



This is the **published version** of the bachelor thesis:

Bartolomé Grosso, Lucas; Campoy Sánchez, Susana , dir. Eucariogènesi: l'endosimbiosi al cor del debat sobre el nostre origen. 2025. (Grau en Microbiologia)

This version is available at <https://ddd.uab.cat/record/317404>

under the terms of the  license

EUCARIOGÈNESI: L'ENDOSIMBIOSI AL COR DEL DEBAT SOBRE EL NOSTRE ORIGEN

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

Lucas Bartolomé Grosso

Grau en Microbiologia

Tutora: Susana Campoy Sánchez

Facultat de Biociències

Universitat Autònoma de Barcelona

31/5/2025

Sumari

<i>1. Introducció.....</i>	<i>2</i>
<i>2. Objectius i metodologia</i>	<i>4</i>
<i>3. FECA</i>	<i>5</i>
3.1. Posició filogenètica	5
3.2. Reconstrucció del FECA.....	6
<i>4. FMCA.....</i>	<i>9</i>
4.1 Posició filogenètica.....	9
4.2 Reconstrucció del FMCA.....	10
<i>5. LECA</i>	<i>11</i>
<i>6. Què passà durant l'eucariogènesi?.....</i>	<i>15</i>
6.1 Hipòtesis	15
6.2 Mito-early o mito-late?	18
6.3 D'on venen els gens?	20
6.4 S'imposa cap hipòtesi?.....	22
<i>7. Conclusions</i>	<i>23</i>
<i>8. Bibliografia.....</i>	<i>24</i>

1. Introducció

La vida té un origen comú¹ i es classifica en tres dominis: bacteris, arqueus i eucariotes². Tradicionalment, els eucariotes s'han considerat el grup germà dels arqueus², fet que implicaria tres grans branques ancestrals de la vida, visió anomenada "Model de 3 Dominis de l'arbre de la vida" (3D)^{3,4}. El consens, però, s'ha desplaçat a un "Model de 2 Dominis" (2D) en què els eucariotes descendeixen d'arqueus³⁻⁶, impulsat pel descobriment d'un grup d'arqueus, els *Asgardarchaeota*, dels quals sembla que descendeixen els eucariotes, i que contenen proteïnes prèviament considerades exclusives d'eucariotes (*Eukaryotic Signature Proteins*, ESPs)^{5,7,8}.

Això significa que les cèl·lules eucariotes, enormement complexes, patiren molts canvis per evolucionar des de cèl·lules arqueanes fonamentalment procariotes i simples^{9,10}. Aquest procés s'anomena eucariogènesi, i es defineix com els canvis que ocorregueren entre el primer organisme (o població¹¹) del qual només descendeixen eucariotes i cap arqueu (*First Eukaryotic Common Ancestor*, FECA), i l'últim al qual es tracen tots els eucariotes moderns (*Last Eukaryotic Common Ancestor*, LECA)^{10,12}. La manca de formes de transició genera abundant discussió sobre què passà durant l'eucariogènesi^{9,13,14}. L'eucariogènesi no fou puntual, sinó llarga i en múltiples passos: un llarg tronc connecta el FECA a una aparent radiació explosiva que origina la diversitat eucariota moderna després del LECA¹⁵ (Figura 1).

