμηση Οργανισμών

Αρχικό βήμα της έρευνας είναι να εντοπιστούν και να καταγραφούν οι οργανισμοί για τους οποίους υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα αλληλούχησης του πρωτεώματος. Η αναζήτηση αυτή είναι δυνατή στη βάση δεδομένων της *Ensembl* (Zerbino et al., 2018; <https://www.ensembl.org/index.html>). Για να βρεθούν οι οργανισμοί για τους οποίους παρέχεται πληροφορία, από την αρχική σελίδα της Ensembl ακολουθείται το μονοπάτι: Help & Docs / Data Access / FTP site. Στην σελίδα θα εμφανιστεί ένας πίνακας με την παρακάτω μορφή (Εικόνα 6).

Single species data

Popular species are listed first. You can customise this list via our [home page](#).

Show 10 entries		Show/hide columns															Filter
★	Species	DNA (FASTA)	cDNA (FASTA)	CDS (FASTA)	ncRNA (FASTA)	Protein sequence (FASTA)	Annotated sequence (EMBL)	Annotated sequence (GenBank)	Gene sets	Other annotations	Whole databases	Variation (GVF)	Variation (VCF)	Variation (VEP)	Regulation (GFF)	Data files	BAM/BigWig
Y	Human <i>Homo sapiens</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	GVF	VCF	VEP	Regulation (GFF)	Regulation data files	BAM/BigWig
Y	Mouse <i>Mus musculus</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	GVF	VCF	VEP	Regulation (GFF)	Regulation data files	BAM/BigWig
Y	Zebrafish <i>Danio rerio</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	GVF	VCF	VEP	-	-	BAM/BigWig
	Abingdon island giant tortoise <i>Chelonoidis abingdonii</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	BAM/BigWig
	Agassiz's desert tortoise <i>Gopherus agassizii</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	BAM/BigWig
	Algerian mouse <i>Mus spretus</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	-
	Alpaca <i>Vicugna pacos</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	-
	Alpine marmot <i>Marmota marmota</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	BAM/BigWig
	Amazon molly <i>Poecilia formosa</i>	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF JSON	MySQL	-	-	VEP	-	-	BAM/BigWig
	American beaver	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	FASTA	EMBL	GenBank	GTF GFF3	TSV RDF	MySQL	-	-	VEP	-	-	BAM/BigWig

Εικόνα 6: Μορφή της σελίδας της Ensembl, όπου δίνεται πρόσβαση σε δεδομένα αλληλούχησης διάφορων οργανισμών. (Zerbino et al., 2018)

Εκτός από αυτούς τους οργανισμούς, συγκεντρώθηκαν και κάποιοι από την βάση δεδομένων του NCBI (Richter et al., 2010).

Έχοντας μια λίστα πιθανών οργανισμών, επόμενο βήμα είναι να βρεθούν τα ταξινομικά τους στοιχεία ώστε να επιλεγούν τα θηλαστικά. Από την αρχική σελίδα του CoL, η επιλογή Access οδηγεί σε μια σελίδα της παρακάτω μορφής (Εικόνα 5).



- Browse
- Search
- Info

Search **Annual Checklist** - fixed edition of each year

Search for:

Show extinct taxa (†)

Match whole words only

Annual Checklist Interface v1.9 rev 2126ab0 developed by Naturalis Biodiversity Center. Please note, this site uses [cookies](#). If you continue to use the site we will assume that you agree with this.

Εικόνα 7: Σελίδα αναζήτησης του Catalogue of Life. (Orrell et al., 2018; <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/>)

Στη σελίδα αυτή ο χρήστης μπορεί να εισάγει την ονομασία του οργανισμού για τον οποίο ψάχνει πληροφορίες ταξινόμησης. Ως αποτέλεσμα της αναζήτησης δίνονται οι ταξινομικές ομάδες στις οποίες εντάσσεται ο οργανισμός (είδος, γένος, οικογένεια, υπερ-οικογένεια, τάξη, κλάση, φύλο, βασίλειο) καθώς και κάποιες πληροφορίες σχετικά με την κατανομή του. Για την παρούσα εργασία καταγράφηκαν τα ταξινομικά δεδομένα των θηλαστικών, τα οποία εμφανίζονται στον Πίνακα 2.

Species		Taxonomy	
Common name	Scientific name	Order	Family
(Wolf)Dog	<i>Canis lupus familiaris</i>	Carnivora	Canidae
Aardvark	<i>Orycteropus afer</i>	Tubulidentata	Orycteropodidae
Algerian mouse	<i>Mus spretus</i>	Rodentia	Muridae
Alpaca	<i>Vicugna pacos</i>	Artiodactyla	Camelidae
American Beaver	<i>Castor canadensis</i>	Rodentia	Castoridae
American bison	<i>Bison bison</i>	Artiodactyla	Bovidae
American black bear	<i>Ursus Americanus</i>	Carnivora	Ursidae
Angola colobus	<i>Colobus angolensis palliatus</i>	Primates	Cercopithecoidea
Armadillo	<i>Dasypus novemcinctus</i>	Cingulata	Dasypodidae
Ashy Red Colobus	<i>Ptilocolobus tephrosceles</i>	Primates	Cercopithecoidea
Bactrian Camel	<i>Camelus ferus</i>	Artiodactyla	Camelidae
big brown bat	<i>Eptesicus fuscus</i>	Chiroptera	Vespertilionidae
Black Flying Fox	<i>Pteropus alecto</i>	Chiroptera	Pteropodidae
Black snub-nosed monkey	<i>Rhinopithecus bieti</i>	Primates	Cercopithecoidea
Bolivian squirrel monkey	<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	Primates	Cebidae
Bonobo	<i>Pan paniscus</i>	Primates	Hominoidae
Brazilian guinea pig	<i>Cavia aperea</i>	Rodentia	Caviidae
Bushbaby	<i>Otolemur gametti</i>	Primates	Galagidae
California Sealion	<i>Zalophus californianus</i>	Carnivora	Otariidae
Cape Elephant Shrew	<i>Elephantulus edwardii</i>	Macroscelidea	Macroscelididae
Cape Golden Mole	<i>Chrysochloris asiatica</i>	Afroscoridida	Chrysochloridae
Capuchin	<i>Cebus capucinus imitator</i>	Primates	Cebidae
Cat	<i>Felis catus</i>	Carnivora	Felidae
Chimpanzee	<i>Pan troglodytes</i>	Primates	Hominoidae
Chinese hamster CHOKIGS	<i>Cricetulus griseus</i>	Rodentia	Cricetidae
Chinese hamster CriGri	<i>Cricetulus griseus</i>	Rodentia	Cricetidae
Chinese Horseshoe Bat	<i>Rhinolophus sinicus</i>	Chiroptera	Rhinocerotidae
Chiru	<i>Pantholops hodgsonii</i>	Artiodactyla	Bovidae
Clawed Bird	<i>Meriones unguiculatus</i>	Rodentia	Muridae
Coquerel's sifaka	<i>Propithecus coquereli</i>	Primates	Indridae
Cow	<i>Bos taurus</i>	Artiodactyla	Bovidae
Crab-eating macaque	<i>Macaca fascicularis</i>	Primates	Cercopithecoidea
Damara mole rat	<i>Fukomys damarensis</i>	Rodentia	Bathyergidae
David's Myotis	<i>Myotis davidii</i>	Chiroptera	Vespertilionidae
Degu	<i>Octodon degus</i>	Rodentia	Octodontidae
Dingo	<i>Canis lupus dingo</i>	Carnivora	Canidae
Dolphin	<i>Tursiops truncatus</i>	Cetacea	Delphinidae
Donkey	<i>Equus asinus asinus</i>	Perissodactyla	Equidae

