



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ  
ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ HSP40 ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΣΕ  
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΑ ΚΛΙΜΑΤΑ: ΤΟ  
ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΩΝ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ**

**ΘΕΟΔΟΣΙΟΥ ΕΥΔΟΚΙΑ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2020**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ HSP40 ΣΤΗΝ  
ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΑ ΚΛΙΜΑΤΑ: ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ  
ΤΩΝ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ**

-

**THE ROLE OF HSP40 PROTEIN FAMILY IN ADAPTATION TO  
TEMPERATE CLIMATES:  
THE MAMMALS' EXAMPLE**

**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
ΣΑΡΑΦΙΔΟΥ ΘΕΟΛΟΓΙΑ	Επίκουρος Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Λέξεις – Κλειδιά:** Πρωτεΐνες Θερμικής Καταπόνησης, Μοριακοί Συνοδοί, HSP40, Θερμική Καταπόνηση, Απάντηση στη Θερμική Καταπόνηση, Προσαρμογή, Θερμοανθεκτικότητα, Συγκριτική Μελέτη

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Θα ήθελα 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 κυρίως τον Θέμη Γιαννούλη για την καθοδήγησή και την βοήθειά κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης (Heat Shock Proteins) κωδικοποιούνται από υψηλά συντηρημένα γονίδια ανάμεσα στα είδη, των οποίων η έκφραση ενεργοποιείται από πλήθος στρεσογόνων παραγόντων. Η κύρια λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών είναι να δρουν ως μοριακοί συνοδοί διατηρώντας την σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και κατ' επέκταση την λειτουργικότητά τους. Το θερμικό στρες είναι ο κύριος στρεσογόνος παράγοντας που ενεργοποιεί αυτήν την απόκριση, το οποίο εκτός από λανθασμένη αναδίπλωση νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών, μπορεί να προκαλέσει βλάβες σε κυτταρικό επίπεδο που μπορεί να αποβούν ακόμη και μη αναστρέψιμες σε επίπεδο οργανισμού.

Σκοπός της εργασίας είναι να εξακριβωθεί η ύπαρξη ή όχι της σύνδεσης των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης με την προσαρμογή των ειδών. Για να γίνει αυτό, πραγματοποιήθηκε μια συγκριτική μελέτη των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης μεγέθους 40 kDa (HSP40) ανάμεσα σε δύο ομάδες θηλαστικών που είναι προσαρμοσμένα σε διαφορετικά περιβάλλοντα όσον αφορά την θερμοκρασία. Η μία ομάδα θηλαστικών προσαρμόζεται σε θερμότερα και η δεύτερη σε ψυχρότερα περιβάλλοντα και για να εξακριβωθεί η παραπάνω υπόθεση έγινε η προσπάθεια καταγραφής των διαφορών στις ακολουθίες των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα γονίδια των HSPs που μπορεί να οφείλονται στην διαφορετική προσαρμοστικότητά τους.

**Λέξεις – Κλειδιά:** Πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης, Μοριακοί Συνοδοί, HSP40, Θερμική Καταπόνηση, Απάντηση στη Θερμική Καταπόνηση, Προσαρμογή, Θερμοανθεκτικότητα, Συγκριτική Μελέτη

## ABSTRACT

Heat Shock Proteins (HSPs) are encoded by highly preserved genes among species whose expression is activated by a variety of stressors. The main function of these proteins is to act as molecular chaperones while maintaining proteins' correct folding and functionality. Thermal stress is the major stressor that triggers this response, which in addition to misfolded newly synthesized proteins, can cause serious cellular damage that can even be irreversible for an organism.

This thesis's purpose is to determine whether or not the association of heat shock proteins with species' adaptation is present. To do this, a comparative study of 40 kDa heat shock proteins (HSP40) was conducted between two groups of mammals adapted to different temperature environments. One mammal group adapts to warmer environments and the second one adapts to colder environments. In order to verify this hypothesis, an attempt was made to record differences in HSPs gene sequences that may be present due to their different adaptability.

**Key Words:** Heat Shock Proteins, Chaperones, HSP40, Heat Shock, Heat Shock Response, Adaptation, Thermotolerance, Comparative Research

## Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ .....	9
ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ HSP40 .....	11
Η ΔΟΜΗ ΤΩΝ HSP40 .....	12
ΚΥΚΛΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ HSP40 ΩΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ .....	15
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑ – ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ.....	16
ΘΕΡΜΟΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ .....	17
ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ .....	19
ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ .....	20
Ensembl.....	20
Catalogue Of Life.....	21
Map Of Life .....	21
Aliview.....	21
ΣΚΟΠΟΣ.....	22
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	23
ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ .....	24
ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ .....	28
ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ .....	28
ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ HSP40 .....	32
ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ HSP40.....	33
ΣΤΟΙΧΙΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ.....	34
ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ.....	36
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	37
ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ 2 ΟΜΑΔΩΝ .....	37
ΔΟΜΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ.....	38
DnajA1 .....	38
DnajA2 .....	39
DnajA3 .....	39
DnajA4 .....	39
DnajB1 .....	40
DnajB2 .....	40

DnajB3 .....	40
DnajB4 .....	41
DnajB5 .....	41
DnajB6 .....	41
DnajB7 .....	42
DnajB8 .....	42
DnajB9 .....	42
DnajB11 .....	42
DnajB12 .....	43
DnajB13 .....	43
DnajB14 .....	43
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	50
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ .....	55
ΤΥΠΟΙ.....	56

## Εικόνες

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ.....	10
ΕΙΚΟΝΑ 2: ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΤΥΠΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ DnaJ/Hsp40.....	14
ΕΙΚΟΝΑ 3:ΚΥΚΛΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ HSP40 / HSP70 .....	16
ΕΙΚΟΝΑ 4: ENSEMBL.....	24
ΕΙΚΟΝΑ 5:CATALOGUE OF LIFE .....	25
ΕΙΚΟΝΑ 6: MAP OF LIFE.....	28
ΕΙΚΟΝΑ 7: CLIMATE CHANGE KNOWLEDGE PORTAL .....	29
ΕΙΚΟΝΑ 8: BIOMART .....	33
ΕΙΚΟΝΑ 9: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ BIOMART.....	34
ΕΙΚΟΝΑ 10: ΣΤΟΙΧΙΣΗ ΣΤΟ ALIVIEW (ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ).....	36
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΣΤΟΙΧΙΣΗ ΣΤΟ ALIVIEW (ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ) .....	36

## Πίνακες

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ HSP40 .....	12
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ .....	27
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ.....	29
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ .....	38



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες είναι μακρομόρια που χαρακτηρίζονται από ποικιλομορφία και δομική πολυπλοκότητα. Συμμετέχουν σχεδόν σε όλες τις βιολογικές διαδικασίες. Η σύνθεση των μορίων αυτών πραγματοποιείται ενδοκυτταρικά στα ριβοσώματα με τον σχηματισμό γραμμικών αλυσίδων που αποτελούνται από μεγάλους αριθμούς αμινοξέων. Για να αποκτήσουν συγκεκριμένη λειτουργία, οι αλυσίδες αυτές θα πρέπει να υποστούν ορισμένες τροποποιήσεις. Αυτό συμβαίνει για να εξασφαλιστεί η ποιότητα της πρωτεΐνης αλλά και για να διατηρηθεί η ομοιόσταση του πρωτεϊνώματος, η πρωτεόσταση.

Για αυτό το λόγο, ένα υψηλά συντηρημένο δίκτυο πρωτεϊνών, οι Heat Shock Proteins (HSPs), με δράση μοριακών συνοδών και των ρυθμιστών τους, συμμετέχουν στην *de novo* αναδίπλωση πρωτεϊνών και άλλες ενδοκυτταρικές διαδικασίες ώστε να επιτευχθεί η έγκαιρη απομάκρυνση λανθασμένα αναδιπλωμένων πολυπεπτιδίων ή συσσωματωμάτων (Hartl, et al. 2011).

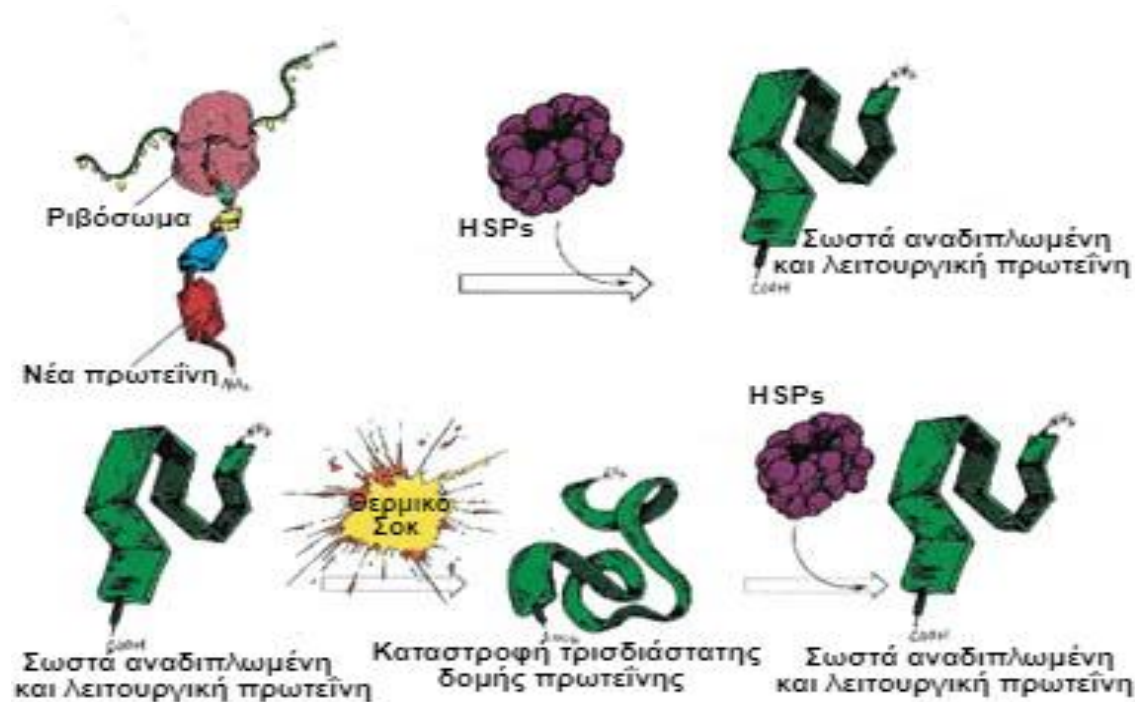
Ωστόσο, αποπτώχωση και απειλή της ομοιόστασης των πρωτεϊνών προκαλείται κυρίως από εξωτερικούς στρεσογόνους παράγοντες (Vabulas et al. 2010). Σε μελέτες στη *Drosophila*, παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων των μοριακών συνοδών, όταν ο οργανισμός εκτέθηκε σε υψηλές θερμοκρασίες. Για αυτό τον λόγο οι πρωτεΐνες αυτές αναφέρονται αρχικά ως Heat Shock Proteins (HSPs) (Whitley et al, 1999). Ακόμη και η ελάχιστη μεταβολή της θερμοκρασίας μπορεί να προκαλέσει καταστροφή της τρισδιάστατης δομής των πρωτεϊνών (Vabulas et al. 2010), γεγονός που μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις.

Ωστόσο πλέον προτιμάται ο όρος «πρωτεΐνες του στρες» διότι βρέθηκε πλήθος στρεσογόνων παραγόντων που προκαλούν την έκφραση αυτών των πρωτεϊνών, εκτός της θερμοκρασίας.

## Μοριακοί Συνοδοί

Οι μοριακοί συνοδοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της τρισδιάστατης αναδίπλωσης των νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών στα κύτταρα και είναι απαραίτητοι όταν η νεοσυντιθέμενη πρωτεΐνη αποτελείται από μία μακριά αμινοξική αλυσίδα (Tutar & Tutar 2010). Είναι υπεύθυνοι για την διανομή και

μεταφορά πρωτεϊνών στα σωστά υποκυτταρικά διαμερίσματα και συμμετέχουν στην συναρμολόγηση πρωτεϊνικών συμπλόκων (Li & Srivastava 2003). Για την αποφυγή δημιουργίας ανεπιθύμητων συμπλόκων και συσσωματωμάτων δρουν τα chaperonines. Τα chaperonines εμποδίζουν κυρίως ανεπιθύμητες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις (Richter et al. 2010). Οι μοριακοί συνοδοί βοηθούν στην επιδιόρθωση μετουσιωμένων πρωτεϊνών ή προάγουν την αποικοδόμησή τους έπειτα από έκθεση σε κάποιο στρεσογόνο παράγοντα ή μετά από τραυματισμό (Εικόνα 1) (Whitley et al. 1999). Επιπλέον έχει αποδειχθεί η σχέση των μοριακών συνοδών με τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, της μοριακής σηματοδότησης και τελικά της απόπτωσης (Tutar & Tutar 2010). Η μεγάλη οικογένεια των μοριακών συνοδών περιλαμβάνει τις υπο – οικογένειες HSP70, που είναι και οι πιο εκτενώς μελετημένες, HSP40, HSP90, HSP100, HSP60, νουκλεοτιδικούς παράγοντες και μικρές πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης (small Heat shock proteins, sHsps). Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης έχουν ένα ευρύ μοριακό βάρος από 8-kDa σε 100-kDa. Το όνομά τους προέρχεται από το μοριακό τους βάρος. Η Hsp40 για παράδειγμα είναι η πρωτεΐνη θερμικής καταπόνησης με μοριακό βάρος 40-kDa (Whitley et al. 1999).



**Εικόνα 1:** Δύο από τις λειτουργίες των πρωτεϊνών θερμική καταπόνησης, ως

μοριακοί συνοδοί. Πάνω: Με τη δημιουργία νέων πρωτεϊνών, οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης υποβοηθούν την σωστή αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας σε λειτουργική πρωτεΐνη. Κάτω: Μετά από έκθεση σε συνθήκη στρες, οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης βοηθούν στην επαναδίπλωση ή την αποικοδόμηση κατεστραμμένων ή μετουσιωμένων πρωτεϊνών(Whitley et al. 1999) (Τροποποίηση στα ελληνικά).