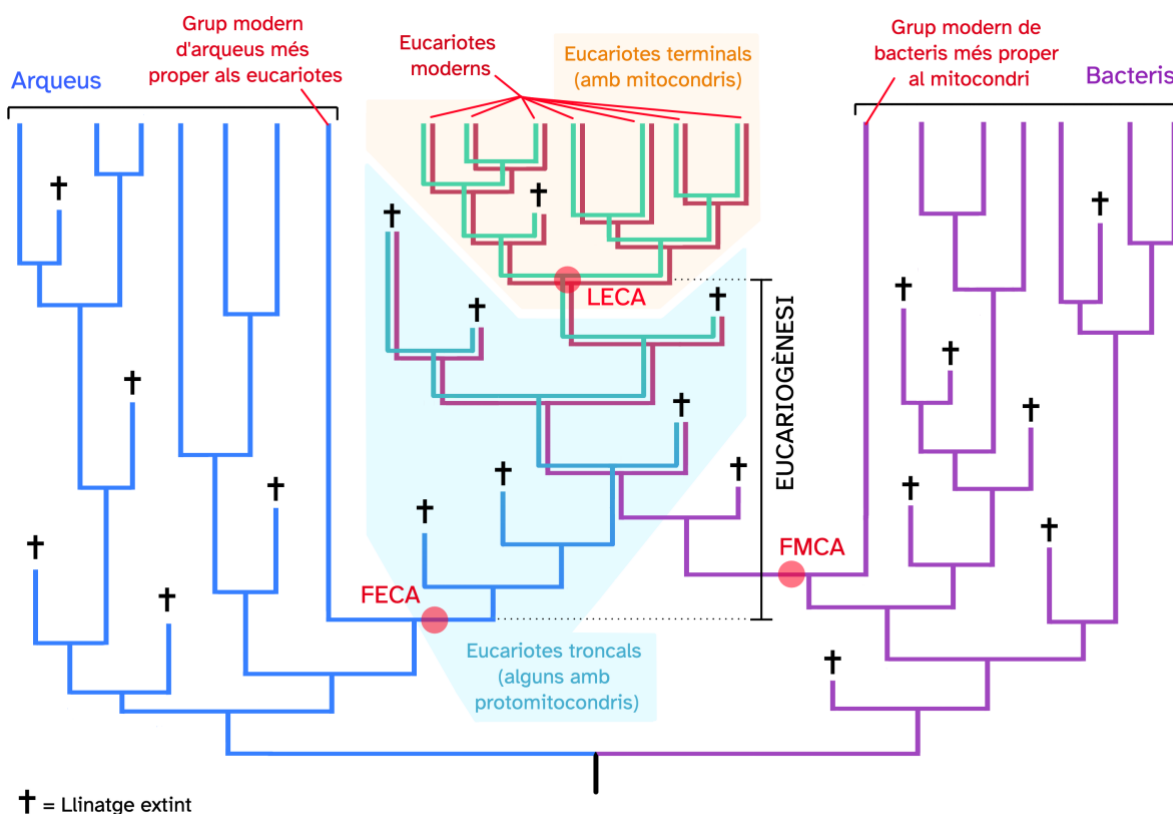


Figura 1: Arbre de la vida esquemàtic seguint un model 2D, mostrant-hi les posicions del FECA, FMCA i LECA. Cal destacar que el FECA, FMCA i LECA són conceptes filogenètics, i la seva posició pot variar si es descobreixen nous grups d'arqueus o bacteris més propers als eucariotes o mitocondris, o grups d'eucariotes basals respecte tots els coneguts^{10,12,13}. És poc clar en quin punt de l'eucariogènesi un organisme es comença a considerar "eucariota". Els *Asgardarchaeota* es consideren per consens arqueus, però si estiguessin extints es considerarien eucariotes troncal¹³. El FMCA no necessàriament és posterior al FECA.

Els mitocondris realitzen papers fonamentals a les cèl·lules eucariotes^{16,17}, hi són universals (excepte pèrdues secundàries), eren presents al LECA i provenen d'un alfa-proteobacteri endosimbiòtic^{16,18,19}. Que l'endosimbiosi podria generar noves menes d'organismes es proposà ja a principis del segle passat^{20,21} (inclòs el cas del mitocondri²²), sense fer-se'n gaire ressò²³ fins reviscolar-se la idea per Margulis²³⁻²⁵. La seqüenciació del genoma mitocondrial en confirmà l'origen endosimbiòtic²⁶. Els eucariotes contenen al genoma nuclear abundants gens d'origen bacterià i no arqueà^{27,28}, amb funcions més enllà del mitocondri^{9,29} i, consegüentment, es consideren quimeres de bacteris i arqueus, amb una

contribució essencial del mitocondri per fer dels eucariotes el que són^{10,30}. Igual que el FECA, podem definir un FMCA (*First Mitochondrial Common Ancestor*): el primer bacteri del qual únicament descendeixen mitocondris. S'anomenen proto-mitocondris els mitocondris d'eucariotes troncal¹⁰ (Figura 1).

2. Objectius i metodologia

L'eucariogènesi és objecte d'un debat intens. El propòsit d'aquest treball és fer una revisió valorant les diferents tesis existents al seu voltant, incidint especialment en el paper de l'endosimbiosi. S'analitzaran quins trets reconstruïm en els punts inicials (FECA i FMCA) i final (LECA) de l'eucariogènesi, per examinar la viabilitat de les hipòtesis que expliquen com s'associaren arqueu i bacteri durant aquesta transició, i concloure si cap d'elles emergeix com més probable. S'ofereix així una visió profunda del coneixement actual sobre aquest esdeveniment, fonamental per entendre la història de la vida a la Terra.

