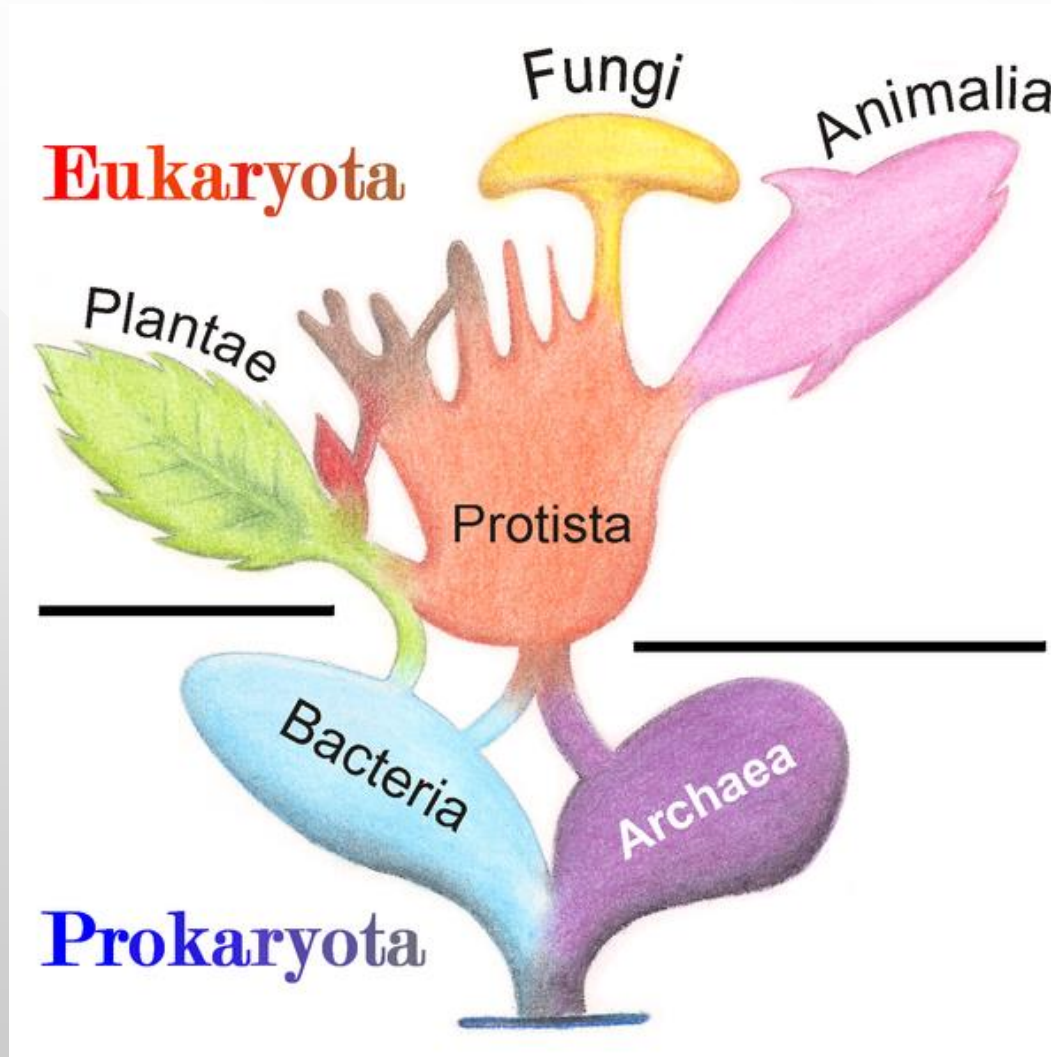


“Midichloria” e “Cyanelle”

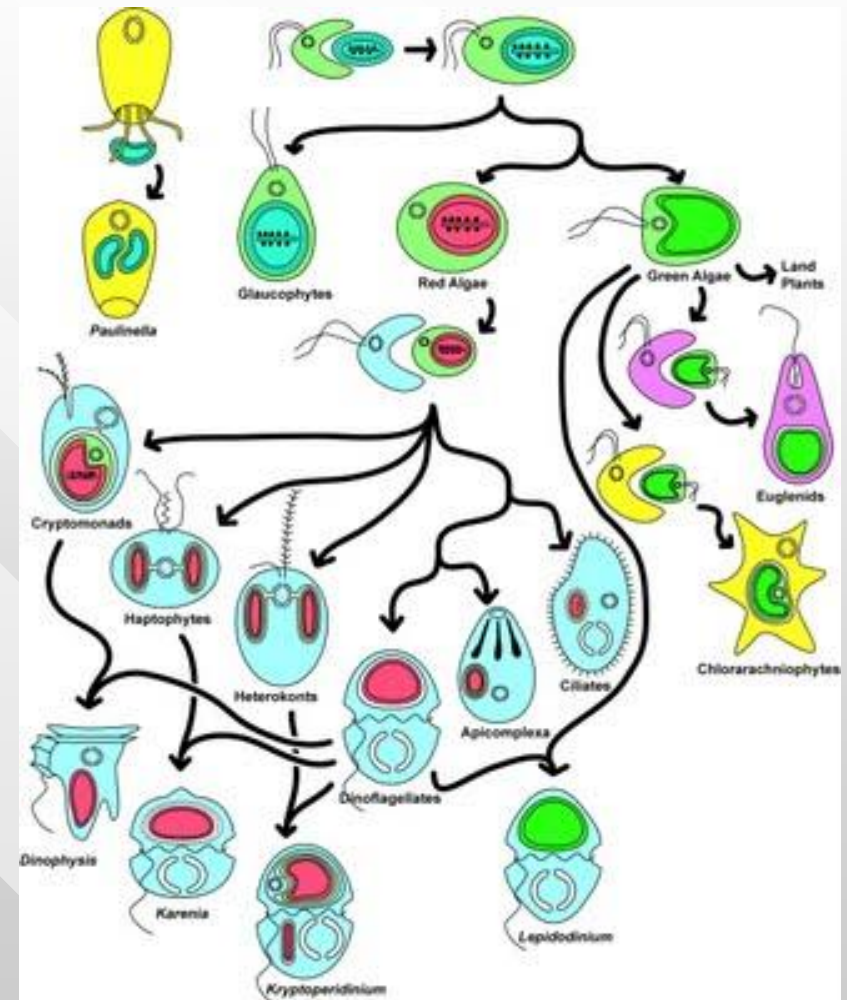
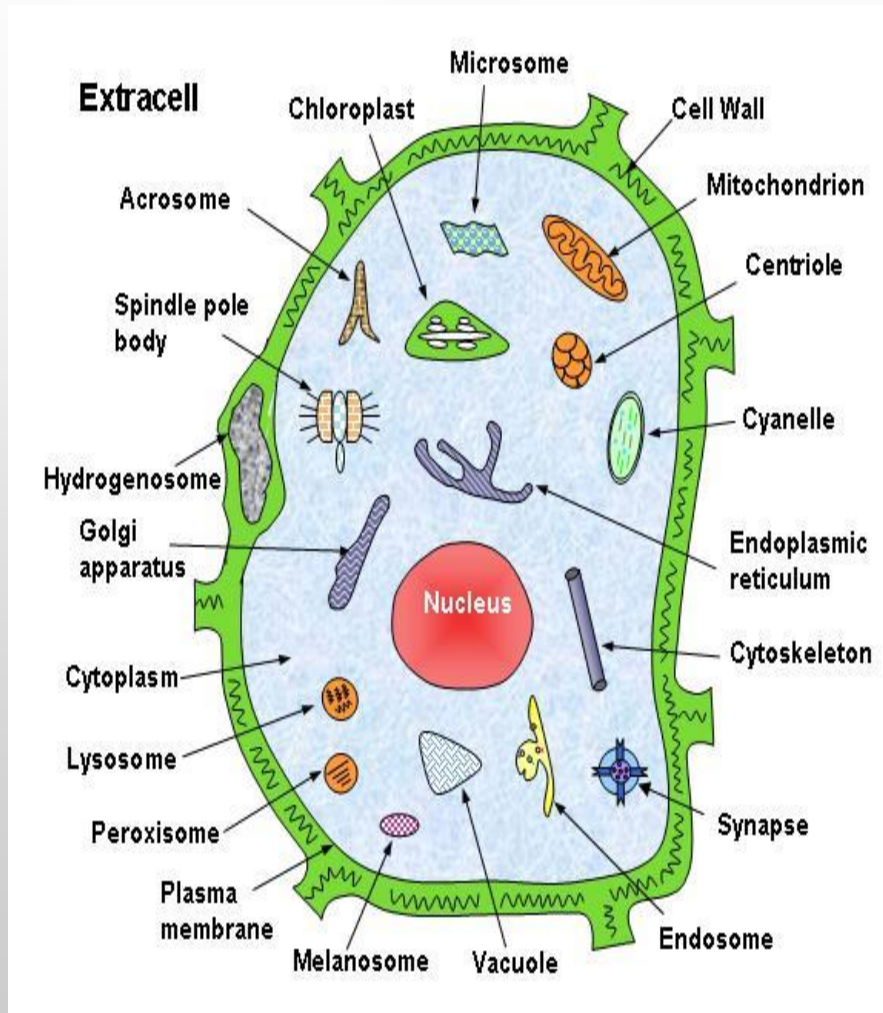
ovvero...