## Τα μέλη της υποοικογένειας Hsp40

Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης 40/Hsp40/DnaJ (βακτηριακό ομόλογο της Hsp40 πρωτεΐνης) αποτελούν μία αρκετά συντηρημένη οικογένεια πρωτεϊνών (Cyr et al. 1993). Λειτουργικά έχει αναφερθεί ότι συμμετέχουν στην δέσμευση DNA, αποικοδόμηση πρωτεΐνης, ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος, εξωκυττάρωση, ενδοκυττάρωση, ιογενή λοίμωξη, απόπτωση, θερμική καταπόνηση, καταπολέμηση ισχαιμικών καταπονήσεων (Cheetham & Caplan 1998) Στον άνθρωπο έχουν αναφερθεί ότι έχουν αναγνωριστεί από 40 (Kostenko et al. 2014) έως και 44 (Cyr & Ramos 2015). Η πρώτη αναφορά στις Hsp40 έγινε το 1962 μετά από ένα λάθος στο εργαστήριο του Ferruccio Ritossa που είχε σαν αποτέλεσμα την άνοδο της θερμοκρασίας του επωαστικού θαλάμου. Μέσα στο θάλαμο αναπτύσσονταν ιστοί της *Drosophila busckii* στους οποίους παρατήρησε την εμφάνιση εξογκωμάτων στα χρωμοσώματα. Μετά από μία σειρά πειραμάτων και επαναλήψεων, έφτασε στο συμπέρασμα ότι η ύπαρξη των εξογκωμάτων στα χρωμοσώματα οφείλεται στην μεταβολή της μεταγραφικής τους ικανότητας λόγω της μεταβολής της θερμοκρασίας (Ritossa 1962; De Maio et al. 2012). Τα μέλη της οικογένειας των Hsp40 πρωτεϊνών εκφράζονται τόσο στους προκαρυώτες (*E.coli*), όσο και στον πυρήνα, το κυτοσόλιο, τα ενδοσώματα, τα ριβοσώματα (Qiu et al. 2006) το ενδοπλασματικό δίκτυο και τα μιτοχόνδρια των ευκαρυωτών καθώς και ορισμένα ομόλογα των συγκεκριμένων γονιδίων εκφράζονται σε αρχαία (Naylor & Hartl 2001). Επιπλέον, η λειτουργία των Hsp40 εξαρτάται από το μέρος στο οποίο εντοπίζονται. Για παράδειγμα, μπορούν να εκφραστούν σε έναν και μόνο ιστό ή σε όλους τους ιστούς των πολυκύτταρων οργανισμών, όπως η DnaJB2/HSJ1 η οποία εντοπίζεται στον εγκέφαλο (Qiu et al. 2006). Ωστόσο, υπάρχουν κάτω από φυσιολογικές συνθήκες στα κύτταρα χωρίς την δράση κάποιου στρεσογόνου παράγοντα, καθώς μέλη της οικογένειας (συγκεκριμένα οι DNAJA) εντοπίζονται στην

μετασυναπτική μεμβράνη (Stetler et al. 2010). Η ανάλυση του γονιδιώματος αποκάλυψε 41 μέλη της οικογένειας DnaJ/Hsp40 στους ανθρώπους. Οι 34 εξ αυτών διαθέτουν την J – υπομονάδα και οι υπόλοιπες 7 φέρουν μερικώς συντηρημένες υπομονάδες τύπου J, αλλά εξακολουθούν να προτείνονται ότι λειτουργούν ως πρωτεΐνες DnaJ/Hsp40 (Qiu et al. 2006). Στην συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν 17 διαφορετικά γονίδια που κωδικοποιούν για DnaJ/Hsp40 (Πίνακας 1). Οι Hsp40 δρουν ως ο co – chaperone των Hsp70 πρωτεϊνών δημιουργώντας ένα σύμπλοκο μέσω σύνδεσης των υπομονάδων τους, μηχανισμός που θα αναλυθεί στη συνέχεια.

Όνομα Γονιδίου	Χρωμοσωμική θέση	HGNC ID	ΤΥΠΟΣ
<b>DNAJA1</b>	9p21.1	5229	I
<b>DNAJA2</b>	16q11.2	14844	I
<b>DNAJA3</b>	16p13.3	11808	I
<b>DNAJA4</b>	15q25.1	14885	I
<b>DNAJB1</b>	19p13.12	5270	II
<b>DNAJB2</b>	2q35	5228	II
<b>DNAJB3</b>	2q37.1	32397	II
<b>DNAJB4</b>	1p31.1	14886	II
<b>DNAJB5</b>	9p13.3	14887	II
<b>DNAJB6</b>	7q36.3	14888	II
<b>DNAJB7</b>	22q13.2	24986	II
<b>DNAJB8</b>	3q21.3	23699	II
<b>DNAJB9</b>	7q31.1	6968	II
<b>DNAJB11</b>	3q27.3	14889	II
<b>DNAJB12</b>	10q22.1	14891	II
<b>DNAJB13</b>	11q13.4	30718	II
<b>DNAJB14</b>	4q23	25881	II

**Πίνακας 1:** Τα γονίδια της οικογένειας HSP40 του ανθρώπου, οι θέσεις τους στο χρωμόσωμα, οι χαρακτηριστικοί HGNC κωδικοί τους (οι κωδικοί είναι μοναδικοί και παρέχονται από την HUGO Gene Nomenclature Committee. Οι κωδικοί δεν θα αλλάξουν, ακόμα και αν αλλάξει η ονομασία του γονιδίου.) (Braschi et al. 2019) και οι τύποι των HSP40.

## Η δομή των Hsp40

Οι Hsp40 έχουν ένα κοινό δομικό πρότυπο με ορισμένες διαφορές που είναι σημαντικές για να καθορίσουν την λειτουργία τους. Οι DnaJ/Hsp40 πρωτεΐνες αποτελούνται όλες με ελάχιστες εξαιρέσεις από:

- μία J – υπομονάδα (N – τελικό άκρο): μία εξαιρετικά συντηρημένη στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς (Carlan et al. 1993) ακολουθία 70 αμινοξέων στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης, που αποτελείται

---

Ο ρόλος της οικογένειας των πρωτεϊνών HSP40 στην προσαρμογή σε θερμοκρασιακά κλίματα: Το παράδειγμα των θηλαστικών

από 4 α – έλικες (I – IV) και 1 βρόχο ανάμεσα στις αντιπαράλληλες έλικες II και III, που περιέχει ένα υψηλά συντηρημένο τριπεπτίδιο από Histidine, Proline, Aspartic acid (το HPD μοτίβο) (Qiu et al. 2006) το οποίο αποτελεί και την «υπογραφή» της οικογένειας των Hsp40 πρωτεϊνών. Είναι γνωστό ότι μέσω της J – υπομονάδας, οι DnaJ/Hsp40 μεσολαβούν στην αλληλεπίδραση με τις DnaK/Hsp70 και ρυθμίζουν την ενεργότητα ATPάσης τους (Ohtsuka & Hata 2000). Μεταλλάξεις στο HPD μπορεί να εμποδίσουν αυτήν την δράση (Fan et al. 2003).

Οι DnaJ/Hsp40 εκτός από την J – υπομονάδα διαθέτουν επιπλέον συντηρημένες περιοχές που καθορίζουν την λειτουργίας τους. Με βάση την δομική τους διαφορά, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2 διακρίνονται σε 3 τύπους:

- **Τύπος I:** είναι παρόμοιες με την βακτηριακή DnaJ με την J – υπομονάδα, αλλά διαθέτουν επιπλέον μια περιοχή πλούσια σε Γλυκίνη και Φαινυλαλανίνη (Gly/Phe-rich region) (Qiu et al. 2006) η οποία αποτελείται από 30 κατάλοιπα αμινοξέων και λειτουργεί σαν μια «γέφυρα» που ξεχωρίζει την J – υπομονάδα από την περιοχή που είναι πλούσια σε Κυστεΐνη (CR περιοχή) στην μέση της πρωτεΐνης (Caplan et al. 1993). Η CR περιοχή περιέχει 4 [CXXCXGXG] μοτίβα όπου C η Κυστεΐνη, G η Γλυκίνη και X πολικό αμινοξύ. Η CR περιοχή βοηθάει στην σύνδεση των μη αναδιπλωμένων πολυπεπτιδίων, των υποστρωμάτων των DnaJ (Szabo et al. 1996) και είναι μία υψηλά συντηρημένη περιοχή τόσο στα βακτήρια, όσο και στα αρχαία και τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η περιοχή αυτή έχει δράση δισουλφιδικής ισομεράσης (Martinez-Yamout et al. 2000). Επίσης, διαθέτει ένα Zinc – Finger μοτίβο (ZFLR) που απουσιάζει από τις τύπου II και III DnaJ/Hsp40 (Alderson et al. 2016). Η J – υπομονάδα και η πλούσια σε Γλυκίνη και Φαινυλαλανίνη περιοχή περιέχουν ακολουθίες απαραίτητες για την αλληλεπίδραση με τις DnaK/Hsp70 πρωτεΐνες (Martinez-Yamout et al. 2000). Το C – τελικό άκρο διαθέτει δυο υπομονάδες I και II (CTDI και CTDII αντίστοιχα) μόνο στις Τύπου I Hsp40/DnaJ και συνδέεται και αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες που βρίσκονται στο ενδιάμεσο στάδιο (Griffith & Holmes 2019). Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχει μία σχετική ομοιότητα στην ακολουθία του C – τελικού άκρου μιας βακτηριακής DnaJ πρωτεΐνης με την ευκαρυωτική ομόλογό της (Caplan et al.,

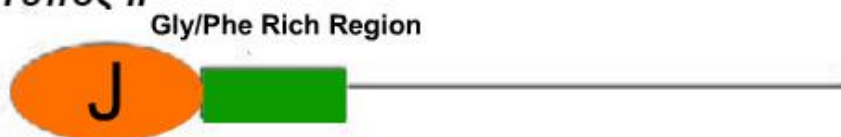
1993). Επίσης παρατηρείται 51% ομοιότητα μεταξύ των J – υπομονάδων μεταξύ ευκαρυωτών και προκαρυωτών.

- **Τύπος II:** διαθέτουν την J – υπομονάδα, αλλά και την περιοχή πλούσια σε Γλυκίνη και Φαινυλαλανίνη (Gly/Phe-rich region), χωρίς την περιοχή που είναι πλούσια σε Κυστεΐνη (CR περιοχή). Αντί για αυτό διαθέτουν εξειδικευμένες περιοχές που τις τοποθετούν σε συγκεκριμένες θέσεις στο κύτταρο και παρέχουν εξειδίκευση όσον αφορά την σύνδεση του υποστρώματος (Cyr & Ramos 2015).
- **Τύπος III:** διαθέτουν μόνο την J – υπομονάδα και σχηματίζουν διμερή (Kozany et al. 2004).

### Τύπος I



### Τύπος II



### Τύπος III



**Εικόνα 2:** Ταξινόμηση των τύπων των πρωτεϊνών DnaJ/Hsp40 σε 3 τύπους(Τροποποιημένη) (Qiu et al. 2006)

Οι DnaJ/Hsp40 τύπου I και II αν και διαφέρουν δομικά, λειτουργούν παρόμοια και συνδέονται σε non – native υποστρώματα, σε αντίθεση με τις τύπου III που δεν συνδέονται και έτσι δεν μπορούν να λειτουργήσουν ως μοριακοί συνοδοί (Qiu et al. 2006). Άλλη μία διαφορά τους είναι ότι στις DnaJ/Hsp40 τύπου III η J – υπομονάδα δεν βρίσκεται στο N – τελικό άκρο, αλλά στη μέση ή το C – τελικό άκρο του μορίου (Ohtsuka & Hata 2000).

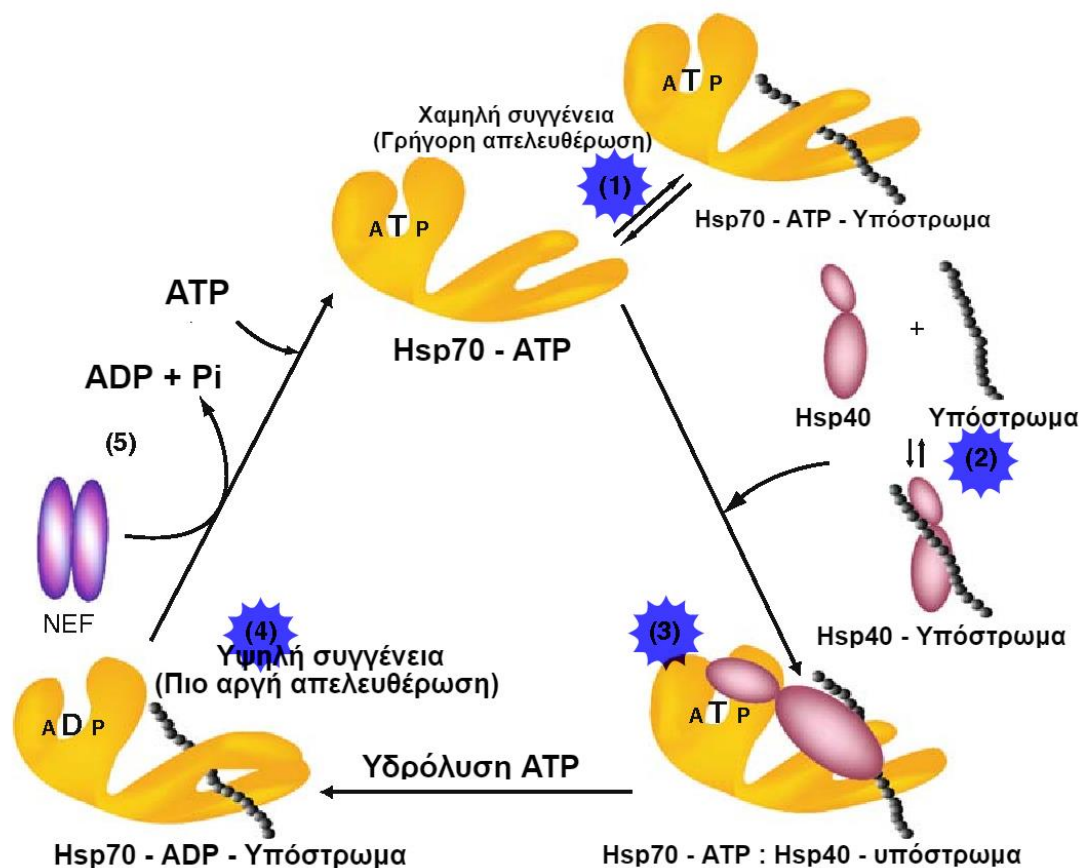
## Κύκλος λειτουργίας Hsp40 ως μοριακών συνοδών

Η βασική λειτουργία των πρωτεϊνών DnaJ/Hsp40 είναι ότι η J – υπομονάδα τους αλληλεπιδρά με την περιοχή που έχει δράση ATPάσης των DnaK/Hsp70 και είναι απαραίτητη για την ενεργοποίησή τους (Ohtsuka & Hata 2000) ώστε να βοηθήσουν στην αναδίπλωση, την αποπύχωση και την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών. Όμως για να αναφερθούμε στην συνέχεια σε αυτή τους την λειτουργία, θα πρέπει πρώτα να παρουσιαστούν ορισμένα στοιχεία για τις DnaK/Hsp70 πρωτεΐνες.

Οι Hsp70 για να επιτελέσουν το έργο τους ως μοριακοί συνοδοί υπόκεινται σε αλλαγές της διαμόρφωσής τους και συγκεκριμένα η λειτουργία τους εξαρτάται από την μετάβασή τους από την κλειστή στην ανοιχτή διαμόρφωση της περιοχής SDB (=Substrate Binding Domain, όπου προσδένονται τα πεπτιδία στόχοι και ομο-συνοδά μόρια) και αντίστροφα (Fernández-Fernández & Valpuesta 2018). Στην ανοιχτή διαμόρφωση είναι προσδεμένο ATP και η συνοδός πρωτεΐνη εμφανίζει χαμηλή συγγένεια με το υπόστρωμά της, το οποίο προσκολλάται και απελευθερώνεται από αυτή με μεγάλη ταχύτητα χωρίς πιθανότητα να αναδιπλώνεται σωστά. Στην κλειστή διαμόρφωση όπου έχει υδρολυθεί το ATP σε ADP, η συγγένεια της συνοδού με την πρωτεΐνη - υπόστρωμα είναι μεγάλη με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται τελικά η σωστή αναδίπλωση της πρωτεΐνης υποστρώματος.