Drill	<i>Mandrillus leucophaeus</i>	Primates	Cercopithecoidea
Elephant	<i>Loxodonta africana</i>	Proboscidea	Elephantidae
Elk	<i>Cervus elaphus</i>	Artiodactyla	Cervidae
Ferret	<i>Mustela putorius furo</i>	Canivora	Mustelidae
Gelada	<i>Theropithecus gelada</i>	Primates	Cercopithecoidea
Gibbon	<i>Nomascus leucogenys</i>	Primates	Hominidae
Goat	<i>Capra hircus</i>	Artiodactyla	Bovidae
Golden Hamster	<i>Mesocricetus auratus</i>	Rodentia	Cricetidae
Golden snub-nosed monkey	<i>Rhinopithecus roxellana</i>	Primates	Cercopithecoidea
Gorilla	<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Primates	Hominidae
Gray Marmot	<i>Marmota marmota</i>	Rodentia	Sciuridae
Guinea Pig	<i>Cavia porcellus</i>	Rodentia	Caviidae
Hedgehog	<i>Erinaceus europaeus</i>	Erinaceomorpha	Erinaceidae
Horse	<i>Equus caballus</i>	Perissodactyla	Equidae
Human	<i>Homo sapiens</i>	Primates	Hominidae
Hyrax	<i>Procavia capensis</i>	Hyracoidea	Procaviidae
Kangaroo rat	<i>Dipodomys ordii</i>	Rodentia	Heteromyidae
Koala	<i>Phascolarctos cinereus</i>	Diprotodontia	Phascolarctidae
Leopard	<i>Panthera pardus</i>	Canivora	Felidae
Lesser Egyptian jerboa	<i>Jaculus jaculus</i>	Rodentia	Dipodidae
Lesser hedgehog tenrec	<i>Echinops telfairi</i>	Afrosoricida	Tenrecidae
Long-tailed chinchilla	<i>Chinchilla lanigera</i>	Rodentia	Chinchillidae
Macaque	<i>Macaca mulatta</i>	Primates	Cercopithecoidea
Marmoset	<i>Callithrix jacchus</i>	Primates	Callitrichidae
Ma's night monkey	<i>Aotus nancymae</i>	Primates	Aotidae
Megabat	<i>Pteropus vampyrus</i>	Chiroptera	Pteropodidae
Microbat	<i>Myotis lucifugus</i>	Chiroptera	Vespertilionidae
Mouse	<i>Mus musculus</i>	Rodentia	Muridae
Mouse 129 S1/Sv1mJ	<i>Mus musculus</i>	Rodentia	Muridae
Mouse CAST/EiJ	<i>Mus musculus castaneus</i>	Rodentia	Muridae
Mouse Lemur	<i>Microcebus murinus</i>	Primates	Cheirogaleidae
Mouse WSB/EiJ	<i>Mus musculus domesticus</i>	Rodentia	Muridae
Naked mole-rat female	<i>Heterocephalus glaber</i>	Rodentia	Bathyergidae
Naked mole-rat male	<i>Heterocephalus glaber</i>	Rodentia	Bathyergidae
Northern American deer mouse	<i>Peromyscus maniculatus bairdii</i>	Rodentia	Cricetidae
Northern Fur Seal	<i>Callorhinus ursinus</i>	Canivora	Otariidae
Olive baboon	<i>Papio anubis</i>	Primates	Cercopithecoidea
Opossum	<i>Monodelphis domestica</i>	Didelphimorphia	Didelphidae
Orangutan	<i>Pongo abelii</i>	Primates	Hominidae

Pacific White-sided Dolphin	<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>	Cetacea	Delphinidae
Panda	<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	Carnivora	Ursidae
Pig	<i>Sus scrofa</i>	Artiodactyla	Suidae
Pig-tailed macaque	<i>Macaca nemestrina</i>	Primates	Cercopithecidae
Pika	<i>Ochotona princeps</i>	Lagomorpha	Ochotonidae
Platypus	<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Monotremata	Ornithorhynchidae
Polar bear	<i>Ursus maritimus</i>	Carnivora	Ursidae
Prairie vole	<i>Microtus ochrogaster</i>	Rodentia	Cricetidae
Rabbit	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Lagomorpha	Leporidae
Rat	<i>Rattus norvegicus</i>	Rodentia	Muridae
Red fox	<i>Vulpes vulpes</i>	Carnivora	Canidae
Rhinoceros	<i>Ceratotherium simum simum</i>	Perissodactyla	Rhinocerotidae
Ryukyu mouse	<i>Mus caroli</i>	Rodentia	Muridae
Sea Otter	<i>Enhydra lutris</i>	Carnivora	Mustelidae
Sheep	<i>Ovis aries</i>	Artiodactyla	Bovidae
Shrew	<i>Sorex araneus</i>	Soricomorpha	Soricidae
Shrew mouse	<i>Mus pahari</i>	Rodentia	Muridae
Sloth	<i>Choloepus hoffmanni</i>	Pilosa	Megalonychidae
Sooty mangabey	<i>Cercocebus atys</i>	Primates	Cercopithecidae
Squirrel	<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>	Rodentia	Sciuridae
Star-nosed Mole	<i>Condylura cristata</i>	Soricomorpha	Talpidae
Steller Sea Lion	<i>Eumetopias jubatus</i>	Carnivora	Otariidae
Sunda Flying Lemur	<i>Galeopterus variegatus</i>	Demoptera	Cynocephalidae
Sunda Pangolin	<i>Manis javanica</i>	Pholidota	Manidae
Tarsier	<i>Carlito syrichta</i>	Primates	Tarsiidae
Tasmanian devil	<i>Sarcophilus harrisii</i>	Dasyuromorphia	Dasyuridae
Tiger	<i>Panthera tigris altaica</i>	Carnivora	Felidae
Tree Shrew	<i>Tupaia belangeri</i>	Scandentia	Tupaiaidae
Vervet-AGM	<i>Chlorocebus sabaues</i>	Primates	Cercopithecidae
Wallaby	<i>Notamacropus eugenii</i>	Diprotodontia	Macropodidae
Weddell Seal	<i>Leptonychotes weddellii</i>	Carnivora	Phocidae
West Indian Manatee	<i>Trichechus manatus</i>	Sirenia	Trichechidae
White-flag Dolphin	<i>Lipotes vexillifer</i>	Cetacea	Iniidae
White-tailed deer	<i>Odocoileus virginianus</i>	Artiodactyla	Cervidae
Wild yak	<i>Bos mutus</i>	Artiodactyla	Bovidae
Wombat	<i>Vombatus ursinus</i>	Diprotodontia	Vombatidae
Yangtze River Porpoise	<i>Neophocaena asiaorientalis</i>	Cetacea	Phocoenidae
Yellow-bellied Marmot	<i>Marmota flaviventris</i>	Rodentia	Sciuridae

Πίνακας 2: Τα θηλαστικά που καταγράφηκαν και τα ταξινομικά τους δεδομένα. Στην πρώτη στήλη καταγράφονται οι κοινές ονομασίες των οργανισμών, ενώ στη δεύτερη οι επιστημονικές (οι ονομασίες αυτές υποδηλώνουν το γένος και το είδος του). Αναγράφονται επίσης οι ταξινομικές ομάδες της οικογένειας και της τάξης που ανήκει κάθε οργανισμός. Η κλάση, το φύλο και το βασίλειο είναι κοινά για όλα τα παραπάνω είδη (Mammalia-Chordota-Animalia). (Orrell et al., 2018; Zerbino et al., 2018)

3.2 Κατανομή των οργανισμών

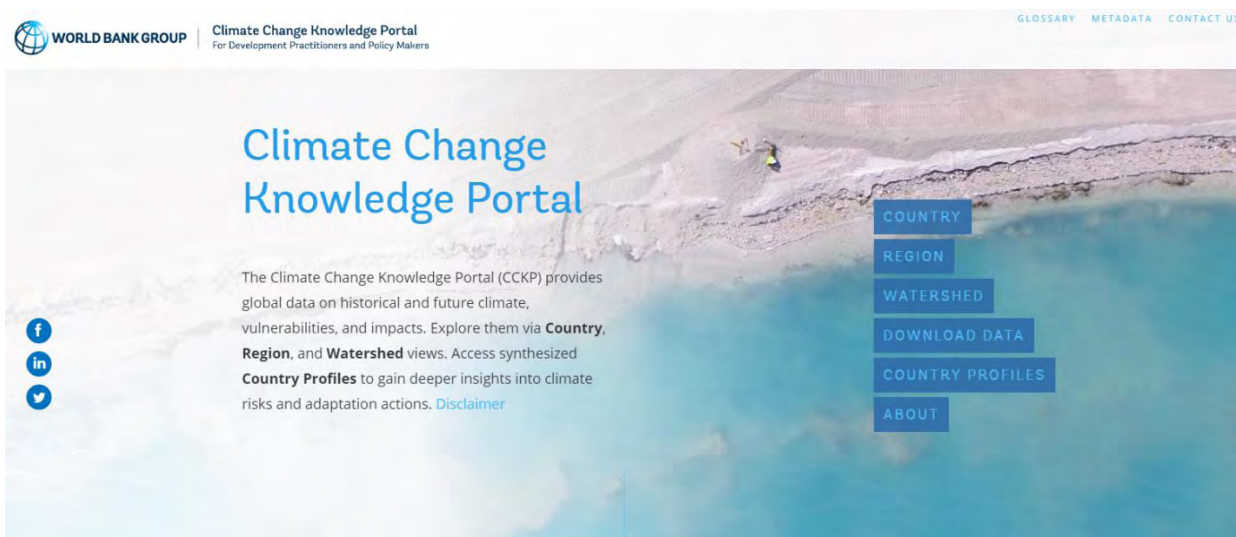
Για να είναι εφικτή η ταξινόμηση των παραπάνω θηλαστικών σε ομάδες, ανάλογα με τα θερμοκρασιακά περιβάλλοντα στα οποία επιβιώνουν, πρέπει να καταγραφεί η κατανομή τους. Στην συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων Map of Life (Jetz et al., 2012), και η επιλογή Map species που φαίνεται στην Εικόνα 8. Από εκεί (<https://mol.org/species/>) γίνεται αναζήτηση με βάση το όνομα του οργανισμού. Τα αποτελέσματα της αναζήτησης φαίνονται στον Πίνακα 3.



