LA TEORIA ENDOSIMBIÒTICA DE LYNN MARGULIS

AGRAÏMENTS

Als meus tutors per guiar-me i ajudar-me en el que ha calgut.

A la meva mare per la seva paciència i per ensenyar-me
el procediment de com fer un treball de recerca.

A Marcel Costa, Mar Carrió i Sílvia Lope, professors de la UPF,
per proporcionar-me les eines necessàries per realitzar el meu treball.

Als meus companys, per recordar-me que tot i que s'acostava la data d'entrega,
ells es trobaven en la mateixa situació que jo.

ÍNDEX DE CONTINGUTS

INTRODUCCIÓ…….....….1

CONCEPTES PREVIS SOBRE LA CÈL·LULA

1. LA CÈL·LULA.....2
   1.1 Éssers unicel·lulars i éssers pluricel·lulars.....2
   1.2 Cèl·lula procariota i cèl·lula eucariota.....2
      1.2.1 Cèl·lula procariota.....2
      1.2.2 Cèl·lula eucariota.....3
         1.2.2.1 Diferències entre la cèl·lula animal i la cèl·lula vegetal.....4

LA TEORIA ENDOSIMBIÒTICA

1. TEORIA ENDOSIMBIÒTICA DE LA LYNN MARGULIS.....5
   1.1 Biografia Lynn Margulis.....5
   1.2 Teories anteriors a la teoria endosimbiòtica de la Lynn Margulis.....5
2. ORGÀNULS IMPLICATS EN LES INCORPORACIONS SIMBIOGENÈTIQUES: MITOCONDRIS I CLOROPLASTS.....7
   2.1 Mitocondris.....7
   2.2 Cloroplasts.....8
3. LA TEORIA ENDOSIMBIÒTICA.....9
   3.1 Primera incorporació simbiogenètica.....9
      3.1.1 Discrepàncies.....10
   3.2 Segona incorporació simbiogenètica.....11
   3.3 Tercera incorporació simbiogenètica.....12
   3.4 Arguments a favor.....12
   3.5 Arguments en contra.....14
   3.6 Quadre resum dels orgànuls simbionts.....15

FASE EXPERIMENTAL

4. CONEIXEMENTS PRÈVIS: CONCEPTES BÀSICS DE GENÈTICA.....17
   4.1 Àcids nucleics.....17
   4.2 Els gens.....18
   4.3 El genoma.....19
5. ORGANISMES ESCOLLITS.....20
   5.1 Arqueobacteris.....20
      5.1.1 Methanocaldococcus jannaschii.....21
      5.1.2 *Pyrococcus horikoshii*.....21
   5.2 Eubacteris.....22
      5.2.1 *Escherichia coli*.....22

5.2.2 Thermus thermophilus HB8.....23
5.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*.....24
5.2.4 Staphylococcus aureus.....24
5.2.5 *Helicobacter pylori*.....25
5.2.6 Sinorhizobium meliloti.....25
5.3 Eucariotes.....25
5.3.1 *Homo sapiens*.....26
5.3.2 *Mus musculus*.....27
5.3.3 *Arabidopsis thaliana*.....27
5.3.4 Drosophila melanogaster.....28
5.3.5 Rattus norvegicus.....28
5.3.6 Danio rerio.....29
5.3.7 *Xenopus tropicalis*.....29
5.3.8 Candida tropicalis.....30
6. SELECCIÓ DELS GENS A COMPARAR: L'AMINOACIL-ARNT SINTETASA.....31
6.1 Funció.....31
6.2 Importància evolutiva.....32
6.3 Aminoacil-ARNt sintetases amb les que treballaré.....32
7. EXPERIMENTACIÓ.....33
8. GENBANK.....34
8.1 Obtenció de seqüències.....34
8.2 FASTA.....36
8.3 Seqüències obtingudes.....37
9. COMPARACIÓ DE SEQÜÈNCIES: EL CLUSTAL.....39
9.1 Alineaments.....39
9.2 Clustal Omega.....39
9.3 Resultats obtinguts.....40
9.4 Interpretació dels resultats.....42
9.4.1 Interpretació dels resultats del gen fenilalanina-ARNt sintetasa.....42
9.4.2 Interpretació dels resultats del gen glutamina-ARNt sintetasa.....43
10. CONCLUSIONS.....45
BIBLIOGRAFIA.....47

Introducció

Quan vaig començar a plantejar-me el tema per el meu treball de recerca tenia clar que seria sobre algun tema relacionat amb la biologia. La primera idea que tenia era fer-lo sobre alguna malaltia. Però una sèrie de factors van fer-me desdir.

El primer va ser que a l'estiu de fa dos anys vaig anar durant una setmana a la UPF de Barcelona a fer un curs sobre biologia molecular. Allà vaig aprendre com funcionava el procés de seqüenciació de l'ADN passant per la seva extracció de la cèl·lula, l'amplificació a través de la tècnica de la PCR i la de l'electroforesi. També em van proporcionar diverses pàgines web com el Genbank i el Clustal per l'anàlisi de les seqüències genòmiques. Per últim em van ensenyar a interpretar el resultat del laboratori, a obtenir-ne conclusions i a saber-les comunicar.

El segon va ser que un dia buscant a la biblioteca de casa vaig trobar un llibre de la Lynn Margulis, "El origen de la cèl·lula", on explicava la teoria Endosimbiòtica. Durant l'estiu, vaig poder llegir pas a pas com la seva autora va arribar a enunciar-la tal i com la coneixem actualment i vaig poder acabar d'entendre moltes de les coses que ja havíem estudiat prèviament a classe.

Aleshores va ser quan vaig decidir que el tema del meu treball seria verificar la teoria Endosimbiòtica de la Lynn Margulis. Des de casa i mitjançant els programes informàtics dels que disposava podria comprovar si les cèl·lules eucariotes provenen d'una simbiosi entre arqueobacteris[1] i eubacteris[2]. Si comparo seqüències d'alguns gens escollits de organismes de diferents regnes i realitzo un arbre filogenètic puc saber la relació evolutiva entre els diversos organismes.

El treball tindrà un gran component teòric perquè engloba moltes parts de la ciència: l'evolució, la biologia molecular, la taxonomia, la genètica i la bioinformàtica. Això el farà molt extens, però em podrà fer entrar en moltes d'aquestes branques que per a mi són desconegudes, la qual cosa possiblement em suposarà molta dedicació a la recerca d'aquesta informació i a resumir-la per fer-la entenedora.

La part experimental del treball estarà relacionada amb la bioinformàtica i la filogenètica. Serà la que em permetrà obtenir els meus resultats per una via diferent a la que va seguir l'autora de la teoria, ja que ella no disposava d'aquests mitjans.

[1] Arqueobacteris: explicats amb més detall a l'apartat 2.1 del capítol de Bioinformàtica.

[2] Eubacteris: explicats més detalladament a l'apartat 2.2 del capítol de Bioinformàtica

CONCEPTES PREVIS SOBRE LA CÈL·LULA

1. La cèl·lula

Les cèl·lules són la unitat de vida més petita que existeix ja que fan les tres funcions vitals: la nutrició, la reproducció i la relació.

1.1 Éssers unicel·lulars i éssers pluricel·lulars

Segons el nombre de cèl·lules que té un ésser viu distingim entre:

- Éssers unicel·lulars: Són aquells organismes formats per una única cèl·lula. Aquests éssers són els bacteris, els protozous i alguns fongs com els llevats.

- Éssers pluricel·lulars: Són aquells que estan constituïts per més d'una cèl·lula. Les cèl·lules solen estan diferenciades, és a dir, estan especialitzades per fer diverses funcions. Aquests éssers vius són les plantes, els animals, les algues i la major part dels fongs.

1.2 Cèl·lula procariota i cèl·lula eucariota

Distingim entre dos grans grups de cèl·lules:

1.2.1 Cèl·lula procariota

Són aquelles cèl·lules més primitives que formen els bacteris i els cianobacteris.

Aquesta cèl·lula està envoltada per una membrana cel·lular que la protegeix i li dona forma. Al seu interior hi trobem ribosomes (explicats a l'apartat 1.2.2) i mesosomes (replegaments de la membrana cel·lular) com a únics orgànuls. A més a més, hi trobem el seu ADN circular i bicatenari dispers, ja que aquest tipus de cèl·lula no té nucli diferenciat. Tenen una divisió simple i binària.

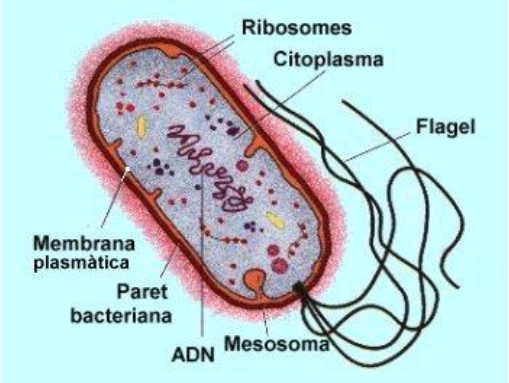


Fig. 1 Components de la cèl·lula procariota

1.2.2 Cèl·lula eucariota

Són aquelles cèl·lules que formen els teixits d'animals, plantes, fongs i protoctists. Formades per la membrana citoplasmàtica, el citoplasma i un nucli diferenciat que conté varies cadenes de ADN lineal i bicatenari que es pot condensar i formar cromosomes. Presenten una divisió per mitosi (cèl·lules somàtiques) o meiosi (cèl·lules reproductores). En el citoplasma contenen diversos orgànuls:

- **Ribosomes:** són partícules globulars formades per proteïnes i ARNr[3]. Els troben dispersos pel citoplasma o bé adherits al reticle endoplasmàtic rugós. La seva funció és sintetitzar proteïnes.

- **Vacúols:** són vesícules envoltades per una membrana. Dins seu s'emmagatzemen substàncies no enzimàtiques de rebuig o de reserva. Intervenen en processos osmòtics, per això també emmagatzemen aigua.

- **Reticle endoplasmàtic:** és un sistema membranós format per sàculs i túbuls interconnectats entre si mateixos. Presenta continuïtat amb la membrana nuclear. Aquest orgànul té dues funcions: per una banda, en el reticle endoplasmàtic rugós s'emmagatzemen i es transporten les proteïnes prèviament sintetitzades als ribosomes. Per altre banda, en el reticle endoplasmàtic llis es sintetitzen, transporten i emmagatzemen lípids.

- **Aparell de Golgi:** conjunt format per cisternes discoïdals i vesícules de secreció. Les vesícules estan plenes de substàncies que poden ser de dos tipus: lisosomes (explicats seguidament) o vesícules de secreció (es dirigeixen a la membrana per abocar el seu contingut, unint-s'hi i fent-la regenerar o bé créixer). La seva funció és controlar el transport molecular dins la cèl·lula: dur a terme el transport, maduració, emmagatzematge i secreció de proteïnes que provenen del reticle endoplasmàtic. També sintetitza i uneix substàncies (glicoproteïnes, lipoproteïnes) que formaran part de la membrana plasmàtica. També dur a terme la síntesi de glúcids que formaran la paret cel·lular de les cèl·lules vegetals.

- **Lisosomes:** són vesícules formades per una membrana rica en glicoproteïnes. Fan una funció digestiva, per això, contenen enzims digestius al seu interior. En distingim dos tipus: els lisosomes primaris, que són aquells que només contenen els enzims i els lisosomes secundaris, que són aquells que en unir-se a un vacúol que conté matèria orgànica la digereixen.

- **Mitocondris:** Són orgànuls de forma allargada englobats per una doble membrana. Al seu interior, a la matriu, contenen ADN i ribosomes

[3] ARN ribosòmic: És un tipus d'àcid ribonucleic. A l'apartat 1.1 del capítol bioinformàtica s'explica amb més profunditat.

diferents dels citoplasmàtics. Són els encarregats de la respiració cel·lular, és a dir, de proporcionar energia a la cèl·lula que els conté per poder realitzar tots els processos químics necessaris.

- **Cloroplasts:** són orgànuls que només es troben en les cèl·lules vegetals. Pel que fa a la seva forma, són molt versàtils tot i que és representen de forma allargada. Tenen una doble membrana que protegeix i engloba la grana, uns corpuscles apilats que contenen un pigment anomenat clorofil·la. També contenen ribosomes diferents dels citoplasmàtics. Realitzen la fotosíntesi, un procés químic pel qual els éssers vius fotosintètics elaboren matèria orgànica a partir d'aigua, sals minerals, diòxid de carboni (CO_2) i d'energia lumínica.

Hi ha dos tipus de cèl·lules eucariotes: la cèl·lula animal i la cèl·lula vegetal.

1.2.2.1 Diferències entre la cèl·lula animal i la cèl·lula vegetal

La cèl·lula animal forma els animals, els fongs i els protozous i la cèl·lula vegetal forma part del les algues i les plantes.

Pel que fa referència a la membrana cel·lular d'aquestes cèl·lules, tant una com l'altre en posseeixen. Però la cèl·lula vegetal, a més a més, té exteriorment una paret cel·lular de cel·lulosa que la protegeix i li dona forma.

Per altre banda, la cèl·lula vegetal a diferència de la animal conté cloroplasts. Això permet a aquesta cèl·lula dur a terme la fotosíntesi (explicada en el capítol anterior).

Si ens basem en els vacúols, la cèl·lula animal en té varis de petits, en canvi la cèl·lula vegetal en sol tenir un de sol que l'ocupa gairebé tota.

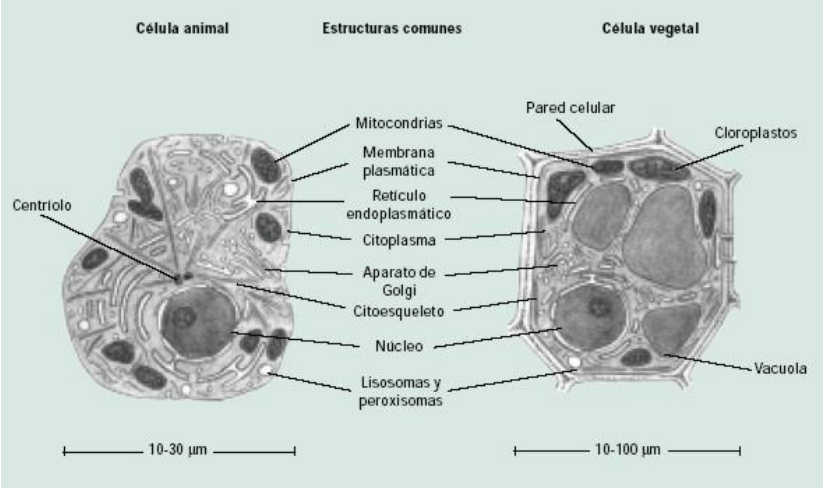


Fig. 2 Components de la cèl·lula eucariota animal i de la cèl·lula eucariota vegetal

LA TEORIA ENDOSIMBIÒTICA

1. Teoria endosimbiòtica de la Lynn Margulis

1.1. Biografia Lynn Margulis

Lynn Margulis, va ser una coneguda biòloga nord-americana i catedràtica de diverses universitats espanyoles i americanes. Va començar estudiant a l'institut públic Hyde Park. Més tard els seus pares la van matricular a l'elitista Escola Laboratori de la Universitat de Chicago tot i que ella va tornar amb els seus companys a l'institut. Finalment, dels setze als vint anys va estar estudiant a la Universitat de Chicago en un programa per alumnes avançats. Allà, va obtenir la llicenciatura en ciències i va conèixer al seu marit Carl Sagan. Va continuar els seus estudis fent un màster de biologia cel·lular i genètica, exercint alhora d'ajudant de professora a la Universitat de Wisconsin. El fet d'ajudar al professor James F. Crow va fer que ella es decantés per la genètica i va fer que conegués diverses teories. Arrel d'això, després de molt temps fent hipòtesis i investigant, l'any 1967 va elaborar la Teoria de l'endosimbiosi seriada i aprofundint en el tema proposa la simbiogènesi.

Fig. 3 Fotografia de Lynn Margulis

La teoria endosimbiòtica planteja l'origen de certs orgànuls de la cèl·lula eucariota, sobretot dels mitocondris i cloroplasts. Aquests havien sigut organismes procariotes de vida lliure que en un moment donat van ser fagocitats per una cèl·lula amb la qual van establir una relació de dependència.

Lynn Margulis també és reconeguda per la hipòtesi Gaia, que va ser ideada per James Lovelock[4] tot i que ella la va recolzar i ampliar.

1.2. Teories anteriors a la teoria endosimbiòtica de la Lynn Margulis

Abans que Lynn Margulis formulés la seva teoria altres científics havien fet descobriments que van permetre a Margulis arribar a plantejar-se i entendre l'aparició de les cèl·lules eucariotes. Aquests són alguns dels més significatius:

[4] James Lovelock és un químic anglès que va elaborar la Hipòtesi Gaia. Aquesta explica com la Terra arriba a un equilibri gràcies a que el clima, la geologia i la vida s'autoregulen mitjançant processos bioquímics.

- El 1879, Anton de Bary observant líquens va descobrir que aquest no era un sol organisme sinó que es tractava de una relació tròfica[5] entre una alga i un fong en el qual els dos en sortien beneficiats, és llavors quan estableix el terme simbiosis per referir-se a aquesta unió.

- L'any 1883, Andreas Schimper, un botànic francès, va proposar que la capacitat que tenen les cèl·lules per dur a terme la fotosíntesis podien provenir dels cianobacteris.

- El rus Kostantin S. Merezhovsky, l'any 1909, va fer una hipòtesis que deia que els cloroplasts tenien un origen basat en processos simbiòtics. Va ser un dels primers en proposar l'origen simbiòtic que tenen les cèl·lules eucariotes, tot i l'error de creure que el nucli de les cèl·lules també provenia d'un bacteri de vida lliure. A més a més va ser el primer en proposar la simbiogènesi, segons el qual els organismes sorgien per relacions simbiòtiques entre dos organismes i no pas per la selecció natural com Charles Darwin havia dit anteriorment.