Πιο συγκεκριμένα, κύριο ρόλο σε αυτό παίζουν οι DnaJ/Hsp40 πρωτεΐνες οι οποίες λειτουργούν ως co – chaperones και δεσμεύονται σε μία λανθασμένα αναδιπλωμένη πρωτεΐνη – υπόστρωμα μέσω της C – τελικής περιοχής τους. Η J – υπομονάδα της DnaJ/Hsp40 αλληλεπιδρά με την συνδεδεμένη με ATP Hsp70 πρωτεΐνη μέσω της SBD (= Substrate Binding Domain) περιοχής των τελευταίων και αμφότερα η πρωτεΐνη – υπόστρωμα με την DnaJ/Hsp40 καταλύουν την υδρόλυση του ATP σε ADP, η οποία οδηγεί σε απελευθέρωση ανόργανου φωσφορικού (Pi) και απόσπαση της DnaJ/Hsp40 από την συνδεδεμένη με ADP πλέον Hsp70. Πριν γίνει αυτό μεταφέρεται η πρωτεΐνη – υπόστρωμα στην συνδεδεμένη με ADP Hsp70, όπου τώρα η σύνδεση τους χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη συγγένεια σε σχέση με όταν ήταν συνδεδεμένη με το ATP διότι. Ένας παράγοντας ανταλλαγής νουκλεοτιδίων (NEF) συνδέεται στην περιοχή σύνδεσης νουκλεοτιδίων (NBD) της

συνδεδεμένης με ADP Hsp70 και προάγει την ανταλλαγή ADP σε ATP. Ο NEF απομακρύνεται και η πρωτεΐνη – υπόστρωμα απελευθερώνεται από την από την ATP – Hsp70. Η πρωτεΐνη υπόστρωμα μπορεί να είναι αναδιπλωμένη, έχοντας λάβει την λειτουργική της δομή, να επαναπροσδεθεί στην Hsp70, ή να σχηματίσει συσσωματώματα με άλλες, μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες. Τότε η DnaJ/Hsp40 συνδέεται σε εκτεθειμένα υδρόφοβα κατάλοιπα αυτών των πρωτεϊνών και ο κύκλος επαναλαμβάνεται (Alderson et al. 2016).



**Εικόνα 3:** Προτεινόμενος κύκλος δράσης του συμπλέγματος Hsp40 και Hsp70 (Τροποποιημένη) (V. Rajan & D'Silva 2009)

### Αλληλεπιδράσεις και μετα – μεταφραστικές τροποποιήσεις

Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης έρχονται σε επαφή και αλληλεπιδρούν άμεσα με άλλες πρωτεΐνες συνοδούς και επηρεάζουν με αυτόν τον τρόπο την δράση τους. Οι πρωτεΐνες Hsp40/DnaJ έρχονται άμεσα σε επαφή μόνο με τις πρωτεΐνες Hsp70. Συγκεκριμένα, φέρνει σε επαφή την πρωτεΐνη – υπόστρωμα με την Hsp70 μέσω της περιοχής που είναι πλούσια σε Γλυκίνη και Φαινυλαλανίνη (Gly/Phe-rich region) (Griffith & Holmes 2019)



και διευκολύνει τον διμερισμό της μονομερούς Hsp70 πρωτεΐνης για να μπορέσει στη συνέχεια η πρωτεΐνη – υπόστρωμα να συνδεθεί με την πρωτεΐνη Hsp90 μέσω του συστήματος μοριακών συνοδών Hsp70/Hsp90 (Morgner et al. 2015). Ο διμερισμός αυτός είναι αντιπαράλληλος και σταθεροποιείται από μετα – μεταφραστικές τροποποιήσεις.

Μεταφραστικές Τροποποιήσεις (= Post – Translational Modifications, PTMs) είναι οι χημικές τροποποιήσεις που πραγματοποιούνται σε συγκεκριμένες αμινοξικές πλευρικές αλυσίδες, στην χημική σύστασή τους. Γεγονός που μπορεί να αλλάξει τα δομικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης αλλάζοντας εντελώς την δομή, την λειτουργία και την δυναμική της. Στις μετα – μεταφραστικές τροποποιήσεις συμμετέχουν εξειδικευμένα ένζυμα (Griffith & Holmes 2019). Οι τροποποιήσεις αυτές για τις πρωτεΐνες Hsp40 περιλαμβάνουν την φωσφορυλίωση (Tsai et al. 2015), την ακετυλίωση (Moritz A 2010), την μονο – μεθυλίωση (Larsen et al. 2016) την ουβικουίτινωση (Akimov et al. 2018) και την φαρνεσυλίωση (Gething 1997). Δεν υπάρχουν ακόμα πολλές μελέτες για την φαρνεσυλίωση παρά μόνο ότι συμβαίνει κυρίως μετά την αύξηση της θερμοκρασίας. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα για την φωσφορυλίωση είναι αυτή των συντηρημένων καταλοίπων Ser της DnaJB1 πρωτεΐνης των Hsp40 που έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της μεταγραφής που ελέγχεται από τον παράγοντα HSF1(Heat – Shock Factor 1)(Velasco et al. 2019). Ένα ακόμη διάσημο παράδειγμα είναι αυτό της MP5 πρωτεϊνικής κινάσης(MP5 kinase) η οποία φωσφορυλιώνει τις Hsp40 ενώ συμμετέχουν στον κύκλο των Hsp70/Hsp40 πρωτεϊνών και ενεργοποιεί την δράση ATP υδρολάσης του κύκλου ενώ αυξάνει την καταστολή της μεταγραφής του HSF1(Kostenko et al. 2014).

## **Θερμοανθεκτικότητα και Απάντηση στη Θερμική Καταπόνηση**

Όλοι οι ζώντες οργανισμοί επιβιώνουν και αναπτύσσονται κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Μία από τις σημαντικότερες από αυτές τις συνθήκες είναι η θερμοκρασία. Ένας οργανισμός προσπαθεί να εξισορροπήσει τα ποσά ενέργειας που δαπανά για την παραγωγή θερμότητας και μέσω μηχανισμών ομοιόστασης να διατηρήσει την φυσιολογική για αυτόν θερμοκρασία του σώματός του (θερμορύθμιση). Η προσπάθεια αυτή

διαταράσσεται ακόμα και με μία φαινομενικά μικρή αλλαγή της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος η οποία μπορεί να προκαλέσει βλάβες στους οργανισμούς τόσο σε κυτταρικό όσο και σε μοριακό επίπεδο. Ανάλογα με την διάρκεια και την σοβαρότητα του θερμικού στρες, η συσσώρευση όλων αυτών των βλαβών μπορεί να οδηγήσει μέχρι και σε κυτταρικό θάνατο (Richter et al. 2010).

Σε μοριακό επίπεδο, η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί την λανθασμένη αναδίπλωση ή αποπτύχωση ή συσσώρευση πρωτεϊνών. Η απάντηση των οργανισμών σε τέτοιου είδους διαταραχές είναι η ενεργοποίηση του μηχανισμού απόκρισης στη θερμική καταπόνηση (Heat Shock Response, HSR).

Ο μηχανισμός απόκρισης στη θερμική καταπόνηση (HSR) έχει στόχο την έκφραση θερμοανθεκτικών γονιδίων και την έκφραση των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης. Πιο συγκεκριμένα παρατηρείται έκφραση:

- Παραγόντων θερμικής καταπόνησης (Heat Shock Factors, HSFs)
- Ενός στοιχείου απόκρισης στη θερμική καταπόνηση (Heat Shock Element, HSE)
- Πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης (HSPs)

Όλα αυτά τα μόρια συμμετέχουν στην HSR και είναι συντηρημένα τόσο στα βακτήρια όσο και τα ανώτερα θηλαστικά (Shamovsky & Nudler 2008).

Ο HSF1 θεωρείται ο κύριος ρυθμιστής των ανώτερων οργανισμών για την επαγόμενη μεταγραφή των γονιδίων των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης (HSPs) στις περισσότερες συνθήκες στρες. Ο HSF1 σε θερμοουδέτερες συνθήκες αρχικά βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα ως ένα αδρανές μονομερές το οποίο είναι συνδεδεμένο με HSPs (in vitro και in vivo πειράματα έχουν δείξει ότι η Hsp90 δεσμεύει τον HSF1 στην ανενεργή του μορφή). Ο HSF1 ενεργοποιείται μετά από την δράση κάποιου στρεσογόνου παράγοντα που επηρεάζει την δομή μίας πρωτεΐνης (π.χ. αποπτύχωση). Η ενεργοποίησή του HSF1 περιλαμβάνει την δράση ορισμένων μετα – μεταφραστικών τροποποιήσεων (φωσφορυλίωση, σουμοϋλίωση) και την μεταφορά του στον πυρήνα όπου από μονομερές μετατρέπεται σε ένα τριμερές μόριο (Vabulas et al. 2010). Στην μορφή αυτή ο ενεργός πλέον HSF1

συνδέεται σε ένα στοιχείο απόκρισης στη θερμική καταπόνηση (HSE) που βρίσκεται στην περιοχή του υποκινητή των γονιδίων των HSPs και ενισχύει την μεταγραφή τους (Gupta et al. 2013). Όταν οι συνθήκες γίνουν κατάλληλες και το κύτταρο επανέλθει στην φυσιολογική του κατάσταση τότε μέσω ενός μηχανισμού αρνητικής ανάδρασης, μειώνεται η έκφραση του HSF (Richter et al. 2010).

## Προσαρμογή

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, οι οργανισμοί διαθέτουν ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς άμυνας με σκοπό την διατήρηση της ομοιόστασής τους ενάντια σε καταστάσεις θερμικού στρες. Το θερμικό στρες μπορεί να προκληθεί από το περιβάλλον και συνήθως από την μεταβολή της θερμοκρασίας. Την τελευταία δεκαετία έχει παρατηρηθεί αύξηση της μέσης θερμοκρασίας παγκοσμίως και αναμένεται ακόμη μεγαλύτερη μέσα στα επόμενα χρόνια (Z. Chen et al. 2018). Το φαινόμενο αυτό είναι μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις για τα περισσότερα είδη καθώς επηρεάζονται βασικές λειτουργίες τους (Hassan et al. 2019), όπως η παραγωγή γάλακτος (στα βοοειδή) (Alhussien & Dang 2018), το αναπαραγωγικό και ανοσοποιητικό τους σύστημα και τέλος η ίδια η επιβίωσή τους. Διάφορα είδη ανά τον πλανήτη έχουν αλλάξει την γεωγραφική τους κατανομή και τον κύκλο ζωής τους για αυτόν τον λόγο (Sunday et al. 2012). Ωστόσο, οι HSPs δρουν κυτταροπροστατευτικά κατά του θερμικού στρες ως σήμα κινδύνου και βοηθούν στην προσαρμογή των ειδών, ένα χαρακτηριστικό που διαπιστώθηκε από πολλές μελέτες (Collier et al. 2012; T. Chen et al. 2018; Alhussien & Dang 2018). Οι κύριες HSPs είναι οι HSP70, HSP40 και HSP90, με την HSP70 να χαρακτηρίζεται ως βιοδείκτης της ποσοτικοποίησης του θερμικού στρες στα θηλαστικά (Hassan et al. 2019, 70). Οι βιοδείκτες είναι ουσίες που υποδεικνύουν την βιολογική κατάσταση ή μια πιθανή αλλαγή σε επίπεδα έκφρασης γονιδίων ή στην κατάσταση πρωτεϊνών και εμφανίζουν μεγάλο κτηνοτροφικό ενδιαφέρον.

Συνεπώς, οι HSPs λειτουργούν ως πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού για να μετριαστούν οι δυσμενείς επιπτώσεις του θερμικού στρες. Εξαιτίας της σημαντικής αυτής ικανότητάς τους, οι HSPs συνδέονται με την

θερμοαντοχή και την ανάπτυξη θερμο - ανθεκτικότητας πολλών ειδών με στόχο στην προσαρμογή τους στην συνεχώς μεταβαλλόμενη θερμοκρασία.

## **Γονιδιωματική και Βιοπληροφορική**

Για την ολοκλήρωση μίας συγκριτικής έρευνας, σήμερα, χρησιμοποιούμε τα εργαλεία της γονιδιωματικής και βιοπληροφορικής. Η αφετηρία μιας τέτοιας έρευνας είναι η βάση δεδομένων, η οποία ορίζεται ως μία οργανωμένη συλλογή σχετιζόμενων πληροφοριών και δεδομένων στο διαδίκτυο και είναι προσβάσιμη μέσω αυτού. Στις βιολογικές επιστήμες, οι βάσεις αυτές περιέχουν δεδομένα από πειράματα, δημοσιευμένη βιβλιογραφία και υπολογιστική ανάλυση. Οι βιολογικές βάσεις δεδομένων έχουν μεγάλο όγκο πληροφοριών γι αυτό και μπορεί να υπάρχουν κατηγορίες όπως δομικές, λειτουργικές, γονιδιωματικές, βάσεις νουκλεοτιδικών και πρωτεϊνικών αλληλουχιών ανάλογα με το περιεχόμενό τους.

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

### **Ensembl**

Το project της Ensembl (Yates et al. 2019; <https://www.ensembl.org/index.html>) ξεκίνησε το 1999, μερικά χρόνια πριν ολοκληρωθεί η αλληλούχηση του ανθρώπινου γονιδιώματος (Human Genome Project). Στόχος του project ήταν να έχουν πρόσβαση στην πλατφόρμα ερευνητές και να διευκολυνθεί η μελέτη τους πάνω στα γονιδιώματα του δικού μας είδους και άλλων σπονδυλωτών και μοντέλων οργανισμών μέσω του διαδικτύου. Ωστόσο, μέσω της βάσης είναι εφικτή η ανάκτηση πληροφορίας σχετικά με ρυθμιστικά στοιχεία και δεδομένα συγκριτικής γονιδιωματικής σε μορφή FASTA. Ένα αρχείο σε αυτή τη μορφή ξεκινά με την πρώτη γραμμή που αναγράφονται χαρακτηριστικές πληροφορίες για τον οργανισμό και από την δεύτερη γραμμή κι έπειτα ακολουθούν αλληλουχίες νουκλεοτιδίων ή αμινοξέων κάθε ένα από τα οποία συμβολίζεται με 1 γράμμα (κάθε νουκλεοτίδιο με την βάση του, κάθε αμινοξύ με την συντομογραφία του).

### **Catalogue Of Life**

Το Catalogue of Life (CoL) (Roskov et al. 2019; <https://www.catalogueoflife.org/>), αποτελεί μία βάση δεδομένων που παρέχει πληροφορίες σχετικά με τα ονόματα, τις σχέσεις – αλληλεπιδράσεις καθώς και τις κατανομές περισσότερων από 1, 9 εκατομμυρίων ειδών. Επίσης, το CoL διαθέτει τις συγκεκριμένες πληροφορίες ακόμη και για είδη που πλέον έχουν εξαφανιστεί.

### **Map Of Life**

Το Map Of Life (MOL) (Jetz, McPherson & Guralnick 2012; <https://mol.org/>), παρέχει πληροφορίες με χάρτες σχετικά με την γεωγραφική κατανομή των οργανισμών. Οι χάρτες αυτοί περιλαμβάνουν πληροφορίες για οικοσυστήματα καθώς και προστατευμένες περιοχές.

### **Aliview**

Το Aliview (Larsson 2014) είναι ένα πρόγραμμα που επιτρέπει την στοίχιση (alignment), οπτικοποίηση και επεξεργασία DNA, RNA ή πρωτεϊνικών αλληλουχιών χωρίς όριο στο μέγεθος των δεδομένων που μπορεί να επεξεργαστεί. Ο σημαντικός ρόλος του Aliview ως εργαλείο βιοπληροφορικής έγκειται στο γεγονός ότι βοηθά τον ερευνητή μέσω της στοίχισης των αλληλουχιών να επιτύχει τη σύγκριση μεταξύ τους και κατ' επέκταση να συνεχίσει την συγκριτική μελέτη τους.

## ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι να διαπιστωθεί αν οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης είναι ικανές να βοηθήσουν έναν αριθμό ειδών στην προσαρμογή τους σε θερμοκρασιακές μεταβολές στο περιβάλλον τους. Για αυτόν τον σκοπό πραγματοποιήθηκε συγκριτική ανάλυση των αλληλουχιών των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης της οικογένειας 40 (Hsp40) ανάμεσα σε δύο ομάδες οργανισμών από την ταξινομική ομάδα των θηλαστικών. Η κάθε ομάδα αποτελείται από είδη που είναι προσαρμοσμένα σε διαφορετικές θερμοκρασίες, συνεπώς η σύγκριση θα συσχετίσει τις HSP40 με την προσαρμοστικότητα.

Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν εκτενώς εργαλεία βιοπληροφορικής καθώς και βάσεων δεδομένων γονιδιωματικής από τις οποίες ανακτήθηκαν δεδομένα για τις υπό μελέτη πρωτεΐνες.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## Καταγραφή και Ταξινόμηση Οργανισμών

Το πρώτο βήμα της έρευνας είναι να βρεθούν και να καταγραφούν οι οργανισμοί των οποίων τα δεδομένα αλληλούχησης του πρωτεώματος τους είναι διαθέσιμα σε βάσεις δεδομένων. Για την εύρεση τέτοιου τύπου δεδομένων έγινε χρήση της βάσης δεδομένων *Ensembl* (Yates et al. 2019; <https://www.ensembl.org/index.html>). Το μονοπάτι που ακολουθείται από την αρχική σελίδα της Ensembl είναι το εξής: Help & Docs / Data Access / FTP site. Στην συνέχεια στη σελίδα εμφανίζεται ένας πίνακας με την παρακάτω μορφή (Εικόνα 4).

Single species data

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

Show 10 entries	Filter	Species	DNA (FASTA)	cDNA (FASTA)	CDS (FASTA)	ncRNA (FASTA)	Protein sequence (FASTA)	Annotated sequence (EMBL)	Annotated sequence (GenBank)	Gene sets	Other annotations	Whole database
Y		<a href="#">Human</a> <i>Homo sapiens</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
Y		<a href="#">Mouse</a> <i>Mus musculus</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
Y		<a href="#">Zebrafish</a> <i>Danio rerio</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
		<a href="#">Abingdon island giant tortoise</a> <i>Chelonoidis abingdonii</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
		<a href="#">African ostrich</a> <i>Struthio camelus australis</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
		<a href="#">Agassiz's desert tortoise</a> <i>Gopherus agassizii</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
		<a href="#">Algerian mouse</a> <i>Mus spretus</i>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a> <a href="#">GFF3</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a> <a href="#">JSON</a>	<a href="#">MySQL</a>
		<a href="#">Alpaca</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">FASTA</a>	<a href="#">EMBL</a>	<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">GTF</a>	<a href="#">TSV</a> <a href="#">RDF</a>	<a href="#">MySQL</a>

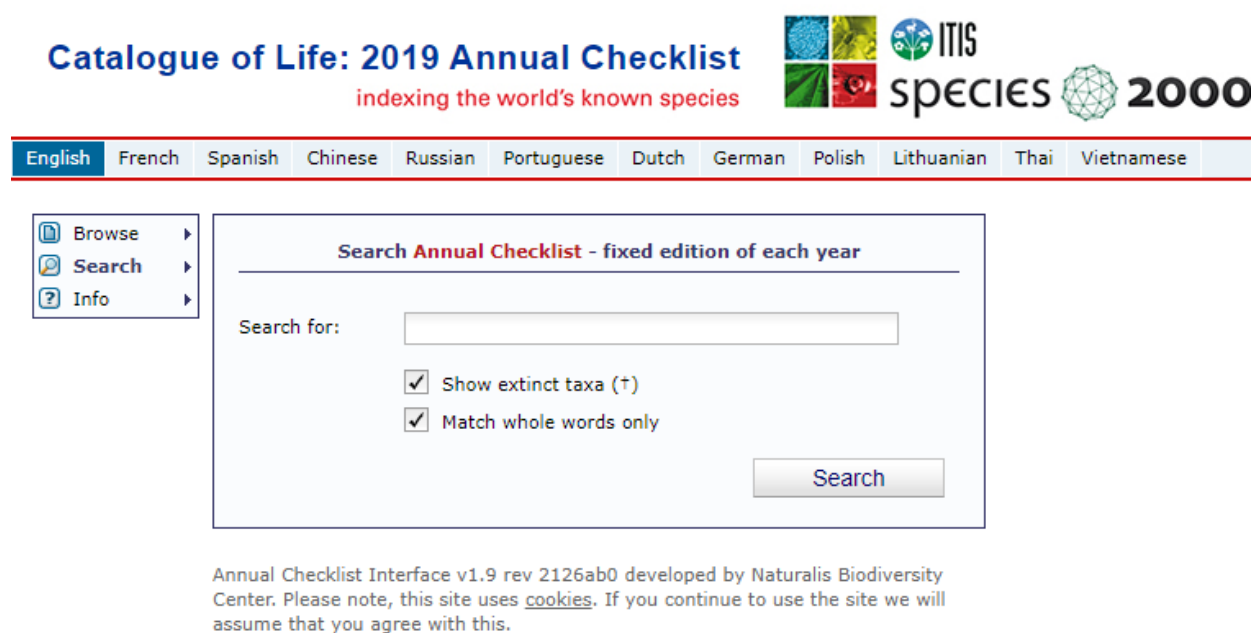
**Εικόνα 4:** Σελίδα Ensembl, πρόσβαση σε δεδομένα αλληλούχησης πολλών οργανισμών. (Yates et al. 2019)

Εκτός από την σελίδα αυτή, έγινε χρήση της βάσης δεδομένων NCBI για την ανάκτηση επιπλέον οργανισμών (Richter et al. 2010; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Αφού δημιουργήθηκε μία λίστα οργανισμών, το επόμενο βήμα περιλαμβάνει την χρήση της σελίδας Catalogue of Life (CoL) (Roskov et al. 2019; <https://www.catalogueoflife.org/>) για την εύρεση των ταξινομικών τους στοιχείων ώστε να επιλεγθούν μόνο τα θηλαστικά. Η σελίδα CoL μετά από την



επιλογή Access οδηγεί σε μία σελίδα με την παρακάτω μορφή (Εικόνα 5)



English French Spanish Chinese Russian Portuguese Dutch German Polish Lithuanian Thai Vietnamese

Browse Search Info

Search Annual Checklist - fixed edition of each year

Search for:

Show extinct taxa (†)

Match whole words only

Search

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 5:** Η μορφή της σελίδας Catalogue of Life στην Αναζήτηση (Roskov et al. 2019) .

Στην γραμμή αναζήτησης ο χρήστης μπορεί να εισάγει το όνομα του υπό μελέτη οργανισμού. Πατώντας το “search” δίνονται οι ταξινομικές ομάδες στις οποίες εντάσσεται ο οργανισμός (είδος, γένος, οικογένεια, υπερ – οικογένεια, τάξη, κλάση, φύλο, βασίλειο) και ορισμένες πληροφορίες για την κατανομή του. Στην συγκεκριμένη εργασία καταγράφηκαν τα ταξινομικά δεδομένα των θηλαστικών που φαίνονται στον πίνακα 2.

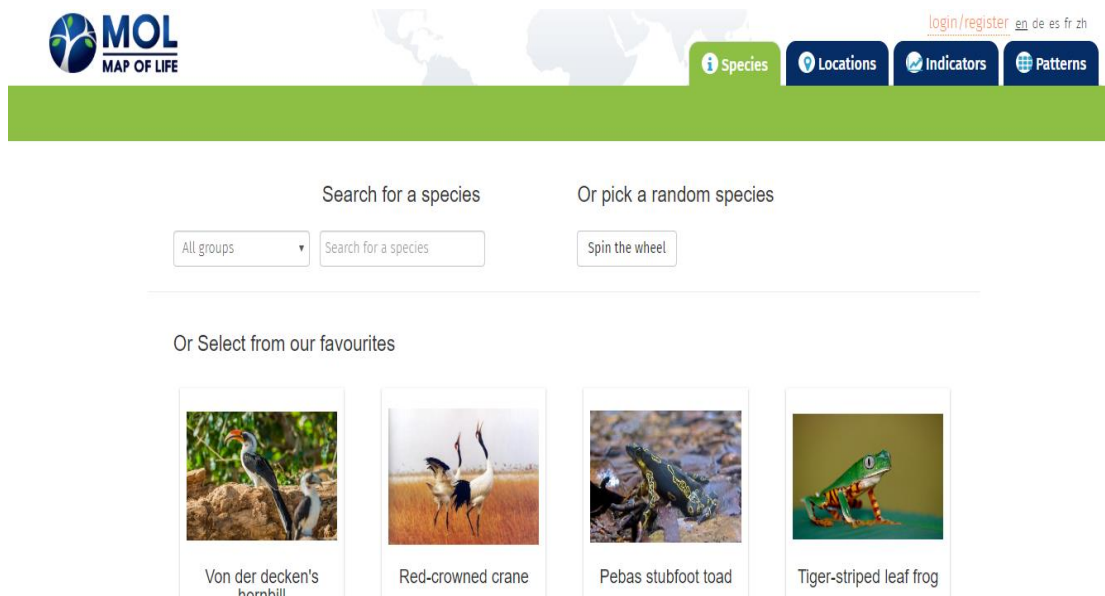
Species	Scientific Name	Order	Family
<a href="#">Algerian mouse</a>	<i>Mus spretus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Alpaca</a>	<i>Vicugna pacos</i>	Artiodactyla	Camelidae
<a href="#">American black bear</a>	<i>Ursus Americanus</i>	Carnivora	Ursidae
<a href="#">Angola colobus</a>	<i>Colobus angolensis palliatus</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Armadillo</a>	<i>Dasypus novemcinctus</i>	Cingulata	Dasypodidae
<a href="#">Black snub-nosed monkey</a>	<i>Rhinopithecus bieti</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Bolivian squirrel monkey</a>	<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	Primates	Cebidae
<a href="#">Bonobo</a>	<i>Pan paniscus</i>	Primates	Hominoidae
<a href="#">Brazilian guinea pig</a>	<i>Cavia aperea</i>	Rodentia	Caviidae
<a href="#">Bushbaby</a>	<i>Otolemur garnettii</i>	Primates	Galagidae
<a href="#">Capuchin</a>	<i>Cebus capucinus imitator</i>	Primates	Cebidae
<a href="#">Cat</a>	<i>Felis catus</i>	Carnivora	Felidae
<a href="#">Chimpanzee</a>	<i>Pan troglodytes</i>	Primates	Hominoidae
<a href="#">Chinese hamster CHOK1GS</a>	<i>Cricetulus griseus</i>	Rodentia	Cricetidae
<a href="#">Chinese hamster CriGri</a>	<i>Cricetulus griseus</i>	Rodentia	Cricetidae
<a href="#">Coquerel's sifaka</a>	<i>Propithecus coquereli</i>	Primates	Indriidae
<a href="#">Cow</a>	<i>Bos taurus</i>	Artiodactyla	Bovidae
<a href="#">Crab-eating macaque</a>	<i>Macaca fascicularis</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Damara mole rat</a>	<i>Fukomys damarensis</i>	Rodentia	Bathyergidae
<a href="#">Degu</a>	<i>Octodon degus</i>	Rodentia	Octodontidae
<a href="#">Dingo</a>	<i>Canis lupus dingo</i>	Carnivora	Canidae
<a href="#">Dog</a>	<i>Canis lupus familiaris</i>	Carnivora	Canidae
<a href="#">Dolphin</a>	<i>Tursiops truncatus</i>	Cetacea	Delphinidae
<a href="#">Donkey</a>	<i>Equus asinus asinus</i>	Perissodactyla	Equidae
<a href="#">Drill</a>	<i>Mandrillus leucophaeus</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Elephant</a>	<i>Loxodonta africana</i>	Proboscidea	Elephantidae
<a href="#">Ferret</a>	<i>Mustela putorius furo</i>	Carnivora	Mustelidae
<a href="#">Gibbon</a>	<i>Nomascus leucogenys</i>	Primates	Hominoidae
<a href="#">Goat</a>	<i>Capra hircus</i>	Artiodactyla	Bovidae
<a href="#">Golden Hamster</a>	<i>Mesocricetus auratus</i>	Rodentia	Cricetidae
<a href="#">Golden snub-nosed monkey</a>	<i>Rhinopithecus roxellana</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Gorilla</a>	<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Primates	Hominoidae
<a href="#">Guinea Pig</a>	<i>Cavia porcellus</i>	Rotentia	Caviidae
<a href="#">Hedgehog</a>	<i>Erinaceus europaeus</i>	Erinaceomorpha	Erinaceidae
<a href="#">Horse</a>	<i>Equus caballus</i>	Perissodactyla	Equidae
<b>Human</b>	<b><i>Homo sapiens</i></b>	<b>Primates</b>	<b>Hominoidae</b>
<a href="#">Hyrax</a>	<i>Procavia capensis</i>	Hyracoidea	Procaviidae
<a href="#">Kangaroo rat</a>	<i>Dipodomys ordii</i>	Rodentia	Heteromyridae
<a href="#">Koala</a>	<i>Phascolarctos cinereus</i>	Diprotodontia	Phascolarctidae
<a href="#">Leopard</a>	<i>Panthera pardus</i>	Carnivora	Felidae
<a href="#">Lesser Egyptian jerboa</a>	<i>Jaculus jaculus</i>	Rodentia	Dipodidae
<a href="#">Lesser hedgehog tenrec</a>	<i>Echinops telfairi</i>	Afrosoricida	Tenrecidae
<a href="#">Long-tailed chinchilla</a>	<i>Chinchilla lanigera</i>	Rodentia	Chinchillidae
<a href="#">Ma's night monkey</a>	<i>Aotus nancymaae</i>	Primates	Aotidae
<a href="#">Macaque</a>	<i>Macaca mulatta</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Marmoset</a>	<i>Callithrix jacchus</i>	Primates	Callitrichidae
<a href="#">Megabat</a>	<i>Pteropus vampyrus</i>	Chiroptera	Pteropodidae
<a href="#">Microbat</a>	<i>Myotis lucifugus</i>	Chiroptera	Vespertilionidae

<a href="#">Mouse</a>	<i>Mus musculus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Mouse 129S1/SvImJ</a>	<i>Mus musculus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Mouse CAST/EiJ</a>	<i>Mus musculus castaneus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Mouse Lemur</a>	<i>Microcebus murinus</i>	Primates	Cheirogaleidae
<a href="#">Mouse WSB/EiJ</a>	<i>Mus musculus domesticus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Naked mole-rat female</a>	<i>Heterocephalus glaber</i>	Rodentia	Bathyergidae
<a href="#">Naked mole-rat male</a>	<i>Heterocephalus glaber</i>	Rodentia	Bathyergidae
<a href="#">Northern American deer mouse</a>	<i>Peromyscus maniculatus bairdi</i>	Rodentia	Cricetidae
<a href="#">Olive baboon</a>	<i>Papio anubis</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Opossum</a>	<i>Monodelphis domestica</i>	Didelphimorphia	Didelphidae
<a href="#">Orangutan</a>	<i>Pongo abelii</i>	Primates	Hominoidae
<a href="#">Panda</a>	<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	Carnivora	Ursidae
<a href="#">Pig</a>	<i>Sus scrofa</i>	Artiodactyla	Suidae
<a href="#">Pig-tailed macaque</a>	<i>Macaca nemestrina</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Pika</a>	<i>Ochotona princeps</i>	Lagomorpha	Ochotonidae
<a href="#">Platypus</a>	<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Monotremata	Ornithorhynchidae
<a href="#">Polar bear</a>	<i>Ursus maritimus</i>	Carnivora	Ursidae
<a href="#">Prairie vole</a>	<i>Microtus ochrogaster</i>	Rodentia	Cricetidae
<a href="#">Rabbit</a>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Lagomorpha	Leporidae
<a href="#">Rat</a>	<i>Rattus norvegicus</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Red fox</a>	<i>Vulpes vulpes</i>	Carnivora	Canidae
<a href="#">Rhinoceros</a>	<i>Ceratotherium simum simum</i>	Perissodactyla	Rhinocerotidae
<a href="#">Ryukyu mouse</a>	<i>Mus caroli</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Sheep</a>	<i>Ovis aries</i>	Artiodactyla	Bovidae
<a href="#">Shrew</a>	<i>Sorex araneus</i>	Soricomorpha	Soricidae
<a href="#">Shrew mouse</a>	<i>Mus pahari</i>	Rodentia	Muridae
<a href="#">Sloth</a>	<i>Choloepus hoffmanni</i>	Pilosa	Megalonychidae
<a href="#">Sooty mangabey</a>	<i>Cercocebus atys</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Squirrel</a>	<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>	Rodentia	Sciuridae
<a href="#">Tarsier</a>	<i>Carlito syrichta</i>	Primates	Tarsiidae
<a href="#">Tasmanian devil</a>	<i>Sarcophilus harrisii</i>	Dasyuromorphia	Dasyuridae
<a href="#">Tiger</a>	<i>Panthera tigris altaica</i>	Carnivora	Felidae
<a href="#">Tree Shrew</a>	<i>Tupaia belangeri</i>	Scandentia	Tupaiidae
<a href="#">Vervet-AGM</a>	<i>Chlorocebus sabaeus</i>	Primates	Cercopithecidae
<a href="#">Wallaby</a>	<i>Notamacropus eugenii</i>	Diprotodontia	Macropodidae

**Πίνακας 2:** Τα θηλαστικά που καταγράφηκαν και τα ταξινομικά τους δεδομένα. Στην πρώτη στήλη καταγράφονται οι κοινές ονομασίες των οργανισμών, στη δεύτερη οι επιστημονικές ονομασίες (οπού φαίνεται το γένος και το είδος τους). Στις επόμενες στήλες φαίνονται οι ταξινομικές ομάδες της οικογένειας και της τάξης του κάθε οργανισμού. Η κλάση, το φύλο και το βασίλειο δεν αναγράφονται καθώς είναι κοινά για όλα τα παραπάνω είδη (Mammalia – Chordata – Animmalia) (Roskov et al. 2019; Yates et al. 2019).