Εικόνα 8: Αρχική σελίδα του Map of Life (Jetz et al., 2012).

3.3 Καταγραφή θερμοκρασιακών δεδομένων

Μετά από την απόκτηση μιας πιο ολοκληρωμένης εικόνας για την κατανομή των ειδών, ακολουθεί η καταγραφή των θερμοκρασιών που παρατηρούνται στις εκάστοτε περιοχές τα τελευταία έτη. Τέτοιου είδους πληροφορίες είναι διαθέσιμες μέσω του Climate Change Knowledge Portal (<https://climateknowledgeportal.worldbank.org/>) της World Bank Group, που παρέχει παγκόσμια δεδομένα για τα κλιματολογικά στοιχεία προηγούμενων και προβλέψεις μελλοντικών ετών για την πλειονότητα των χωρών.



Εικόνα 9: Αρχική σελίδα του Climate Change Knowledge Portal (<https://climateknowledgeportal.worldbank.org/>).

Έχοντας διαθέσιμα τα δεδομένα από την προηγούμενη αναζήτηση και επιλέγοντας Download Data από την αρχική σελίδα, έγινε ανάκτηση των θερμοκρασιακών δεδομένων για τις χώρες ενδιαφέροντος για τα τελευταία 15 χρόνια. Κατόπιν, υπολογίστηκαν οι μέσες ελάχιστες και οι μέσες μέγιστες θερμοκρασίες για το σύνολο των χωρών που εμφανίζεται κάθε είδος, ώστε με βάση αυτές να είναι δυνατή η κατάταξη τους σε ομάδες (Πίνακας 3). Οι υπολογισμοί έγιναν στο Excel με τη βοήθεια της συνάρτησης AVERAGE.

Species	Distribution	Temperature	
		mean MAX	mean MIN
<i>Ursus maritimus</i>	North Pole	-1,466	-30,859
<i>Octodon degus</i>	South America	13,930	2,529
<i>Chinchilla lanigera</i>	South America	13,930	2,529
<i>Enhydra lutris</i>	Europe; Northern Asia; North America	16,193	-29,643
<i>Sorex araneus</i>	Europe	19,034	-8,951
<i>Cervus elaphus</i>	Europe	19,505	-3,618
<i>Canis lupus dingo</i>	Australia; Southern Asia	19,676	10,484
<i>Erinaceus europaeus</i>	Europe	20,360	-2,115
<i>Rhinolophus sinicus</i>	Southern Asia	20,501	-4,298
<i>Marmota marmota</i>	Europe; Northern & Southern Asia	20,566	-4,274
<i>Cricetulus griseus</i>	Europe; Northern & Southern Asia	20,646	-18,045
<i>Cricetulus griseus</i>	Europe; Northern & Southern Asia	20,646	-18,045
<i>Meriones unguiculatus</i>	Europe; Northern & Southern Asia	20,646	-18,045
<i>Rhinopithecus bieti</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Bos mutus</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Camelus ferus</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Lipotes vexillifer</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Myotis davidii</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Pantheropsis hodgsonii</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Pan troglodytes</i>	Africa	20,702	6,568
<i>Microtus ochrogaster</i>	North America	20,954	-21,198
<i>Castor canadensis</i>	Europe; Northern Asia; America	21,298	-10,723
<i>Ochotona princeps</i>	North America	21,375	-6,847
<i>Aotus nancymae</i>	South America	21,758	17,567
<i>Neophocaena asiatica</i>	Southern Asia	23,149	-9,240
<i>Bison bison</i>	Middle & North America	23,335	3,278
<i>Eptesicus fuscus</i>	Middle & North America	23,335	3,278
<i>Mus musculus domesticus</i>	Europe; Northern Asia	23,822	3,160
<i>Zalophus californianus</i>	Middle & North America	24,068	-6,639
<i>Dipodomys ordii</i>	Middle & North America	24,068	3,593
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	South America	24,392	18,804
<i>Bos taurus</i>	Africa; Australia; Caribbean; Europe; Northern & Southern Asia; America; Oceania	24,420	10,030
<i>Mustela putorius furo</i>	Southern Europe	24,465	13,049

<i>Peromyscus maniculatus bairdii</i>	North America	24,477	-6,639
<i>Marmota flaviventris</i>	North America	24,477	-6,639
<i>Loxodonta africana</i>	Africa	24,651	9,623
<i>Chrysochloris asiatica</i>	Africa	24,856	9,623
<i>Elephantulus edwardii</i>	Southern Africa	24,856	9,623
<i>Orycteropus afer</i>	Africa	24,856	9,623
<i>Condylura cristata</i>	North America	25,294	-27,103
<i>Odocoileus virginianus</i>	Europe; Northern Asia; America	25,457	16,564
<i>Propithecus coquereli</i>	Africa	25,644	18,295
<i>Echinops telfairi</i>	Africa	25,644	18,295
<i>Microcebus murinus</i>	Africa	25,644	18,295
<i>Ptilocolobus tephrosceles</i>	Africa	25,800	20,782
<i>Choloepus hoffmanni</i>	Middle & South America	25,949	22,172
<i>Cavia aperea</i>	South America	26,000	16,785
<i>Theropithecus gelada</i>	Africa	26,423	20,017
<i>Vicugna pacos</i>	South America	26,437	15,500
<i>Pteropus alecto</i>	Australia; Southern Asia	26,439	20,781
<i>Dasypus novemcinctus</i>	Caribbean; America	26,622	14,226
<i>Monodelphis domestica</i>	South America	26,741	17,917
<i>Pan paniscus</i>	Africa	26,827	22,454
<i>Cebus capucinus imitator</i>	South America	26,956	22,887
<i>Trichechus manatus</i>	America	27,105	20,572
<i>Galeopterus variegatus</i>	Southern Asia	27,182	23,610
<i>Macaca mulatta</i>	Southern Asia	27,220	10,495
<i>Fukomys damarensis</i>	Africa	27,260	13,437
<i>Callithrix jacchus</i>	South America	27,348	22,750
<i>Otolemur gametii</i>	Africa	27,511	22,383
<i>Mus musculus castaneus</i>	Southern Asia	27,590	23,659
<i>Carlito syrichta</i>	Southern Asia	27,590	23,659
<i>Ceratotherium simum simum</i>	Africa	27,614	16,771
<i>Colobus angolensis palliatus</i>	Africa	27,629	14,901
<i>Panthera pardus</i>	Africa; Europe; Northern & Southern Asia	27,710	17,731
<i>Heterocephalus glaber</i>	Africa	27,717	22,358
<i>Heterocephalus glaber</i>	Africa	27,717	22,358
<i>Nomascus leucogenys</i>	Southern Asia	27,806	17,401
<i>Mus spretus</i>	North Africa; South-west Europe	27,838	10,834