... ancora una prova della **validità** della teoria dell'endosimbiosi formulata da Lynn Margulis

I Protista, primi eucarioti ed unicellulari di fondamentale importanza evolutiva, hanno avuto origine da **complesse interazioni tra batteri, archaea e cellule eucariotiche primitive** dopo la glaciazione globale del Criogeniano (“Snowball Earth”, 800 milioni di anni fa)



# Gli intricati modelli di evoluzione della cellula eucariotica spiegano la straordinaria complessità e diversità dei Protisti



# Un esempio di complicazioni al modello di origine degli Eucarioti: simbionti all'interno di organelli eucariotici... cioè **endosimbionti di ex-endosimbionti!**

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2006), 56, 2535–2540

DOI: 10.1099/ijs.0.64386-0

'*Candidatus* Midichloria mitochondrii', an endosymbiont of the tick *Ixodes ricinus* with a unique intramitochondrial lifestyle

Davide Sasserà,<sup>1</sup> Tiziana Beninati,<sup>2</sup> Claudio Bandi,<sup>1</sup> Edwin A. P. Bouman,<sup>3</sup> Luciano Sacchi,<sup>4</sup> Massimo Fabbi<sup>5</sup> and Nathan Lo<sup>2</sup>

#### Correspondence

Nathan Lo

nathan@usyd.edu.au

<sup>1</sup>Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli studi di Milano, 20133 Milan, Italy

<sup>2</sup>School of Biological Sciences, The University of Sydney, New South Wales 2006, Australia

<sup>3</sup>Biology Centre, Institute of Parasitology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Branisovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

<sup>4</sup>Dipartimento di Biologia Animale, Università di Pavia, Piazza Botta 9<sup>a</sup> and Sezione Diagnostica di Pavia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini", 27100 Pavia, Italy

An intracellular bacterium with the unique ability to enter mitochondria exists in the European vector of Lyme disease, the hard tick *Ixodes ricinus*. Previous phylogenetic analyses based on 16S rRNA gene sequences suggested that the bacterium formed a divergent lineage within the *Rickettsiales* (Alphaproteobacteria). Here, we present additional phylogenetic evidence, based on the *gyrB* gene sequence, that confirms the phylogenetic position of the bacterium. Based on these data, as well as electron microscopy (EM), *in situ* hybridization and other observations, we propose the name '*Candidatus* Midichloria mitochondrii' for this bacterium. The symbiont appears to be ubiquitous in females of *I. ricinus* across the tick's distribution, while lower prevalence is observed in males (44%). Based on EM and *in situ* hybridization studies, the presence of '*Candidatus* M. mitochondrii' in females appears to be restricted to ovarian cells. The bacterium was found to be localized both in the cytoplasm and in the intermembrane space of the mitochondria of ovarian cells. '*Candidatus* M. mitochondrii' is the first bacterium to be identified that resides within animal mitochondria.

#### INTRODUCTION

The genera and the families of the order *Rickettsiales* have recently been reorganized and redescribed by Dümmler *et al.* (2001). Based on this taxonomic revision, this order now encompasses two coherent monophyletic groups at the family rank: the *Rickettsiaceae* and the *Anaplasmataceae*. The six genera of the order also form well-defined monophyletic clusters within the two families: *Rickettsia* and *Orientia* within the *Rickettsiaceae* and *Anaplasma*, *Wolbachia*, *Ehrlichia* and *Norriickettsia* within the *Anaplasmataceae*. The family *Anaplasmataceae* might include a fifth genus ('*Candidatus* Xenorhabdus') and a further main branch has been recognized which might represent a third family in the order *Rickettsiales*, the *Holosporaceae* (Gartty *et al.*, 2004; but see Lee *et al.*, 2005). All of these bacteria share a common

characteristic: they have never been cultured outside eukaryotic cells and are thus regarded as obligately intracellular. Different host types have been described for these bacteria, ranging from vertebrates to nematodes (Bandi *et al.*, 1998; Parola, 2004), but several species in both families are associated with arthropods, particularly ticks.

Bacterial 16S rRNA gene sequences obtained recently during analysis of ticks and amoebae showed high similarity to 16S rRNA gene sequences from members of the *Rickettsiales* (Fritsche *et al.*, 1999; Goddard *et al.*, 2003; Parola *et al.*, 2003; Beninati *et al.*, 2004; Medvedev *et al.*, 2004). In particular, Fritsche *et al.* (1999) obtained almost complete 16S rRNA gene sequences from the symbionts of two strains of *Acanthamoeba* spp. and showed that these sequences formed a new lineage within the *Rickettsiales*. According to Fritsche *et al.* (1999), this lineage could represent a new genus and possibly a new family of this order. Subsequently, bacterial 16S rRNA gene sequences showing similarity (90–92%) to

Abbreviation: EM, electron microscopy.