- El 1918, el biòleg Paul Portier va ser el primer en donar una explicació a l'origen dels mitocondris a partir de l'observació dels rizobis, bacteris situats a les arrels de les plantes lleguminoses.

- El 1927, l'anatomista estatunidenc Ivan Wallin va arribar a les mateixes conclusions que Kostantin i va publicar totes les seves teories en el llibre "Simbiosis y el origen de las especies".

Aquests treballs, menyspreats en el seu temps, van mantenir-se oblidats fins que Lynn Margulis basant-se en ells, va formular el 1967 la seva pròpia teoria.

[5] Relació tròfica: Relació d'alimentació que s'estableix entre els éssers vius d'un ecosistema.

2. Orgànuls implicats en les incorporacions simbiogenètiques: Mitocondris i cloroplasts

Tot i que en el treball l'enfocaré en comparar l'ADN mitocondrial amb el del nucli de la cèl·lula en qüestió, cal dir que la teoria és valida tant per mitocondris com per cloroplasts ja que tenen un origen bacterià. Jo em centraré en els mitocondris ja que és un orgànul present en totes les cèl·lules eucariotes a diferència dels cloroplasts que només es troben en les vegetals.

2.1.Mitocondris

Un mitocondri és un orgànul que trobem en totes les cèl·lules eucariotes. La seva funció és produir energia a partir de diverses reaccions químiques, la respiració cel·lular.

És un orgànul que mesura entre 1-10 micròmetres (µm), tot i que se sol representar amb una forma allargada, aquesta és molt variada. Està envoltat per una doble membrana: la més externa és llisa mentre que l'interna està formada per unes crestes membranoses. En aquestes es situen els sistemes enzimàtics que realitzen la respiració cel·lular.

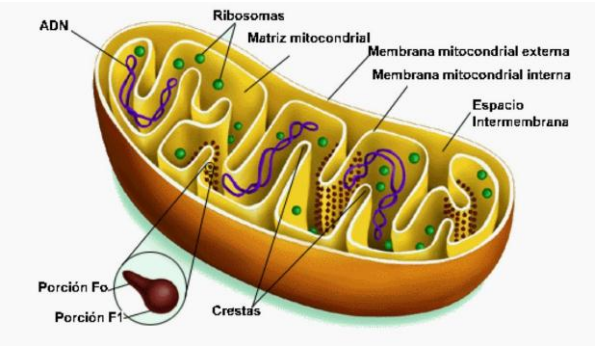


Fig. 4 Components del mitocondri.

A l'interior de la membrana interna, a la matriu, es situen els ribosomes diferents dels citoplasmàtics i l'ADN circular.

Com ja he dit anteriorment obtenen l'energia mitjançant la respiració cel·lular, és a dir, per mitjà de l'oxidació de diverses molècules que la mateixa cèl·lula ha ingerit. Aquestes són les molècules orgàniques que la cèl·lula, mitjançant processos d'hidròlisi[6], degrada per obtenir energia i molècules més senzilles.

L'ADN mitocondrial es caracteritza per tenir tres principis que no segueixen els postulats de la genètica mendeliana: l'herència materna, l'heteroplàsmia (fet que fa que cada cadena de ADN mitocondrial sigui diferent) i la segregació mitòtica (distribució aleatòria dels orgànuls en la cèl·lula).

El nombre de mitocondris d'una cèl·lula depèn del tipus cel·lular, així que si una cèl·lula necessita molta energia, com per exemple les cèl·lules musculars, el nombre d'aquests orgànuls al seu interior serà més elevat.

[6] Hidròlisi: és un procés de trencament d'una molècula, amb participació de l'aigua.

Pel que fa a la seva divisió, es realitza per bipartició (el mitocondri "mare" origina per divisió dos mitocondris "fills" mitjançant un allargament, i posteriorment una divisió per estrangulació), i independentment de la divisió de la cèl·lula.

2.2. Cloroplasts

Els cloroplasts són uns orgànuls presents en les cèl·lules eucariotes vegetals. Mesuren entre 1-10 µm i tenen una forma variable.

Són els orgànuls encarregats de dur a terme la fotosíntesi ja que gràcies als pigments que contenen poden captar l'energia lumínica. El pigment més característic és la clorofil·la, és el que dóna un color verdós característic dels éssers vius que el contenen. També tenen altres pigments, però d'aquests en trobem menys quantitat, com els carotenoides, les xantofil·les i la luteïna.

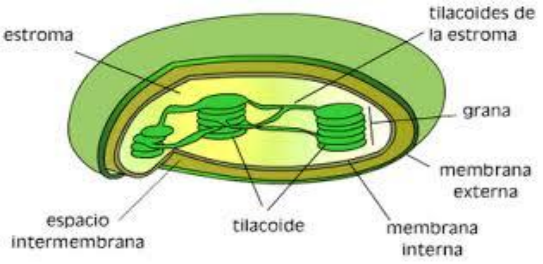


Fig. 5 Components del cloroplast.

Cal dir que aquests orgànuls, com els mitocondris realitzen la divisió independentment de la cèl·lula que els conté.

3. La teoria endosimbiòtica

Fa 3500 milions d'anys la Terra tenia unes condicions molt variables i inestables, i estava habitada per una gran quantitat de bacteris que tenien diversos metabolismes per tal d'obtenir nutrients i energia com fos possible. Els bacteris que sobrevivien eren capaços de resistir aquelles condicions. En aquest període es van produir relacions simbiòtiques entre ells per poder aconseguir un tant per cent més elevat de supervivència. De la relació entre ells n'obtenien un benefici que els permetia assegurar una mica més la seva supervivència.

La teoria endosimbiòtica seriada proposada per Lynn Margulis, que intenta explicar aquestes relacions entre els bacteris, consta de quatre incorporacions simbiogenètiques, tot i que només tres d'elles són acceptades actualment. Aquestes incorporacions són els passos per passar d'una cèl·lula procariota a una cèl·lula eucariota, que evidentment és una seqüència continua en el temps.

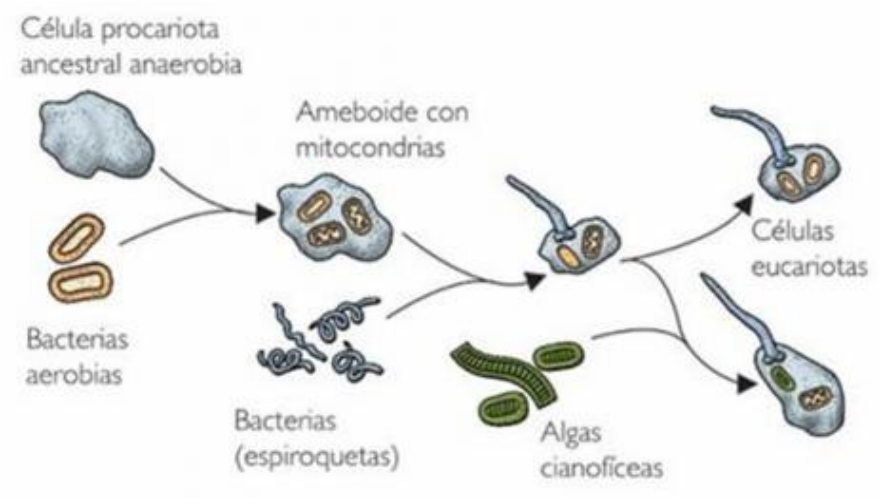


Fig. 6 Esquema de la teoria endosimbiòtica.

3.1. Primera incorporació simbiogenètica

"En primer lugar, un tipo de bacteria amante del dióxido de carbono y del calor, llamada arqueobacteria anaerobia (o termoacidófila), se fusionó con una bacteria, nadadora. Juntos, los dos Componentes integrados de la fusión se convirtieron en el nucleocitoplasma, la sustancia base de los ancestros de las células animales, vegetales y fúngicas. Este temprano, protista nadador era, como sus descendientes actuales, un organismo anaerobio. Envenenado por el oxígeno, vivía en arenas y lodos donde abundaba la materia orgánica, en grietas de las rocas, en charcos y estanques donde este elemento estaba ausente o era escaso."

MARGULIS, Lynn. *Una revolución en la evolución*. Cap.: *Individualidad por incorporación.*

“De acuerdo con mi teoría, las espiroquetas formaron asociaciones con protistas heterotróficos. Las espiroquetas se adhirieron a la superficie de sus protistas hospedadores con el fin de aprovechar el alimento excretado a través de la membrana externa de estos últimos. Al cabo del tiempo las espiroquetas, gracias a su movimiento ondulante, comenzaron a propulsar a los hospedadores a través del medio acuoso.”

MARGULIS, Lynn. *El origen de la célula.* Cap.: *Un nuevo tipo de células*. Pàg-92

En una atmosfera primitiva sense oxigen era present un metabolisme heteròtrof fermentador. Els arqueobacteris presents obtenien l’energia fermentant molècules orgàniques complexes. D’aquesta manera obtenien molècules orgàniques senzilles i CO2.

En aquest ambient es produeix la primera incorporació. Aquesta és la fusió entre un arqueobacteri fermentador o termoacidòfil[7] i una espiroqueta. La primera produeix energia a partir de compostos del sofre en una atmosfera sense oxigen i la segona és un bacteri nadador. Aquesta unió fa que les seves característiques es sumin de tal manera que adquireixen un valor major. L’arqueobacteri adquireix mobilitat gràcies a l’espiroqueta el que li permet accedir més fàcilment a la matèria orgànica. El resultat va donar lloc a la primera cèl·lula eucariota i el primer ancestre pluricel·lular (dues cèl·lules).

A aquestes característiques inicials de cada cèl·lula s’hi va sumar una nova morfologia. L’ADN de l’arqueobacteri va quedar envoltat per dues membranes. L’exterior de l’espiroqueta i la interior de l’arqueobacteri que esdevindria amb el temps com a membrana nuclear.

Aquesta primera incorporació explicaria l’existència de cèl·lules d’animals, plantes i fongs amb flagel, que és el que els permet la mobilitat en un medi aquàtic.

3.1.1. Discrepàncies

Actualment encara hi ha discrepàncies sobre aquesta etapa bàsicament en la part en que explica l’adquisició de la mobilitat. Fins i tot Margulis en el seu temps va admetre que és la part de la seva teoria que té més dificultats per defensar. El que fa pensar que aquesta part de la teoria no sigui certa és que no hi ha semblances estructurals entre els flagels de les cèl·lules procariotes i els de les cèl·lules eucariotes.

[7] Termoacidòfil: Microorganismes que habiten en medis amb una elevada temperatura i un pH àcid extrem.

3.2. Segona incorporació simbiogenètica

"Después de que evolucionara la mitosis en los protistas nadadores, otro tipo de microorganismo de vida libre fue incorporado a la fusión: una bacteria que respiraba oxígeno. Surgieron células todavía más grandes, más complejas. El triplemente complejo respirador de oxígeno (amante del calor y del ácido, nadador y respirador de oxígeno) se volvió capaz de engullir alimento en forma de partículas. Estas células con núcleo, seres complejos y asombrosos que nadaban y respiraban oxígeno, aparecieron por primera vez sobre la Tierra quizá tan pronto como hace unos 2.000 millones de años. Esta segunda fusión, en la que el anaerobio nadador adquirió un respirador de oxígeno, condujo a células con tres componentes cada vez más preparadas para soportar los niveles de dióxido de carbono libre que se acumulaban en el aire. Juntos, el delicado nadador, la arqueobacteria tolerante al calor y al ácido y el respirador de oxígeno, formaban ahora un único y prolífico individuo que produjo nubes de prole."

MARGULIS, Lynn. *Una revolución en la evolución*, Cap.: *Individualidad por incorporación.*

"¿Cómo evolucionaron las mitocondrias en las primeras células eucarióticas? Conforme el oxígeno de la atmosfera aumentaba, surgieron microrganismos no ya fotosintéticos, sino únicamente respiradores, que dependían enteramente del oxígeno para su metabolismo. Yo creo que aquellas bacterias aeróbicas con sistemas respiratorios parecidos a los de las mitocondrias, entablaron una asociación, primero casual, después más estable y finalmente permanente, con bacteria anaeróbicas de mayor tamanyo. Quizás la primera relación entre aeróbicos y anaeróbicos fue la misma que entre depredador y presa. Algunos anaeróbicos desarrollarían tolerancia hacia sus depredadores, que de esta manera se alojarían durante largos periodos en el interior de la célula hospedadora, rica en nutrientes. La tolerancia habría requerido al menos protección del DNA de la célula hospedadora frente al oxigeno que el hospedador aeróbico necesitaba para vivir y crecer. Si esta tesis es correcta, la célula hospedadora habría desarrollado una membrana nuclear para proteger su DNA de los huéspedes venenosos."

MARGULIS, Lynn. *El origen de la cèl·lula,* Cap.: *Un nuevo tipo de células.* Pàg-78

La segona incorporació es basa en la unió entre un organisme amb metabolisme anaeròbic i un organisme amb metabolisme aeròbic. El primer vivia en medis sense oxigen, però aquest cada vegada hi era més present. Aquesta incorporació li va permetre poder utilitzar l'oxigen per obtenir energia. Per a aquest va ser un gran avenç ja que li va permetre viure en medis amb presència d'oxigen com el que actualment estan en contacte amb l'atmosfera terrestre. Aquest organisme que es va endocitar ara l'anomenem mitocondri i peroxisoma presents en les cèl·lules eucariotes. D'aquesta incorporació en són resultat les cèl·lules dels animals, dels fongs i dels protozous.

3.3. Tercera incorporació simbiogenètica

"En la adquisición final de la serie generadora de células complejas, los respiradores de oxígeno engulleron, ingirieron, pero no pudieron digerir bacterias fotosintéticas de color verde brillante. La «incorporación» literal tuvo lugar tras una gran lucha en la que las bacterias verdes no digeridas sobrevivieron y la fusión completa prevaleció. Con el tiempo las bacterias verdes se convirtieron en cloroplastos. Como cuarto miembro, estos productivos amantes del sol se integraron con los demás socios anteriormente independientes. Esta fusión final dio lugar a las algas verdes nadadoras. Estas antiguas algas verdes nadadoras no sólo son los ancestros de las células vegetales actuales; todos sus componentes individuales todavía están vivos y en buena forma, nadando, fermentando y respirando oxígeno."

MARGULIS, Lynn. *Una revolución en la evolución*, Cap.: *Individualidad por incorporación.*

"Una vez que las nuevas células eucarióticas estuvieron bien integradas con sus hospedadores, algunas de las nuevas células eucarióticas adquirieron un nuevo endosimbionte, un procarionte fotosintético, añadiendo de esta manera la fotosíntesis la repertorio de reacciones generadoras de energía de las eucariontes. Dichos simbiontes llegaron a ser completamente dependientes de los hospedadores al igual que las bacterias convertidas en mitocondrias, y con el tiempo, evolucionaron convirtiéndose en plástidos, orgánulos pigmentados rodeados por una membrana que se encuentra en todos los eucariontes fotosintéticos."

MARGULIS, Lynn. *El origen de la cèl·lula,* Cap.: *Un nuevo tipo de células.* Pàg-84

La cèl·lula respiradora obtinguda en la segona incorporació va fagocitar bacteris fotosintètics. Aquests van donar lloc al que actualment coneixem com a cloroplasts. Com a resultat es va obtenir una cèl·lula eucariota capaç de dur a terme la fotosíntesis .

Aquests nous organismes pluricel·lular són els que actualment constitueixen el regne vegetal (les plantes) i una part dels protoctists (les algues).

3.4. Arguments a favor

Hi ha diversos arguments que confirmen que els mitocondris i els cloroplasts van sorgir a través de un procés de endosimbiosi[8] seriada. Aquests arguments són els següents:

- El tamany dels mitocondris és similar al dels eubacteris.

[8] Endosimbiosi: relació entre espècies, en la qual els individus d'una espècie resideixen dins de les cèl·lules de l'altra.

- Els mitocondris contenen un ADN bicatenari circular unit covalentment. Això ens indica que és similar al de una cèl·lula procariota, ja que aquesta conté el mateix tipus de ADN (bicatenari i circular) dispers per el citoplasma.

- Tenen una doble membrana, aquesta ens mostra la idea de fagocitosi[9]. És a dir, la membrana interior correspon a la membrana plasmàtica del bacteri original i la membrana exterior seria la porció que la hauria englobat en una vesícula.

- Tal com les cèl·lules procariotes és divideixen ho fan els mitocondris i els cloroplasts. Aquest procés és anomenat fissió binaria i consisteix en la divisió del ADN seguida de la divisió del citoplasma per poder obtenir dues cèl·lules filles. Les cèl·lules eucariotes per altre banda es divideixen per mitosi.

- Els centres de obtenció d'energia tant en mitocondris com en cloroplasts estan situats a la seva respectiva membrana, igual que succeeix en els eubacteris. A més a més, els tilacoides[10] dels cloroplasts són similars a uns sistemes d'endomembranes que trobem en cianobacteris.

- La síntesis de la majoria de proteïnes tant en mitocondris com en cloroplasts és autònoma, ja que no depèn de l'ADN del nucli o orgànul diferent per a realitzar-la.

- En els mitocondris i cloroplasts hi trobem ribosomes 70s característics dels procariotes, per altre banda, les cèl·lules eucariotes contenen ribosomes 80s.

- Hi ha molt poca diferència entre ARNr 16s de la subunitat petita del ribosoma d'un mitocondri i la dels cloroplasts.