<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>	North America	27,892	-2,934
<i>Ursus Americanus</i>	Middle & North America	27,892	-2,934
<i>Myotis lucifugus</i>	Middle & North America	27,892	-2,934
<i>Mandrillus leucophaeus</i>	Africa	27,957	22,952
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Africa	28,072	22,824
<i>Panthera tigris altaica</i>	Northern Asia	28,237	18,270
<i>Macaca nemestrina</i>	Southern Asia	28,435	25,891
<i>Macaca fascicularis</i>	Southern Asia	28,453	24,239
<i>Pteropus vampyrus</i>	Southern Asia	28,496	24,607
<i>Manis javanica</i>	Southern Asia	28,591	20,788
<i>Mus pahari</i>	Southern Asia	28,759	18,511
<i>Tupaia belangeri</i>	Northern Asia	29,047	18,965
<i>Tupaia belangeri</i>	Southern Asia	29,393	21,237
<i>Mus caroli</i>	Southern Asia	29,429	26,337
<i>Phascolarctos cinereus</i>	Australia	29,476	13,404
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Australia	29,476	13,404
<i>Sarcophilus harrisii</i>	Australia	29,476	13,404
<i>Notamacropus eugenii</i>	Australia	29,476	13,404
<i>Vombatus ursinus</i>	Australia	29,476	13,404
<i>Cercocebus atys</i>	Africa	29,500	23,813
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	Africa	30,946	23,955
<i>Mesocricetus auratus</i>	Europe; Northern Asia	31,500	3,184
<i>Papio anubis</i>	Africa	31,571	19,451
<i>Procavia capensis</i>	Africa	32,018	15,651
<i>Jaculus jaculus</i>	Africa; Europe; Northern Asia	32,705	14,006
<i>Felis catus</i>	*	-	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	*	-	-
<i>Equus asinus asinus</i>	*	-	-
<i>Capra hircus</i>	*	-	-
<i>Cavia porcellus</i>	*	-	-
<i>Equus caballus</i>	*	-	-
<i>Homo sapiens</i>	*	-	-
<i>Sus scrofa</i>	*	-	-
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	*	-	-
<i>Rattus norvegicus</i>	*	-	-
<i>Vulpes vulpes</i>	*	-	-
<i>Ovis aries</i>	*	-	-

Πίνακας 3: Ευρύτερη κατανομή των οργανισμών που μελετήθηκαν. Στην πρώτη στήλη καταγράφονται τα κοινά ονόματα των οργανισμών, ενώ στη δεύτερη οι περιοχές στις οποίες συναντώνται. Οι μέσες μέγιστες και ελάχιστες θερμοκρασίες καταγράφονται στην τρίτη στήλη και προέκυψαν από τις συγκεκριμένες χώρες στις οποίες εμφανίζονται τα εκάστοτε είδη. Η ταξινόμηση έγινε με βάση τις μέσες μέγιστες θερμοκρασίες, από τη μικρότερη στη μεγαλύτερη. Τα είδη που έχουν * στην δεύτερη στήλη έχουν πολύ ευρεία κατανομή, οπότε δεν έγινε υπολογισμός του θερμοκρασιακού εύρους. Τα είδη που είναι προσαρμοσμένα σε περιοχές με μέση μέγιστη θερμοκρασία κάτω από 25°C διαχωρίζονται από αυτά που είναι προσαρμοσμένα σε μεγαλύτερες με διακεκομμένη γραμμή. Στο εξής, η ομάδα 1 θα αναφέρεται ως «Ψυχρή ομάδα» και η ομάδα 2 ως «Θερμή ομάδα» (Jetz et al., 2012).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Καταγραφή

Οι αλληλουχίες κάθε γονιδίου, όπως και των γονιδίων HSP70 κάθε οργανισμού, και αυτές των αντίστοιχων πρωτεϊνών, χαρακτηρίζονται από κάποιους κωδικούς-ταυτότητες στη βάση της Ensembl. Για να βρεθούν αυτές οι ταυτότητες, ώστε κατόπιν να αναζητηθούν στα αρχεία που περιέχουν τις πλήρεις πρωτεϊνικές αλληλουχίες κάθε είδους, γίνεται χρήση του εργαλείου BioMart (Smedley et al., 2015) της Ensembl. Η BioMart επιτρέπει την εύκολη εξαγωγή δεδομένων διαδικτυακά, χωρίς να χρειάζονται γνώσεις προγραμματισμού. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη εμφανίζονται στην Εικόνα 8.

The screenshot shows the Ensembl BioMart query interface. The main content area is titled "Please restrict your query using criteria below" and contains several filter sections. The "GENE" section is expanded, showing the "Input external references ID list" filter selected. The "HGNC ID(s) [e.g. HGNC:100]" dropdown menu is open, displaying "HGNC:5232". The "Limit to genes (external references)..." dropdown is set to "With CCDS ID(s)". The "Input microarray probes/probesets ID list" filter is also selected, with the "AFFY HC G110 probe ID(s) [e.g. 475_at]" dropdown menu open. The "Attributes" section is expanded to "Homologues", and the "Gene stable ID & Protein Stable ID" attribute is selected. The "Dataset" section is set to "[None Selected]".

Εικόνα 10: Η σελίδα της BioMart και οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν.

[Database: Ensembl Genes 96,

Dataset: Human genes (GRCh38.p12),

Filters → Gene → Input external references ID list: HGNC ID(s),

Attributes → Homologues → Gene → Gene stable ID & Protein Stable ID,

Attributes → Homologues → Orthologues → Species Gene stable ID & Protein stable ID].

Στην BioMart υπάρχει όριο αναζήτησης για μέχρι 6 είδη ανά αναζήτηση. Τα αποτελέσματα έχουν την παρακάτω μορφή (Εικόνα 9).

Export all results to Unique results only

Email notification to

View rows as Unique results only

Gene stable ID	Protein stable ID	Algerian mouse gene stable ID	Algerian mouse protein or transcript stable ID
ENSG00000235941	ENSP00000404524		
ENSG00000235941	ENSP00000415927		
ENSG00000234475	ENSP00000408907		
ENSG00000234475	ENSP00000393259		
ENSG00000237724	ENSP00000406359		
ENSG00000237724	ENSP00000410693		
ENSG00000215328	ENSP00000382915		
ENSG00000215328	ENSP00000372880		
ENSG00000204389	ENSP00000364802	MGP_SPRETEIJ_G0022391	MGP_SPRETEIJ_P0046258
ENSG00000204389	ENSP00000364802	MGP_SPRETEIJ_G0022392	MGP_SPRETEIJ_P0046259

Εικόνα 11: Αποτελέσματα αναζήτησης στην BioMart. Οι πρώτες 2 στήλες αφορούν IDs ανθρώπινων γονιδίων και των αντίστοιχων πρωτεϊνών.

Όλες οι πληροφορίες που ανακτήθηκαν καταγράφηκαν ώστε να χρησιμοποιηθούν στη συνέχεια.

4.2 Αναζήτηση αλληλουχιών HSP70

Για την ευκολότερη αναζήτηση των IDs από τα αρχεία που περιέχουν τις πλήρεις αμινοξικές αλληλουχίες, που έχουν μεγάλο μέγεθος και τεράστιο όγκο πληροφορίας, η καλύτερη λύση είναι η εργασία σε κάποιο τερματικό και η χρήση κάποιας γραμμής εντολών. Με τον τρόπο αυτό είναι εφικτή η επεξεργασία όλων των αρχείων δίνοντας μόνο μία εντολή, οπότε και μειώνεται σε μεγάλο βαθμό η διάρκεια και η δυσκολία της έρευνας. Οι εντολές που ακολουθούν δόθηκαν στο τερματικό του λειτουργικού συστήματος Linux.

Αφού ανακτήθηκαν οι αλληλουχίες από την βάση της Ensembl, τοποθετήθηκαν όλες σε ένα αρχείο ώστε να είναι ευκολότερη η μετέπειτα αναζήτηση. Η εντολή για την ενέργεια αυτή είναι:

```
for *f in ./; do cat $f > ./file_a; done
```

που ορίζει για κάθε αρχείο (*f) στον φάκελο που βρισκόμαστε, να αντιγραφούν τα περιεχόμενα των αρχείων σε ένα νέο αρχείο file_a.

Οι χαρακτηριστικοί κωδικοί για τις αμινοξικές αλληλουχίες προς σύγκριση καταγράφηκαν σε ξεχωριστά αρχεία για κάθε μέλος της οικογένειας των HSP70, και τοποθετήθηκαν σε φάκελο μαζί με το αρχείο file_a. Για να απομονωθούν από το αρχείο με όλες τις αλληλουχίες, που δημιουργήθηκε πριν, δόθηκε στο τερματικό η εντολή:

```
for *f in ./; do grep -A -1 -f -F file_1 file_a > ./file_i; done
```

που ορίζει για κάθε αρχείο (*f) στον φάκελο που βρισκόμαστε, να γίνει επιλογή των σειρών που περιέχουν τους κωδικούς που βρίσκονται στο αρχείο file_1 από το αρχείο file_a και να τοποθετηθούν στον ίδιο φάκελο στο αρχείο file_i.