The GenBank/EMBL/DBJ accession number for the *gyrB* gene sequence of '*Candidatus* Midichloria mitochondrii' is AM156536.

## *Midichloria mitochondrii* proteobatterio endosimbionte dei mitocondri

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Oct. 2008, p. 6138–6140

0099-2240/08/\$08.00+0 doi:10.1128/AEM.00248-08

Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 74, No. 19

### "*Candidatus* Midichloria" Endosymbionts Bloom after the Blood Meal of the Host, the Hard Tick *Ixodes ricinus*<sup>▽</sup>

Davide Sasserà,<sup>1</sup> Nathan Lo,<sup>2\*</sup> Edwin A. P. Bouman,<sup>3</sup> Sara Epis,<sup>1</sup> Michele Mortarino,<sup>1</sup> and Claudio Bandi<sup>1</sup>

*Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy*<sup>1</sup>; *The Australian Museum, 6 College St., Sydney, New South Wales 2010, Australia*<sup>2</sup>; and *Biology Centre, Institute of Parasitology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic*<sup>3</sup>

Received 28 January 2008/Accepted 4 August 2008

"*Candidatus* Midichloria mitochondrii," an intracellular symbiont of the tick *Ixodes ricinus*, is the only described organism able to invade the mitochondria of any multicellular organism. We used quantitative PCR to examine cycles of bacterial growth and death throughout the host's development and found that they correspond with the phases of engorgement and molt, respectively.

The European hard tick *Ixodes ricinus* is a vector of numerous pathogenic microorganisms (11). While these pathogens have been extensively studied, less attention has been given to the tick's symbionts, which may have an important effect on host biology. "*Candidatus* Midichloria mitochondrii" is an intracellular alphaproteobacterial symbiont that inhabits the germ line cells of its female host (3, 5, 13, 16). It has the unique ability to invade and destroy mitochondria within ovarian cells (12). "*Ca.* Midichloria mitochondrii" has been detected in 100% of the examined *I. ricinus* females across its geographical distribution and in 44% of males (9). The basis of the symbiosis is not well understood. *I. ricinus* tick lines raised in the labo-

and at 60°C for 30 s, and melt curve from 55°C to 95°C with increasing increments of 0.5°C per cycle. The cycling for *COII* differed only in the annealing temperature, set at 58°C. All reactions were performed in 25 µl of Milli-Q water containing 400 nM of each primer, 12.5 µl of iQ Sybr green supermix, and 1 µl of DNA. PCR products were sequenced to confirm PCR specificity and then ligated into the pGEM-T Easy vector and cloned. Purified plasmids containing the desired fragments were serially diluted to evaluate the efficiency and detection limit of each PCR protocol (10 copies in each case). PCRs were then performed on each tick DNA sample in triplicate. PCR efficiency was assessed by serial dilution of samples from



# *Midichloria mitochondrii*

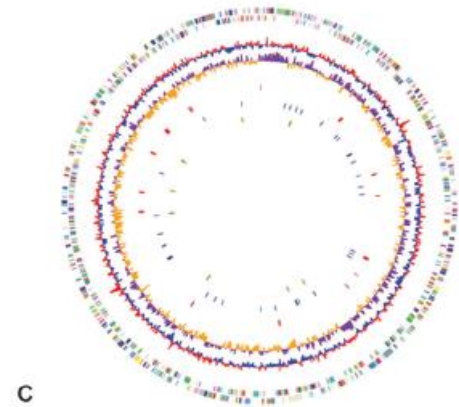
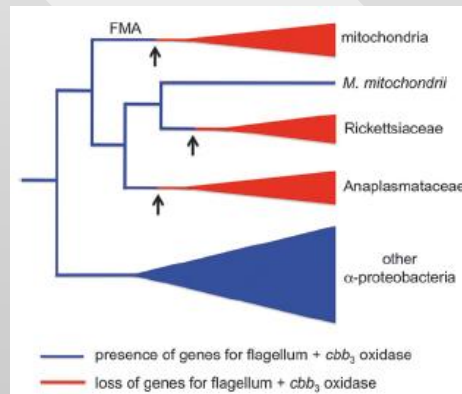
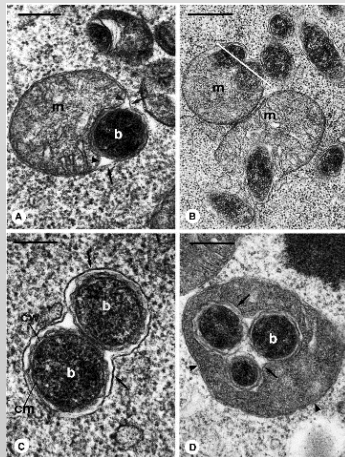
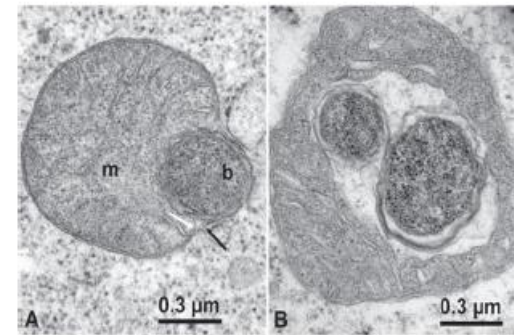
*Midichloria mitochondrii* è un **proteobatterio Gram-negativo endosimbionte dei mitocondri**, scoperto da un gruppo di ricerca italiano nelle cellule ovariche della zecca comune, *Ixodes ricinus* (Arachnida Ixodidae)

Il batterio **vive tra la membrana esterna e quella interna del mitocondrio**

Gli endosimbionti intracellulari sono abbastanza comuni in alcuni ordini di artropodi e in altri phyla animali

Il **genoma di *M. mitochondrii*** (un singolo cromosoma circolare di 1.18 Mb, codificante per 1100 proteine) interamente sequenziato (Sassera et al., 2011), **somiglia molto a quello delle Rickettsiae** (proteobatteri patogeni, parassiti endocellulari obbligati, aerobi e privi di movimento), ma possiede 26 geni associati a proteine flagellari

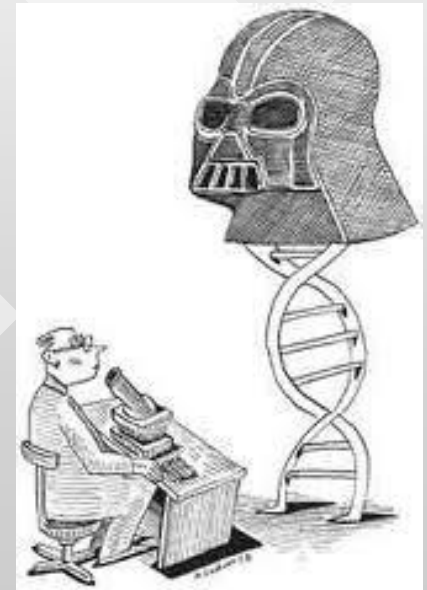
E' un simbionte mutualistico facoltativo che rappresenta **un interessante stadio intermedio tra un batterio primitivo a vita libera e il mitocondrio**