Segons l'enunciat original de Lynn Margulis:

"Las bacterias, fusionadas en simbiosis, nos dejan pistas de su anterior independencia. Tanto las mitocondrias como los plastos son bacterianos en su tamaño y forma. Todavía más importante es que estos orgánulos se reproducen de manera que hay muchos presentes a la vez en el citoplasma pero nunca dentro del núcleo. Ambos tipos de orgánulos, los plastos y las mitocondrias, no sólo proliferan dentro de las células sino que se reproducen de forma distinta y en momentos distintos a los del resto de la célula en la que residen. Ambos tipos, probablemente 1.000 millones de años después de su fusión inicial, retienen sus propias reservas reducidas de ADN. Los genes del ácido desoxirribonucleico (ADN) de los ribosomas de las mitocondrias todavía recuerdan sorprendentemente a los de las bacterias respiradoras de oxígeno que viven actualmente por su cuenta. Los genes

[9] Fagocitosi: Acte pel qual les cèl·lules o organismes engloben i digereixen o destrueixen elements mol diversos com bacteris, cossos estranys…
[10] Tilacoides: Sacs aplanats que formen part de la membrana interna dels cloroplasts.

ribosómicos de los plastos son muy parecidos a los de las cianobacterias. A principios de los setenta, cuando se compararon por primera vez las secuencias de nucleótidos del ADN de los plastos de las células algales con las secuencias de las cianobacterias de vida libre, ¡se descubrió que el ADN del cloroplasto era mucho más parecido al ADN de la cianobacterias que al ADN del núcleo de la propia célula algal!"

MARGULIS, Lynn**.** *Planeta simbiótico.*

3.5. Arguments en contra

Tot i que aquesta teoria es considera certa hi ha certs arguments en contra:

- Ells mitocondris i els cloroplast contenen introns[11], aquesta és una característica exclusiva de l'ADN eucariòtic. Per tant, ha hagut d'ocórrer alguna transferència entre l'ADN mitocondrial i cloroplàstic i l'ADN nuclear.

- La cèl·lula no pot sobreviure sense els seus orgànuls: és degut a la major energia i carboni orgànic disponible, la cèl·lula ha desenvolupat uns metabolismes que no és poden dur a terme amb les formes de síntesi i assimilació anteriors.

- Per altre banda, els mitocondris i els cloroplasts no poden sobreviure fora la cèl·lula. Aquest fet és justificable per el gran nombre d'anys que han passat: els sistemes i gens que ja no eren necessaris van ser suprimits, l'ADN dels orgànuls van ser transferits al genoma de la cèl·lula hoste ja que aquesta regula l'activitat mitocondrial.

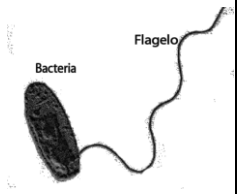
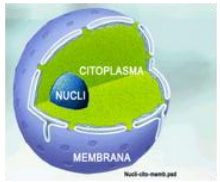
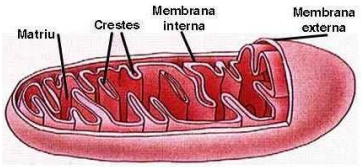
Lynn Margulis, en el seu llibre, també diu el següent:

"La teoría tiene algunos puntos débiles. A excepción del escaso RNA del cinetosoma, los undulipodios carecen de su propio material genético. Los genes que determinan la secuencia de aminoácidos de las tubulinas se hallan en los cromosomas, en el núcleo de las células. Así es que las primitivas espiroquetas, si la teoría es cierta, han sufrido drásticas modificaciones. En la actualidad, su reproducción y sustento dependen totalmente de la célula vegetal, animal o protoctista que los aloja."

MARGULIS, Lynn. *El origen de la cèl·lula*, Cap.: *Un nuevo tipo de células.* Pàg-95

[11] Introns: zones no codificants dels gens, és a dir, que tot i ser-hi, no codifiquen proteïnes. Durant el procés de transcripció de l'ARN té lloc un procés anomenat splicing, a través del qual es tallen els introns, i s'uneixen els exons (zones codificants).

3.6. Quadre resum dels orgànuls simbionts

FLAGELS	NUCLI	CLOROPLASTS	MITOCONDRIS	
-Orgànul en forma de cua que permet la mobilitat a les cèl·lules que en contenen.	-Part de la cèl·lula que conté el material genètic. -El trobem en les cèl·lules eucariotes.	-Orgànul propi de cèl·lules eucariotes vegetals. -La seva funció és dur a terme la fotosíntesi. -Contenen la clorofil·la, un pigment. -Es divideixen independentment de la cèl·lula.	-Orgànul eucariòtic. -Presenta una doble membrana. A la membrana interior hi trobem ribosomes i ADN circular. -La seva funció és dur a terme la respiració cel·lular. -Es divideixen independentment de la cèl·lula.	CARACTERÍS-TIQUES GENERALS
				IMATGE
-No hi ha proves concloents.	-Hi ha una semblança entre les seqüencies d'ADN nuclear d'organismes eucariotes i les seqüències d'ADN dels arqueobacteris. -El nucli conté una doble membrana, com les dels arqueobacteris.	-La mida dels cloroplasts és similar a la de les cèl·lules procariotes. -Contenen una doble membrana com els eubacteris. - Conté ADN lliure i circular al seu interior propi d'eubacteris. -Es divideix de la mateixa manera que les cèl·lules procariotes. -Els centres d'obtenció de l'energia es localitzen a la membrana com en els eubacteris.	-El tamany dels mitocondris és similar al dels eubacteris. -Contenen una doble membrana com els eubacteris. -Conté ADN lliure i circular com els eubacteris procariotes. -Conté ribosomes que realitzen la traducció de proteïnes mitocondrials. -Es divideixen de la mateixa manera que les cèl·lules procariotes. -Els centres d'obtenció de l'energia es localitzen a la membrana com en els eubacteris.	RAONS A FAVOR DE LA TEORIA ENDOSIMBI-ÒTICA
-No hi ha semblances estructurals entre els flagels de les cèl·lules procariotes i els de les cèl·lules eucariotes.	-L'ADN nuclear és lineal mentre que l'ADN dels arqueobacteris és circular. -El nucli no conté ribosomes i els arqueobacteris si.	-Els cloroplasts contenen introns propis de l'ADN eucariòtic. -Els cloroplasts no poden sobreviure fora la cèl·lula. -Hi ha molt poca diferència entre l'ARN 16s de la subunitat petita del ribosoma d'un cloroplast.	-Els mitocondris contenen introns propis de l'ADN eucariòtic. -Els mitocondris no poden sobreviure fora la cèl·lula. -Hi ha molt poca diferència entre l'ARN 16s de la subunitat petita del ribosoma d'un mitocondri.	RAONS EN CONTRA DE LA TEORIA ENDOSIMBI-ÒTICA

En aquest quadre podem veure d'una manera simplificada les característiques i la imatge de cada un dels orgànuls tractats en la teoria endosimbiòtica. A més a més, he argumentat les raons que fan que aquesta teoria sigui certa o falsa per a cada un d'ells.

FASE EXPERIMENTAL

4. Coneixements previs: Conceptes bàsics de genètica

4.1. Àcids nucleics

Els àcids nucleics són biomolècules orgàniques formades per polímers, és a dir, per la unió de diversos nucleòtids. Els nucleòtids estan formats per una estructura que es va repetint al llarg de tota la cadena:

- Una pentosa, glúcid format per cinc àtoms de carboni.

- Un àcid fosfòric (H_3PO_4)

- Una base nitrogenada que pot ser una Adenina, una Timina, una Citosina, una Guanina o un Uracil. Aquestes bases nitrogenades són les que caracteritzen cada nucleòtid, és per això que sovint és el llenguatge utilitzat per "escriure els gens" mitjançant les seves lletres (A, C, G i T en el cas de l'ADN i A, U, C i G en el cas de l'ARN).

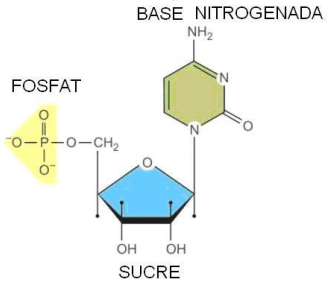


Fig. 6 Estructura d'un nucleòtid.

Distingim entre dos grans grups d'àcids nucleics, ADN i ARN.

- L'ADN o àcid desoxiribonucleic, tal com el seu nom ens indica, conté com a pentosa una desoxiribosa (pentosa que li falta un oxigen en el carboni 2) i de bases nitrogenades conté Adenina, Guanina, Citosina i Timina. El trobem en el nucli de totes les cèl·lules, i en el cas de les cèl·lules eucariotes també en trobem en els mitocondris i en els cloroplasts. Té la funció de emmagatzemar la informació genètica per tal de transferir-la de generació en generació, i codifica les característiques morfològiques i funcionals de la cèl·lula.

- L'ARN o àcid ribonucleic conté com a pentosa una ribosa i com a bases nitrogenades conté Adenina, Citosina, Guanina i a diferència de el DNA, conté Uracil en lloc de Timina. Pel que fa a la seva localització, el trobem al nucli de les cèl·lules o bé en el citoplasma, especialment en els ribosomes. L'ARN és forma a partir de la informació que conté un gen específic de l'ADN, és per això que les cadenes de l'ARN són més curtes que les de l'ADN. Un com format la seva funció és dirigir la síntesi de proteïnes.

  N'hi ha tres tipus: l'ARN ribosòmic (ARNr), l'ARN missatger (ARNm) i l'ARN de transferència (ARNt).

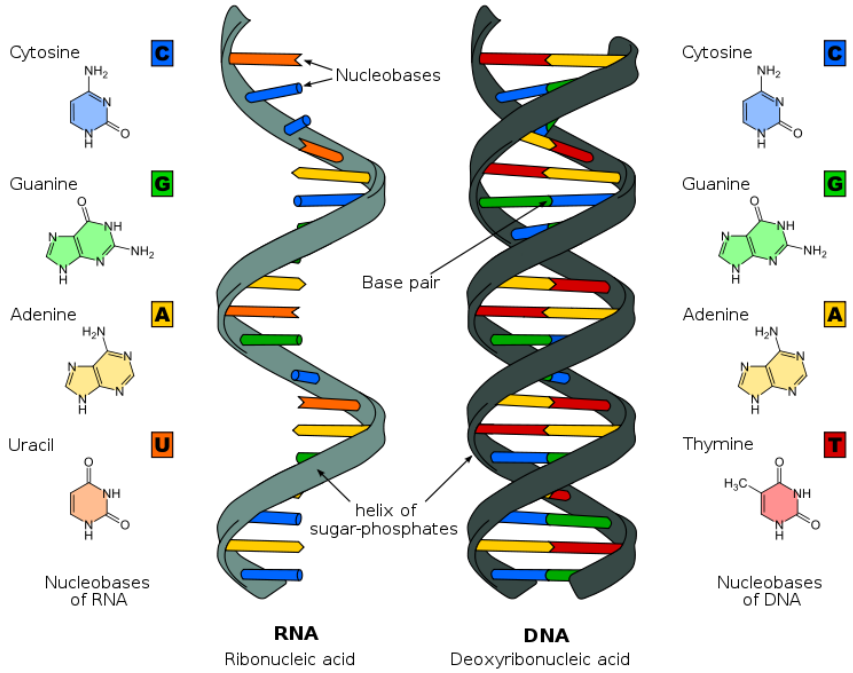


Fig. 7 Cadenes d'ARN i d'ADN i les seves bases corresponents.

4.2. Els gens

Els gens són fragments d'àcid nucleic (ADN, generalment) que contenen les diferents "instruccions" necessàries per fer possible la vida. Aquesta definició no serveix per a la majoria de virus, ja que els seus gens estan fets d'ARN i no d'ADN.

Són seqüències de nucleòtids que formen part d'una molècula d'ADN. Aquests contenen dos tipus de regions:

- Codificants: codifiquen una molècula d'ARN, i en la majoria també polipèptids a partir de l'ARN missatger que s'ha codificat prèviament.

- No codificants: estan formats per fragments d'ADN situats abans i després de les regions codificants, i contenen informació per a controlar les regions que s'activaran, determinant també quan ho faran i quant temps es mantindran activades, i les que no (fins a un 98% del total de l'ADN humà). També és anomenada com a matèria fosca del genoma, o ADN escombraries. Actualment se sap que un 80% d'aquest ADN està implicat en la regulació de l'expressió dels gens.

Els gens codifiquen, a la seva vegada, tres tipus d'ARN principals:

- L'ARN missatger (ARNm): codifica els polipèptids.

- L'ARN de transferència (ARNt): transporta un aminoàcid concret cap als ribosomes a la síntesi de proteïnes surant la traducció[12].
- L'ARN ribosòmic (ARNr): intervé, junt amb l'ARNm, a la síntesi de polipèptids, però sense codificar-los.

Per tant, la majoria de gens codifiquen l'ARNm, i a través d'ell, les proteïnes.

4.3. El genoma

El genoma és el conjunt de la informació hereditària (o material genètic) d'un individu o d'una espècies. Aquesta informació és codificada per l'ADN, o en la majoria de virus, per ARN.

Cal remarcar que el genoma no és el conjunt de gens, ja que inclou tot l'ADN (o ARN), i per totes les seves zones: tant codificants com no codificants.

En el cas dels procariotes, que no tenen nucli, el seu genoma està compost normalment per una sola macromolècula d'ADN associada a proteïnes (tot i que en trobem amb dos d'elles), anomenada genòfor. La majoria de genòfors dels procariotes són circulars (ja que el seu ADN és circular, sense extrems), tot i que també existeixen genòfors lineals, i contenen la major part del seu genoma. La part petita que manca es troba continguda als plasmidis[13], unes molècules d'ADN que no estan lligades a proteïnes, i que es repliquen i transcriuen independentment de l'ADN dels genòfors.

En els eucariotes trobem un genoma al nucli cel·lular (genoma cel·lular), que forma part dels cromosomes, formats cadascun per una cadena lineal d'ADN associada a histones[14] i altres proteïnes.

Però també trobem genomes no nuclears: el dels mitocondris (genoma mitocondrial), el dels cloroplasts.

[12] Traducció: Procés pel qual a partir de la informació genètica de l'ARNm se sintetitzen les proteïnes en els ribosomes amb l'ajuda de l'ARNt.
[13] Plasmidis: Són molècules d'ADN circular de doble cadena dels procariotes.
[14] Histones: Són les proteïnes de baix pes molecular que juntament amb l'ADN formen la cromatina (material genètic de la cèl·lula eucariota).

5. Organismes escollits

Els organismes que he escollit estan inclosos dins l'anomenat sistema dels tres dominis. Aquest sistema inclou tots els organismes existents i és el sistema de classificació més utilitzat actualment.

Els tres dominis són: els arqueobacteris, els eubacteris i els eucariotes. Els dos primers pertanyen a la vida procariota, mentre que l'últim tal com el seu nom indica pertany a la vida eucariota.

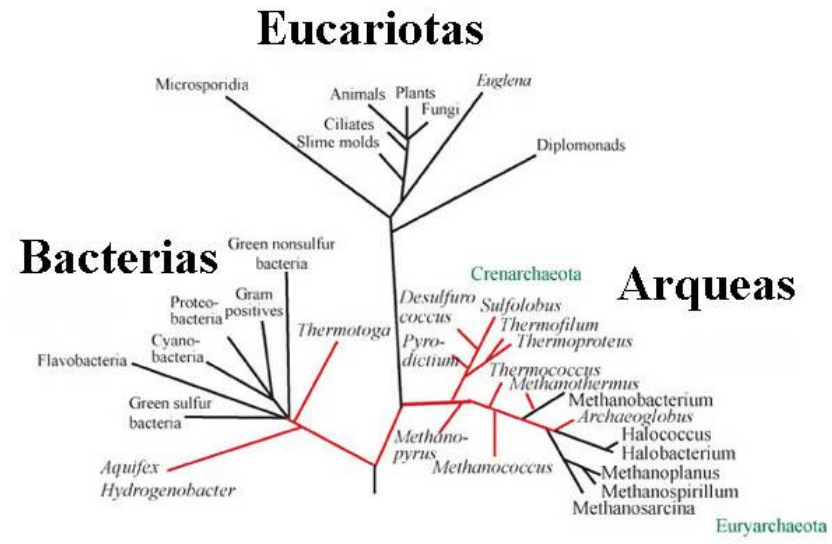


Fig. 8 Arbre de la vida: els tres dominis en són la divisió inicial.

5.1. Arqueobacteris

Els arqueobacteris són un grup heterogeni que es troba filogenèticament molt distant dels eubacteris. En el passat, se'ls va considerar un grup característic de bacteris, però actualment degut a les seves propietats se'ls classifica com a un domini diferent, tot i que tots dos pertanyen al regne de les moneres.

Posseeixen membranes lipídiques[15] de composició diferent a la dels altres dos dominis. En la seva paret cel·lular no conté mureïna[16] present en els eubacteris. Presenten diferencies en la traducció i la transcripció[17] respecte els eucariotes, tot i que comparteixen la presència d'histones en el seu material genètic. L'anàlisi de la seqüencia completa de l'ARN ribosòmic 16S ha confirmat que les semblances entre aquests els dominis de vida procariota són menors que si comparem els arqueobacteris amb els eucariotes.

[15] Membranes lipídiques: Són aquelles membranes formades de lípids (biomolècules orgàniques insolubles en aigua).
[16] Mureïna: És el peptidoglicà (polímer format per monosacàrids i aminoàcids) predominant en la paret bacteriana.
[17] Transcripció: Procés que té lloc al nucli, pel qual a través de la informació de l'ADN se sintetitza ARNm.