Πλέον οι αμινοξικές αλληλουχίες κάθε μέλους της οικογένειας HSP70 για όλα τα θηλαστικά ήταν συγκεντρωμένες και επομένως η σύγκριση τους ήταν εφικτή.

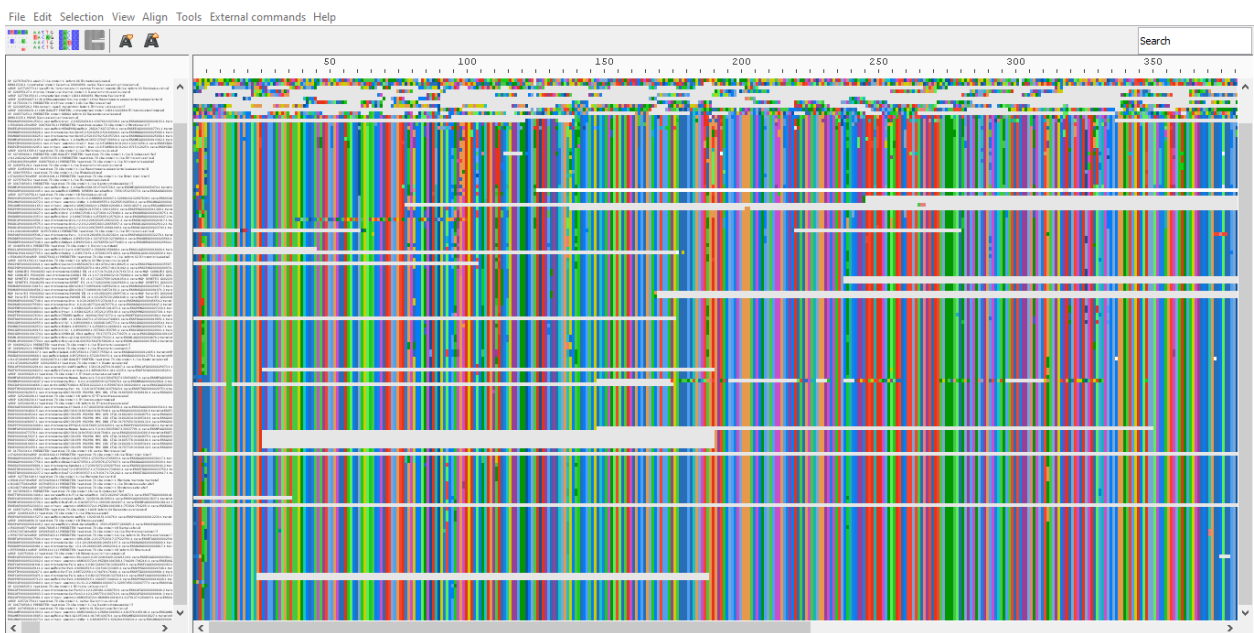
4.3 Στοιχίση αλληλουχιών

Για να συγκριθούν 2 ή περισσότερες αλληλουχίες μεταξύ τους, ένα αναγκαίο αρχικό βήμα είναι η στοιχίση (ή *alignment*) των αλληλουχιών αυτών. Προηγουμένως, είχαν συγκεντρωθεί οι αλληλουχίες όλων των θηλαστικών για κάθε μέλος της οικογένειας των HSP70, σε ξεχωριστά αρχεία. Εισάγοντας ένα αρχείο στο Aliview και επιλέγοντας Realign Everything, το πρόγραμμα ξεκίνησε να στοιχίζει τις αντίστοιχες αλληλουχίες. Η διαδικασία επαναλήφθηκε για κάθε αμινοξική αλληλουχία όλων των μελών της οικογένειας HSP70. Μετά τη στοιχίση, οι αλληλουχίες εμφανίζονται όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 12.



Εικόνα 12: Στοίχιση αμινοξικών αλληλουχιών των πρωτεϊνών HSPA1A των θηλαστικών στο πρόγραμμα Aliview.

Κατά τη στοίχιση το πρόγραμμα προσθέτει κάποια κενά, ώστε να καταλήξει στην καλύτερη δυνατή αντιστοιχία. Αφού έγινε έλεγχος, αφαιρέθηκαν περιοχές με μεγάλα κενά, ώστε να καταλήξουμε σε μια ακριβέστερη στοίχιση.



Εικόνα 13: Στοίχιση αμινοξικών αλληλουχιών των πρωτεϊνών HSPA1A των θηλαστικών στο πρόγραμμα Aliview, αφού έχουν σβηστεί τα κενά.

Οι στοιχισμένες πλέον αλληλουχίες από το Aliview γίνεται να αποθηκευτούν σε διάφορες μορφές, ώστε να επεξεργαστούν περαιτέρω.

4.4 Υπολογισμοί

Η σύγκριση έγινε μεταξύ των αμινοξικών αλληλουχιών των 2 ομάδων οργανισμών, ώστε κατόπιν να γίνει και συσχέτιση με την λειτουργία της πρωτεΐνης στα αντίστοιχα σημεία. Για να γίνει αυτό εφαρμόστηκε δίπλευρος στατιστικός έλεγχος. Ο δίπλευρος έλεγχος επιτρέπει την σύγκριση δύο αναλογιών με σκοπό να διαπιστωθεί αν είναι ίδιες. Στην περίπτωση μας, συγκρίνονται οι αναλογίες συγκεκριμένων αμινοξέων σε μια συγκεκριμένη θέση μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών. Η μηδενική (null) υπόθεση είναι ότι οι αναλογίες είναι ίδιες, ενώ η εναλλακτική (alternate) είναι πως διαφέρουν. Για να βρεθούν οι θέσεις στις οποίες υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των αντίστοιχων αμινοξέων, έγιναν οι εξής υπολογισμοί:

- Υπολογισμός τυπικού σφάλματος με τον τύπο:
 $SE = \sqrt{p * (1 - p) * [(1/n_1) + (1/n_2)]}$, [Τύπος 1] όπου
SE = Standard Error (Τυπικό Σφάλμα),
 $p = (p_1 * n_1 + p_2 * n_2) / (n_1 + n_2)$ [Τύπος 2],
 p_1 = πιθανότητα εμφάνισης αμινοξέος σε συγκεκριμένη θέση στην ομάδα 1,
 n_1 = αριθμός οργανισμών ομάδας 1,
 p_2 = πιθανότητα εμφάνισης αμινοξέος σε συγκεκριμένη θέση στην ομάδα 2,
 n_2 = αριθμός οργανισμών ομάδας 2.
- Υπολογισμός z-score με τον τύπο:
 $z = (p_1 - p_2) / SE$ [Τύπος 3]
- Υπολογισμός p-value με τη συνάρτηση:
 $=2 * \text{NORMDIST}(\text{CELL_NUMBER}; 0; 1; \text{TRUE})$.

Από τις τιμές p-value που προέκυψαν, σημειώθηκαν αυτές που είχαν τιμή <0.05. Αυτό σημαίνει ότι η διαφορά της εμφάνισης του συγκεκριμένου αμινοξέος στην συγκεκριμένη θέση μεταξύ των 2 ομάδων οργανισμών είναι στατιστικά σημαντική, οπότε και καταγράφεται.

Για να ολοκληρωθεί η σύγκριση, μετρήθηκε για κάθε πρωτεΐνη της οικογένειας ο αριθμός των θέσεων που διέφεραν σημαντικά, σε σχέση με τον συνολικό αριθμό της

αμινοξικής αλληλουχίας που διατηρήθηκε μετά τη στοίχιση. Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον Πίνακα 4.

Πρωτεΐνη	Μήκος αλληλουχίας μετά τη στοίχιση (aa)	Θέσεις με στατιστικά σημαντική διαφορά	Ποσοστό διαφοράς μεταξύ των ομάδων
HspA1A	641	52	8%
HspA1B	641	38	6%
HspA1L	641	8	1%
HspA2	600	4	1%
HspA4	840	22	3%
HspA4L	840	135	16%
HspA5	654	66	10%
HspA6	642	91	14%
HspA8	646	18	3%
HspA9	680	485	71%
HspA12A	674	357	53%
HspA12B	686	60	9%
HspA13	471	269	57%
HspA14	509	138	27%

Πίνακας 4: Ποσοστό στατιστικά σημαντικών διαφορών των πρωτεϊνών της οικογένειας HSP70 μεταξύ των οργανισμών της ψυχρής και της θερμής ομάδας.