## Κατανομή των Οργανισμών

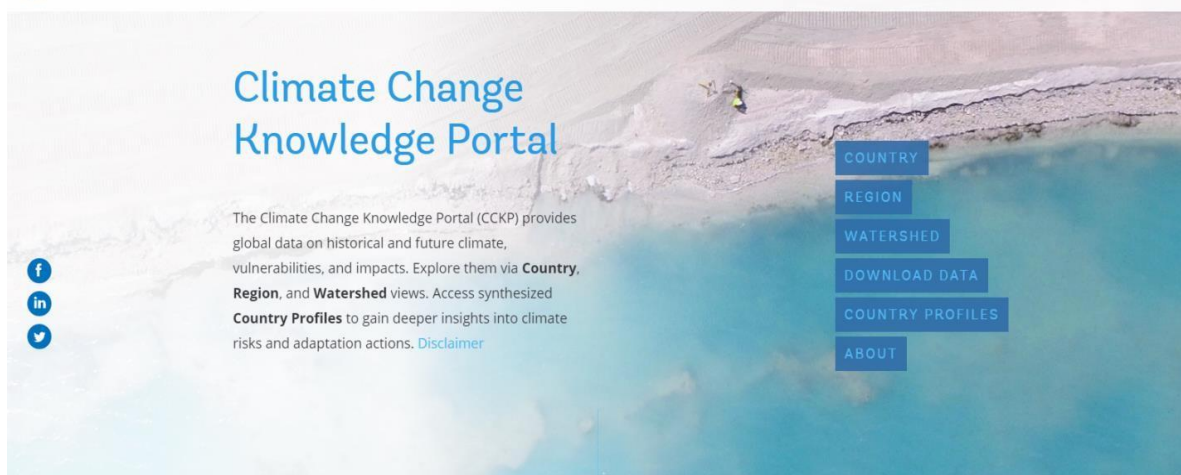
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, πρέπει να καταγραφεί η κατανομή των παραπάνω θηλαστικών για να είναι δυνατή η ταξινόμησή τους σύμφωνα με τα θερμοκρασιακά περιβάλλοντα στα οποία επιβιώνουν. Για τον σκοπό αυτό έγινε χρήση της βάσης δεδομένων Map Of Life (MOL) (Jetz, McPherson & Guralnick 2012) και πιο συγκεκριμένα της επιλογής Map species. Στο Map species πραγματοποιείται αναζήτηση με βάση το όνομα του οργανισμού όπως φαίνεται στην Εικόνα 6. Τα αποτελέσματα της αναζήτησης αναγράφονται στον Πίνακα .



**Εικόνα 6:** Η σελίδα του Map of Life μετά την επιλογή “Map species” <https://mol.org/species/> (Jetz, McPherson, and Guralnick 2012)

## Καταγραφή Θερμοκρασιακών Δεδομένων

Το επόμενο βήμα της έρευνας είναι η καταγραφή των θερμοκρασιών των περιοχών στις οποίες κατανέμονται τα παραπάνω θηλαστικά τα τελευταία έτη. Για την εύρεση αυτών έγινε χρήση της βάσης δεδομένων Climate Change Knowledge Portal (<https://climateknowledgeportal.worldbank.org/>) της World Bank Group. Η συγκεκριμένη βάση δεδομένων παρέχει δεδομένα για τα κλιματολογικά στοιχεία πολλών χωρών προηγούμενων ετών αλλά και προβλέψεις για τα επόμενα έτη.



**Εικόνα 7:** Αρχική σελίδα του Climate Change Knowledge Portal (<https://climateknowledgeportal.worldbank.org/>).

Από την αρχική σελίδα (Εικόνα 7) επιλέγουμε το Download Data και γίνεται ανάκτηση των θερμοκρασιακών δεδομένων για τις χώρες ενδιαφέροντος για τα τελευταία 15 χρόνια. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι μέσες ελάχιστες και οι μέσες μέγιστες θερμοκρασίες για το σύνολο των χωρών στις οποίες εμφανίζεται το κάθε είδος μέσω της συνάρτησης AVERAGE στο Excel. Με βάση τις τιμές αυτές επιτυγχάνεται η ταξινόμηση των οργανισμών σε ομάδες όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.

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	-29,843
<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 europæus</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

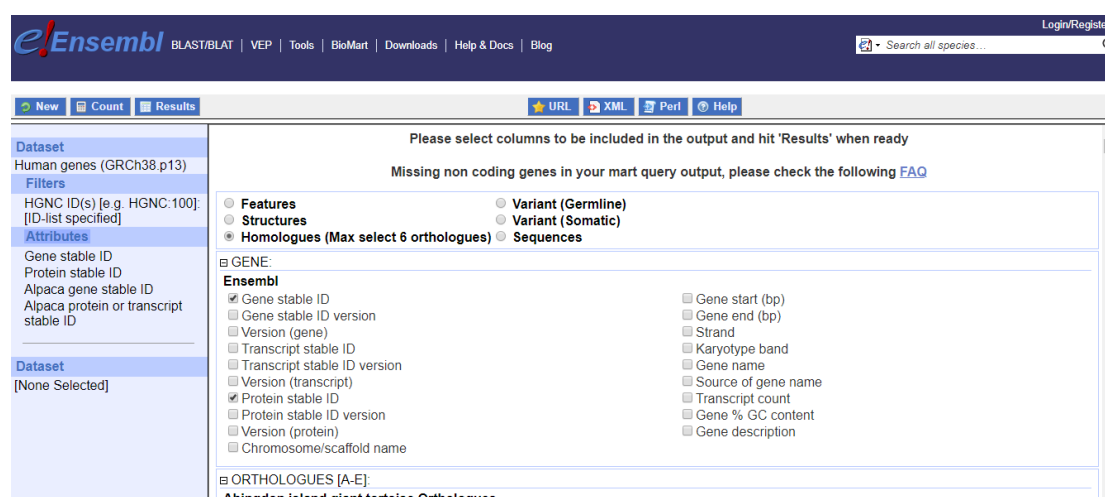
<i>Bos mutus</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Camelus ferus</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Lipotes vexillifer</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Myotis davidii</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Pantholops hodgsonii</i>	Southern Asia	20,683	-10,551
<i>Pan troglodytes</i>	Africa	20,702	6,566
<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 nancymaae</i>	South America	21,758	17,567
<i>Neophocaena asiaeorientalis</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>Dasyus 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 capuinus 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>Phascogaleus 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:** Κατανομή των υπό μελέτη οργανισμών. Στην πρώτη στήλη αναγράφονται οι επιστημονικές ονομασίες των οργανισμών. Στην δεύτερη αναγράφονται οι περιοχές στις οποίες εντοπίζονται. Στην τρίτη και τέταρτη στήλη βρίσκονται οι μέσες μέγιστες και οι μέσες ελάχιστες θερμοκρασίες αντίστοιχα, οι οποίες προέκυψαν από τις χώρες στις οποίες εμφανίζεται το κάθε είδος. Η ταξινόμηση έγινε σύμφωνα με τις τιμές των μέσων μέγιστων θερμοκρασιών από την μικρότερη στην μεγαλύτερη. Τα είδη που εμφανίζονται με «\*» στην δεύτερη στήλη έχουν μεγάλο εύρος στην γεωγραφική κατανομή. για αυτόν τον λόγο δεν έγινε υπολογισμός των μέσων θερμοκρασιών. Τα είδη που εντοπίζονται σε περιοχές με μέση μέγιστη θερμοκρασία 25°C διαχωρίζονται από εκείνα που εντοπίζονται σε μεγαλύτερες με διακεκομμένη οριζόντια γραμμή. Από εδώ και πέρα, η ομάδα 1 θα αναφέρεται ως «Ψυχρή Ομάδα» και η ομάδα 2 ως «Θερμή Ομάδα» (Jetz et al. 2012).

## Ανάκτηση γονιδίων και πρωτεϊνών HSP40

Για την εύρεση των γονιδίων HSP40 καθώς και των αντίστοιχων πρωτεϊνών του κάθε οργανισμού έγινε χρήση της βάσης δεδομένων Ensembl και πιο συγκεκριμένα του εργαλείου BioMart (Smedley et al. 2015). Οι συγκεκριμένες αλληλουχίες εμφανίζονται στην βάση δεδομένων με την μορφή διαφορετικών κωδικών – ταυτοτήτων (IDs) για τον κάθε οργανισμό. Η BioMart επιτρέπει στον χρήστη την εύκολη ανάκτηση δεδομένων όπως πλήρεις πρωτεϊνικές αλληλουχίες κάθε είδους διαμέσου του φιλικού προς κάθε χρήστη περιβάλλοντός της καθώς και των παραμέτρων που διαθέτει. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη εργασία φαίνονται στην Εικόνα 8.



**Εικόνα 8:** Το διαδικτυακό περιβάλλον της BioMart και οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη εργασία



[ Database: Ensembl Genes 99,

Dataset: Human genes (GRCh38.p13),

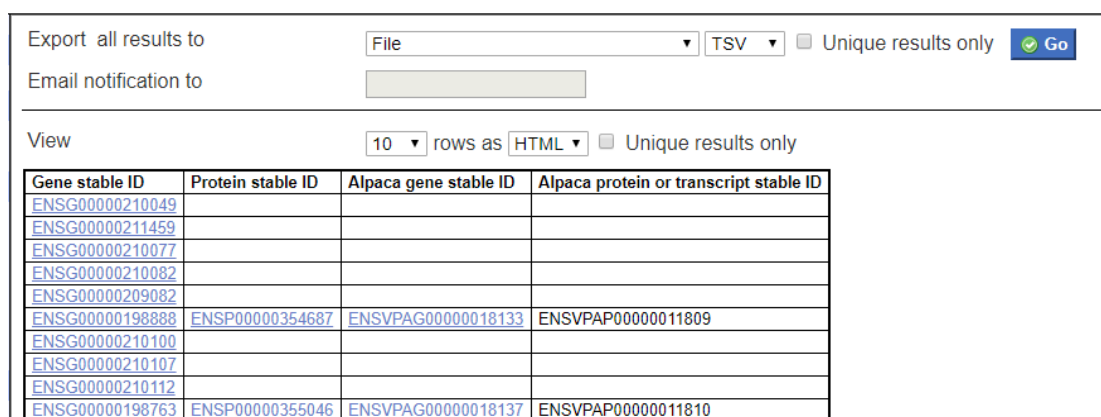
Filters → Gene → Input external references ID list: HGNC ID(s),

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

Attributes → Homologues → Orthologues → Species Gene stable ID (π.χ. Alpaca) & Species protein or transcript stable ID].

Στην συγκεκριμένη βάση δεδομένων υπάρχει δυνατότητα αναζήτησης για μέχρι 6 είδη την φορά.

Τα αποτελέσματα έχουν την μορφή που φαίνεται στην Εικόνα 9 και καταγράφηκαν για την συνέχεια.



The screenshot shows the BioMart export interface. At the top, there are options to export all results to a file in TSV format, with a 'Go' button. Below this, there is a 'View' section showing 10 rows as HTML. The main part of the image is a table with four columns: Gene stable ID, Protein stable ID, Alpaca gene stable ID, and Alpaca protein or transcript stable ID. The table contains 10 rows of data, with the first two columns containing human gene and protein IDs, and the last two columns containing the corresponding alpaca IDs.

Gene stable ID	Protein stable ID	Alpaca gene stable ID	Alpaca protein or transcript stable ID
<a href="#">ENSG00000210049</a>			
<a href="#">ENSG00000211459</a>			
<a href="#">ENSG00000210077</a>			
<a href="#">ENSG00000210082</a>			
<a href="#">ENSG00000209082</a>			
<a href="#">ENSG00000198888</a>	<a href="#">ENSP00000354687</a>	<a href="#">ENSVPAG00000018133</a>	<a href="#">ENSVPAP00000011809</a>
<a href="#">ENSG00000210100</a>			
<a href="#">ENSG00000210107</a>			
<a href="#">ENSG00000210112</a>			
<a href="#">ENSG00000198763</a>	<a href="#">ENSP00000355046</a>	<a href="#">ENSVPAG00000018137</a>	<a href="#">ENSVPAP00000011810</a>

**Εικόνα 9:** Μορφή των αποτελεσμάτων αναζήτησης στην BioMart. Οι 2 πρώτες στήλες είναι τα IDs των γονιδίων και των πρωτεϊνών του ανθρώπου.

## Αναζήτηση αλληλουχιών HSP40

Τα αρχεία που ανακτήθηκαν από την BioMart περιέχουν τεράστιο όγκο πληροφορίας σχετικά με αμινοξικές αλληλουχίες, γεγονός που θα κάνει εξαιρετικά χρονοβόρα την έρευνα με κίνδυνο σφάλματος λόγω απροσεξίας. Για τον λόγο αυτό, γίνεται χρήση του τερματικού του λειτουργικό συστήματος Linux καθώς και η εισαγωγή κατάλληλων εντολών ώστε να είναι δυνατή η επεξεργασία όλων των αρχείων.

Για να γίνει αυτό, πρέπει πρώτα όλες οι αλληλουχίες από την βάση δεδομένων να τοποθετηθούν σε ένα αρχείο για να είναι πιο εύκολη η πρόσβαση με την κατάλληλη εντολή. Η εντολή είναι η εξής:

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

όπου για κάθε αρχείο (\*f) στον φάκελο που βρισκόμαστε, να αντιγραφεί το περιεχόμενο του κάθε αρχείου σε ένα νέο αρχείο file\_a.

Οι κωδικοί – ταυτότητες για τις αλληλουχίες αμινοξέων βρίσκονται σε ξεχωριστά αρχεία για κάθε μέλος της οικογένειας των HSP40 και τοποθετήθηκαν σε έναν κοινό φάκελο μαζί με το αρχείο file\_a. Για να απομονωθούν οι ταυτότητές τους από το αρχείο με όλες τις αμινοξικές αλληλουχίες (το file\_a), έγινε στον τερματικό εισαγωγή της παρακάτω εντολής:

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

όπου για κάθε αρχείο (\*f) στον φάκελο που βρισκόμαστε, να γίνει επιλογή εκείνων των σειρών που περιέχουν τους κωδικούς που είναι στο αρχείο file\_1 από το αρχείο file\_a και να τοποθετηθούν στον ίδιο φάκελο στο αρχείο με όνομα file\_i. Μετά από αυτό το βήμα όλες οι αμινοξικές αλληλουχίες των HSP40 είναι συγκεντρωμένες και μπορεί πλέον να πραγματοποιηθεί η σύγκρισή τους.