## “Midichloria”, zecche e “Star Wars”

ovvero...la scienza che imita l'arte che imita la scienza

- Il nome “*Midichloria*” scelto per questi proteobatteri deriva dalla famosa **saga fantasy “Guerre Stellari”** (“Star Wars”)
- “**Midichlorians**” è il nome **inventato** da George Lucas per indicare i **microscopici simbionti intelligenti** che, secondo la saga fantasy, sono presenti in tutte le forme di vita, trasmettono i poteri della “Forza” e sono particolarmente numerosi nei “Cavalieri Jedi”
- Quando ha scelto il nome di questi **simbionti immaginari**, **George Lucas** si è chiaramente ispirato ai mitocondri... e quando **il gruppo italiano** ha scoperto i **simbionti mitocondriali veri** **ha deciso di chiamarli “Midichloria”...**
- George Lucas ha dato la sua approvazione, specialmente **perché la sua invenzione dei “midichlorians” era basata proprio sui mitocondri e sulla teoria dell’endosimbiosi...**
- Uno dei revisori del lavoro ha invece “bocciato” la scelta del nome, ma fortunatamente l’editore della rivista (Applied and Environmental Microbiology) **lo ha giudicato favorevolmente**





Non è la prima volta nella quale l'arte (letteratura e/o cinema) si ispira ai risultati di seri studi scientifici e, a sua volta, stimola l'immaginazione scientifica per aprire nuovi campi di ricerca...

La celebre saga cinematografica dei dinosauri di "Jurassic Park" (iniziata nel 1993) è basata sui bestseller del biochimico e scrittore americano Michael Crichton (1942-2008)



### DNA Sequences from a Fossil Termite in Oligo-Miocene Amber and Their Phylogenetic Implications

Rob DeSalle, John Gatesy, Ward Wheeler, David Grimaldi

DNA was extracted from the fossil termite *Mastotermes electrodominicus* preserved in Oligo-Miocene amber (25 million to 30 million years old). Fragments of mitochondrial [16S ribosomal DNA (rDNA)] and nuclear (18S rDNA) genes were amplified by polymerase chain reaction. Phylogenetic analysis of fossil and extant 18S rDNA confirmed morphological cladistic analyses of living dictyopterans (termites, cockroaches, and mantids). The fossil termite shares several sequence attributes with *Mastotermes darwiniensis*. Addition of this fossil to living-species phylogeny is required to substantiate *Mastotermes* monophyly and affects molecular phylogenetic hypotheses of termites in this, the oldest DNA yet characterized.

Nei suoi libri Crichton immaginò che si potesse ricavare DNA di dinosauro dal sangue succhiato da insetti ematofagi, che in seguito erano stati inclusi in ambra (resina fossile)

Per la sua geniale storia di clonazione, Crichton si era ispirato direttamente ai lavori pionieristici di George Poinar e Rob DeSalle (1992) sulla comparazione del DNA estratto da una termite estinta conservata nell'ambra (*Mastotermes electrodominicus*) e la più antica termite vivente (*M. darwiniensis*)

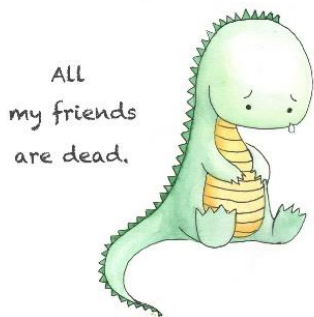


Sull'onda della popolarità della saga dei dinosauri, si è tentato veramente di isolare il loro DNA e provare a clonarli, ma i risultati sono stati **molto diversi da quelli attesi**

# Non è possibile clonare i dinosauri...

Nonostante la loro grande popolarità come animali clonati in letteratura e al cinema, purtroppo, secondo uno studio del 2012 su ossa fossili di moa (*Dinornis* sp.), sembra che clonare gli amati rettili mesozoici sia **un sogno impossibile...**

- Non è mai stato ottenuto infatti DNA di dinosauro da insetti fossili inclusi in ambra, e sembra inoltre che **il DNA estratto da ossa fossili si possa conservare intatto al massimo per 521 anni** (Allentoft et al., 2012)
- E anche se avessimo un DNA di dinosauro perfettamente conservato, **non potremmo eseguirne la clonazione per la mancanza di un adatto citoplasma** nel quale trasferire il genoma nucleare...



PROCEEDINGS  
OF  
THE ROYAL  
SOCIETY



Proc. R. Soc. B (2012) 279, 4724–4733  
doi:10.1098/rspb.2012.1745  
Published online 10 October 2012

## The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils

Morten E. Allentoft<sup>1,2,3,\*</sup>, Matthew Collins<sup>4</sup>, David Harker<sup>4</sup>, James Haile<sup>1</sup>, Charlotte L. Oskam<sup>1</sup>, Marie L. Hale<sup>2</sup>, Paula F. Campos<sup>3,5</sup>, Jose A. Samaniego<sup>3</sup>, M. Thomas P. Gilbert<sup>1,3</sup>, Eske Willerslev<sup>3</sup>, Guojie Zhang<sup>6</sup>, R. Paul Scofield<sup>7</sup>, Richard N. Holdaway<sup>2,8</sup> and Michael Bunce<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Ancient DNA Laboratory, School of Biological Sciences and Biotechnology, Murdoch University, 90 South Street, Perth, Western Australia 6150, Australia

<sup>2</sup>School of Biological Sciences, University of Canterbury, Private Bag 4800, Christchurch, New Zealand

<sup>3</sup>Centre for GeoGenetics, Natural History Museum of Denmark, University of Copenhagen, Øster Voldgade 1350 Copenhagen K, Denmark

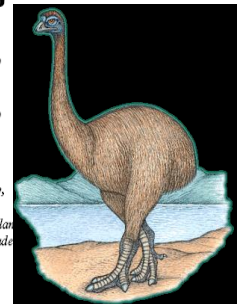
<sup>4</sup>Department of Archaeology, University of York, PO Box 373, York, UK

<sup>5</sup>Museu da Ciência, University of Coimbra, Laboratório Químico, Largo Marquês de Pombal, 3000-272 Coimbra, Portugal

<sup>6</sup>Beijing Genomics Institute-Shenzhen, Shenzhen 518083, People's Republic of China

<sup>7</sup>Canterbury Museum, Rolleston Avenue, Christchurch 8050, New Zealand

<sup>8</sup>Palaeo Research Ltd, 167 Springs Road, Hornby, Christchurch 8042, New Zealand