4.5 Δομική συσχέτιση

Σε επόμενο βήμα κρίθηκε σημαντικό να γίνει συσχέτιση των αλληλουχιών που συγκεντρώθηκαν και αναλύθηκαν με τη δομή της πρωτεΐνης στα αντίστοιχα σημεία. Οι δομικές πληροφορίες ανακτήθηκαν από την βάση δεδομένων της UniProt (Bateman, 2019), και αφορούν την δομή των αντίστοιχων πρωτεϊνών στον άνθρωπο.

4.5.1 HspA1A

Η HspA1A είναι μια πρωτεΐνη μήκους 641 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 70,052 Da. Οι θέσεις 2-386 αντιστοιχούν στην περιοχή NBD, ενώ η περιοχή SBD καταλαμβάνει τις θέσεις 394-509. Το αμινοξύ 71 είναι σημαντικό για την δέσμευση του ATP, όπως και οι περιοχές 12-15, 202-204, 268-275 και 339-342. Έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις στις θέσεις 10 και 77 σχετίζονται με μειωμένη δραστικότητα ATPάσης. Η πρωτεΐνη επίσης τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση, ακετυλίωση και μεθυλίωση. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών HspA1A μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών οι θέσεις που αναφέρθηκαν δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

4.5.2 HspA1B

Η HspA1B εμφανίζει τα ίδια στοιχεία με την HSPA1A. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

4.5.3 HspA1L

Η HspA1L είναι μια πρωτεΐνη μήκους 641 αμινοξέων, με μοριακό βάρος 70,375 Da. Η περιοχή SBD καταλαμβάνει τις θέσεις 3-388, ενώ η SBD τις 396-511. Το ATP προσδέεται στη θέση 73, καθώς και τις περιοχές 14-17, 204-206, 270-277 και 341-344. Τα κατάλοιπα αυτά δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ της ψυχρής και της θερμής ομάδας.

4.5.4 HspA2

Η HspA2 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 639 αμινοξέων και μοριακού βάρους 70,021 Da. Η NBD βρίσκεται στις θέσεις 2-389, ενώ η SBD στις 397-512. Η θέση πρόσδεσης του ATP είναι η θέση 72, όπως και οι περιοχές 13-16, 205-207, 271-278 και 342-345.

Κατά την ανάλυση δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των αλληλουχιών των δύο ομάδων στις θέσεις αυτές.

4.5.5 HspA4

Η HspA4 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 840 αμινοξέων και μοριακού βάρους 94,331 Da. Έχουν αναγνωρισθεί μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις σε διάφορα κατάλοιπα. Η ανάλυση δείχνει ότι η πρωτεΐνη δε διαφέρει μεταξύ των ομάδων που μελετήθηκαν.

4.5.6 HspA4L

Η πρωτεΐνη HspA4L έχει μήκος 838 αμινοξέα και μοριακό βάρος 94,382 Da. Ως μοριακός συνοδός αποτρέπει τη συσσωμάτωση της συνθάσης του κιτρικού. Οι τροποποιήσεις που δέχεται μετα-μεταφραστικά περιλαμβάνουν φωσφορυλιώσεις.

4.5.7 HspA5

Η HspA5 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 654 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 72,333 Da. Είναι πιο γνωστή ως η μοριακή συνοδός του ενδοπλασματικού δικτύου BiP (Binding-immunoglobulin protein). Είναι μία από τις συνεχώς εκφραζόμενες πρωτεΐνες της οικογένειας. Οι θέσεις 125-280 αντιστοιχούν στην περιοχή NBD, ενώ η περιοχή SBD καταλαμβάνει τις θέσεις 420-500. Το αμινοξύ 96 είναι σημαντικό για την δέσμευση του ATP, όπως και οι περιοχές 36-39, 227-229, 293-300 και 364-367. Έχει βρεθεί ότι μετάλλαξη στη θέση 229 σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα ATPάσης. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών HspA5 μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών οι θέσεις αυτές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

4.5.8 HspA6

Η HspA6 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 643 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 71,028 Da. Οι θέσεις 3-388 αντιστοιχούν στην περιοχή NBD, ενώ η περιοχή SBD καταλαμβάνει τις θέσεις 396-511. Το αμινοξύ 73 είναι σημαντικό για την δέσμευση του ATP, όπως και οι περιοχές 14-17, 204-206, 270-277 και 341-344. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών HspA6 μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών οι θέσεις αυτές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

4.5.9 HspA8

Η HspA8 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 646 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 70,898 Da. Αλλιώς ονομάζεται Hsc70 (Heat shock cognate 70), και είναι συνεχώς εκφραζόμενη

στο κυτταρόπλασμα. Οι θέσεις 2-386 αντιστοιχούν στην περιοχή NBD, ενώ η περιοχή SBD καταλαμβάνει τις θέσεις 394-509. Το αμινοξύ 71 είναι σημαντικό για την δέσμευση του ATP, όπως και οι περιοχές 12-15, 202-204, 268-275 και 339-342. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών HspA1A μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών οι θέσεις αυτές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

4.5.10 HspA9

Η HspA9 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 679 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 73,680 Da. Η HspA9 είναι η πρωτεΐνη της οικογένειας των HSP70 που διαφέρει σε μεγαλύτερο βαθμό μεταξύ των 2 ομάδων θηλαστικών που μελετήθηκαν. Ως μοριακή συνοδός παίζει σημαντικό ρόλο στην βιοσύνθεση συμπλόκων σιδήρου-θείου, που παίζουν ρόλο στην οξειδωτική φωσφορυλίωση (Broderick, 2003). Ο κύριος ρόλος της είναι η σταθεροποίηση πρωτεϊνών που συναρμολογούν το σύμπλοκο, και με τον τρόπο αυτό συμμετέχει έμμεσα στη διαδικασία της αιμοποίησης (Shan & Cortopassi, 2016). Ονομάζεται αλλιώς μορταλίνη (Mortalin) ή Gro75, και εδράζεται στα μιτοχόνδρια.

4.5.11 HspA12A

Η HspA12A είναι μια πρωτεΐνη μήκους 675 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 74,978 Da. Διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ομάδων οργανισμών που μελετήθηκαν. Αποτελεί πρωτεΐνη προσαρμογής για τον υποδοχέα SORL1, που ελέγχει την εσωτερίκευση και τον υποκυτταρικό εντοπισμό πολλών και διαφορετικών προσδετών (Madsen et al., 2019).

4.5.12 HspA12B

Η HspA12B είναι μια πρωτεΐνη μήκους 686 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 75,688 Da. Τροποποιείται μετα-μεταφραστικά μέσω φωσφορυλίωσης σε διάφορες θέσεις και φαίνεται να μην διαφέρει ιδιαίτερα μεταξύ των οργανισμών των δύο ομάδων.

4.5.13 HspA13

Η HspA13 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 471 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 51,927 Da. Εδράζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Διαφέρει σημαντικά μεταξύ της θερμής και της ψυχρής ομάδας, σύμφωνα με την ανάλυση.

4.5.14 HspA14

Η HspA14 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 509 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 54,794 Da. Αποτελεί μέλος του συμπλόκου RAC (Ribosome Associated Complex), που βοηθά στην αναδίπλωση νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών. Είναι από τα μέλη της οικογένειας HSP70 που διαφέρουν περισσότερο μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το κλίμα είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επηρεάζουν όλα τα είδη ζωής στον πλανήτη. Η κλιματική αλλαγή οδηγεί σε μεταβολές στη θερμοκρασία, τα επίπεδα βροχόπτωσης και τη συγκέντρωση των αερίων του θερμοκηπίου. Διάφορα είδη περιβαλλοντικού στρες που δημιουργούνται ως αποτέλεσμα των παραπάνω έχουν αρνητική επίδραση στην παραγωγικότητα, την αναπαραγωγική επιτυχία και την υγεία των οργανισμών, οι οποίοι ανακατανέμονται ώστε να αποφύγουν τις δραματικές συνέπειες της παρατεταμένης παραμονής σε περιοχές όπου δεν είναι πλέον εξοικειωμένοι. Η ανακατανομή της ζωής στον πλανήτη είναι μια από τις σημαντικότερες βιολογικές απαντήσεις στην ανθρωπογενή υπερθέρμανση του πλανήτη, χωρίς ακόμα να είναι πλήρως κατανοητό το πώς η θερμοκρασία δημιουργεί αυτά τα γεωγραφικά σύνορα κατανομής για κάθε οργανισμό (Sunday et al., 2012).