## Στοίχιση αλληλουχιών

Για να πραγματοποιηθεί η σύγκριση ανάμεσα σε πλήθος αμινοξικών αλληλουχιών είναι σημαντικό βήμα η στοίχισή (*alignment*) τους. Αυτό το βήμα επιτυγχάνεται με την χρήση ενός εργαλείου που ονομάζεται Aliview (Larsson 2014).

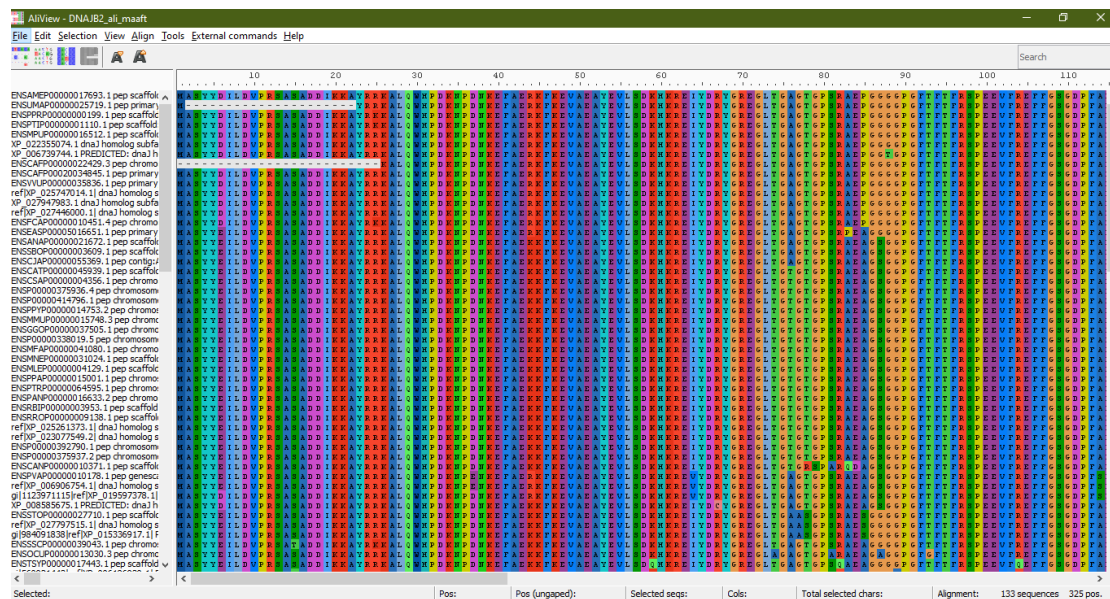
Οι αλληλουχίες των αμινοξέων όλων των θηλαστικών για κάθε μέλος της οικογένειας HSP40 βρίσκονται σε ξεχωριστά αρχεία. Πραγματοποιείται εισαγωγή κάθε αρχείου στο Aliview ξεχωριστά και στην συνέχεια με την επιλογή “Realign Everything” το πρόγραμμα ξεκίνησε την στοίχιση. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για κάθε αρχείο με περιεχόμενο τις αμινοξικές αλληλουχίες των HSP40.

Το αποτέλεσμα μετά την επιλογή “Realign Everything” έχει την παρακάτω μορφή (Εικόνα 10).



**Εικόνα 10:** Στοίχιση αμινοξικών αλληλουχιών των πρωτεϊνών DNAJB2 των θηλαστικών στο πρόγραμμα Aliview.

Τα κενά που εμφανίζονται στην Εικόνα 10 τα προσθέτει το Aliview για να καταλήξει στην καλύτερη δυνατή αντιστοιχία. Όπως φαίνεται στην παρακάτω Εικόνα 11, πραγματοποιήθηκε αφαίρεση των περιοχών με μεγάλα κενά ώστε να είναι ακόμη πιο ακριβής η στοίχιση.



**Εικόνα 11:** Στοίχιση αμινοξικών αλληλουχιών των πρωτεϊνών DNAJB2 των θηλαστικών στο

πρόγραμμα Aliview, αφού έχουν απαλειφθεί τα κενά.

## Υπολογισμοί

Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε ανάμεσα στις αμινοξικές αλληλουχίες των 2 ομάδων οργανισμών («ψυχρής» και «θερμής» ομάδας). Αυτό γίνεται για να γίνει στην συνέχεια μία συσχέτιση της αλληλουχίας με την λειτουργία της πρωτεΐνης στα σημεία ενδιαφέροντος.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου εφαρμόστηκε δίπλευρος στατιστικός έλεγχος που επιτρέπει την σύγκριση δύο αναλογιών ώστε να διαπιστωθεί αν είναι ίδιες. Στην συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιείται σύγκριση των αναλογιών συγκεκριμένων αμινοξέων σε μία συγκεκριμένη θέση μεταξύ των οργανισμών των δύο ομάδων.

Αρχικά, θεωρείται μηδενική (null) υπόθεση ότι οι αναλογίες είναι ίδιες. Συνεπώς η εναλλακτική (alternate) είναι ότι παρουσιάζουν διαφορές. Για την εύρεση λοιπόν των θέσεων με στατιστικά σημαντικές διαφορές στα αντίστοιχα αμινοξέα έγιναν οι παρακάτω υπολογισμοί:

- Υπολογισμός τυπικού σφάλματος με 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 τύπο:

$$z = (p_1 - p_2) / SE [Τύπος 3]$$

- Υπολογισμός p – value με συνάρτηση:

$$2 * \text{NORMDIST}(\text{CELL\_NUMBER}; 0; 1; \text{TRUE}).$$

## Αποτελέσματα

### Διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων

Έπειτα από τους παραπάνω υπολογισμούς προκύπτουν ποικίλες τιμές  $p$  – value. Εκείνες ωστόσο που θεωρήθηκαν τιμές ενδιαφέροντος και καταγράφηκαν ήταν τιμές  $<0.05$ . Οι τιμές αυτές παρουσιάζουν ενδιαφέρον καθώς δείχνουν ότι η διαφορά εμφάνισης του συγκεκριμένου αμινοξέος στην συγκεκριμένη θέση ανάμεσα στις 2 ομάδες είναι στατιστικά σημαντική και προφανώς αξιοσημείωτη.

Για την ολοκλήρωση εξαγωγής αποτελεσμάτων, μετρήθηκε για κάθε μέλος της οικογένειας HSP40 ο αριθμός των θέσεων που διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τον συνολικό αριθμό των αμινοξέων της αλληλουχίας μετά την ολοκλήρωση της στοίχισης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 4:

Πρωτεΐνη	Μήκος αλληλουχίας μετά τη στοίχιση (aa)	Θέσεις με στατιστικά σημαντική διαφορά	Ποσοστό διαφοράς μεταξύ των ομάδων
<b>DNAJA3</b>	480	49	10%
<b>DNAJA4</b>	397	34	8%
<b>DNAJB1</b>	340	8	2%
<b>DNAJB2</b>	300	7	2%
<b>DNAJB3</b>	300	17	6%
<b>DNAJB4</b>	300	4	1%
<b>DNAJB5</b>	420	20	5%
<b>DNAJB6</b>	320	23	7%
<b>DNAJB7</b>	300	51	17%
<b>DNAJB8</b>	180	9	5%

<b>DNAJB9</b>	180	7	4%
<b>DNAJB11</b>	300	16	5%
<b>DNAJB12</b>	370	27	7%
<b>DNAJB13</b>	300	9	3%
<b>DNAJB14</b>	360	4	1%

**Πίνακας 4:** Ποσοστό στατιστικά σημαντικών διαφορών των πρωτεϊνών της οικογένειας HSP40 ανάμεσα στους οργανισμούς της ψυχρής και της θερμής ομάδας.

Από τον παραπάνω Πίνακα 4 απουσιάζουν τα μέλη DNAJA1 και DNAJA2 της οικογένειας HSP40 καθώς κατά τον υπολογισμό του  $p$  – value δεν εμφάνισαν τιμές  $<0.05$ . Αυτό σημαίνει ότι δεν εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στις αμινοξικές αλληλουχίες μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών.

## Δομική συσχέτιση

Στο επόμενο και τελευταίο βήμα είναι αναγκαία η συσχέτιση των αλληλουχιών που αναλύθηκαν με τη δομή της πρωτεΐνης στα αντίστοιχα σημεία ενδιαφέροντος. Η ανάκτηση πληροφοριών σχετικά με τη δομή κάθε μέλους των HSP40 έγινε με τη χρήση της βάσης δεδομένων UniProt (Bateman 2019). Το περιεχόμενο των συγκεκριμένων πληροφοριών αφορούν την δομή των αντίστοιχων πρωτεϊνών στον άνθρωπο.

### DnajA1

Η DnajA1 είναι μία πρωτεΐνη μήκους 397 αμινοξέων και μοριακού βάρους 44,868 Da. Οι θέσεις 6 – 68 αντιστοιχούν στην J υπομονάδα, ενώ οι περιοχή πλούσια σε Gly καταλαμβάνει τις θέσεις 75 – 96. Επίσης, στις θέσεις 134 – 141, 150 – 157, 177 – 184 και 193 – 200 εντοπίζεται το [CXXCXGXG] μοτίβο αλλά και η περιοχή zinc – finger της CR περιοχής στις θέσεις 121 – 205. Στις περιοχές αυτές συνδέονται ιόντα μετάλλων. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε πολλά κατάλοιπα. Μεταξύ των τροποποιήσεων περιλαμβάνεται η ακετυλίωση, η φωσφορυλίωση, η μεθυλίωση και η φαρνεσυλίωση. Επίσης, μία μετάλλαξη στην θέση 394 σχετίζεται με την αδυναμία πραγματοποίησης φαρνεσυλίωσης της πρωτεΐνης. Συγκρίνοντας τις

αλληλουχίες των πρωτεϊνών μεταξύ των δύο ομάδων φαίνεται ότι η πρωτεΐνη DnajA1 δεν διαφέρει.

### **DnajA2**

Η DnajA2 έχει μήκος 412 αμινοξέα και μοριακό βάρος 45,746 Da. Η J υπομονάδα καταλαμβάνει τις θέσεις 8 – 70 ενώ το [CXXCXGXG] μοτίβο τις θέσεις 143 – 150, 159 – 166, 186 – 193, 202 – 209. Η CR περιοχή περιλαμβάνει μία περιοχή zinc – finger στις θέσεις 130 – 214. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν ακετυλίωση, φωσφορυλίωση, μεθυλίωση και φαρνεσυλίωση. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

### **DnajA3**

Η DnajA3 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 480 και μοριακού βάρους 52,489 Da. Παίζει σημαντικό ρόλο στο μονοπάτι της απόπτωσης αλλά και στη ρύθμιση παραγόντων εντός των μιτοχονδρίων. Οι θέσεις 93 – 158 αντιστοιχούν στην J υπομονάδα. Επίσης, στις θέσεις 236 – 243, 253 – 260, 275 – 282 και 289 – 296 εντοπίζεται το [CXXCXGXG] μοτίβο αλλά και η περιοχή zinc – finger της CR περιοχής στις θέσεις 223 – 301. Εντοπίζεται πλήθος μετα – μεταφραστικών τροποποιήσεων όπως μεθυλίωση, ακετυλίωση, μεθυλίωση και φωσφορυλίωση. Επίσης, απώλεια ρύθμισης της απόπτωσης παρατηρείται με μία μετάλλαξη στη θέση 121. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης δείχνουν ότι η πρωτεΐνη δε διαφέρει ιδιαίτερα μεταξύ των ομάδων που μελετήθηκαν.

### **DnajA4**

Η DnajA4 έχει μήκος 397 αμινοξέα και μοριακό βάρος 44,798 Da. Η J υπομονάδα καταλαμβάνει τις θέσεις 4 – 70 ενώ το [CXXCXGXG] μοτίβο τις θέσεις 135 – 142, 151 – 158, 178 – 185, 194 – 201. Η CR περιοχή περιλαμβάνει μία περιοχή zinc – finger στις θέσεις 122 – 206. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση, μεθυλίωση και φαρνεσυλίωση. Τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν ιδιαίτερα σημαντική στατιστικά

διαφορά.

### **DnajB1**

Η DnajB1 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 340 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 38,044 Da. Η J υπομονάδα της καταλαμβάνει τις θέσεις 2 – 70. Η DnajB1 υπόκειται σε μία μετα – μεταφραστική τροποποίηση, την φωσφορυλίωση. Εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα ενώ κατά τη διάρκεια της θερμικής καταπόνησης μεταπίπτει στον πυρήνα. Η DnajB1 αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες της οικογένειας HSP70 και πυροδοτεί την δράση ATPάσης τους. Επίσης, έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με την HSPA2A / B της οικογένειας HSP70 και ενεργοποιεί την υδρόλυση ATP καθώς και την αναδίπλωση πρωτεϊνών. Δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ της θερμής και της ψυχρής ομάδας, σύμφωνα με την ανάλυση.

### **DnajB2**

Η DnajB2 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 324 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 35,580 Da. Η J υπομονάδα της καταλαμβάνει τις θέσεις 2 – 71. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση, μεθυλίωση και ακετυλίωση. Έχουν γίνει αναφορές για ουβικουίτωση της DnajB2 μέσω των περιοχών UIM 1, UIM 2 στις θέσεις 210 – 226, 250 – 269 αντίστοιχα. Η βασική λειτουργία της είναι να λειτουργεί ως co – chaperone και να ρυθμίζει την σύνδεση του υποστρώματος στις πρωτεΐνες της οικογένειας HSP70 αλλά και να ενεργοποιεί την δράση ATPάσης τους. Επιπροσθέτως, συμμετέχει στην ουβικουίτωση που οδηγεί στην αποικοδόμηση λανθασμένα πακεταρισμένων πρωτεϊνών. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών DnajB2 μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών, οι θέσεις αυτές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### **DnajB3**

Η DnajB3 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 300 αμινοξέων. Στην βάση δεδομένων της UniProt εμφανίζεται ως μια πρωτεΐνη με μοριακή λειτουργία μοριακού συνοδού αλλά έχει μήκος 145 αμινοξέων και μοριακό βάρος 16,559 Da καθώς λόγω ενός κωδικονίου τερματισμού που εμφανίζεται πολύ νωρίς, η



ανθρώπινη πρωτεΐνη κόπτεται και στερείται του C – τελικού της άκρου. Ωστόσο, σε μελέτες έκφρασης φαίνεται ότι υπάρχει mRNA αλλά και πρωτεΐνη στον άνθρωπο. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 1 – 69. Εκφράζεται κυρίως στο σπέρμα αλλά σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν ιδιαίτερα σημαντική στατιστικά διαφορά.

#### **DnajB4**

Η DnajB4 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 337 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 37,807 Da. Συμμετέχει στην υδρόλυση ATP καθώς και στην αναδίπλωση μη πακεταρισμένων πρωτεϊνών βοηθώντας το έργο πρωτεϊνών HSP70. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 2 – 70. Εντοπίζεται τόσο στην μεμβράνη όσο και στο κυτταρόπλασμα. Η DnajB4 υπόκειται σε μία μετα – μεταφραστική τροποποίηση, την φωσφορυλίωση. Κατά την ανάλυση δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των αλληλουχιών των δύο ομάδων στις θέσεις αυτές.

#### **DnajB5**

Η DnajB5 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 420 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 39,133 Da. Εντοπίζεται κυρίως στο κυτοσόλιο και στον πυρήνα. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 4 - 68. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

#### **DnajB6**

Η DnajB6 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 327 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 36,087 Da. Λειτουργεί ως μία ενδογενής μοριακή συνοδός για πρωτεΐνες του νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένης της Χαντινγκτίνης (Η Β ισομορφή της DnajB6 καταστέλλει την συσσωμάτωση των μορίων της χαντινγκτίνης). Εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα καθώς και τον πυρήνα. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση και μεθυλίωση. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 2 – 69. Στις θέσεις 2 – 146 βρίσκονται οι περιοχές αλληλεπίδρασής της με πρωτεΐνες της οικογένειας HSP70. Τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν ιδιαίτερα σημαντική

στατιστικά διαφορά, σύμφωνα με την ανάλυση.