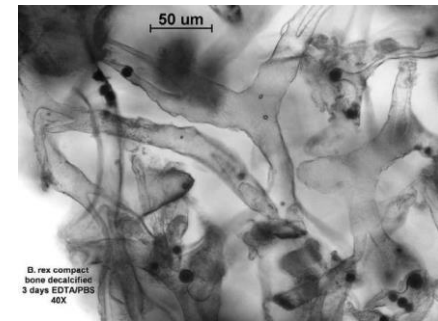
Claims of extreme survival of DNA have emphasized the need for reliable models of DNA degradation through time. By analysing mitochondrial DNA (mtDNA) from 158 radiocarbon-dated bones of the extinct New Zealand moa, we confirm empirically a long-hypothesized exponential decay relationship. The average DNA half-life within this geographically constrained fossil assemblage was estimated to be 521 years for a 242 bp mtDNA sequence, corresponding to a per nucleotide fragmentation rate ( $k$ ) of  $5.50 \times 10^{-8}$  per year. With an effective burial temperature of  $13.1^\circ\text{C}$ , the rate is almost 400 times slower than predicted from published kinetic data of *in vitro* DNA depurination at pH 5. Although best described by an exponential model ( $R^2 = 0.39$ ), considerable sample-to-sample variance in DNA preservation could not be accounted for by geologic age. This variation likely derives from differences in taphonomy and bone diagenesis, which have confounded previous, less spatially constrained attempts to study DNA decay kinetics. Lastly, by calculating DNA fragmentation rates on Illumina HiSeq data, we show that nuclear DNA has degraded at least twice as fast as mtDNA. These results provide a baseline for predicting long-term DNA survival in bone.

**Keywords:** DNA degradation; aDNA; decay kinetics; DNA half-life



## Ma qualcosa si può fare: il **pollosauro di Horner**, un... dinosauro da cortile

- Jack Horner, uno dei paleontologi americani più famosi, ha presentato un **serio progetto per “ricostruire” un dinosauro**, partendo da un **eccezionale tessuto molle e ricco di proteine**, isolato dalle ossa di una giovane femmina di *Tyrannosaurus rex* trovata nel 2004 nel Montana (Horner e Padian, 2004; Schweitzer et al., 2009)
- I campioni non contenevano DNA, ma **proteine ben conservate** sulla base delle quali è stato possibile identificare sequenze geniche
- Dato che **gli uccelli sono discendenti diretti dei dinosauri** (“avian dinosaurs”), secondo Horner **si potrebbero riattivare nell’embrione di pollo i geni atavici per denti, arto superiore e coda**, conferendo al pollo un aspetto più simile a quello di un dinosauro...



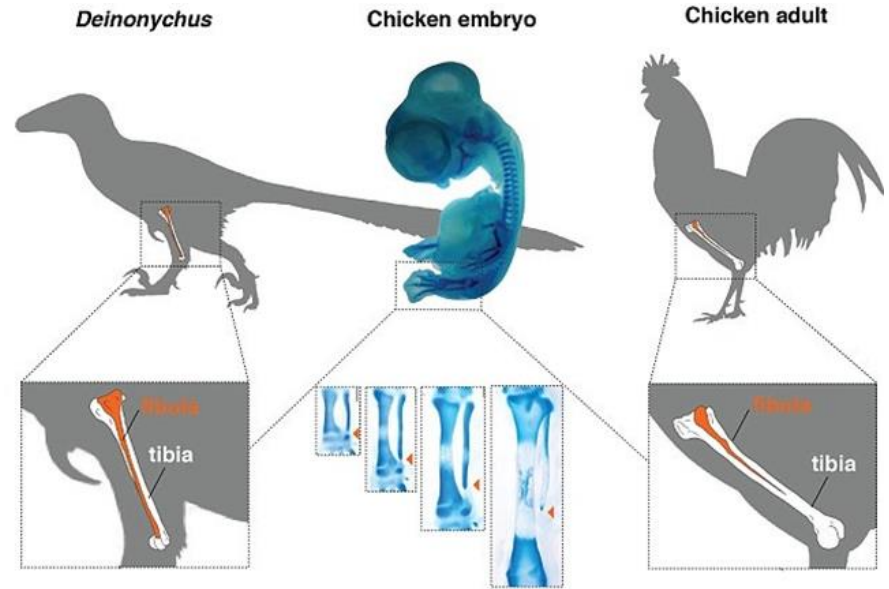
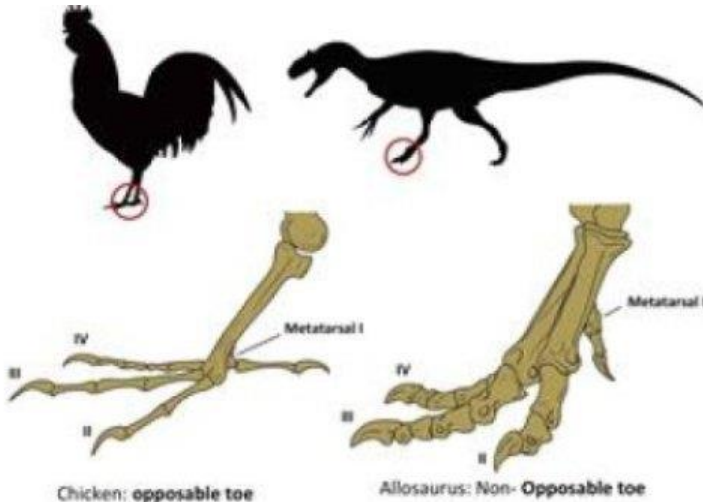
Pollosauro di Horner (*Chickenosaurus* sp.)



# “Dawn of the *Chickenosaurus*”

Horner e i genetisti dell’Università del Montana sono al lavoro dal 2012 sul progetto “*Chickenosaurus*”

Nel 2016 un gruppo di ricerca dell’Università del Cile è riuscita a modificare tramite “**reverse evolution**” la fibula di *G. gallus*, rendendola simile a quella più lunga e tubolare di un dinosauro teropode (Botelho et al., 2016)



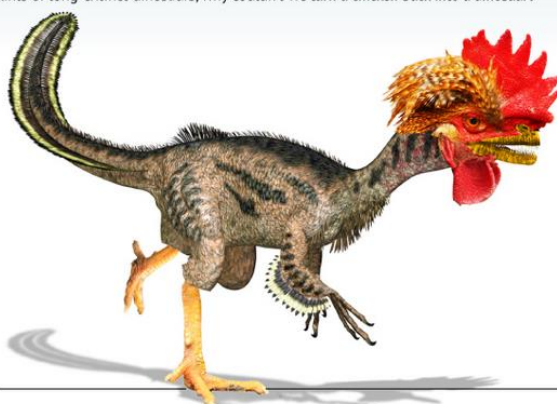
Tramite lo stesso processo, il gruppo di ricerca dell’Università del Cile era in precedenza riuscito a trasformare le dita opponibili della zampa di *G. gallus*, adatte ad aggrapparsi ai rami, in “**dita da dinosauro**”, **non opponibili** e adatte allo spostamento sul terreno (Botelho et al., 2015)

Fonte: Botelho et al., Evolution 70: 543-554,. 2016

LIVE SCIENCE. [www.LiveScience.com](http://www.LiveScience.com)

## RETURN OF THE DINOSAURS? REVERSE-EVOLVING A CHICKEN-O-SAURUS!

Behold *dino-chicken*. Paleontologist Jack Horner observes that since birds are the descendants of long-extinct dinosaurs, why couldn't we *turn a chicken back into a dinosaur*?