Η απάντηση των οργανισμών στις αλλαγές με τις οποίες έρχεται αντιμέτωπος, οι οποίες του δημιουργούν στρες, είναι η ενεργοποίηση διεργασιών για τη διατήρηση της ομοιόστασης. Το στρες δεν είναι απαραίτητα μια αρνητική αντίδραση. Αντιθέτως, βοηθάει τον οργανισμό να ανταπεξέλθει στις αλλαγές που συμβαίνουν στο περιβάλλον του, με τρόπο ώστε να εξασφαλίσει όσο καλύτερα γίνεται την επιβίωσή του. Ίδανικά βέβαια, αφού οι διεργασίες που εκτελούνται κατά την επίδραση ενός στρεσογόνου ερεθίσματος είναι ενεργοβόρες, θα πρέπει να γίνεται έλεγχος της διάρκειάς του ώστε να διατηρούνται οι ισορροπίες. Κατά τη βιοσύνθεση και τη λειτουργία των μοριακών συνοδών, απαιτείται μείωση των μεταβολικών, αναπτυξιακών και αναπαραγωγικών ρυθμών ώστε να υπάρχει επαρκής ενεργειακή κάλυψη. Για τον λόγο αυτό για κάθε οργανισμό υπάρχει μια ουδός ενεργοποίησης της HSR, δηλαδή μια ανώτατη ανεκτή θερμοκρασία, που αν ξεπεραστεί ξεκινά η έκφραση των HSP (Archana et al., 2017).

Η δημιουργία μοντέλων ανακατανομής οργανισμών που στηρίζεται σε κλιματολογικές συνθήκες θα αποτελούσε ένα χρήσιμο εργαλείο πρόβλεψης εισβολών μεγάλης κλίμακας, εξάλειψης πληθυσμών και απώλειας κρίσιμων λειτουργιών των οικοσυστημάτων, των οποίων η ισορροπία διαταράσσεται όταν αλλάζει η σύστασή τους (Sunday et al., 2012). Ένα τέτοιο μοντέλο βέβαια είναι δύσκολο να δημιουργηθεί, καθώς τα είδη μπορεί να είναι ικανά να ανταπεξέλθουν σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες από αυτές που εκτίθενται, ή να αποφεύγουν συμπεριφορικά τις ακραίες θερμοκρασίες του

περιβάλλοντός τους. Σε ένα φυσικό περιβάλλον, οι οργανισμοί δέχονται πληθώρα ερεθισμάτων (στρεσογόνων και μη) για την αντιμετώπιση των οποίων χρειάζεται η ενεργοποίηση περισσότερων από ένα συστημάτων. Επίσης, η θερμοκρασία δεν είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την απόκριση στο θερμικό στρες. Έχει αποδειχθεί, για παράδειγμα, ότι τα επίπεδα των HSP70 σχετίζονται και με το πόσο ομομεικτικός είναι ένας πληθυσμός (Franke & Fischer, 2015). Η πλειονότητα τέτοιων πληθυσμών, παράλληλα, αφορά είδη που εδράζονται σε τροπικά περιβάλλοντα καθώς περιορίζονται σε ορισμένη γεωγραφικά έκταση, με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι πιθανότητες ομομιξίας (Bechsgaard et al., 2013). Εκτός αυτών, το θερμικό σοκ έχει αποτελέσματα πέρα από την αποδιοργάνωση των πρωτεϊνικών συστημάτων των οργανισμών και τη δραστηριοποίηση των μοριακών συνοδών. Μελέτες έδειξαν ότι η υπερθερμία μπορεί να προκαλέσει διπλά σπασίματα στο DNA, με άλλα μονοπάτια να εμπλέκονται στην διόρθωσή τους (Nakagawa et al., 2018). Έτσι, το εύρος ανοχής στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος για κάθε οργανισμό είναι θολό, καθώς επίσης και το σύνολο των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα κατά την HSR ευρύ, με αποτέλεσμα ο τομέας αυτός να απαιτεί εκτεταμένη μελέτη.

Από οικονομικής άποψης, μια τέτοια έρευνα θα ήταν επωφελής για τον κτηνοτροφικό τομέα, που εκτίθεται σε μεγάλο βαθμό στις κλιματολογικές αλλαγές. Παρόλο που τα εγχώρια θηλαστικά κάθε περιοχής έχουν μεγαλύτερη προσαρμοστικότητα στο εκάστοτε περιβαλλοντικό στρες, σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν μειωμένη μέση παραγωγικότητα, οπότε το συμφέρον μπορεί να υποδεικνύει ότι πρέπει να εισαχθούν οργανισμοί από άλλες περιοχές. Επομένως, μελέτες εντοπισμού γονιδίων με θερμοπροστατευτική δράση μπορεί να χρησιμοποιηθούν σε μεγάλη έκταση για την γενετική βελτίωση των θηλαστικών που θα αποκτήσουν προσαρμοστικές και παραγωγικές ιδιότητες (Archana et al., 2017). Οι HSP70 συγκεκριμένα, που έχουν χαρακτηριστεί ως βιοδείκτες του στρες (Archana et al., 2017; Sejian et al., 2018) θα ήταν καλός στόχος για μια τέτοια εφαρμογή.

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των πρωτεϊνικών αλληλουχιών μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών, έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες της οικογένειας HSP70 που διαφέρουν αισθητά είναι οι HspA9, HspA12A, και HspA13. Μελετώντας τη δομή και τις λειτουργίες

αυτών των τριών μελών φαίνεται πως δρουν πιο εξειδικευμένα σε σχέση με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες της ίδιας οικογένειας, που η δράση τους ως μοριακοί συνοδοί είναι πιο ευρεία. Παράλληλα, το δίκτυο άμεσων και έμμεσων αλληλεπιδράσεων των πρωτεϊνών θερμικού σοκ είναι πολύ ευρύ και δυναμικό (στη ζύμη, αποτελείται από 64 μοριακούς συνοδούς και 2.691 άλλες πρωτεΐνες) (M. Gyurko et al., 2014). Επομένως, είναι αναγκαίο να μελετηθεί περαιτέρω η δομή και η λειτουργία τους, όπως και οι αλληλεπιδράσεις τους με άλλες πρωτεΐνες, με σκοπό να βρεθούν στοιχεία που μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην προσαρμογή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Archana, P. R., Prathap, P., Joy, A., & Vidya, M. K. (2017). Role of Heat Shock Proteins in Livestock Adaptation to Heat Stress. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 5(1). <https://doi.org/10.15406/jdvar.2017.05.00127>
- Barral, J. M., Broadley, S. A., Schaffar, G., & Hartl, F. U. (2004). Roles of molecular chaperones in protein misfolding diseases. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 15(1), 17–29. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2003.12.010>
- Bateman, A. (2019). UniProt: A worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D506–D515. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>
- Bechsgaard, J. S., Hoffmann, A. A., Sgró, C., Loeschcke, V., Bilde, T., & Kristensen, T. N. (2013). A Comparison of Inbreeding Depression in Tropical and Widespread *Drosophila* Species. *PLoS ONE*, 8(2), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051176>
- Beere, H. M. (2004). 'The stress of dying': the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *Journal of Cell Science*, 117(13), 2641–2651. <https://doi.org/10.1242/jcs.01284>
- Bertelsen, E. B., Chang, L., Gestwicki, J. E., & Zuiderweg, E. R. P. (2009). Solution conformation of wild-type *E. coli* Hsp70 (DnaK) chaperone complexed with ADP and substrate. 106(21).
- Broderick, J. B. (2003). Learn more about Iron-Sulfur Clusters. *Comprehensive Coordination Chemistry II*.
- Catalogue of Life - 2019 Annual Checklist : Search all names. (n.d.). Retrieved from <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/>
- Cloutier, P., & Coulombe, B. (2013). Regulation of molecular chaperones through post-translational modifications: Decrypting the chaperone code. 1829(5), 443–454. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2013.02.010>.Regulation
- Collier, R. J. (2012). Preface. In *Genes Involved in the Thermal Tolerance of Livestock*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-29205-7>
- Dundjerski, J., Trajkovic, D., & Matic, G. (1999). THE LEVEL AND PHOSPHORYLATION OF HSP70 IN THE RAT LIVER CYTOSOL AFTER ADRENALECTOMY AND HYPERTHERMIA. 23(4), 313–320.
- Ensembl genome browser 96. (n.d.). Retrieved from <https://www.ensembl.org/index.html>
- Fernández-Fernández, M. R., & Valpuesta, J. M. (2018). Hsp70 chaperone: a master player in protein homeostasis. *F1000Research*, 7(0), 1497.