### **DnajB7**

Η DnajB7 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 309 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 35,434 Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 3 – 69. Η DnajB7 είναι η πρωτεΐνη της οικογένειας των HSP40 που διαφέρει (17%) σε μεγαλύτερο βαθμό μεταξύ των 2 ομάδων θηλαστικών που μελετήθηκαν.

### **DnajB8**

Η DnajB8 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 232 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 25,686 Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 3 – 69. Η DnajB8 αποτελεί εκτός από μοριακό συνοδό, έναν αποτελεσματικό καταστολέα της συσσωμάτωσης και κατ' επέκταση της τοξικότητας πρωτεϊνών πολυγλουταμίνης που σχετίζονται με νόσους. Στην θέση 216 της πρωτεΐνης εντοπίζεται μία μετάλλαξη που οδηγεί σε απώλεια της δραστηριότητάς της. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

### **DnajB9**

Η DnajB9 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 223 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 25,518 Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 26 – 90. Η DnajB9 εντοπίζεται μόνο στο ενδοπλασματικό δίκτυο και υπόκειται σε μία μετα – μεταφραστική τροποποίηση, την φωσφορυλίωση. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

### **DnajB11**

Η DnajB11 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 358 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 40,514 Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 25 – 90. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη τροποποιείται σε διάφορα κατάλοιπα, με τις τροποποιήσεις να περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση και γλυκοζυλίωση. Η DnajB11 εντοπίζεται μόνο στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Σε πληθώρα θέσεων της πρωτεΐνης εντοπίζονται μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια αλληλεπίδρασης της πρωτεΐνης με το αντίστοιχο υπόστρωμα. Τέλος, φαίνεται να μην διαφέρει

ιδιαίτερα μεταξύ των οργανισμών των δύο ομάδων.

### **DnajB12**

Η DnajB12 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 370 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 41,860Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 112 – 176. Στην λειτουργία της ως co – chaperone της HSPA8/Hsc70 (μέλος των HSP70), προστίθεται ένας επιπλέον ρόλος: προάγει την αποικοδόμηση λανθασμένα πακεταρισμένων πρωτεϊνών μέσω ενός μονοπατιού όπου κύριο ρόλο παίζει το ενδοπλασματικό δίκτυο (ERAD). Για τον λόγο αυτό εντοπίζεται στον πυρήνα και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Σε δύο θέσεις έχουν εντοπιστεί μεταλλάξεις που έχουν σαν αποτέλεσμα την απώλεια αλληλεπίδρασης της DnajB12 με το εκάστοτε υπόστρωμά της. Η DnajB12 υπόκειται σε μία μετα – μεταφραστική τροποποίηση, την ακετυλίωση. Σύμφωνα με την ανάλυση, τα κρίσιμα για τη λειτουργία κατάλοιπα δεν εμφανίζουν ιδιαίτερα σημαντική στατιστικά διαφορά.

### **DnajB13**

Η DnajB13 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 316 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 36,118 Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 4 – 68. Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών DnajB13 μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών οι θέσεις αυτές δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### **DnajB14**

Η DnajB14 είναι μια πρωτεΐνη μήκους 379 αμινοξέων, και μοριακού βάρους 42,516Da. Η J περιοχή καταλαμβάνει τις θέσεις 108 – 172. Η πρωτεΐνη βρίσκεται τόσο στην πυρηνική μεμβράνη όσο και στην μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Η DnajB14 λειτουργεί ως co – chaperone και αλληλεπιδρά με την HSPA8/Hsc70 για την επίτευξη της αναδίπλωσης πρωτεϊνών. Η DnajB14 όπως και η DnajB12, συμμετέχει στην αποικοδόμηση λανθασμένα πακεταρισμένων πρωτεϊνών μέσω του μονοπατιού ERAD. Στο κατάλοιπο 136 έχει εντοπιστεί μία μετάλλαξη που έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια αλληλεπίδρασης με την HSPA8/Hsc70 (HSP70 οικογένεια πρωτεϊνών).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια το φαινόμενο του θερμοκηπίου και η υπερθέρμανση του πλανήτη αποτελούν προβλήματα σε παγκόσμιο επίπεδο καθώς επηρεάζουν κάθε μορφή ζωής στην γη. Τα φαινόμενα αυτά είναι απόρροια της κλιματικής αλλαγής, φαινόμενο που θεωρείται σημαντική απειλή για την επιβίωση πολλών ειδών και κατ' επέκταση ολόκληρων οικοσυστημάτων. Το πιο επικίνδυνο χαρακτηριστικό της κλιματικής αλλαγής είναι η αύξηση της θερμοκρασίας αλλά και οι επιπτώσεις της τόσο σε μοριακό επίπεδο όσο και σε επίπεδο οργανισμού. Η αύξηση της θερμοκρασίας δεν επηρεάζει μόνο την συμπεριφορά των οργανισμών αλλά και την βιολογία τους σε μοριακό επίπεδο καθώς έχει δείχθει ότι η θερμότητα προκαλεί παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) οι οποίες οδηγούν σε βλάβες στο DNA όπως αποπουρινώσεις, σχάσεις αλυσίδων, απαμινώσεις κυτοσίνης (Chernikov et al. 2007). Μελέτες έχουν δείξει ότι μόνο 30 χρόνια υψηλότερων θερμοκρασιών στο τέλος του 20<sup>ου</sup> αιώνα είναι αρκετά για να επηρεαστεί αισθητά η φυσιολογία των οργανισμών, η σύνθεση, η δυναμική των κοινοτήτων και κυρίως η κατανομή των ειδών (Walther et al. 2002).

Ο παράγοντας ανοχής στην θερμότητα και σε συγκεκριμένες συχνότητες βροχοπτώσεων συχνά καθορίζει την γεωγραφική κατανομή των ειδών. Μελέτες δείχνουν ότι τα είδη που ζουν σε τροπικά κλίματα εμφανίζουν έντονη θερμοανθεκτικότητα διότι επιβιώνουν όλο τον χρόνο σε υψηλές θερμοκρασίες σε αντίθεση με είδη που εντοπίζονται σε περιοχές με εύκρατο κλίμα. Ωστόσο, σε περιπτώσεις θερμικού στρες όπως ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας, τα είδη που εντοπίζονται σε τροπικά κλίματα παρουσίασαν μεγαλύτερη ευαισθησία (Tewksbury et al. 2008). Η ανακατανομή της ζωής στην γη έχει αναδειχθεί ως μια από τις σημαντικότερες βιολογικές αποκρίσεις στην αύξηση της θερμοκρασίας και της κλιματικής αλλαγής, κυρίως όταν η αιτία αυτής της μεταβολής είναι ο ανθρώπινος παράγοντας (Sunday et al. 2012). Τις περισσότερες φορές η αλλαγή στο εύρος των κατανομών των ειδών είναι ξαφνική και όχι σταδιακή, ειδικότερα όταν οφείλεται σε ανθρώπινη παρέμβαση (Walther et al. 2002).

Συχνά, οι περιοχές που θεωρούνται κλιματικά κατάλληλες για ένα είδος σε περίπτωση ανακατανομής πιθανότατα βρίσκονται μακριά από τα τρέχοντα γεωγραφικά όρια και πέρα από την ικανότητα διασποράς του. Σε τέτοιες

περιπτώσεις, πολλά είδη μπορεί να οδηγηθούν σε εξαφάνιση (Walther et al. 2002). Ωστόσο, στην περίπτωση πολλών ομοιόθερμων ειδών, η ανακατανομή δεν είναι η βασική απόκριση στο θερμικό στρες. Πολλά θηλαστικά, για να διατηρήσουν την ομοιόστασή τους καταναλώνουν ένα σημαντικό ποσοστό ενέργειας. Συνεπώς, όταν το εσωτερικό περιβάλλον τους διαταραχθεί από θερμικό στρες, πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης (HSPs) εκφράζονται για την καταπολέμηση των δραστικών επιπτώσεων της μεταβολής της θερμοκρασίας και την επαναφορά της θερμικής ισορροπίας μεταξύ εσωτερικού και εξωτερικού περιβάλλοντος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα βοοειδή και η απόκριση HSR σε συνθήκες που η θερμοκρασία υπερβαίνει τους 35°C. Σε τέτοιες περιπτώσεις παρατηρείται ταχεία αύξηση στην έκφραση πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης καθώς χαρακτηρίζονται ως η πρώτη γραμμή άμυνας στην άμβλυση των κινδύνων που εγκυμονεί το θερμικό στρες. Για τον λόγο αυτό, η δράση των HSPs είναι συνυφασμένη με την θερμοανθεκτικότητα και την προσαρμοστικότητα ειδών σε ακατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας (Hassan et al. 2019).

Η αναζήτηση λύσεων και μοντέλων για την αύξηση της προσαρμοστικότητας των ειδών μπορεί να ξεκινήσει από κατώτερους πολυκύτταρους οργανισμούς, όπως των μεταζώων. Στα μετάρζωα αποδίδεται η συμπεριφορά ορισμένων μικροβίων που μπορούν να προβλέπουν και να προετοιμάζονται για περιβαλλοντικές αλλαγές μέσω της «μνήμης» τους σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις τους με περιβαλλοντικούς παράγοντες (Baliga 2008). Ωστόσο, στους ανώτερους πολυκύτταρους οργανισμούς η διαδικασία αυτή είναι πιο περίπλοκη με πλήθος παραμέτρων. Η διαδικασία με την οποία ένας έμβιος οργανισμός προσαρμόζεται σε ένα νέο περιβάλλον ονομάζεται εγκλιματισμός (acclimation). Ο εγκλιματισμός περιλαμβάνει δύο φάσεις: την οξεία ή βραχυπρόθεσμη και την χρόνια ή μακροπρόθεσμη. Η οξεία φάση περιλαμβάνει την απόκριση ενός οργανισμού στη θερμική καταπόνηση σε κυτταρικό, ενδοκρινικό, φυσιολογικό και μεταβολικό επίπεδο ενώ η χρόνια φάση οδηγεί στον εγκλιματισμό με τον στρεσογόνο παράγοντα και περιλαμβάνει τον επαναπρογραμματισμό της γονιδιακής έκφρασης και των μεταβολικών μονοπατιών (Collier et al. 2012). Οι αποκρίσεις της οξείας φάσης σε συνδυασμό θα βοηθήσουν στην προώθηση της επιβίωσης και της

προσαρμογής οργανισμών σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον. Είναι κατανοητό ότι η υπερθερμία δεν ελέγχεται μόνο από την HSR και την αύξηση στην έκφραση των HSPs αλλά και από άλλα μονοπάτια στα οποία πιθανόν να μην εμπλέκεται η δράση καμίας πρωτεΐνης θερμικής καταπόνησης παρόλο που αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας (Sejian et al. 2018). Η απόκριση στο θερμικό στρες αποτελεί ένα ζήτημα που είναι ακόμα υπό μελέτη.

Η θερμική καταπόνηση για μεγάλες χρονικές περιόδους μειώνει την παραγωγικότητα των ζώων και επηρεάζει επιπλέον χαρακτηριστικά που είναι σημαντικά για την κτηνοτροφία. Με την επιδείνωση της κλιματικής αλλαγής και τη υπερθέρμανσης του πλανήτη, η κτηνοτροφία θα ζημιωθεί. Για τον λόγο αυτό τα ζώα οικονομικού ενδιαφέροντος (βοοειδή) είναι το κέντρο των περισσότερων ερευνών.



**Εικόνα 12:** Πλήθος επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής στην κτηνοτροφία (προσαρμογή στα ελληνικά) (Sejian et al. 2018).

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 12 τα ζώα βόσκησης υφίστανται πλήθος επιδράσεων οι οποίες πρέπει να μελετηθούν ταυτόχρονα για να γίνει κατανοητή σε βάθος η προσαρμοστική ικανότητα τους. Ο σχεδιασμός μοντέλων και στρατηγικών που επικεντρώνονται στην αναπαραγωγή ζώων με μεγαλύτερη θερμοανθεκτικότητα αναζητούνται κυρίως αυτήν την εποχή. Οι στρατηγικές αναπαραγωγής πρέπει να εξασφαλίζουν την ανάπτυξη ζωικών φύλων που εκτός από μεγάλη ανοχή στην υπερθερμία πρέπει έχουν επιπλέον ανοχή στην λειψυδρία. Επίσης, πρέπει να διασφαλιστεί η διατήρηση της παραγωγικότητας και η χαμηλή εκπομπή μεθανίου από τα νέα φύλα. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τον εντοπισμό βιολογικών δεικτών ειδικών για κάθε είδος οι οποίοι θα συμπεριληφθούν στα προγράμματα αναπαραγωγής που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας HSP70 έχουν χαρακτηριστεί ως βιοδείκτες του στρες (Hassan et al. 2019), καθώς είναι οι HSPs που έχουν μελετηθεί εκτενέστερα σε σχέση με τις HSP40, και θα ήταν καλός στόχος για τις στρατηγικές. Επιπροσθέτως, είναι απαραίτητη η δοκιμή των σχετικών ειδών σε κλιματολογικές συνθήκες που πιθανόν να εκτεθούν στο μέλλον (Sejian et al. 2018).

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των πρωτεϊνικών αλληλουχιών μεταξύ των δύο ομάδων οργανισμών δεν έδειξαν πρωτεΐνες της οικογένειας HSP40 που να διαφέρουν σε πολύ μεγάλο βαθμό. Σε σχέση με τις υπόλοιπες, η πρωτεΐνη με το μεγαλύτερο ποσοστό διαφοράς είναι η DNAJB7 (17%) ακολουθούμενη από την DNAJA3 (10%). Η DNAJB7 είναι μία πρωτεΐνη που δεν έχει μελετηθεί εκτενώς καθώς υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες για την δομή της και για την λειτουργία της ως μοριακή συνοδός στη βάση δεδομένων της UniProt. Συνεπώς είναι αναγκαία η περαιτέρω μελέτη της ως προς την λειτουργικότητά της για την απόκτηση γνώσεων που θα χρησιμοποιηθούν για την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στον εγκλιματισμό.

Κλείνοντας, τα παραπάνω αποτελέσματα για τις πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης HSP40 μπορούν να εφαρμοστούν κυρίως σε ζώα εκτροφής τα οποία παρουσιάζουν το μεγαλύτερο οικονομικό ενδιαφέρον. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να γίνει μία σύγκριση των ακολουθιών των αντίστοιχων πρωτεϊνών ανάμεσα στα ζώα του ίδιου είδους που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα με αυτά που είναι ευαίσθητα στην ίδια θερμική καταπόνηση. Με



αυτόν τον τρόπο πιθανότατα θα γίνει πιο κατανοητή η έκφραση και η λειτουργικότητα των πρωτεϊνών θερμικής καταπόνησης.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Akimov, Vyacheslav, Inigo Barrio-Hernandez, Sten V. F. Hansen, Philip Hallenborg, Anna-Kathrine Pedersen, Dorte B. Bekker-Jensen, Michele Puglia, et al. 2018. "UbiSite Approach for Comprehensive Mapping of Lysine and N-Terminal Ubiquitination Sites." *Nature Structural & Molecular Biology* 25 (7): 631–40. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0084-y>.

Alderson, Thomas Reid, Jin Hae Kim, and John Lute Markley. 2016. "Dynamical Structures of Hsp70 and Hsp70-Hsp40 Complexes." *Structure* 24 (7): 1014–30. <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.05.011>.