### HOW SCIENCE WILL CREATE THE CHICKENOSAURUS

fig. 1: CHICKEN      fig. 2: CHICKENOSAURUS

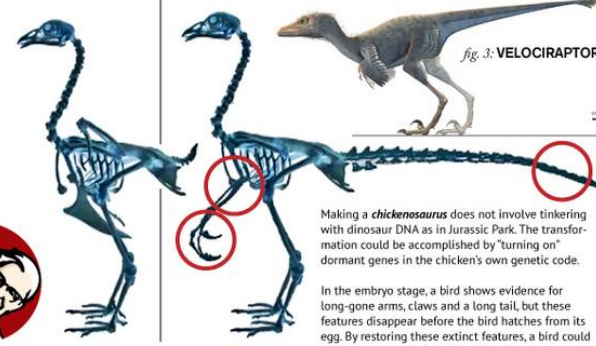


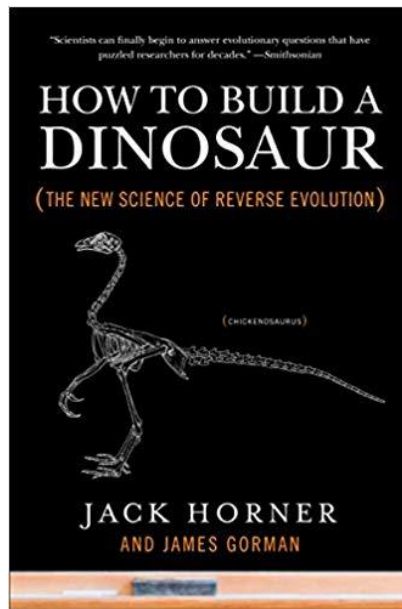
fig. 3: VELOCIRAPTOR

Making a *chickenosaurus* does not involve tinkering with dinosaur DNA as in *Jurassic Park*. The transformation could be accomplished by "turning on" dormant genes in the chicken's own genetic code.

In the embryo stage, a bird shows evidence for long-gone arms, claws and a long tail, but these features disappear before the bird hatches from its egg. By restoring these extinct features, a bird could be made to resemble its dinosaur ancestor.

SOURCES: JACK HORNER, DREAMSTIME.COM, VELOCIRAPTOR ILLUSTRATION BY F. IPPOLITO, AMERICAN MUSEUM OF NATURAL HISTORY      KARL TATE / © LiveScience.com

Altri studiosi pensano tuttavia che **questa "reverse evolution" non sia etica**, come non sia etico in generale tentare di clonare animali estinti: ritengono che gli studi si dovrebbero concentrare su un problema più importante, cioè **evitare che le specie attualmente viventi si estinguano**

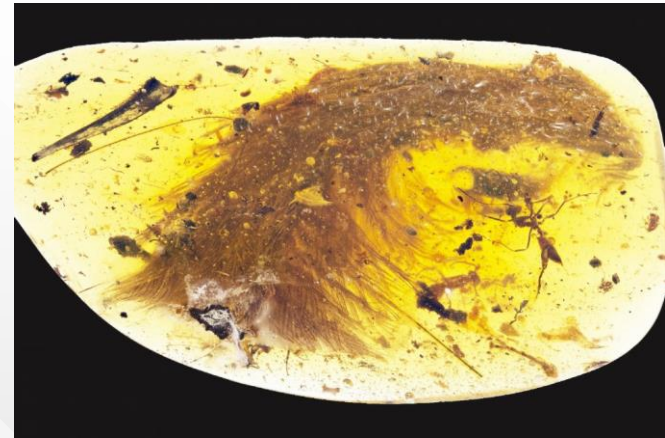


E' giusto, ma riusciranno gli umani a resistere alla tentazione di fare in qualche modo rivivere gli amati rettili mesozoici, o qualche altro animale "iconico" come il mammoth o il tilacino? Forse è solo questione di tempo...

Fonte: Horner and Gorman, How to Build a Dinosaur, Plume, New York, 2010



D'altra parte... **ecco una scoperta sorprendente: la coda  
piumata di un piccolo celurosauro è stata ritrovata inclusa in ambra**



In un frammento di ambra del Cretaceo medio di Myitkyina (Myanmar) è stata ritrovata la **coda plumata di un piccolo celurosauro** (Xing et al., Current Biology, 2016)

## A Feathered Dinosaur Tail with Primitive Plumage Trapped in Mid-Cretaceous Amber

Lida Xing,<sup>1,2,13,\*</sup> Ryan C. McKellar,<sup>3,4,13,14,\*</sup> Xing Xu,<sup>5,13</sup> Gang Li,<sup>6,13</sup> Ming Bai,<sup>7,13</sup> W. Scott Persons IV,<sup>8</sup> Tetsuto Miyashita,<sup>8</sup> Michael J. Benton,<sup>9</sup> Jianping Zhang,<sup>2</sup> Alexander P. Wolfe,<sup>8</sup> Qiru Yi,<sup>6</sup> Kuowei Tseng,<sup>10,11</sup> Hao Ran,<sup>12</sup> and Philip J. Currie<sup>8</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Beijing 100083, China

<sup>2</sup>School of the Earth Sciences and Resources, China University of Geosciences, Beijing 100083, China

<sup>3</sup>Royal Saskatchewan Museum, Regina, Saskatchewan S4P 4W7, Canada

<sup>4</sup>Biology Department, University of Regina, Regina, Saskatchewan S4S 0A2, Canada

<sup>5</sup>Key Laboratory of Vertebrate Evolution and Human Origins, Institute of Vertebrate Paleontology and Paleoanthropology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100044, China

<sup>6</sup>Beijing Synchrotron Radiation Facility, Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

<sup>7</sup>Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

<sup>8</sup>Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, Alberta T6G 2E9, Canada

<sup>9</sup>School of Earth Sciences, University of Bristol, Bristol BS8 1RJ, UK

<sup>10</sup>Department of Exercise and Health Science, University of Taipei, Taipei 11153, China

<sup>11</sup>Department of Geology, Chinese Culture University, Taipei 11114, China

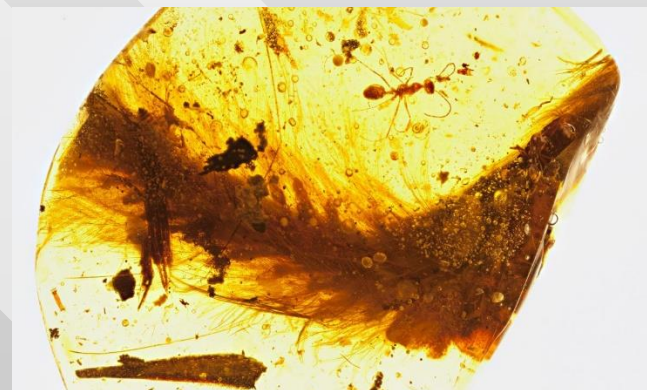
<sup>12</sup>Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education, Guilin 541004, China