<https://doi.org/10.12688/f1000research.15528.1>

- Flaherty M., K. (1990). Three-Dimensional structure of ATPase fragment of a 70K hsc protein. *Nature*. Retrieved from <https://0-www-nature-com.wam.leeds.ac.uk/articles/346623a0.pdf>
- Franke, K., & Fischer, K. (2015). Inbreeding interferes with the heat-shock response. *Heredity*, 114(1), 80–84. <https://doi.org/10.1038/hdy.2014.72>
- FTP Download | Ensembl. (n.d.). Retrieved from <https://www.ensembl.org/info/data/ftp/index.html>
- Ghazaei, C. (2017). Role and mechanism of the Hsp70 molecular chaperone machines in bacterial pathogens. *Journal of Medical Microbiology*, 66(3), 259–265. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000429>
- Gupta, M., Kumar, S., Dangi, S., & Jangir, B. (2013). Physiological, Biochemical and Molecular Responses to Thermal Stress in Goats. *International Journal of Livestock Research*, 3(2), 27. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20130502081121>
- Hartl, F. U. (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature Education*, 381(9), 571–580.
- HUGO Gene Nomenclature Committee. (n.d.). Retrieved June 19, 2019, from <https://www.genenames.org/>
- Jacob, P., Hirt, H., & Bendahmane, A. (2017). The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnology Journal*, 15(4), 405–414. <https://doi.org/10.1111/pbi.12659>
- Jetz, W., McPherson, J. M., & Guralnick, R. P. (2012). Integrating biodiversity distribution knowledge: Toward a global map of life. *Trends in Ecology and Evolution*, 27(3), 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.09.007>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Larsson, A. (2014). AliView: A fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276–3278. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- M. Gyurko, D., Soti, C., Stetak, A., & Csermely, P. (2014). System Level Mechanisms of Adaptation, Learning, Memory Formation and Evolvability: The Role of Chaperone and Other Networks. *Current Protein & Peptide Science*, 15(3), 171–188. <https://doi.org/10.2174/1389203715666140331110522>
- Madsen, P., Isaksen, T. J., Siupka, P., Tóth, A. E., Nyegaard, M., Camilla, G., & Nielsen, M. S. (2019). *HSPA12A targets the cytoplasmic domain and affects the trafficking of the Amyloid Precursor Protein receptor SorLA*. (September 2018), 1–

13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37336-6>

Mayer, M. P., & Bukau, B. (2005). Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(6), 670–684.
<https://doi.org/10.1007/s00018-004-4464-6>

Nakagawa, Y., Kajihara, A., Takahashi, A., Murata, A. S., Matsubayashi, M., Ito, S. S., ... Mori, E. (2018). BRCA2 protects mammalian cells from heat shock. *International Journal of Hyperthermia*, 34(6), 795–801.
<https://doi.org/10.1080/02656736.2017.1370558>

Orrell, T. M., Abucay, L., Information, F., Bailly, N., Kirk, P. M., & Gardens, R. B. (2018). *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life , 2018 Annual Checklist The Catalogue of Life 2018 Annual Checklist is available for search at : (May)*.

Pirkkala, L. (2002). Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *The FASEB Journal*, 15(7), 1118–1131.
<https://doi.org/10.1096/fj00-0294rev>

Radons, J. (2016). The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? *Cell Stress and Chaperones*, 21(3), 379–404. <https://doi.org/10.1007/s12192-016-0676-6>

Richter, K., Haslbeck, M., & Buchner, J. (2010). The heat shock response: life on the verge of death. *Molecular Cell*, 40(2), 253–266.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.10.006>

Ritossa, F. (1962). Shock and DNP in *Drosophila*. *Brief Reports*, 55, 571–573.
<https://doi.org/10.1007/BF02172188>

Sejian, V., Bhatta, R., Gaughan, J. B., Dunshea, F. R., & Lacetera, N. (2018). Review: Adaptation of animals to heat stress. *Animal*, 12(s2), S431–S444.
<https://doi.org/10.1017/S1751731118001945>

Shaji, S., Sejian, V., Bagath, M., Manjunathareddy, G. B., Kurien, E. K., Varma, G., & Bhatta, R. (2017). Summer season related heat and nutritional stresses on the adaptive capability of goats based on blood biochemical response and hepatic HSP70 gene expression. *Biological Rhythm Research*, 48(1), 65–83.
<https://doi.org/10.1080/09291016.2016.1232340>

Shamovsky, I., & Nudler, E. (2008). New insights into the mechanism of heat shock response activation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(6), 855–861.
<https://doi.org/10.1007/s00018-008-7458-y>

Shan, Y., & Cortopassi, G. (2016). Mitochondrial Hspa9/Mortalin regulates erythroid differentiation via iron-sulfur cluster assembly. *Mitochondrion*, 26, 94–103.
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2015.12.005>

Smedley, D., Haider, S., Durinck, S., Pandini, L., Provero, P., Allen, J., ... Kasprzyk, A. (2015). The BioMart community portal: An innovative alternative to large,

centralized data repositories. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W589–W598.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv350>

Sunday, J. M., Bates, A. E., & Dulvy, N. K. (2012). Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nature Climate Change*, 2(9), 686–690.
<https://doi.org/10.1038/nclimate1539>

Whitley, D., Goldberg, S., & Jordan, W. (1999). Heat shock proteins: A review of the molecular chaperones. *Journal of Vascular Surgery*, 29(4), 748–751.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(99\)70329-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0741-5214(99)70329-0)

Yates, B., Braschi, B., Gray, K. A., Seal, R. L., Tweedie, S., & Bruford, E. A. (2017). Genenames.org: The HGNC and VGNC resources in 2017. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D619–D625. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1033>

Zerbino, D. R., Achuthan, P., Akanni, W., Amode, M. R., Barrell, D., Bhai, J., ... Flicek, P. (2018). Ensembl 2018. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D754–D761.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1098>

Zhu, X., Zhao, X., Burkholder, W. F., Gragerov, A., Craig, M., Gottesman, M. E., ... Hendrickson, W. A. (1996). Structural Analysis of Substrate Binding by the Molecular Chaperone DnaK Published by : American Association for the Advancement of Science Structural Analysis of Substrate Binding by the Molecular Chaperone DnaK. *Science*, 272(5268), 1606–1614.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ATP: Adenosine Triphosphate

FTP: File Transfer Protocol

(k)Da: (kilo)Dalton, μονάδα μέτρησης μοριακού βάρους

HSE: Heat Shock Element

HSF(s): Heat Shock Factor(s)

HSP(s): Heat Shock Protein(s)

HSP70: Heat Shock Protein 70-kDa

HspA12A: Heat shock protein Family A (HSP70) member 12A

HspA12B: Heat shock protein Family A (HSP70) member 12B

HspA13: Heat shock protein Family A (HSP70) member 13

HspA14: Heat shock protein Family A (HSP70) member 14

HspA1A: Heat shock protein Family A (HSP70) member 1A

HspA1B: Heat shock protein Family A (HSP70) member 1B

HspA1L: Heat shock protein Family A (HSP70) member 1-Like

HspA2: Heat shock protein Family A (HSP70) member 2

HspA4: Heat shock protein Family A (HSP70) member 4

HspA4L: Heat shock protein Family A (HSP70) member 4-Like

HspA5: Heat shock protein Family A (HSP70) member 5

HspA6: Heat shock protein Family A (HSP70) member 6

HspA7: Heat shock protein Family A (HSP70) member 7

HspA8: Heat shock protein Family A (HSP70) member 8

HspA9: Heat shock protein Family A (HSP70) member 9

HSR: Heat Shock Response

NBD: Nucleotide Binding Domain

NCBI: National Center for Biotechnology Information

NEF(s): Nucleotide Exchange Factor(s)

SBD: Substrate Binding Domain

SE: Standard Error

ΤΥΠΟΙ

$$[1] SE = \sqrt{p * (1 - p) * [(1/n_1) + (1/n_2)]}$$

$$[2] p = (p_1 * n_1 + p_2 * n_2) / (n_1 + n_2)$$

$$[3] z = (p_1 - p_2) / SE$$