Originàriament és consideraven extremòfils (que viu en condicions extremes),com aigües termals (temperatures superior a 80 ºC) o llacs salats (en el cas dels halòfits viuen en aigües amb una concentració de NaCl propera a la saturació). Posteriorment se'ls ha observat en una varietat d'habitats com oceans o zones humides.

Juguen un paper important en el cicle del carboni i el nitrogen.

El fet de que són difícils de cultivar fa que sigui més complicat estudiar-los i classificar-los. Actualment s'està intentant completar i seqüenciar la major quantitat de genoma d'aquest domini per tal de poder-los classificar.
D'aquest domini he escollit aquests dos arqueobacteris ja que eren els que en podia obtenir el genoma més complert.

5.1.1. Methanocaldococcus jannaschii

És un hipertermofílic, per tant viu en ambients on les condicions de temperatura són extremes, per exemple en sorgiments d'aigua a altes temperatures al fons de l'oceà, on també la pressió és extremadament alta, tot i que el nivell de salinitat es moderat. Morfològicament són cocs irregulars que presenten flagels que els permeten la seva mobilitat. Tenen un metabolisme anaeròbic i utilitza el CO2 com a font de carboni, també produeixen metà, el que fa que siguin una font natural d'aquest gas.

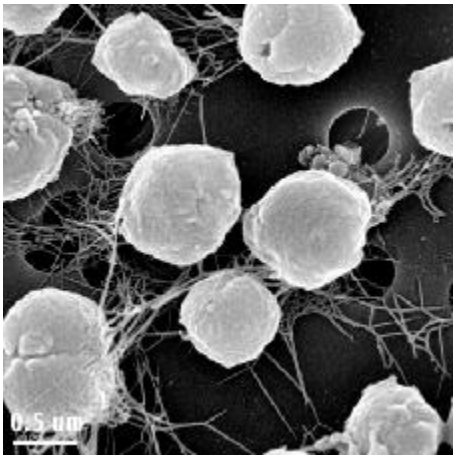


Fig. 9 *Methanocaldococcus jannaschii* al microscopi electrònic.

Va ser el primer arqueobacteri en que es va completar el seu genoma (Bult, C. J. et. al, 1996). Presenta un llarg cromosoma circular i dos extres més petits.

5.1.2. Pyrococcus horikoshii

És un arqueobacteri hipertermofílic, és a dir que viu en condicions extremes. Pot créixer a temperatures de fins a 98 ºC, amb un pH neutre i amb concentracions de NaCl moderades.

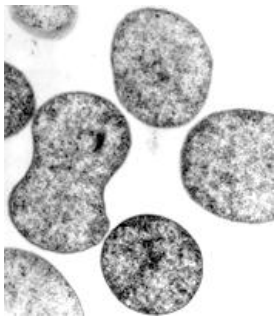


Fig. 10 *Pyrococcus horikoshii* al microscopi electrònic.

Morfològicament són cocs amb un conjunt de flagels que els permet la mobilitat. Tenen un metabolisme anaeròbic.

El seu genoma es va completar a l'Abril de 1998.

5.2. Eubacteris

Els eubacteris són uns organismes procariotes de mida reduïda, ja que són unicel·lulars. Els eubacteris contenen una doble membrana que els dona forma i els protegeix. En el seu interior, en el citoplasma, no hi ha gairebé orgànuls. Només hi trobem ribosomes i petites molècules d'ADN circular. Aquests organismes, al tenir totes les cèl·lules procariotes no contenen nucli, però tenen l'ADN replegat de tal manera que formen un nucleoide.

Els eubacteris capaços de moure's són aquells que posseeixen flagels, unes estructures rígides formades per proteïnes (flagel·lines).

Segons la seva forma els podem classificar en dos grups: cocs (esfèrics) i bacils (allargats). Dins aquests últim grup distingim tres subgrups: les espiroquetes (fermament enrotllats), els espirils (forma d'espiral) i els vibrions (lleugerament corbats).

Els trobem en aigües termals àcides, en les profunditats de l'escorça terrestre, en residus radioactius i en l'aigua, també en animals i plantes. A diferència dels arqueobacteris provoquen malalties infeccioses. En total hi ha cinc nonilions (5×10^{30}) d'eubacteris a la Terra, és per això que representen gran part de la biomassa del planeta.

Els eubacteris també tenen un paper molt important en el reciclatge de la matèria ja que són els encarregats de transformar la matèria orgànica en inorgànica perquè els productors la puguin tornar a utilitzar.

Els eubacteris que he escollit perquè tenien el genoma més complert són:

5.2.1. Escherichia coli

Escherichia coli, també coneguda com a colibacil, és un eubacteri necessari per a diversos animals, entre ells els mamífers, per fer una correcte digestió alimentària. El trobem en la part baixa de l'intestí d'aquests animals, però també en altres llocs ja que és molt versàtil.

E. coli pot provocar diverses infeccions al tracte urinari, gastroenteritis, meningitis, entre d'altres. Algunes *E.coli* poden ser toxigèniques i causar una infecció amb la seva ingesta.

Fig. 11 *Escherichia coli* al microscopi electrònic.

Actualment, *Escherichia coli* és un dels eubacteris que se'n té més coneixement. S'ha descobert que és fàcilment manipulable i se n'està fent un gran us en els laboratoris d'investigació. S'utilitza sobre tot en la recombinació genètica, per exemple per la producció d'insulina.
També és un dels organismes models principals utilitzats en l'estudi de la genètica bacteriana, la fisiologia i la bioquímica, ja que és el model dels bacteris en general. El seu genoma ha estat seqüenciat completament.

5.2.2. Thermus thermophilus HB8

Thermus thermophilus és un eubacteri utilitzat en el camp de la biotecnologia. És un organisme que s'empra en la manipulació genètica, genòmica estructural i biologia de sistemes. És un coc hemofílic que creix a temperatures al voltant dels 65 ºC. Es va aïllar en una font termal al Japó. És important com a degradador de matèria orgànica quan la temperatura dels materials és elevada. La soca HB8 és la més usada actualment en els laboratoris.

Fig. 12 Fotografia del *Thermus thermophilus* HB8.

La seqüenciació del seu genoma va ser completada el 2004.

Alguns dels seus enzims com l'ADN-polimerasa[18] s'utilitza en la tècnica de la PCR[19].

[18] ADN-polimerasa: És una proteïna enzimàtica encarregada de duplicar la cadena d'ADN.
[19] PCR: (Reacció en cadena de la polimerasa) És una tècnica de biologia molecular que s'empra per obtenir un gran nombre de còpies d'un fragment d'ADN.

5.2.3. Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa, és un eubacteri aeròbic en forma de bacil que és troba en la flora de la pell, al sòl i en l'aigua. Es caracteritza per la seva versatilitat, ja que habita en medis diversos.

Fig. 13 *Pseudomonas aeruginosa* al microscopi electrònic.

En els humans pot afectar diversos òrgans com els pulmons, els ronyons i el tracte urinari. També és el causant de moltes infeccions en els hospitals ja que es pot disposar en moltes superfícies, entre elles cert material quirúrgic. També infecta teixits danyats i a persones que tenen el sistema immune deficient, ja que és un patogen oportunista[20].

Les pseudomones del grup *fluorescents* inclou també organismes patògens per a les plantes.

5.2.4. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus és un eubacteri anaeròbic facultatiu[21], concretament un coc que s'agrupa i forma una espècie de raïm, d'aquí el seu nom ("Staphylo" en grec significa raïm). Té un cromosoma circular de 2800 Kiloparells de bases i alguns plasmidis.

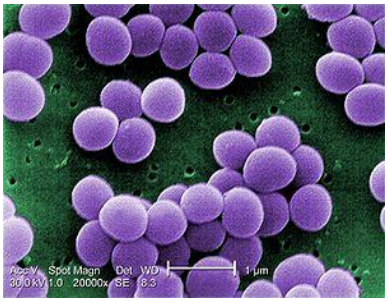


Fig. 14 *Staphylococcus aureus* al microscopi electrònic.

Es troba en les foses nasals i en la pell de moltes persones sanes. Fabrica varies toxines que poden tenir diversos efectes sobre l'ésser viu *Staphylococcus aureus* és inofensiu quan és manté en equilibri amb l'hoste, però quan aquest equilibri es trenca pot arribar a causar diversos tipus de infeccions, és un patogen oportunista. Comença essent una infecció localitzada però es va escampant per diversos òrgans com el cervell, els ronyons o els pulmons. Alguns exemples son la meningitis, la bronquitis, l'endocarditis i les pneumònies.

[20] Patogen oportunista: És aquell microorganisme que normalment no està present el l'hoste, però pot provocar infeccions en individus amb les defenses immunològiques debilitades.
[21] Organisme anaeròbic facultatiu: És generalment un bacteri capaç de obtenir energia mitjançant la respiració aeròbica (en presencia d'oxigen) o a través de la fermentació (en absència d'oxigen).

5.2.5. Helicobacter pylori

Helicobacter pylori és un eubacteri que el seu nom en grec és helicobacter que significa "espiral" o "cargol" i pylori que significa "de la vàlvula pilòrica" (vàlvula que connecta l'estómac amb el duodè).

Helicobacter pylori té un flagel que li permet la mobilitat. És coneixen diverses soques d'aquest microorganisme i s'ha seqüenciat el genoma complert de dues d'elles.

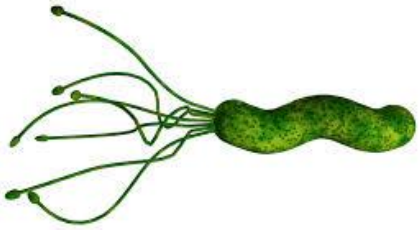


Fig. 15 Imatge *Helicobacter pylori.*

Aquest bacteri es troba en l'estómac i el duodè humans. Provoca diverses malalties de l'aparell digestiu, com un simple mal d'estómac i úlceres que poden derivar a un càncer d'estómac o un càncer d'esòfag. Molts dels individus que el contenen no presenten símptomes.

5.2.6. Sinorhizobium meliloti

Sinorhizobium meliloti és un eubacteri fixador del nitrogen capaç de formar una relació simbiòtica amb les arrels de les lleguminoses. Fet que fa que el nitrogen atmosfèric (N_2) passi al sòl.

Fig. 16 *Sinorhizobium meliloti* al microscopi electrònic.

5.3. Eucariotes

Els organismes que formen aquest domini es caracteritzen per està constituïts únicament per cèl·lules eucariotes, per això se'ls anomena eucarionts. Aquestes cèl·lules contenen un nucli diferenciat, amb el material genètic embolcallat per una membrana nuclear que el protegeix. Aquest domini el formen quatre regnes diferents:

- Animals: Són éssers vius pluricel·lulars, heteròtrofs i tissulars[22].

- Plantes: Són organismes pluricel·lulars, autòtrofs i tissulars.

[22] Organismes tissulars: Són aquells organismes que les seves cèl·lules s'organitzen en teixits diferenciats.

- Fongs: Són éssers vius pluricel·lulars, de digestió interna i tal·lòfits[23].

- Protoctists: Dins aquest regne i trobem els protozous i les algues. Els protozous són unicel·lulars i heteròtrofs, a diferència de les algues que poden ser tant unicel·lulars com pluricel·lulars tal·lòfits i autòtrofes.

Analitzant les seqüències dels ribosomes dels eucariotes, s'ha descobert que filogènicament aquests són més propers als arqueobacteris que no pas als eubacteris.

He escollit aquests eucariotes següents ja que la major part d'ells són utilitzats en experimentació i per tant en podia trobar la seqüència complerta. D'alguns d'ells també n'he pogut obtenir la seqüència d'ADN mitocondrial.

5.3.1. Homo Sapiens

L'*Homo sapiens,* o ésser humà, és una espècie de primat de la família dels homínids. Els humans, a diferència de la resta d'animals, tenen la capacitat de pensar i raonar, la capacitat prènsil i la seva locomoció bípeda.

Els individus d'una mateixa espècies contenen el mateix nombre de cromosomes. En el cas dels humans, tenen 23 parells de cromosomes a cada una de les seves cèl·lules. D'aquests: 22 són autosomes[24] i només un parell són cromosomes sexuals[25] (X i Y), en el cas de les dones seran XX i en el cas del homes seran XY.

El primer mapa genòmic humà va ser seqüenciat completament l'any 2003. El genoma humà conté aproximadament 3.200 milions de parells de bases d'ADN. Aquests contenen entre 20.000-25.000 gens que caracteritzen l'espècie.

L'ADN mitocondrial és una molècula de ADN circular situada a l'interior dels mitocondris. Aquest conté 37 gens dels quals 13 codifiquen l'ARNm, 22 codifiquen l'ARNt i 2 codifiquen l'ARNr. Al comparar l'ADN mitocondrial, que és heretat únicament de la mare, els genetistes han arribat a la conclusió de que la última ancestre comuna (anomenada amb el nom d'Eva mitocondrial), el marcador genètic de la qual es troba a tots els humans moderns, va viure fa uns 200.000 anys.

[23] Organismes tal·lòfits: Són aquells organismes que totes les seves cèl·lules són iguals i formen un sol teixit.
[24] Autosomes: Són tots aquells cromosomes que no són sexuals.
[25] Cromosomes sexuals: Són els cromosomes responsables de determinar el sexe de l'individu que els conté.

5.3.2. *Mus musculus*

Mus musculus o ratolí comú és la segona espècie de mamífers amb un major nombre d'individus. També és el més utilitzat en els laboratoris d'experimentació. N'existeixen moltes variants transgèniques ja que és utilitzat en l'enginyeria genètica. Manté una relació de comensalisme[26] amb l'humà.

El cariotip d'aquesta espècies està formada per 20 parells de cromosomes, dels quals: 19 són autosòmics i un parell són cromosomes sexuals. El genoma d'aquesta espècie s'ha seqüenciat i s'ha vist que molts gens són idèntics als dels humans.

Fig. 17 Fotografia *Mus musculus*.

5.3.3. *Arabidopsis thaliana*

Arabidopsis thaliana és una planta de la família de les Brassicàcies, que mesura entre 1 i 3dm d'alçada.

Conté un total de cinc cromosomes i aproximadament 25.500 gens.

És un dels organismes, dins el regne de les plantes, més utilitzats en investigació. S'utilitza per fer estudis de genètica (per investigar les mutacions que es produeixen en els vegetals), del seu desenvolupament i de fototropisme[27].

Fig. 18 Imatge *Arabidopsis thaliana.*

El seu genoma és un genoma molt curt i va ser el primer genoma de planta seqüenciat completament. Conté només 5 parells de cromosomes, és a dir, 10 cromosomes en total i té 25.498 gens.

La seqüenciació va ser feta per un col·lectiu internacional anomenat "Arabidopsis genome Initiative" (AGI). Tot i que no tenia importància econòmica, és un recurs inavaluable per a cultius agricultors importants,

[26] Comensalisme: És una relació biològica entre dos organismes, en la que un individu obté un benefici i l'altre no en surt ni beneficiat ni perjudicat.

[27] Fototropisme: capacitat d'una planta per canviar la direcció del seu creixement com a reacció als canvis de llum.

particularment per a membres de la mateixa família, com la cànula, una font important d'oli vegetal.

5.3.4. Drosophila melanogaster

Drosophila melanogaster o mosca del vinagre és un insecte dípter[28].
La mosca del vinagre és utilitzada en experimentació ja que un 60% dels gens de malalties humanes són detectables en el seu genoma. A més a més es reprodueixen molt ràpidament i permet obtenir còpies fàcilment.

El seu genoma està constituït per 4 parells de cromosomes: 3 són autosomes i un parell són els cromosomes sexuals. El quart cromosoma és molt petit, això fa que moltes vegades sigui ignorat. Té aproximadament 13.600 gens.

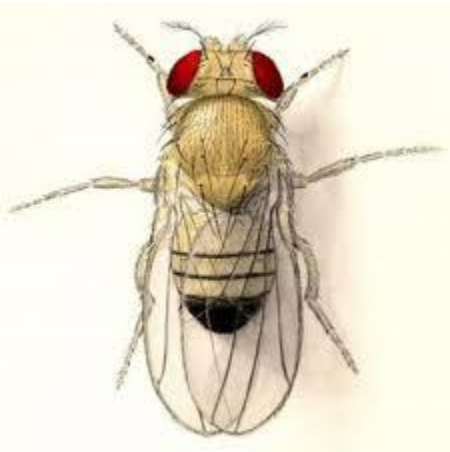


Fig. 19 Fotografia *Drosophila melanogaster*.

El 75% dels gens humans que poden ser causants de malalties tenen un gen homòleg en el material genètic de la mosca del vinagre. Existeix una Base de Dades en línia, anomenada Homophila, que està disponible quan es volen estudiar malalties genètiques humanes homòlogues en mosques.

5.3.5. Rattus norvegicus

Rattus norvegicus o rata comuna és una rata originaria de la Xina. És un mamífer que pertany a la família dels múrids.

S'utilitza en laboratoris d'experimentació la varietat albina d'aquests espècie. És empleada per a l'estudi de malalties humanes com l'artritis, la diabetis, les malalties cardiovasculars i la hipertensió.

És considerada una plaga, a més a més, pot transmetre diverses malalties greus com per exemple les infeccions per Hantavirus, febre hemorràgica, criptosporidiosis i febre Q. En una ocasió va colonitzar tot el món, amb la plaga que va escampar la pesta bubònica[29].

[28] Insecte dípter: aquell insecte que conté dues ales.

[29] Pesta bubónica: malaltia infecciosa provocada per el bacteri *Yersinia pesti*.

Fig. 20 Imatge *Rattus norvegicus*.

5.3.6. Danio rerio

Fig. 21 Fotografia *Danio rerio*.

Danio rerio o peix zebra és un peix tropical de la família dels ciprínids que és sol vendre per a l'ús científic. Pot viure en aigües a una temperatura d'entre 20 i 30 ºC i un pH neutre.