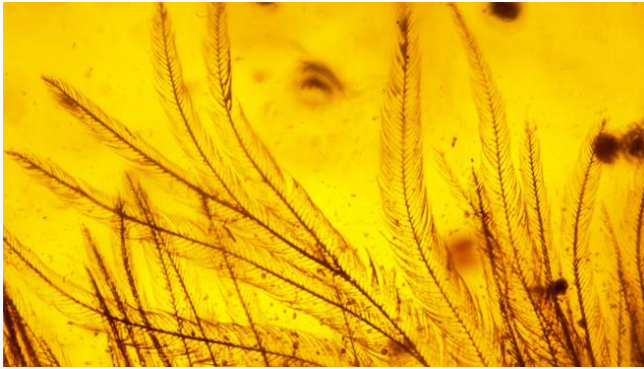
<sup>13</sup>Co-first author

<sup>14</sup>Lead Contact

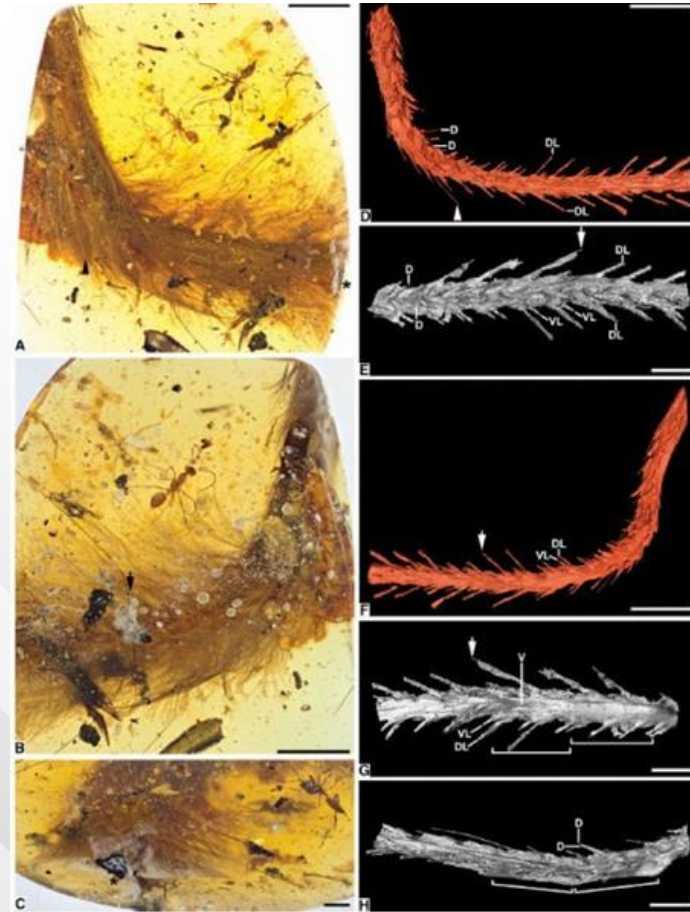
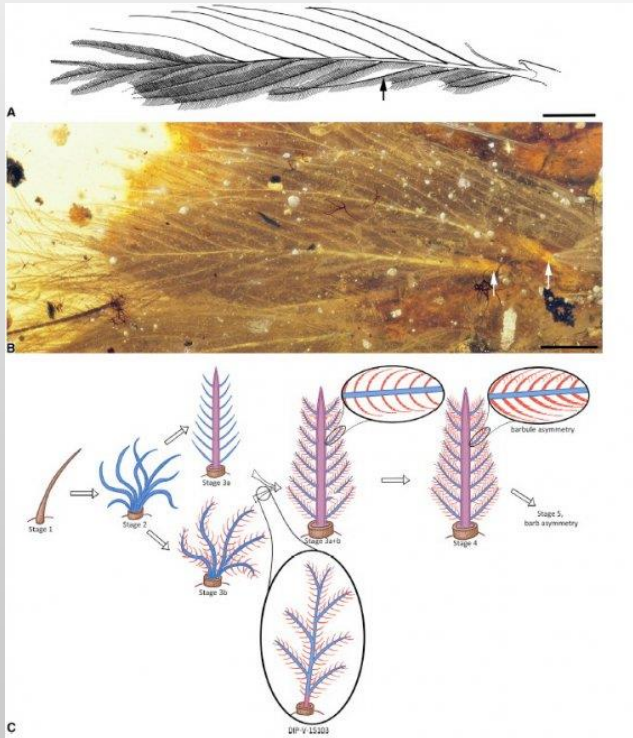
\*Correspondence: xinglida@gmail.com (L.X.), ryan.mckellar@gov.sk.ca (R.C.M.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.10.008>





Le piume della coda sono perfettamente conservate e presentano una **struttura primitiva** (piumino) **ma completa**, con follicoli, barbe e microbarbule



Anche il tessuto della coda (lunga 3.6 cm) è ben conservato, con otto vertebre, muscoli, legamenti, **tracce di emoglobina e di altre proteine**

→ Sono quindi in corso **interessanti studi** su questo eccezionale materiale...

Fonte: Xing et al., 2016

“Cyanelle”

cloroplasto primitivo simile ad un cianobatterio



## “Cyanelle”, prova definitiva dell’endosimbiosi

- *Cyanophora paradoxa* (un Protista) è un’alga verde primitiva appartenente al gruppo delle Glaucophyta, che possiede **una forma primitiva di cloroplasto, detto “cyanelle”**
- Il genoma nucleare di *C. paradoxa* è stato completamente sequenziato nel 2012 (Price et al., Science 2012)



### *Cyanophora paradoxa* Genome Elucidates Origin of Photosynthesis in Algae and Plants

Dana C. Price,<sup>1</sup> Cheong Xin Chan,<sup>1\*</sup> Hwan Su Yoon,<sup>2,3</sup> Eun Chan Yang,<sup>2</sup> Huan Qiu,<sup>2</sup> Andreas P. M. Weber,<sup>4</sup> Rainer Schwacke,<sup>5</sup> Jeferson Gross,<sup>1</sup> Nicolas A. Blouin,<sup>6</sup> Chris Lane,<sup>6</sup> Adrián Reyes-Prieto,<sup>7</sup> Dion G. Durnford,<sup>8</sup> Jonathan A. D. Neilson,<sup>8</sup> B. Franz Lang,<sup>9</sup> Gertraud Burger,<sup>9</sup> Jürgen M. Steiner,<sup>10</sup> Wolfgang Löffelhardt,<sup>11</sup> Jonathan E. Meuser,<sup>12</sup> Matthew C. Posewitz,<sup>13</sup> Steven Ball,<sup>14</sup> Maria Cecilia Arias,<sup>14</sup> Bernard Henrissat,<sup>15</sup> Pedro M. Coutinho,<sup>15</sup> Stefan A. Rensing,<sup>16,17,18</sup> Aikaterini Symeonidi,<sup>16,17</sup> Harshavardhan Doddapaneni,<sup>19</sup> Beverley R. Green,<sup>20</sup> Veeran D. Rajah,<sup>1</sup> Jeffrey Boore,<sup>21,22</sup> Debashish Bhattacharya<sup>1†</sup>