Alhussien, Mohanned Naif, and Ajay Kumar Dang. 2018. "Impact of Different Seasons on the Milk Somatic and Differential Cell Counts, Milk Cortisol and Neutrophils Functionality of Three Indian Native Breeds of Cattle." *Journal of Thermal Biology* 78 (December): 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.08.020>.

Baliga, N. S. 2008. "SYSTEMS BIOLOGY: The Scale of Prediction." *Science* 320 (5881): 1297–98. <https://doi.org/10.1126/science.1159485>.

Bateman, Alex. 2019. "UniProt: A Worldwide Hub of Protein Knowledge." *Nucleic Acids Research* 47 (D1): D506–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.

Braschi, Bryony, Paul Denny, Kristian Gray, Tamsin Jones, Ruth Seal, Susan Tweedie, Bethan Yates, and Elspeth Bruford. 2019. "Genenames.Org: The HGNC and VGNC Resources in 2019." *Nucleic Acids Research* 47 (D1): D786–92. <https://doi.org/10.1093/nar/gky930>.

Caplan, A J, D M Cyr, and M G Douglas. 1993. "Eukaryotic Homologues of Escherichia Coli DnaJ: A Diverse Protein Family That Functions with Hsp70 Stress Proteins." *Molecular Biology of the Cell* 4 (6): 555–63. <https://doi.org/10.1091/mbc.4.6.555>.

Cheetham, Michael E., and Avrom J. Caplan. 1998. "Structure, Function and Evolution of DnaJ: Conservation and Adaptation of Chaperone Function." *Cell Stress & Chaperones* 3 (1): 28–36.

Chen, Ting, Tiehao Lin, Hongmei Li, Ting Lu, Jiayi Li, Wen Huang, Hongyan Sun, et al. 2018. "Heat Shock Protein 40 (HSP40) in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*): Molecular Cloning, Tissue Distribution and Ontogeny, Response to Temperature, Acidity/Alkalinity and Salinity Stresses, and Potential Role in Ovarian Development." *Frontiers in Physiology* 9 (December): 1784. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01784>.

Chen, Zhongqi, Anthony P. Farrell, Amanda Matala, and Shawn R. Narum. 2018. "Mechanisms of Thermal Adaptation and Evolutionary Potential of Conspecific Populations to Changing Environments." *Molecular Ecology* 27 (3): 659–74. <https://doi.org/10.1111/mec.14475>.

Chernikov, A. V., S. V. Gudkov, I. N. Shtarkman, and V. I. Bruskov. 2007. "[Oxygen effect in heat-mediated damage to DNA]." *Biofizika* 52 (2): 244–51.

Collier, Robert J., Kifle Gebremedhin, Antoni R. Macko, and Kajal Sankar Roy. 2012. "Genes Involved in the Thermal Tolerance of Livestock." In *Environmental Stress and Amelioration in Livestock Production*, edited by Veerasamy Sejian, S.M.K. Naqvi, Thaddeus Ezeji, Jeffrey Lakritz, and Rattan Lal, 379–410. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-29205-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-642-29205-7_14).

Cyr, Douglas M., Thomas Langer, and Michael G. Douglas. 1994. "DnaJ-like Proteins: Molecular Chaperones and Specific Regulators of Hsp70." *Trends in Biochemical Sciences* 19 (4): 176–81. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(94\)90281-X](https://doi.org/10.1016/0968-0004(94)90281-X).

Cyr, Douglas M., and Carlos H. Ramos. 2015. "Specification of Hsp70 Function by Type I and Type II Hsp40." In *The Networking of Chaperones by Co-Chaperones*, edited by Gregory Lloyd Blatch and Adrienne Lesley Edkins, 78:91–102. Cham: Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-11731-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-11731-7_4).

De Maio, Antonio, M. Gabriella Santoro, Robert M. Tanguay, and Lawrence E. Hightower. 2012. "Ferruccio Ritossa's Scientific Legacy 50 Years after His Discovery of the Heat Shock Response: A New View of Biology, a New Society, and a New Journal." *Cell Stress & Chaperones* 17 (2): 139–43. <https://doi.org/10.1007/s12192-012-0320-z>.

Fan, Chun-Yang, Soojin Lee, and Douglas M. Cyr. 2003. "Mechanisms for Regulation of Hsp70 Function by Hsp40." *Cell Stress & Chaperones* 8 (4): 309–16. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2003\)008<0309:mfroh>2.0.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2003)008<0309:mfroh>2.0.co;2).

Fernández-Fernández, María Rosario, and José María Valpuesta. 2018. "Hsp70 Chaperone: A Master Player in Protein Homeostasis." *F1000Research* 7 (September): 1497. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15528.1>.

Gething, Mary-Jane. 1997. *Guidebook to Molecular Chaperones and Protein-Folding Catalysts*. OUP/Sambrook and Tooze Publications.

Griffith, Alijah A., and William Holmes. 2019. "Fine Tuning: Effects of Post-Translational Modification on Hsp70 Chaperones." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (17): 4207. <https://doi.org/10.3390/ijms20174207>.

- Gupta, Mahesh, Sachin Kumar, S Dangi, and Babu Jangir. 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. Ulrich, Andreas Bracher, and Manajit Hayer-Hartl. 2011. "Molecular Chaperones in Protein Folding and Proteostasis." *Nature* 475 (7356): 324–32. <https://doi.org/10.1038/nature10317>.
- Hassan, Faiz-ul, Ayesha Nawaz, Muhammad S. Rehman, Muhammad A. Ali, Syed M.R. Dilshad, and Chengjian Yang. 2019. "Prospects of HSP70 as a Genetic Marker for Thermo-Tolerance and Immuno-Modulation in Animals under Climate Change Scenario." *Animal Nutrition* 5 (4): 340–50. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.06.005>.
- Jetz, Walter, Jana M. McPherson, and Robert P. Guralnick. 2012. "Integrating Biodiversity Distribution Knowledge: Toward a Global Map of Life." *Trends in Ecology & Evolution* 27 (3): 151–59. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.09.007>.
- Kostenko, Sergiy, Karin Lægreid Jensen, and Ugo Moens. 2014. "Phosphorylation of Heat Shock Protein 40 (Hsp40/DnaJB1) by Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinase 5 (MK5/PRAK)." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 47 (February): 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.11.004>.
- Kozany, Christian, Dejana Mokranjac, Martin Sichtung, Walter Neupert, and Kai Hell. 2004. "The J Domain-Related Cochaperone Tim16 Is a Constituent of the Mitochondrial TIM23 Preprotein Translocase." *Nature Structural & Molecular Biology* 11 (3): 234–41. <https://doi.org/10.1038/nsmb734>.
- Larsen, Sara C., Kathrine B. Sylvestersen, Andreas Mund, David Lyon, Meeli Mullari, Maria V. Madsen, Jeremy A. Daniel, Lars J. Jensen, and Michael L. Nielsen. 2016. "Proteome-Wide Analysis of Arginine Monomethylation Reveals Widespread Occurrence in Human Cells." *Science Signaling* 9 (443): rs9–rs9. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaf7329>.
- Larsson, Anders. 2014. "AliView: A Fast and Lightweight Alignment Viewer and Editor for Large Datasets." *Bioinformatics (Oxford, England)* 30 (22): 3276–78. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>.
- Li, Zihai, and Pramod Srivastava. 2003. "Heat-Shock Proteins." *Current Protocols in Immunology* 58 (1). <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima01ts58>.
- Martinez-Yamout, Maria, Glen B. Legge, Owen Zhang, Peter E. Wright, and H.Jane Dyson. 2000. "Solution Structure of the Cysteine-Rich Domain of the Escherichia Coli Chaperone Protein DnaJ." *Journal of Molecular Biology* 300 (4): 805–18. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3923>.

Morgner, Nina, Carla Schmidt, Victoria Beilsten-Edmands, Ima-obong Ebong, Nisha A. Patel, Eugenia M. Clerico, Elaine Kirschke, et al. 2015. "Hsp70 Forms Antiparallel Dimers Stabilized by Post-Translational Modifications to Position Clients for Transfer to Hsp90." *Cell Reports* 11 (5): 759–69. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.063>.

Naylor, Dean J., and F.-Ulrich Hartl. 2001. "Contribution of Molecular Chaperones to Protein Folding in the Cytoplasm of Prokaryotic and Eukaryotic Cells." Edited by Alan Berry and Sheena E. Radford. *Biochemical Society Symposia* 68 (August): 45–68. <https://doi.org/10.1042/bss0680045>.

Ohtsuka, Kenzo, and Mami Hata. 2000. "Mammalian HSP40/DNAJ Homologs: Cloning of Novel cDNAs and a Proposal for Their Classification and Nomenclature." *Cell Stress & Chaperones* 5 (2): 98–112.

Qiu, X. -B., Y. -M. Shao, S. Miao, and L. Wang. 2006. "The Diversity of the DnaJ/Hsp40 Family, the Crucial Partners for Hsp70 Chaperones." *Cellular and Molecular Life Sciences* 63 (22): 2560–70. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6192-6>.

Richter, Klaus, Martin Haslbeck, and Johannes Buchner. 2010. "The Heat Shock Response: Life on the Verge of Death." *Molecular Cell* 40 (2): 253–66. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.10.006>.

Ritossa, F. 1962. "A New Puffing Pattern Induced by Temperature Shock and DNP in *Drosophila*." *Experientia* 18 (12): 571–73. <https://doi.org/10.1007/BF02172188>.

Roskov, Y., G. Ower, T. Orrell, D. Nicolson, N. Bailly, P.M. Kirk, T. Bourgoin, et al. 2019. "Species 2000 & ITIS Catalogue of Life," 2019 Annual Checklist, Catalogue Of Life, . <http://www.catalogueoflife.org/>.

Sejian, V., R. Bhatta, J. B. Gaughan, F. R. Dunshea, and N. Lacetera. 2018. "Review: Adaptation of Animals to Heat Stress." *Animal* 12 (s2): s431–44. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001945>.

Shamovsky, I., and E. Nudler. 2008. "New Insights into the Mechanism of Heat Shock Response Activation." *Cellular and Molecular Life Sciences* 65 (6): 855–61. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7458-y>.

Smedley, Damian, Syed Haider, Steffen Durinck, Luca Pandini, Paolo Provero, James Allen, Olivier Arnaiz, et al. 2015. "The BioMart Community Portal: An Innovative Alternative to Large, Centralized Data Repositories." *Nucleic Acids Research* 43 (W1): W589-598. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv350>.

Stetler, R. Anne, Yu Gan, Wenting Zhang, Anthony K. Liou, Yanqin Gao, Guodong Cao, and Jun Chen. 2010. "Heat Shock Proteins: Cellular and Molecular Mechanisms in the CNS." *Progress in Neurobiology* 92 (2): 184–211. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.05.002>.

- Sunday, Jennifer M., Amanda E. Bates, and Nicholas K. Dulvy. 2012. "Thermal Tolerance and the Global Redistribution of Animals." *Nature Climate Change* 2 (9): 686–90. <https://doi.org/10.1038/nclimate1539>.
- Szabo, A., R. Korszun, F. U. Hartl, and J. Flanagan. 1996. "A Zinc Finger-like Domain of the Molecular Chaperone DnaJ Is Involved in Binding to Denatured Protein Substrates." *The EMBO Journal* 15 (2): 408–17. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00371.x>.
- Tewksbury, J. J., R. B. Huey, and C. A. Deutsch. 2008. "ECOLOGY: Putting the Heat on Tropical Animals." *Science* 320 (5881): 1296–97. <https://doi.org/10.1126/science.1159328>.
- Tsai, Chia-Feng, Yi-Ting Wang, Hsin-Yung Yen, Chih-Chiang Tsou, Wei-Chi Ku, Pei-Yi Lin, Hsuan-Yu Chen, Alexey I. Nesvizhskii, Yasushi Ishihama, and Yu-Ju Chen. 2015. "Large-Scale Determination of Absolute Phosphorylation Stoichiometries in Human Cells by Motif-Targeting Quantitative Proteomics." *Nature Communications* 6 (1): 6622. <https://doi.org/10.1038/ncomms7622>.
- Tutar, Lutfi, and Yusuf Tutar. 2010. "Heat Shock Proteins; An Overview." *Current Pharmaceutical Biotechnology* 11 (2): 216–22. <https://doi.org/10.2174/138920110790909632>.
- V. Rajan, Vinoth Babu, and Patrick D'Silva. 2009. "Arabidopsis Thaliana J-Class Heat Shock Proteins: Cellular Stress Sensors." *Functional & Integrative Genomics* 9 (4): 433–46. <https://doi.org/10.1007/s10142-009-0132-0>.
- Vabulas, R. M., S. Raychaudhuri, M. Hayer-Hartl, and F. U. Hartl. 2010. "Protein Folding in the Cytoplasm and the Heat Shock Response." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2 (12): a004390–a004390. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004390>.
- Velasco, Lorea, Leire Dublang, Fernando Moro, and Arturo Muga. 2019. "The Complex Phosphorylation Patterns That Regulate the Activity of Hsp70 and Its Cochaperones." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (17). <https://doi.org/10.3390/ijms20174122>.
- Walther, Gian-Reto, Eric Post, Peter Convey, Annette Menzel, Camille Parmesan, Trevor J. C. Beebee, Jean-Marc Fromentin, Ove Hoegh-Guldberg, and Franz Bairlein. 2002. "Ecological Responses to Recent Climate Change." *Nature* 416 (6879): 389–95. <https://doi.org/10.1038/416389a>.
- Whitley, David, Steven P. Goldberg, and William D. Jordan. 1999. "Heat Shock Proteins: A Review of the Molecular Chaperones." *Journal of Vascular Surgery* 29 (4): 748–51. [https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(99\)70329-0](https://doi.org/10.1016/S0741-5214(99)70329-0).
- Yates, Andrew D, Premanand Achuthan, Wasiu Akanni, James Allen, Jamie Allen, Jorge Alvarez-Jarreta, M Ridwan Amode, et al. 2019. "Ensembl 2020." *Nucleic Acids Research*, November, gkz966. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz966>.

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ADP: Adenosine Diphosphate

ATP: Adenosine Triphosphate

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

CR: Cysteine Rich

CTDI & CTDII: Carboxyl – terminal Domain I & II

DNAJA1: DnaJ homolog subfamily A member 1

DNAJA2: DnaJ homolog subfamily A member 2

DNAJA3: DnaJ homolog subfamily A member 3

DNAJA4: DnaJ homolog subfamily A member 4

DNAJB1: DnaJ homolog subfamily B member 1

DNAJB2: DnaJ homolog subfamily B member 2

DNAJB3: DnaJ homolog subfamily B member 3

DNAJB4: DnaJ homolog subfamily B member 4

DNAJB5: DnaJ homolog subfamily B member 5

DNAJB6: DnaJ homolog subfamily B member 6

DNAJB7: DnaJ homolog subfamily B member 7

DNAJB8: DnaJ homolog subfamily B member 8

DNAJB9: DnaJ homolog subfamily B member 9

DNAJB11: DnaJ homolog subfamily B member 11

DNAJB12: DnaJ homolog subfamily B member 12

DNAJB13: DnaJ homolog subfamily B member 13

DNAJB14: DnaJ homolog subfamily B member 14

FTP: File Transfer Protocol

HPD: Histidine – Proline – Aspartic Acid

HSE: Heat Shock Element

HSF(s): Heat Shock Factor(s)

HSP(s): Heat Shock Protein(s)

NBD: Nucleotide Binding Domain

NCBI: National Center for Biotechnology Information

NEF: Nucleotide Exchange Factor

Pi: Inorganic Phosphate

PTM(s): Post – Translational Modification

SBD: Substrate Binding Domain

SE: Standard Error

ZFLR: Zinc Finger –Like Region

## ΤΥΠΟΙ

$$[1] SE = \sqrt{p * (1 - p) * [(1/n1) + (1/n2)]}$$

$$[2] p = (p1 * n1 + p2 * n2) / (n1 + n2)$$

$$[3] z = (p1 - p2) / SE$$