És molt utilitzat en laboratoris d'investigació per diverses raons. La primera és perquè el 80% del seu genoma és com l'humà, això fa que els fàrmacs provats tinguin més possibilitats de ser efectius en humans. La segona és que els seus embrions són transparents i permet observar els efectes del medicament als òrgans interns del peix, a més a més, és capaç de regenerar aquests òrgans afectats. La última raó és la capacitat reproductora del peix, aquest és capaç de pondre 200 ous en un sol dia, cosa que permet diverses experimentacions en una sola generació.

El peix zebra conté 25 cromosomes a cada cèl·lula i un total de 22.000 gens aproximadament.

5.3.7. Xenopus tropicalis

Xenopus tropicalis és una granota carnívora de la família dels pípids o aglossos ("sense llengua"). Conté 5 parells de cromosomes, és a dir, 10 cromosomes en total i 30.000 gens.

Fig. 22 Imatge *Xenopus tropicalis.*

Aquesta granota té uns òvuls lo suficientment grans per introduir-hi un ARN d'altres organismes. De tal manera que mitjançant certes tècniques electrofisiològiques o de biologia

molecular permeten l'estudi de l'expressió i la inhibició dels gens i l'expressió de les proteïnes.

5.3.8. Candida tropicalis

Candida tropicalis és una espècie de llevat del gènere candida. És fàcilment reconegut per ser un llevat comú patogen, existent com a part de la flora humana normal. És un llevat fermentador de glucosa i maltosa, però no fermenta lactosa ni hidrolitza urea.

El llevat *Candida tropicalis* és de l'espècie Candida més patògena després de *Candida albicans*; associada més freqüentment a infeccions fúngiques profundes que a les de la mucosa normal. És un organisme asexual diploide.

També és un organisme important per a l'estudi de la biogènesi dels peroxisomes i de l'expressió proteica. La mida exacte del genoma i el nombre de cromosomes de la *Candida tropicalis* són desconeguts, però s'ha estimat que pot contenir un genoma d'uns 15Mb, organitzat en 5 o 6 cromosomes.

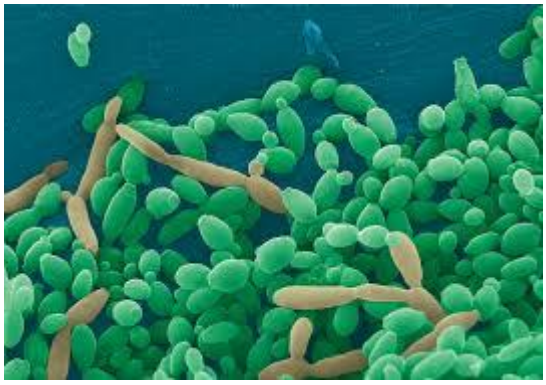


Fig. 23 Imatge del llevat *Candida tropicalis.*

6. Selecció dels gens a comparar: l'aminoacil-ARNt sintetasa

Els gens seleccionats han de ser gens que es trobin en els diferents organismes a comparar: arqueobacteris, eubacteris i organismes més complexos amb cèl·lules eucariotes. Si bé són diferent, hi ha certs processos que són comuns en els tres dominis.

Aquest procés que tenen en comú aquests tipus d'éssers vius és el mecanisme d'expressió genètica. Consistei x en obtenir una proteïna a partir de una cadena de DNA. Consta de tres fases: la replicació, la transcripció i la traducció.

Tot i que segons l'organisme l'ADN el podem trobar de diferents formes (en el cas dels procariotes molècules circulars i en el cas dels eucariotes molècules lineals), tots dos duen a terme aquest procés, tot i que fan alguna cosa de diferent manera. Aquestes diferències no comportaran cap problema al meu estudi, ja que en el procés amb el que treballaré és comú a tots dos tipus de cèl·lula.

Els gens que he escollit són els que codifiquen els aminoacil-tRNA. Contenen la informació genètica capaç sintetitzar els enzims que realitzen un paper important en el procés de traducció. Aquests enzims mitjançant una catalització permeten que l'aminoàcid s'uneixi a l'ARNt corresponent.

Hi ha aproximadament 20 aminoacil-tRNA sintetases diferents, de tal manera que cada una de elles reconeix un dels 20 aminoàcids existents i l'ARNt al que hi ha de ser carregat. Distingim 20 grups d'ARNt, tots els de cada grup carreguen un mateix tipus d'aminoàcid però entre grups en carreguen un de diferent.

6.1. Funció

La funció principal, com ja he dit, de l'aminoacil-ARNt sintetasa és catalitzar la carrega de l'ARNt, és a dir, unir l'ARNt amb el seu aminoàcid corresponent.

Per a fer-ho, el grup carboxil de l'aminoàcid forma un enllaç èster amb el grup hidroxil del carboni 2' o 3' de la ribosa del nucleòtid terminal de l'ARNt (en l'extrem 3'). L'energia necessària per efectuar l'enllaç l'obté de l'ATP[30]. Obtenim la reacció següent:

Aminoàcid + ATP + ARNt → aminoacil-ARNt + AMP[31] + PPi[32]

[30] ATP (trifosfat d'adenosina): És un nucleòtid adenosina unit a tres grups fosfat. L'energia acumulada entre aquests tres enllaços és alliberada un cop hidrolitzada l'ATP.
[31] ADP (monofosfat d'adenosina): És un nucleòtid unit a un grup fosfat. Formada a partir de l'ATP.
[32] PPi. És una molècula de pirofosfat orgànic.

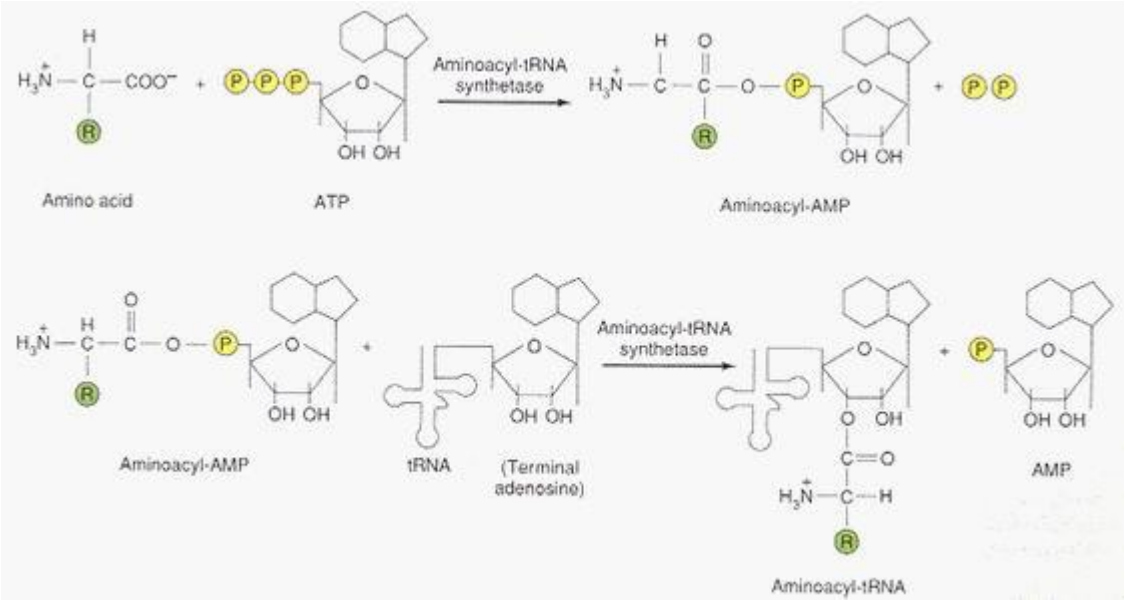


Fig. 24 Esquema dels passos de l'aminoacilació.

6.2. Importància evolutiva

Les aminoacil-ARNt sintetases tenen un paper molt important en la vida: a part de la seva funció, són totalment necessàries en l'establiment del codi genètic. Es creu que aquests enzims es troben entre les primeres proteïnes que van aparèixer en l'evolució. A través d'estudis filogenètics s'ha determinat que les aminoacil-ARNt sintetases s'agrupen segons amb l'aminoàcid que s'uneixen i no segons la seva disposició en l'arbre filogènic[33]. Això ens indica que les aminoacil-ARNt sintetases van aparèixer i evolucionar abans que l'arbre de la vida es separes en els tres dominis (explicats detalladament a l'apartat "6. Organismes escollits").

6.3. Aminoacil-ARNt sintetases amb les que treballaré

Per escollir els tipus concrets d'ARNt sintetases he fet una tria a l'atzar, guiant-me per les que tenien més entrades de seqüències en el Genbank.

Aquest procés de tria també l'he seguit en a l'hora de escollir els organismes. La tria l'he hagut de modificar diverses vegades ja que no obtenia la seqüenciació complerta que necessitava o simplement no es trobava disponible en la base de dades. Per tant he hagut d'adaptar el treball al nivell de seqüenciació del que disposava, ja que diverses seqüenciacions que havia buscat encara no havien estat seqüenciades.

De les 20 aminoacilsintetases, les dues que he escollit són:

- Glutamina-ARNt sintetasa (en anglès glutamyl-tRNA synthetase)

- Fenilalanina-ARNt sintetasa (en anglès phenylalanyl-tRNA synthetase)

[33] Arbre filogènic: Arbre que representa les relacions evolutives entre diverses espècies.

7. Experimentació

Per demostrar la teoria endosimbiòtica de la Lynn Margulis seguiré els següents passos:

- Agafaré organismes representatius de cada un dels tres dominis. (apartat 6. Organismes escollits).

- Seleccionaré dos gens comuns que són els següents: Glutamina-ARNt sintetasa i Fenilalanina-ARNt sintetasa (apartat 7. Selecció dels gens a comparar: l'aminoacil-ARNt sintetasa).

- Realitzaré la recerca dels gens escollits de cada organisme al Genbank i obtindré les seqüències (apartat 9. GenBank).

- Compararé les seqüències amb el Clustal Omega (apartat 10. Comparació de seqüències: El Clustal).

- Per últim arribaré a les conclusions finals del treball (apartat 10.Conclusions).

Si els resultats obtinguts s'acosten a la teoria esperaria trobar:

- Una similitud entre els gens dels arqueobacteris i l'ADN nuclear del eucariotes. Que voldria dir que el nucli de les cèl·lules eucariotes deriva del arqueobacteri endocitat per la cèl·lula hoste.

- Una similitud entre els gens dels eubacteris i l'ADN mitocondrial del eucariotes. Que voldria dir que els mitocondris va derivar dels eubacteris endocitats per les cèl·lules primitives.

D'aquesta manera, veuré les relacions evolutives entre els organismes per comprovar la meva hipòtesi.

8. GenBank

El GenBank és la base de dades de seqüències genètiques de NIH (l'Institut Nacional de la Salut), una col·lecció de totes les seqüències de DNA disponibles públicament. En aquesta base de dades de seqüències de nucleòtids internacional hi col·laboren:

- El Banc de Dades de DNA del Japó (DDBJ)
- El Laboratori Europeu de Biologia Molecular (EMBL)
- El GenBank a NCBI (Nacional Centre for Biotechnology Information)

Per tal d'utilitzar aquesta pàgina correctament s'ha de tenir un cert grau de coneixement sobre aquesta per poder saber que s'està fent en cada moment. A més a més, el GenBank és en anglès i si no se sap l'idioma és quasi impossible dur a terme aquest procediment.

Des de la seva fundació, fa més de trenta anys, el GenBank és la base de dades de recerca més important i amb més influència en quasi tots els camps de la biologia, ja que les seves dades hi excedeixen milions d'investigadors de tot el món.

Aquest programa informàtic és el que ens permetrà obtenir les seqüències de nucleòtids de els diversos organismes que compararem amb el ClustalW.
Per obtenir-les realitzaré diferents passos.

8.1. Obtenció de les seqüències

Per obtenir les seqüències que desitgem ens dirigim a la pàgina web del GenBank. Un cop allà a la part de dalt ens permet seleccionar la base de dades on volem cercar, en aquest cas cliquem la dels Gens (Gene), i a la barra en blanc de la dreta escrivim el gen que volem cercar i el nom de l'organisme:

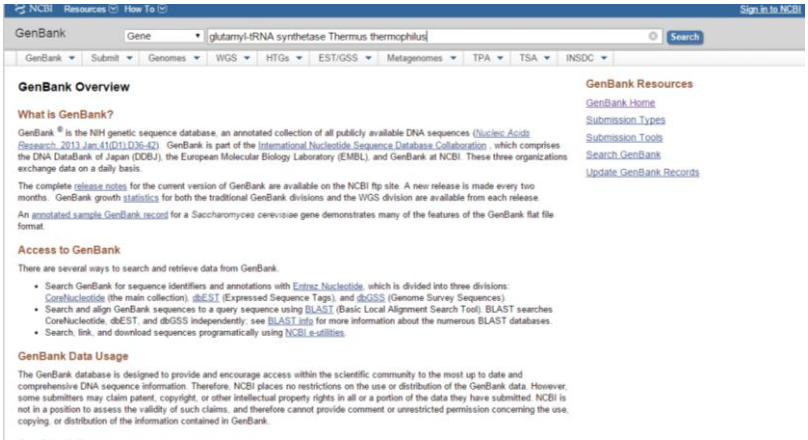


Fig. 25 Captura d'imatge de la busca del gen glutamia-ARNt sintetasa de l'organisme *Thermus thermophilus* al GenBank.

Un cop hem trobat el gen d'un organisme, si aquest és molt específic i només té una entrada a la pàgina web, se'ns obrirà la pàgina directament. En canvi, si hi ha diverses opcions, ens permetrà escollir la seqüència que vulguem.

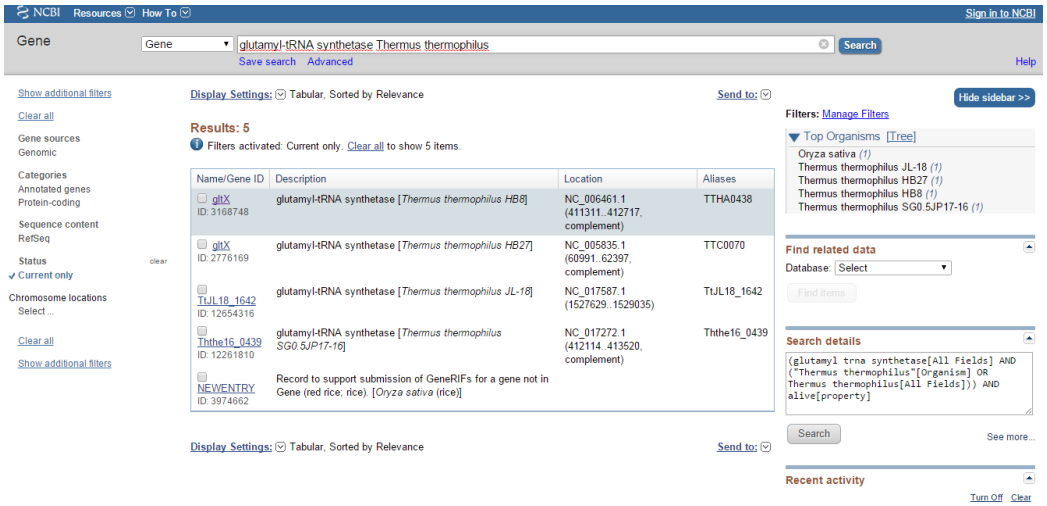


Fig. 26 Captura d'imatge de les diferents entrades per el gen Glutamina-ARNt sintetasa de l'organisme *Thermus thermophilus*.

Un cop escollida l'entrada que més ens convé, se'ns obra una pàgina amb tota la informació d'aquell gen: el símbol del gen, la seva descripció, el seu locus específic, el tipus, el seu genoma, articles relacionats...

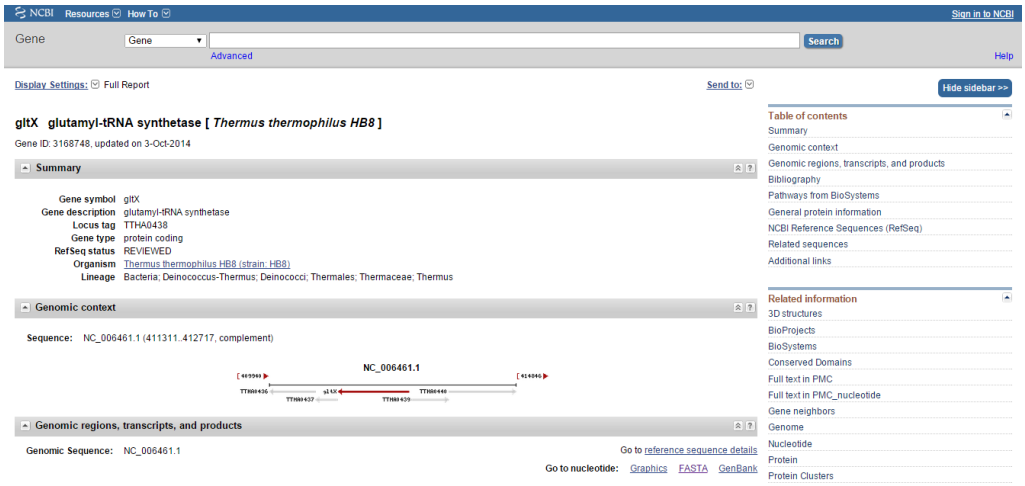


Fig. 27 Captura d'imatge de l'entrada al Genbank per al gen glutamina-ARNt sintetasa de l'organisme *Thermus thermophilus*.