The primary endosymbiotic origin of the plastid in eukaryotes more than 1 billion years ago led to the evolution of algae and plants. We analyzed draft genome and transcriptome data from the basally diverging alga *Cyanophora paradoxa* and provide evidence for a single origin of the primary plastid in the eukaryote supergroup Plantae. *C. paradoxa* retains ancestral features of starch biosynthesis, fermentation, and plastid protein translocation common to plants and algae but lacks typical eukaryotic light-harvesting complex proteins. Traces of an ancient link to parasites such as Chlamydiae were found in the genomes of *C. paradoxa* and other Plantae. Apparently, *Chlamydia*-like bacteria donated genes that allow export of photosynthate from the plastid and its polymerization into storage polysaccharide in the cytosol.

## “Cyanelle”

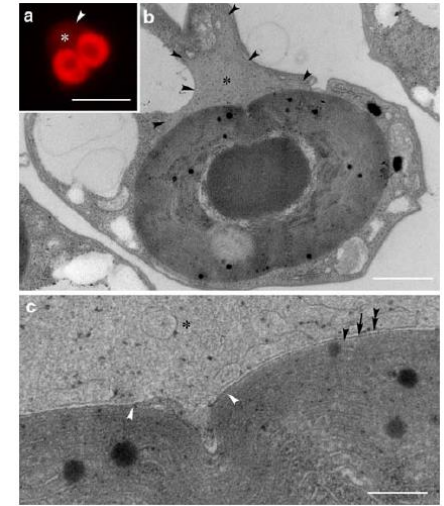
### cloroplasto primitivo con parete di peptidoglicani

Il **cyanelle** è circondato da una doppia membrana nel mezzo della quale si trova una **parete di peptidoglicani**

Il genoma del cyanelle (interamente sequenziato nel 1995) ha dimensioni simili a quello del cloroplasto e contiene geni per tRNA, rRNA e circa **150 proteine, un numero superiore rispetto a quelle prodotte dal genoma del cloroplasto delle piante superiori** (Stirewalt et al., Plant Mol. Biol. Rep. 1995)

La struttura dei tilacoidi del cyanelle è **simile a quella dei cianobatteri**

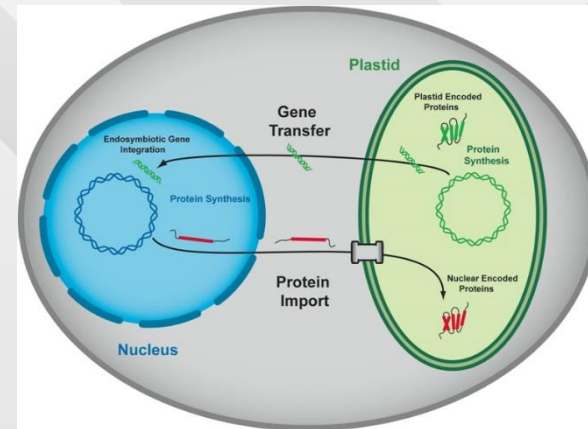
Il cyanelle è presente anche in un flagellato tecato, *Paulinella chromatophora*



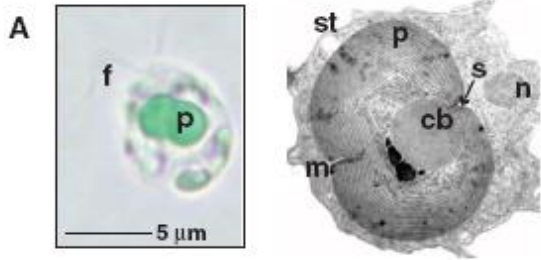
Cyanelle di *C. paradoxa*



Cyanelle di *Paulinella chromatophora*



Il **genoma del cyanelle** di *P. chromatophora* è simile a quello del **cianobatterio modello Synechococcus sp.**



## Genoma nucleare di *Cyanophora paradoxa* ed origine delle Piante

L'analisi del genoma nucleare di *C. paradoxa* (70 Mb, 27791 proteine) chiarisce in modo definitivo che le piante si sono evolute tramite un **evento di simbiosi secondaria con cianobatteri**

Contiene infatti un gruppo di geni (codificanti per proteine di traslocazione del cloroplasto, di biosintesi dell'amido e di fermentazione) **comuni alle alghe e alle piante superiori**

Il genoma di *C. paradoxa* prova quindi che le piante si sono originate da un antenato comune il cui cloroplasto si è evoluto da un cianobatterio (**origine monofiletica delle piante**)



→ La teoria endosimbiontica di Lynn Margulis è ancora una volta confermata

Fonte: Price et al., 2012

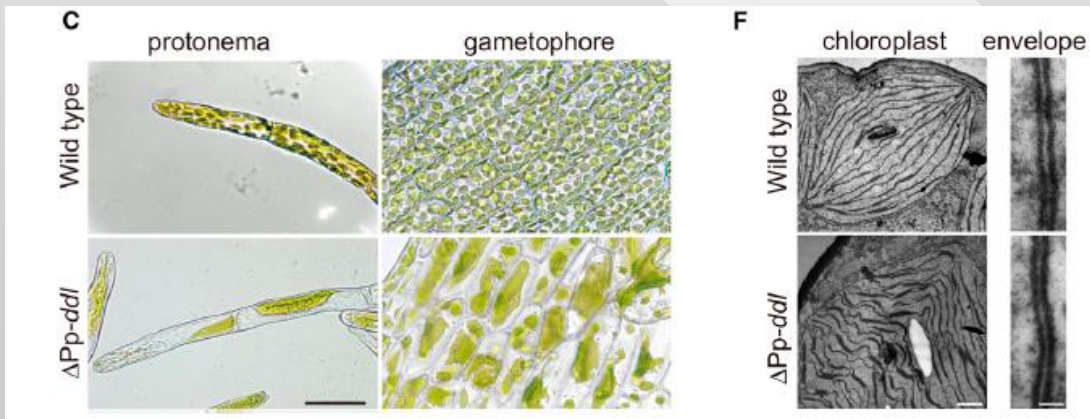




Non solo *C. paradoxa*, ma anche *Glaucocystis* sp. e altre alghe del gruppo Glaucophyta hanno **cloroplasti del tipo “cyanelle”** con uno strato di peptidoglicani

*Glaucocystis* sp.

E nel muschio *Physcomytrella patens*, **organismo modello fondamentale per le Briofite** (piante pre-vascolari) e per studi di biologia molecolare, biotecnologie e produzione di farmaci, sono stati recentemente scoperti **geni per la produzione di peptidoglicani nei cloroplasti** (Hirano et al., 2016)



Fonti: Rensing et al., 2008; Hirano et al., 2016