Seguidament ens dirigim a l'apartat de "Genomic regions, transcripts, and products" i a "Go to nucleotide". Dins aquest apartat trobem tres enllaços diferents: "Graphics", FASTA i GenBank. Selecciono FASTA, per tal d'obtenir la seqüència desitjada.

8.2. FASTA

El format FASTA és el format de fitxer que s'utilitza per a la representació de seqüències de nucleòtids o pèptids. En aquest els nucleòtids i els aminoàcids es representen amb un codi universal d'una sola lletra. A més a més, permet encapçalar les seqüències amb el seu propi nom o amb un comentari. La simplicitat d'aquest format fa que la manipulació i la comparació de seqüències sigui més fàcil.

El document amb totes les seqüències ha de seguir un conjunt de condicions per tal de ser comparades. Primerament comença amb una descripció d'una línia (no més de 80 caràcters) introduïda per el símbol ">":

```
>gi|55979969:c412717-411311 Thermus thermophilus HB8 chromosome, complete genome
ATGGTGGTGACCCGCATCGCGCCAAGCCCCACGGGCGACCCCCACGTGGGCACGGCCTACATCGCCCTCT
TCAACTACGCCTGGGCCCGGAGGAACGGGGGGCGCTTCATCGTGCGCATTGAGGACACGGACCGGGCGCG
CTACGTCCCCGGGGCCGAGGAAAGGATCCTCGCCGCCTTAAAGTGGCTTGGCCTCTCCTACGACGAGGGC
CCCGATGTGGGCGGCCCCCACGGGCCCTACCGCCAGTCGGAACGGCTTCCCCTCTACCAAAAGTACGCCG
AGGAGCTCCTCAAGCGGGGGTGGGCCTACCGGGCCTTTGAGACCCCGGAGGAGCTAGAGCAAATCCGCAA
GGAAAAGGGGGGCTACGACGGGAGGGCCCGGAACATCCCCCCTGAGGAGGCCGAGGAGCGGGCGAGGCGG
GGCGAGCCCCACGTGATCCGCCTCAAGGTGCCCCGCCCCGGGACCACGGAGGTCAAGGACGAGCTCAGGG
GGGTGGTGGTCTACGACAACCAGGAGATCCCCGACGTGGTCCTCCTCAAGTCCGACGGCTACCCCACCTA
CCACCTGGCCAACGTGGTGGACGACCACCTCATGGGGGTCACGGACGTGATCCGGGCGGAGGAGTGGCTC
GTCTCCACCCCCATCCACGTCCTCCTCTACCGGGCCTTCGGCTGGGAGGCGCCCCGGTTCTACCACATGC
CCCTCCTGCGCAACCCCGACAAGACCAAGATCTCCAAGCGCAAAAGCCACACCTCCCTGGACTGGTACAA
GGCGGAGGGGTTTCTGCCCGAGGCCCTGAGGAACTACCTCTGCCTCATGGGGTTCTCCATGCCCGACGGG
CGGGAGATCTTCACCCTCGAGGAGTTCATCCAGGCCTTCACCTGGGAGAGGGTTTCCCTGGGGGGGCCCG
TCTTTGACCTGGAAAAGCTCCGCTGGATGAACGGGAAGTACATCCGGGAGGTGCTCTCCCTGGAGGAGGT
GGCGGAGAGGGTCAAGCCCTTCCTCCGGGAGGCGGGGCTTTCCTGGGAAAGCGAGGCCTACCTGAGGCGG
GCGGTGGAGCTCATGCGCCCCCGGTTTGACACCCTGAAGGAGTTCCCGGAGAAGGCCCGCTACCTCTTCA
CCGAGGACTACCCCGTGTCGGAGAAGGCCCAGAGGAAGCTGGAAGAGGGGCTTCCCCTCCTCAAGGAGCT
CTACCCCCGCCTAAGGGCCCAGGAGGAGTGGACCGAGGCCGCCCTCGAGGCCCTCCTCCGGGGCTTCGCC
GCGGAGAAGGGGGTCAAGCTCGGCCAGGTGGCCCAGCCCCTTCGGGCCGCCCTCACGGGGAGCCTGGAGA
CCCCGGGGCTTTTTGAGATCCTGGCCCTCCTCGGGAAGGAGCGGGCGCTCAGGCGCTTGGAGCGGGCCCT
CGCCTAG
```

Fig. 28 Seqüència FASTA del gen glutamina-ARNt sintetasa de l'organisme *Thermus thermophilus*.

Entre seqüència i seqüència no hi pot haver cap línia en blanc, han d'anar correlatius. Dins d'una seqüència, entre nucleòtids, no hi pot haver cap espai en blanc.

Per altra banda, les lletres representatives de cada base han d'estar escrites en majúscula.

Per guardar les seqüències s'ha de obrir un editor de textos (el Bloc de Notes en el cas de Windows). Copiem la seqüència i l'enganxem en el document. S'aconsella abans de desar-la canviar-li el nom, és a dir, després del símbol ">" escrivim el nom de l'organisme el qual pertany el gen. D'aquesta manera quan fem l'arbre filogenètic serà el nom que ens sortirà. Finalment anomenem el document i el guardem.

8.3. Seqüències obtingudes

Les seqüències que he trobat i adaptat per poder comparar són:

- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Escherichia coli str. K-12 substr. MG1655*] (Gene ID- 946906).fasta
- EARS2 glutamyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Homo sapiens* (human)] (Gene ID- 124454).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Thermus thermophilus HB8*] (Gene ID- 3168748).fasta
- Ears2 glutamyl-tRNA synthetase 2 (mitochondrial)(putative) [*Mus musculus* (house mouse)] (Gene ID- 67417).fasta
- ERS glutamyl-tRNA synthetase [*Arabidopsis thaliana* (thale cress)] (Gene ID- 836526).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Pseudomonas aeruginosa PAO1*] (Gene ID- 882647).fasta7
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Staphylococcus aureus subsp. aureus N315*] (Gene ID- 1123290).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Helicobacter pylori 26695*] (Gene ID- 898901).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Sinorhizobium meliloti 1021*] (Gene ID- 1234580).fasta
- Aats-glupro Glutamyl-prolyl-tRNA synthetase [*Drosophila melanogaster* (fruit fly)] (Gene ID- 42834).fasta
- Ears2 glutamyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Rattus norvegicus* (Norway rat)] (Gene ID-361641).fasta
- zgc:153247 [*Danio rerio* (zebrafish)] (Gene ID- 751732).fasta
- ears2 glutamyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Xenopus (Silurana) tropicalis* (western clawed frog)] (Gene ID- 493404).fasta
- CTRG_05062 glutamyl-tRNA synthetase [*Candida tropicalis MYA-3404*] (Gene ID- 8299218).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Methanocaldococcus jannaschii DSM 2661*] (Gene ID- 1452280).fasta
- gltX glutamyl-tRNA synthetase [*Pyrococcus horikoshii OT3*] (Gene ID- 1442532).fasta
- pheM phenylalanyl-tRNA synthetase operon leader peptide [*Escherichia coli str. K-12 substr. MG1655*] (Gene ID- 947212).fasta

- FARS2 phenylalanyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Homo sapiens* (human)] (Gene ID- 10667).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Thermus thermophilus HB8*] (Gene ID- 3169731).fasta
- Fars2 phenylalanine-tRNA synthetase 2 (mitochondrial) [*Mus musculus* (house mouse)] (Gene ID- 69955).fasta
- AT3G58140 phenylalanyl-tRNA synthetase [*Arabidopsis thaliana* (thale cress)] (Gene ID- 824983).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Pseudomonas aeruginosa PAO1*] (Gene ID- 882970).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Staphylococcus aureus subsp. aureus N315*] (Gene ID- 1123812).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Helicobacter pylori 26695*] (Gene ID- 900083).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Sinorhizobium meliloti 1021*] (Gene ID- 1231919).fasta
- Aats-phe Phenylalanyl-tRNA synthetase [*Drosophila melanogaster* (fruit fly)] (Gene ID- 36547).fasta
- Fars2 phenylalanyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Rattus norvegicus* (Norway rat)] (Gene ID- 306879).fasta
- farsa phenylalanyl-tRNA synthetase, alpha subunit [*Danio rerio*(zebrafish)] (Gene ID- 692329).fasta
- fars2 phenylalanyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [*Xenopus (Silurana) tropicalis* (western clawed frog)] (Gene ID- 100491109).fasta
- CTRG_04670 phenylalanyl-tRNA synthetase alpha chain [*Candida tropicalis MYA-3404*] (Gene ID- 8296617).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Methanocaldococcus jannaschii DSM 2661*] (Gene ID- 1451349).fasta
- pheS phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha [*Pyrococcus horikoshii OT3*] (Gene ID- 1442988).fasta

Un cop tenim totes les seqüències FASTA, arriba el moment de comparar-les per tal de obtenir els resultat. Realitzarem aquestes comparacions mitjançant alineaments de seqüències.

9. Comparació de seqüències: El Clustal

El Clustal és un programa informàtic que s'utilitza per realitzar alineaments múltiples de seqüències. A més a més pot fer alineaments de parells i crear a partir dels resultat arbres filogenètics.

9.1. Alineaments

L'alineament de seqüències ens permet saber el grau de semblança que tenen o simplement buscar-ne les parts homòlogues. A més a més, ens permet comparar un gen amb el seu producte o trobar-ne els dominis funcionals.

Hi ha tres tipus alineaments principals, aquests són:

- **Alineament global:** És l'alineament utilitzat per comparar dues seqüències distants que sabem que tenen algunes semblances al llarg de la seva extensió. Són les més utilitzades en els alineaments múltiples. Aquests alineaments es poden generar amb tres mètodes, són el de la matriu de punts, els de programació dinàmica i els de paraula curta.

- **Alineament local:** És l'alineament empleat per comparar seqüències que només en conservem un fragment o que són distants i només s'assemblen en una part. Per comparar-les alineem aquelles regions que tenen una similitud per tal de trobar el màxim de franges de nucleòtids iguals, en molts casos solen ser-ho aquelles parts més ben conservades. Generalment sol ser la millor opció, a no ser que no es sàpiga del cert si tenen una semblança.

- **Alineament múltiple (MSA):** Consisteix en alinear tres o més seqüències. Aquestes però, per tal de ser comparades, han de tenir la mateixa llargada. Solen ser utilitzades per fer estudis filogenètics i per predir les mutacions que han ocorregut al llarg dels anys, es veu mirant les regions que s'han anat conservant a diferència de les que s'han anat perdent.

Aquest darrer serà el que jo utilitzaré.

9.2. Clustal Omega

El Clustal Omega és un programa específic d'alineament múltiple de seqüències per a proteïnes, ADN i ARN. Ofereix la possibilitat de veure les relacions evolutives entre els organismes, als quals pertanyen les seqüències, mitjançant arbres filogènics o cladogrames. També permet

veure els alineaments (Alignments) i els percentatges de proximitat de les seqüències (Percent Identity Matrix), entre altres opcions.

Per tal de facilitar el procés vaig inserir totes les seqüències obtingudes en un sol document (seguint les normes explicades en el subapartat 9.2 FASTA).

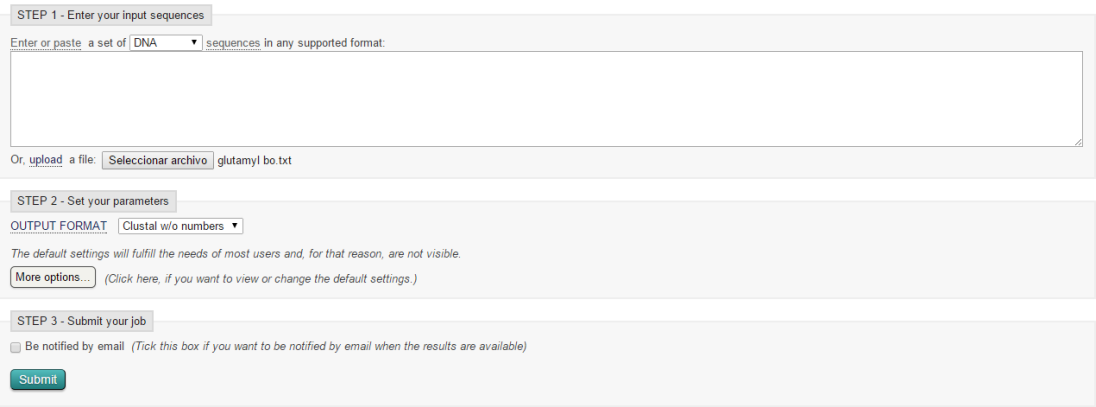


Fig. 29 Captura d'imatge del Clustal Omega amb l'arxiu de les seqüències del gen glutamina-ARNt sintetasa dels organismes amb els que realitzo l'experimentació.

Finalment, per introduir les dades a comparar, es selecciona el tipus de seqüència que introduïm (en aquest cas ADN), seleccionem l'arxiu correcte i cliquem "Submit".

9.3. Resultats obtinguts

Depenent de la comparació que realitzi els resultats tardin uns quants minuts a aparèixer. Es poden consultar durant 7 dies, que és el temps que queden enregistrats. Un cop s'ha exhaurit aquest temps el programa destrueix els resultats. Per això he fer captures de pantalla.

A la pàgina principal de l'alineament, el Clustal mostra l'alineament de les seqüències, on es poden veure les zones on hi ha similitud i les zones on no n'hi ha.

```
Danio                 ------------------------------------------------------------
Mus                   ------------------------------------------------------------
Rattus                TTTTAAAAGATTTATTTATTTTATTTATGTGAGTATACTGTAGCTGTCTTCAGACACACCA
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  ------------------------------------------------------------
Thermus               ------------------------------------------------------------
Pseudomonas           ------------------------------------------------------------
Sinorhizobium         ------------------------------------------------------------
Staphylococcus        ------------------------------------------------------------
Escherichia           ------------------------------------------------------------
Helicobacter          ------------------------------------------------------------
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------

Danio                 ------------------------------------------------------------
Mus                   ------------------------------------------------------------
Rattus                GAGGAGAGCACTGGATCCCATTATAGATGGTTATGAGCCACCATGTGGTTGCTAGGAATT
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  ------------------------------------------------------------
Thermus               ------------------------------------------------------------
Pseudomonas           ------------------------------------------------------------
Sinorhizobium         ------------------------------------------------------------
Staphylococcus        ------------------------------------------------------------
Escherichia           ------------------------------------------------------------
Helicobacter          ------------------------------------------------------------
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------

Danio                 ------------------------------------------------------------
Mus                   ------------------------------------------------------------
Rattus                GAACTCAGGACTTTTAGAGGATCCAGTCAGTGCTTTTAACTGCTAAGCCATCTCTCCAGT
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  ------------------------------------------------------------
Thermus               ------------------------------------------------------------
Pseudomonas           ------------------------------------------------------------
Sinorhizobium         ------------------------------------------------------------
Staphylococcus        ------------------------------------------------------------
Escherichia           ------------------------------------------------------------
Helicobacter          ------------------------------------------------------------
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------
```

Fig. 30 Fragment de l'alineament total: zones del gen glutamina-ARNt sintetasa amb poca similitud.

```
Danio                 AGCAGATAATGAGGATGACGAATATTAATGAGCAGATAATGAGGATGAC-----------
Mus                   ATC-CTAACTTGGTTTTCCCCACACTGCTTTGTTGTTGGAGTGGGGCTCAGAGTAGGCAC
Rattus                TTCCCTTACTTGGTTTTTCCCACACTGC------TTTAGAGTGGGGCTCACAGTAGACAC
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  TGCTGGGGCTACAGTAGTGGG----TGA------GATAGACATGATCCC----TGCCCT-
Thermus               GGGAAAGCGAGGCCTACCTGAGGCGGGC------GGTGGAGCTCATGCGCCCCCGGTTTG
Pseudomonas           TGAAGATCGC----------------------------TCCGCACGTGCAGGGACGGGTGG
Sinorhizobium         AGGAAGGTGT----------------------------GAAGCTCTCTCAGACCCGCATTT
Staphylococcus        TGAGGTGCCGTCAGAAGAGGATTTATCT------TGGGGACGCAAATTAATTGCGCTTTA
Escherichia           GTAACGGCCCGCA---GCTGGCTGATCT------GGTGAAACTGCTGGGCGAACGCTGCA
Helicobacter          TAAACCCCACTCA---ATTGGATCGCTT------GTTAGACGCTCTCAAAGAAAGATCTC
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------

Danio                 ------------------------------------------------------------
Mus                   TGTCCCTTGCCTTCAGAGACCAGAAGTCTCATTAGTCTCATCCATACGATAGGTCTGAGG
Rattus                TGTCCCATGCCTTCAGAGACCAGAAGTCTCTTTAGTCTCGTCCATATGATAGGGGCTAAGG
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  ----CAAGGGACTTATAGTCTCTGAGCCTCAGTTGCATA-TCTGGAAAATGGGGATAAGT
Thermus               ACA-CCCTGAAGGAGTTCCCGGAGAAGGCCCGCTACCTC-TTCACCGAGGACTACCCCGT
Pseudomonas           AGA-ACTTCAGCCAGATCGCGCGCTGGCCGGATTCTTC-TTCAGCGGCGGGGTGCCGCT
Sinorhizobium         CGA-AGCTCGGCGAACTGCCCGATCTCGCCGCCTTCCTC-TTCAAGTCGGATCTCGGCCT
Staphylococcus        TCAAAAAGAAATGAGTTATGCCGGTGAAATTGTACCTTT-ATCAGAAATGTTCTTTAAAG
Escherichia           AGA-CGCTGAAAGAGATGGCACAGAGCTGCCGTTATTTC-TACGAAGATTTTGCTGAGTT
Helicobacter          AAA-CACTAAAAGAATTAGCCCTTAAAATAGATGAGGTT-TTAATCGCCCCTGTGGAGTA
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------

Danio                 ------------------------------------------------------------
Mus                   GTATGCCCCATAGAGTT-ACTTAGGAGCCA---------GTGAGCTTGTAAATAGAAGG
Rattus                GTATGCCATGTAGGATT-ACTTAGGAGTCA---------GTGAGCTTGTAAATATAAGG
Xenopus               ------------------------------------------------------------
Homo                  GTCTACCTCAT-----TGGGTTAGGATTCA---------CTGAGCTCAGGAGTGTAAGG
Thermus               GTCG------------GAGAAGGCCCAGAGGAA------GCTGGAAGAGGGGCTTCCCC
Pseudomonas           GGACGCTTCGC-TGTTCGAACACAAGAAGCTCGA------TCCGACCCAGGTCCGCCAGG
Sinorhizobium         GCAGCCCGCCG-CCTTTGCCGGCGTGAAGGCCTC------GCCCGAGGAGATGCTCAAAA
Staphylococcus        AAATGCCAGCTCTTGGTGAAGAAGAACCAACAAGTGATTAATGGAGAGCAAGTACCAGAGT
Escherichia           CGATGCCGACG-CCGCGAAAAAACATCTGCGTCCGGTAGCGCGTCAGCCGCTGGAAGTGG
Helicobacter          TGAAGAAAAGG-TTTTTAAAAAACTCAATCAAGCGCTCGTTATGCCCTTGTTAGAAAAGT
Arabidopsis           ------------------------------------------------------------
Methanocaldococcus    ------------------------------------------------------------
Pyrococcus            ------------------------------------------------------------
Drosophila            ------------------------------------------------------------
Candida               ------------------------------------------------------------
```

Fig. 31 Fragment de l'alineament total: zones del gen glutamina-ARNt sintetasa amb molta similitud.

El Clustal Omega també ens ofereix els percentatge de similitud entre seqüències:

Percent Identity Matrix - created by Clustal2.1

1: Danio	100.00	44.80	45.04	44.57	46.46	41.50	39.47	38.18	38.73	39.92	38.39	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
2: Mus	44.80	100.00	83.87	48.64	57.00	43.96	42.11	40.50	40.92	40.98	38.38	-nan	-nan	-nan	50.72	-nan
3: Rattus	45.04	83.87	100.00	49.49	58.74	43.25	42.80	41.75	42.52	42.03	39.98	-nan	-nan	-nan	51.02	-nan
4: Xenopus	44.57	48.64	49.49	100.00	53.09	42.92	40.86	38.72	41.17	40.81	38.75	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
5: Homo	46.46	57.00	58.74	53.09	100.00	49.77	47.71	47.30	46.59	46.83	46.35	-nan	-nan	-nan	48.56	-nan
6: Thermus	41.50	43.96	43.25	42.92	49.77	100.00	60.52	57.35	41.35	47.90	42.99	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
7: Pseudomonas	39.47	42.11	42.80	40.86	47.71	60.52	100.00	64.28	42.82	50.57	43.22	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
8: Sinorhizobium	38.18	40.50	41.75	38.72	47.30	57.35	64.28	100.00	43.04	48.20	44.44	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
9: Staphylococcus	38.73	40.92	42.52	41.17	46.59	41.35	42.82	43.04	100.00	51.72	55.67	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
10: Escherichia	39.92	40.98	42.03	40.81	46.83	47.90	50.57	48.20	51.72	100.00	54.34	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
11: Helicobacter	38.39	38.38	39.98	38.75	46.35	42.99	43.22	44.44	55.67	54.34	100.00	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan
12: Arabidopsis	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	100.00	45.10	43.92	53.27	47.97
13: Methanocaldococcus	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	45.10	100.00	59.74	46.65	52.87
14: Pyrococcus	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	43.92	59.74	100.00	47.42	47.06
15: Drosophila	-nan	50.72	51.02	-nan	48.56	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	53.27	46.65	47.42	100.00	56.97
16: Candida	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	-nan	47.97	52.87	47.06	56.97	100.00

Fig. 32 Captura d'imatge dels percentatges de similitud entre les seqüències del gen glutamina-ARNt sintetasa dels organismes escollits.

Si entrem a l'apartat "Phylogenic tree" de la pàgina inicial podem veure l'arbre filogenètic sense arrelar[34] creat a partir de les seqüències, al que podem donar l'opció de mostrar les distàncies. És a partir d'aquí quan podem començar a treure conclusions, ja que com podem veure en les Fig. 31 i 32, treure conclusions sense l'arbre filogenètic seria molt complicat.

El propi programa també ofereix la possibilitat d'enviar-lo al Clustal Phylogeny ("Send to Clustal W2_Phylogeny" des de l'apartat inicial d'Alineaments), on es pot modificar per a obtenir-lo arrelat, en forma de Cladograma, amb distàncies...

[34] Arbre filogenètic sense arrelar: és aquell arbre que no mostra les distàncies entre els organismes.

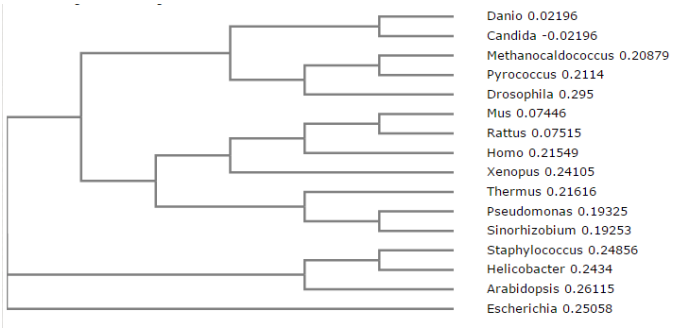


Fig. 33 Arbre filogènic per als resultats dels alineaments del gen glutamina-ARNt sintetasa.

Abans de l'arbre però, veiem l'arxiu de dades de l'arbre amb les distàncies anotades:

```
(
(
(
(
Danio:0.02196,
Candida:-0.02196)
:0.28017,
(
(
Methanocaldococcus:0.20879,
Pyrococcus:0.21140)
:0.06536,
Drosophila:0.29500)
:0.02734)
:0.00874,
(
(
(
(
Mus:0.07446,
Rattus:0.07515)
:0.15254,
Homo:0.21549)
:0.03173,
Xenopus:0.24105)
:0.03280,
(
Thermus:0.21616,
(
Pseudomonas:0.19325,
Sinorhizobium:0.19253)
:0.02576)
:0.05548)
:0.01780)
:0.02778,
(
(
Staphylococcus:0.24856,
Helicobacter:0.24340)
:0.00923,
Arabidopsis:0.26115)
:0.00374,
Escherichia:0.25058);
```

Fig. 34 Captura de les dades mostrades a l'arxiu amb la informació i les distàncies per a formar el posterior arbre filogènic.

9.4. Interpretació dels resultats

9.4.1. Interpretació dels resultats del gen fenilalanina-ARNt sintetasa

Un cop vaig tenir el document que contenia totes les seqüències dels organismes escollits del gen fenilalanina-ARNt sintetasa, el vaig introduir al Clustal per tal de comparar-les. Després de una llarga espera dels resultats, va aparèixer un missatge a la pantalla conforme el document no s'havia pogut comparar. Donava varies opcions del que havia pogut succeir i la única que era vàlida era que la comparació no s'havia pogut completar.

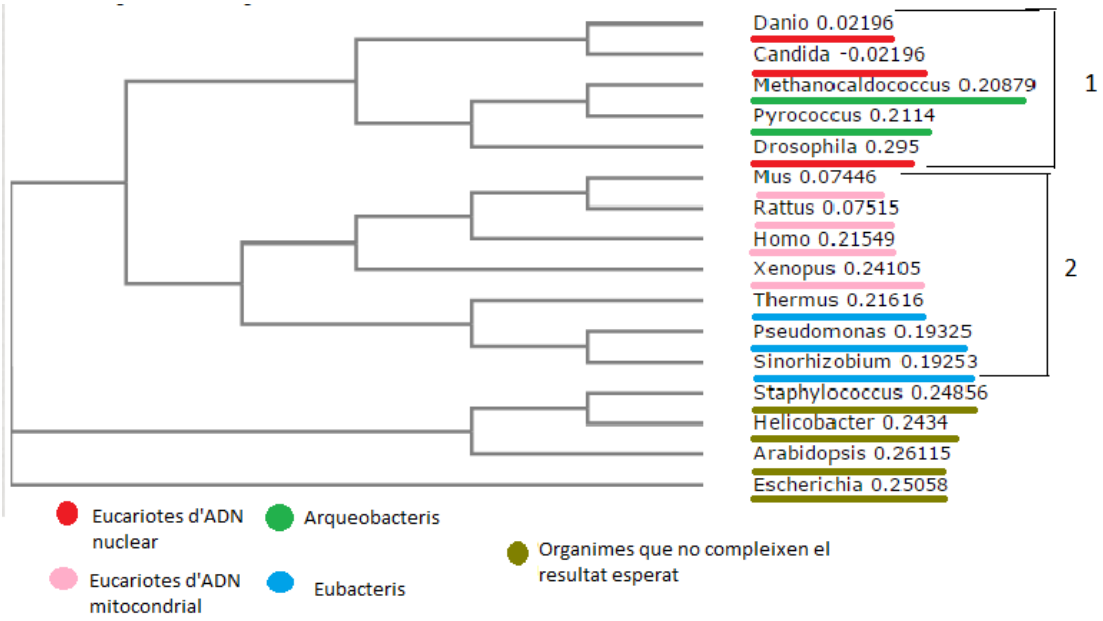
Vaig tornar-ho intentar i el resultat va ser el mateix. Seguidament vaig tornar a intentar comparar l'altre gen escollit, i aquest es va completar. Em vaig repassar el document que havia introduït per si m'havia deixat algun espai o línia en blanc o havia col·locat alguna informació incorrectament, però seguia sense completar-se.

Finalment vaig tornar a buscar i descarregar totes les seqüències, les vaig ajuntar en un Bloc de Notes per veure si així funcionava. Però el resultat va tornar a ser el mateix.

Com a resultat de tot això, no he pogut obtenir els resultats de la comparació del gen de la fenilalanina-ARNt sintetasa.

9.4.2. Interpretació dels resultats del gen glutamina-ARNt sintetasa

Pel que fa a les seqüències a comparar del gen glutamina-ARNt sintetasa, el procés el vaig poder dur a terme sense cap problema.



Si ens basem en l'arbre filogènic obtingut, podem veure a la part superior (indicat amb un número 1) les següents espècies:

- Tres eucariotes amb l'ADN nuclear: *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio* i *Candida tropicalis.*

- Dos arqueobacteris, *Methanocaldococcus jannaschii* i *Pyrococcus horikoshii.*

Al estar tant propers en l'arbre filogènic, significa que tenen un elevat grau de parentesc i que per tant tenen un origen en comú.

Si ens basem en la part central de l'arbre (indicat amb un número 2), trobem les espècies següents:

- Quatre eucariotes d'ADN mitocondrial: *Mus musculus, Rattus norvegicus, Homo sapiens* i *Xenupus tropicalis.*

- Tres eubacteris: *Thermus thermphilus, Pseudomonas aeruginosa* i *Sinorhizobium meliloti.*

10. Conclusions

Un cop analitzat el resultat he arribat a les següents conclusions:

- En la comparació ADN arqueobacteri- ADN nuclear eucariotes la similitud trobada entre dos arqueobacteris (*Methanocaldococcus jannaschii* i *Pyrococcus horikoshii*) i tres eucariotes (*Drosophila melanogaster, Danio rerio* i *Candida tropicalis*) demostra que la primera incorporació de la teoria endosimbiòtica de la Lynn Margulis s'avindria als meus resultats. Però no seria així en l'eucariota vegetal, *Arabidopsis thaliana*.

- En la comparació entre els eubacteris i l'ADN mitocondrial del eucariotes trobem una gran proximitat entre els tres eubacteris (*Thermus thermphilus, Pseudomonas aeruginosa* i *Sinorhizobium meliloti*) i els quatre eucariotes (*Mus musculus, Rattus norvegicus, Homo sapiens* i *Xenupus tropicalis*). Aquest fet mostra la similitud corresponent a la segona incorporació simbiogenètica de la Lynn Margulis. Però no seria així el cas dels altres tres eubacteris que són els tres (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus* i *Helicobacter pylori*). És casualitat que aquest tres provoquen malalties oportunistes en els humans.

És evident que les conclusions a les que he arribat no són del tot correctes en el sentit de que a partir d'aquest punt hauria de comparar més gens i de més organismes per treure conclusions més rellevants i exactes.

Tot i ser un treball molt exhaustiu, no es pot donar per acabat. Pertany a una branca de la biologia en la qual no tinc prou coneixements, però aquest treball ha fet que hagi pogut aprendre el que és un veritable treball de recerca. Tot i que el meu primer interès era cap a la branca de la genètica i cap als descobriments de la Lynn Margulis, he descobert un nou món que és la filogènia.

També he comprovat que si treballes bé els resultats s'acosten al que esperes, tot i que no sempre és així. Això no ho considero un fracàs sinó una porta per seguir experimentant i esbrinar el perquè d'aquest resultats no esperats.

Les explicacions del perquè alguns dels organismes no s'han ajustat al que jo esperava poden ser:

- Un gen és senzillament una fracció del genoma i cap d'ells pot representar un genoma sencer per tant estem estudiant tant sols una petita part. Caldria analitzar seqüències més llargues per arriba a resultats més concloents.

- La variació molecular no és homogènia ni constant i presenta diferents taxes evolutives entre gens. Per tant la tria dels gens és molt important.

- Diferents gens proporcionen diferents arbres, caldria analitzar una varietat més amplia.

- De fet, per comparacions de seqüencies de molècules es fan servir seqüències de gens i proteïnes universals com ARNr o els gens ADNr, que donen segons els especialistes conclusions més vàlides.

- Es convenient triar gens o regions molt conservats per resoldre parentius llunyans com el Citocrom c o certs fragments de l'ARNr especialment del 16 S.

Estic satisfeta de la feina realitzada, ja que he après de moltes branques diferents de la biologia, he ampliat moltíssim el meu vocabulari, i he ampliat i resumit molts dels conceptes apresos a classe.

És evident que l'esforç té la seva recompensa i la meva és el meu estat de satisfacció per aquest treball que he realitzat.

BIBLIOGRAFIA

PÀGINES WEB:

GenBank

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/ (8 de Setembre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Format_FASTA (6 de Gener)
http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blastcgihelp.shtml (6 de Gener)

Clustal

http://es.wikipedia.org/wiki/ClustalW (18 de Desembre)
http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/ (8 de Setembre)
http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/ (16 de Desembre)
http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/ (16 de Desembre)
http://bioinformatica.upf.edu/2006/projectes06/2.1/introduccio.html (16 de Desembre)
http://personales.upv.es/jcanizar/bioinformatica/multiple.html (16 de Desembre)
http://www.atapuerca.org/tax1-1.htm (16 de Desembre)
http://www.iesloscardones.es/del_huerto/linneo.html (16 de Desembre)
http://dcc.uab.es/sites/default/files/20381/Cursoactual/transp_Ivan_Erill/Alineament_07.pdf (16 de Desembre)
http://personales.upv.es/jcanizar/bioinformatica/alineamientos.html (17 de Desembre)
http://bioinformatica.upf.edu/T11/slide2.html (17 de Desembre)
http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/ (17 de Desembre)
https://sites.google.com/a/agro.uba.ar/bioinformatica/Home/alineamientosmultiples (17 de Desembre)

Teoria endosimbiòtica i Lynn Margulis

http://ca.wikipedia.org/wiki/Lynn_Margulis (9 de Setembre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Teoria_endosimbi%C3%B2tica (9 de Setembre)
http://curiosidades.batanga.com/5427/que-es-la-teoria-endosimbiotica (9 de Setembre)
http://elblogdeferalfonso.blogspot.com.es/2012/03/teoriaendosimbiotica-lynn-margulis-la.html (9 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Eucariog%C3%A9nesis (9 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Endosimbiosis_seriada(9 de Setembre)
http://www.slideshare.net/roberto12346/teora-de-la-endosimbiosis-biologia?related=1 (9 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Teor%C3%ADa_simbiogen%C3%A9tica (9 de Setembre)

Teories anteriors

http://www.uib.cat/ciencia/43/ballester.html (16 de Setembre)
http://uachfcqqbp.blogspot.com.es/2007/09/teora-simbitica-de-la-evolucin.html (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Hip%C3%B3tesis_del_hidr%C3%B3geno (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Andreas_Franz_Wilhelm_Schimper (16 de Setembre)

http://curiosidades.batanga.com/5427/que-es-la-teoria-endosimbiotica (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Teor%C3%ADa_simbiogen%C3%A9tica (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Teor%C3%ADa_aut%C3%B3gena (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Genoma_mitocondrial (16 de Setembre)
http://es.wikipedia.org/wiki/Hip%C3%B3tesis_fagotr%C3%B3fica (16 de Setembre)
http://www.catedu.es/MujeresDeCiencias/4.BIOGRAFiAS/LMargulis.html (26 de Novembre)
http://www.neurowikia.es/content/caracter%C3%ADsticas-fundamentales-del-adnmt (30 de Desembre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/James_Lovelock (4 de Novembre)
http://ecolo.org/lovelock/lovedetsp.htm (4 de Novembre)
http://www.uib.cat/ciencia/43/ballester.html (4 de Novembre)

La cèl·lula

http://www.xtec.cat/~rvillanu/celula/celula.htm (3 de Gener)
http://www.ecured.cu/index.php/Mitocondrias (17 d'Octubre)
http://www.xtec.cat/~jgurrera/mtcndri.htm (17 d'Octubre)
http://webs.uvigo.es/mmegias/5-celulas/6-cloroplastos.php (19 d'Octubre)
http://webs.uvigo.es/mmegias/5-celulas/6-mitocondrias.php (17 d'Octubre)
http://www.infobiologia.net/p/cloroplastos.html (19 d'Octubre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Mitocondri (17 d'Octubre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Cloroplast (19 d'Octubre)

Àcids nucleics

http://www.vcarmenpalma.com/web_cvc/asignaturas/Els%20%C3%A0cids%20nucleics.2batx.pdf (30 de Desembre)
http://ca.wikipedia.org/wiki/%C3%80cid_nucleic (30 de Desembre)
http://www.slideshare.net/oribara/biologia-2n-batxillerat-u06-els-cids-nucleics?related=1 (30 de Desembre)

Aminoacil-ARNt sintetasa

http://es.wikipedia.org/wiki/Aminoacil_ARNt_sintetasa (29 de Desembre)
http://sbi.imim.es/students/proj2002/e15213/aminoacils.html (29 de Desembre)

Arqueobacteris

http://ca.wikipedia.org/wiki/Arqueobacteri (3 de Gener)
https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methanococcus_jannaschii (3 de Gener)
http://en.wikipedia.org/wiki/Pyrococcus_horikoshii (3 de Gener)
http://archaea.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?db=pyrHor1 (3 de Gener)

Eubacteris

http://ca.wikipedia.org/wiki/Eubacteri (3 de Gener)

http://la-cel-lula.blogspot.com.es/2010/10/eubacteris.html (3 de Gener)
http://elsbacteris.blogspot.com.es/ (3 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli (3 de Gener)
http://en.wikipedia.org/wiki/Thermus_thermophilus (3 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa (3 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus (3 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori (3 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Sinorhizobium_meliloti (3 de Gener)

Eucariotes

http://ca.wikipedia.org/wiki/Eucariota (4 de Gener)
http://www.buenastareas.com/ensayos/Dominio-Eukaria/6012184.html (4 de Gener)
http://geneticacom.blogspot.com.es/p/cromosomas-humanos.html (4 de Gener)
http://es.wikipedia.org/wiki/Homo_sapiens#Biolog.C3.ADa (4 de Gener)
http://es.wikipedia.org/wiki/Mus_musculus (4 de Gener)
http://en.wikipedia.org/wiki/Arabidopsis_thaliana (4 de Gener)
http://ca.wikipedia.org/wiki/Mosca_del_vinagre (4 de Gener)
http://es.wikipedia.org/wiki/Rattus_norvegicus (4 de Gener)
http://es.wikipedia.org/wiki/Danio_rerio (4 de Gener)
http://es.slideshare.net/fmedin1/modelos-biolgicos-presentation-619408 (4 de Gener)

IMATGES:

Fig. 1
https://www.google.es/search?q=c%C3%A8l%C2%B7lula+procariota&biw=1366&bih=681&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=qHmpVPOXE5SxadDXgKgP&sqi=2&ved=0CB4QsAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=uWg2tXEC7BkTxM%253A%3BOM-9LrrfwqT8mM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.xtec.cat%252F~ajimeno%252Fcn1eso%252F10cellules%252Fbacteri.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.xtec.cat%252F~ajimeno%252Fcn1eso%252F10cellules%252F10lacellula.htm%3B350%3B274 (6 de Gener)

Fig. 2
http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/celula_animal_y_vegetal.htm (6 de Gener)

Fig. 3
https://www.google.es/search?q=lynn+margulis&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=bXqpVK_oO5H1asO5gKAC&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=o2kyvHVwnz96mM%253A%3B7wX2sSPKpnGdDM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.nndb.com%252Fpeople%252F228%252F000268421%252Fmargulis-1-sized.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.nndb.com%252Fpeople%252F228%252F000268421%252F%3B230%3B332 (6 de Gener)

Fig. 4
https://www.google.es/search?q=mitocondris&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=xXqpVIulC4jVaq69gJgK&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=-EYsKsj7V3NK5M%253A%3B6pZBtbOjv6ymLM%3Bhttp%253A%252F%252F1.bp.blogspot.com%252F-jY4p2uKu7p4%252FUv4oDW4DghI%252FAAAAAAAAAEQ%252FTfd_wOwnAQ0%252Fs16

00%252Fmitocondris.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Felblogdeandreaa.blogspot.com%252F2014%252F02%252Fmitocondris-i-respiracio-cellular.html%3B1176%3B680 (6 de Gener)

Fig. 5
https://www.google.es/search?q=cloroplasts&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=CnupVNfVKcHnaKrJgbgC&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=Ew31SHUkPECuIM%253A%3BEKTuxJzAjFPv8M%3Bhttp%253A%252F%252F1.bp.blogspot.com%252F-Z7X_vDAJ76k%252FUTo_xA-jhfI%252FAAAAAAAAAKo%252Fa_2AR0T3n9s%252Fs1600%252F0416.png%3Bhttp%253A%252F%252Fmetodesneuslopez.blogspot.com%252F2013%252F03%252Fobservacio-de-cellules-vegetals.html%3B400%3B206 (6 de Gener)

Fig. 6
https://www.google.es/search?q=teoria+endosimbiotica&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=gXupVNuYCsPaaMHSgLgD&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=Jg1ycUpBe_ZkyM%3A%3BdLQJPXWl5XTsWM%3BJg1ycUpBe_ZkyM%3A&imgrc=Jg1ycUpBe_ZkyM%253A%3BFgIiBr005QdtNM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.monografias.com%252Ftrabajos91%252Fteoria-endosimbiotica-o-endosimbiosis-seriada%252Fimage001.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.monografias.com%252Ftrabajos91%252Fteoria-endosimbiotica-o-endosimbiosis-seriada%252Fteoria-endosimbiotica-o-endosimbiosis-seriada.shtml%3B476%3B188 (6 de Gener)

Fig. 7
https://www.google.es/search?q=base&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=UHypVLuSJMrkaKLbgsAC&ved=0CAcQ_AUoAg#tbm=isch&q=nucleotid&facrc=_&imgdii=_&imgrc=sQ-Nlgxp1T_kzM%253A%3BJEhIYbUWXRSFKM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.xtec.cat%252F~slope%252Fcontingut_pS%252Fbiomolecules_3d%252Fimatges%252520acids%252520nucleics%252FDibujo%252520NUCLEOTID.JPG%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.xtec.cat%252F~slope%252Fcontingut_pS%252Fbiomolecules_3d%252Facids%252520nucleics.htm%3B640%3B384 (6 de Gener)

Fig. 8
https://www.google.es/search?q=base&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=UHypVLuSJMrkaKLbgsAC&ved=0CAcQ_AUoAg#tbm=isch&q=ADN&facrc=_&imgdii=_&imgrc=GEzHt2-OcmvDHM%253A%3B3pPx-xto8cjEyM%3Bhttp%253A%252F%252F1.bp.blogspot.com%252F-MFRhzHZxulw%252FU1LgOGCLJrI%252FAAAAAAAAACM%252F7H-n8nk5jhs%252Fs1600%252FARN-ADN.png%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.unprofesor.com%252Fciencias-naturales%252Fdiferencia-entre-adn-y-arn-503.html%3B749%3B599 (6 de Gener)

Fig. 9
https://www.google.es/search?q=dominis&biw=1366&bih=681&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=vaenVLusDMHmaoe_gtAD&ved=0CAcQ_AUoAg#tbm=isch&q=arquobacteris+eubacteris&facrc=_&imgdii=_&imgrc=0DnfOiWZ0Sz6tM%253A%3BcOT326Ed4CfHBM%3Bhttp%253A%252F%252Frecursostic.educacion.es%252Fsecundaria%252Fedad%252F1esobiologia%252F1quincena9%252Factividades%252Fnueva_clasificacion_archivos%252Fimage001.png%3Bhttp%253A%252F%252Frecursostic.educacion.es%252Fsecundaria%252Fedad%252F1esobiologia%252F1quincena9%252Factividades%252Fnueva_clasificacion.htm%3B600%3B450 (6 de Gener)

Fig. 10
https://www.google.es/search?q=Methanocaldococcus+jannaschii&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=r32pVIK3DtXsaIKVgvAC&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=c_89gEuKZohifM%253A%3Br6_djHdZRthCoM%3Bhttps%253A%252F%252Fmicrobewiki.kenyon.edu%252Fimages%252Fe%252Fe7%252FM.j.gif%3Bhttps%253A%252F%252Fmicrobewiki.kenyon.edu%252Findex.php%252FMethanococcus_jannaschii%3B225%3B225 (6 de Gener)

Fig. 11
https://www.google.es/search?q=Pyrococcus+horikoshii&biw=1366&bih=681&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=8H2pVLeNIJXgat-NgNAI&ved=0CAcQ_AUoAg#facrc=_&imgdii=_&imgrc=L0cInTGLn12IDM%253A%3Bi-lwSDhcUSeT2M%3Bhttps%253A%252F%252Fmicrobewiki.kenyon.edu%252Fimages%252F4%252F41%252FPyrococcus_5.gif%3Bhttps%253A%252F%252Fmicrobewiki.kenyon.edu%252Findex.php%252FPyrococcus%3B175%3B202 (6 de Gener)

Fig. 12
https://www.google.es/search?q=Escherichia+coli&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=PX6pVOaHHYrlaJeGgNgB&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=SgLf2fCBDo5q1M%253A%3BkLAp6RZDZ9DJyM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.abc.es%252FMedia%252F201105%252F30%252Fescherichia-coli-sintomas--644x362.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.abc.es%252F20110531%252Fsociedad%252Fabci-escherichia-coli-pepinos-201105301450.html%3B644%3B361 (6 de Gener)

Fig. 13
https://www.google.es/search?q=Escherichia+coli&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=PX6pVOaHHYrlaJeGgNgB&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=Thermus+thermophilus+&facrc=_&imgdii=_&imgrc=FzduYUau54zZdM%253A%3BldJLNVWxWVXTAM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.azonano.com%252Fimages%252Fnews%252FNewsImage_7829.jpg%3Bhttps%253A%252F%252Flookfordiagnosis.com%252Fmesh_info.php%253Fterm%253DThermus%252BThermophilus%2526lang%253D2%3B300%3B300 (6 de Gener)

Fig. 14
https://www.google.es/search?q=Escherichia+coli&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=PX6pVOaHHYrlaJeGgNgB&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=Pseudomonas+aeruginosa&facrc=_&imgdii=_&imgrc=8qSi7Wv7K7ARAM%253A%3BeuABARPfmZPwrM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.pseudomonas.com%252Fimages%252Fpaeruginosa.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.pseudomonas.com%252F%3B500%3B400 (6 de Gener)

Fig. 15
https://www.google.es/search?q=Escherichia+coli&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=PX6pVOaHHYrlaJeGgNgB&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=Staphylococcus+aureus+&facrc=_&imgdii=_&imgrc=WB44cUzRpvyLQM%253A%3BlRgwnjIUD2yZ_M%3Bhttp%253A%252F%252Fupload.wikimedia.org%252Fwikipedia%252Fcommons%252Fthumb%252Fd%252Fd3%252FStaphylococcus_aureus_VISA_2.jpg%252F300px-Staphylococcus_aureus_VISA_2.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fes.wikipedia.org%252Fwiki%252FStaphylococcus_aureus%3B300%3B230 (6 de Gener)

Fig. 16
https://www.google.es/search?q=Escherichia+coli&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=PX6pVOaHHYrlaJeGgNgB&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=Helicobacter+pylo

ri+&facrc=_&imgdii=_&imgrc=7OWPv4yb7YEDQM%253A%3B4ZKO2BLj-KeEDM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.madrimasd.org%252Fblogs%252Fmicrobiologia%252Fwp-content%252Fblogs.dir%252F110%252Ffiles%252F1431%252Fo_helicobacter-pylori.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.madrimasd.org%252Fblogs%252Fmicrobiologia%252F2009%252F02%252F21%252F113252%3B1600%3B1200 (6 de Gener)

Fig. 17
https://www.google.es/search?tbm=isch&oq=&gs_l=&q=pylorisinorhizobium%20meliloti#tbm=isch&q=sinorhizobium+meliloti&facrc=_&imgdii=_&imgrc=sXO2BnAEH_5pjM%253A%3B40mC7D8Ba_Q0UM%3Bhttp%253A%252F%252Fcmgm.stanford.edu%252F~mbarnett%252F1021.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fcmgm.stanford.edu%252F~mbarnett%252Fgenome.htm%3B311%3B149 (6 de Gener)

Fig. 18
https://www.google.es/search?tbm=isch&oq=&gs_l=&q=pylorisinorhizobium%20meliloti#tbm=isch&q=mus+musculus&facrc=_&imgdii=_&imgrc=uq-PYMlTEz_uoM%253A%3BN32ywRUg_jRvqM%3Bhttp%253A%252F%252Fucscbrowser.genenetwork.org%252Fimages%252FMus_musculus.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fucscbrowser.genenetwork.org%252Fcgi-bin%252FhgGateway%3B258%3B200 (6 de Gener)

Fig. 19
https://www.google.es/search?tbm=isch&oq=&gs_l=&q=pylorisinorhizobium%20meliloti#tbm=isch&q=arabidopsis+thaliana&facrc=_&imgdii=_&imgrc=NRCxdOos-MWXjM%253A%3BPWrSKBt6BSXwHM%3Bhttp%253A%252F%252Fupload.wikimedia.org%252Fwikipedia%252Fcommons%252F8%252F83%252FArabidopsis_thaliana_JdP_2013-04-28.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fcommons.wikimedia.org%252Fwiki%252FFile%253AArabidopsis_thaliana_JdP_2013-04-28.jpg%3B3337%3B5000 (6 de Gener)

Fig. 20
https://www.google.es/search?tbm=isch&oq=&gs_l=&q=pylorisinorhizobium%20meliloti#tbm=isch&q=Drosophila+melanogaster+&facrc=_&imgdii=_&imgrc=5RC6fSrqSYI9BM%253A%3BIFJbZW2es8-kZM%3Bhttp%253A%252F%252F2.bp.blogspot.com%252F-dIZl52ispcA%252FUKvgEw3IhAI%252FAAAAAAAAABE%252F0A7Cdkxb18Y%252Fs1600%252FDrosophila%25255B1%25255D.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fdrosophilamelanogaster27.blogspot.com%252F%3B320%3B320 (6 de Gener)

Fig. 21
https://www.google.es/search?q=Rattus+norvegicus&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=45CpVMi7A8H9UuvagnA&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=y6WghvzoQn_UtM%253A%3BkdgIZRMZ4CdrgM%3Bhttp%253A%252F%252Fsawyerpestmanagement.com%252Fnews%252Fwp-content%252Fuploads%252F2010%252F11%252FRattus-norvegicus.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.gopixpic.com%252F368%252Frattus-norvegicus%252Fhttp%253A%25257C%25257Cwww*multiservice-a-d*it%25257Cerogatori%252520x%252520topi%25257Crattus_norvegicus*gif%252F%3B340%3B215 (6 de Gener)

Fig. 22
https://www.google.es/search?q=danio+rerio&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=FJGpVOqkKoOwUfvTgrgL&ved=0CAYQ_AUoAQ (6 de Gener)

Fig. 23
https://www.google.es/search?q=danio+rerio&biw=1366&bih=638&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=FJGpVOqkKoOwUfvTgrgL&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=xenopus+tropicalis&facrc=_&imgdii=_&imgrc=EDtFoUyatB-sHM%253A%3Bprie2n-FN_xxGM%3Bhttp%253A%252F%252Fcdn.phys.org%252Fnewman%252Fgfx%252Fnews%252Fhires%252Fxenopustropi.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fphys.org%252Fnews191765363.html%3B945%3B829 (6 de Gener)

Fig. 24
https://www.google.es/search?q=candida+tropicalis&biw=1366&bih=681&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=ZpGpVI2TE4re7AaD3oHwDg&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgrc=a6cpcKOVolZCFM%253A%3BzOGhb9h_rpgaaM%3Bhttp%253A%252F%252Fupload.wikimedia.org%252Fwikipedia%252Fcommons%252Ff%252Ffa%252FC_tropicalis_YC466.png%3Bhttp%253A%252F%252Fde.wikipedia.org%252Fwiki%252FCandida_tropicalis%3B1280%3B893 (6 de Gener)

Fig. 25
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/ (6 de Gener)

Fig. 26
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=glutamyl-tRNA+synthetase+Thermus+thermophilus (6 de Gener)

Fig. 27
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3168748 (6 de Gener)

Fig. 28
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_006461.1?report=fasta&from=411311&to=412717&strand=true (6 de Gener)

Fig. 29
http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/ (6 de Gener)

Fig. 30 i 31
http://www.ebi.ac.uk/Tools/services/web/toolresult.ebi?jobId=clustalo-I20150107-100237-0750-11015502-pg (6 de Gener)

Fig. 32
http://www.ebi.ac.uk/Tools/services/rest/clustalo/result/clustalo-I20150107-100237-0750-11015502-pg/pim(6 de Gener)

Fig. 33 i 34
http://www.ebi.ac.uk/Tools/services/web/toolresult.ebi?jobId=clustalo-I20150107-100237-0750-11015502-pg&analysis=phylotree (6 de Gener)

LLIBRES:

STANIER, Roger Y. et. al. *Microbiología.* 2a ed. Barcelona: Editorial Reverté, S.A., 1989. ISBN -84-291-1868-3

MARGULIS, Lynn. *El origen de las células.* Barcelona: Editorial Reverté, S.A., 1986. ISBN -84-291-1832-2

MÉNSUA, José Luis. *Genética*. Barcelona: Editorial Omega, S.A. ISBN -84-282-0829-8

LEHNINGER, Albert. *Principios de Bioquímica*. Barcelona: Editorial Omega, S.A. ISBN -84-282-0738-0