S'ha realitzat la revisió llegint i integrant articles trobats a PubMed, cercant amb paraules clau com: "eucariogènesi", "endosimbiosi", "mitocondri", "LECA", "arqueus Asgard"... S'han prioritzat articles posteriors al descobriment dels *Asgardarchaeota* (2015)⁷, anant més enrere si era rellevant.

3. FECA

3.1. Posició filogenètica

El model 3D que les seqüències d'ADNr indiquen² ja es qüestionà per les semblances del ribosoma eucariota al dels arqueus "eòcits"³¹ (ara *Thermoproteota*). Certes filogènies de proteïnes conservades sí hi concordaven^{32,33}, però d'altres que utilitzaven models de reconstrucció filogenètica que tenen en compte l'heterogeneïtat composicional^{12,34,35} afavorien l'associació als *Thermoproteati* (*Thermoproteota* i relatius recentment descoberts)³⁴⁻³⁷. També ho feia la detecció d'algunes ESPs en *Thermoproteati*³⁸⁻⁴¹. No s'arribava a un consens³.

La publicació d'un MAG (genoma assemblejat de metagenoma) de *Lokiarchaeia*⁷, un grup basal respecte *Thermoproteati* ja detectat per metagenòmica d'ADNr⁴²⁻⁴⁴, revolucionà el camp: contenia més ESPs que cap altre arqueu conegut i els eucariotes se situaven clarament dins *Lokiarchaeia*⁷. Ràpidament es descobriren nous llinatges^{8,45-50} propers als *Lokiarchaeia*, formant el grup *Asgardarchaeota*⁸ (Figura 2a), i s'hi detectaren més ESPs, tant trobades prèviament en altres arqueus com noves en procariotes⁸. S'ha demostrat el funcionament semblant en arqueus i eucariotes de diverses ESPs⁵¹⁻⁵⁵. Els *Asgardarchaeota* van demostrar finalment la veracitat del model 2D: s'hi recuperen els eucariotes repetidament dins^{7,8,48,56} amb els millors models⁶. Pocs⁵⁷⁻⁶⁰ encara s'hi oposen.

Dins *Asgardarchaeota*, diversos estudis trobaven una associació entre eucariotes i *Heimdallarchaeia*^{6,8,46}, especialment com a grup germà⁴⁶, però d'altres amb *Njordarchaeales*⁴⁸. Una anàlisi⁵ exhaustiva, tenint en compte l'heterogeneïtat composicional, amb recodificació SR4 i eliminació de llocs d'evolució ràpida (FSR), trobà les proteïnes ribosomals de *Njordarchaeales* associades a *Korarchaeota*

(llinatge no d'*Asgardarchaeota*), potencialment per evolució convergent en ser els dos grups termòfils. Emprant proteïnes no ribosomals, trobaren que *Njordarchaeales* era un llinatge divergent dins *Heimdallarchaeia*, i els eucariotes eren germans de l'ordre heimdallarqueià *Hodarchaeales* (hipòtesi hodarqueals-germanes). Tanmateix, una anàlisi molt recent⁶¹ trobà que *Njordarchaeales* potser sí s'emparenten genuïnament amb *Korarchaeota*, i l'aparent pertinença als *Asgardarchaeota*⁴⁸ era fruit de MAGs contaminats o bé transferència horitzontal de gens (HGT)⁶¹. Incorporant nous MAGs i refent l'anàlisi, trobaren els eucariotes com a germans i no dins de *Heimdallarchaeia*⁶¹, com anteriorment⁴⁶ (hipòtesi *Heimdallarchaeia*-germans). Tot apunta a una relació entre eucariotes i *Heimdallarchaeia*, però caldrà encara discriminar si germans de tots o només d'hodarqueals, i quin efecte té *Njordarchaeales* sobre les filogènies (Figura 2a).

3.2. Reconstrucció del FECA

S'han aconseguit cultivar quatre espècies d'*Asgardarchaeota*: *Promethearchaeum syntrophicum*^{62,63} i *Candidatus Lokiarchaeum ossiferum*⁶⁴ (*Lokiarchaeia*), i *Candidatus Margulisarchaeum peptidophila* i *Candidatus Flexarchaeum multiprotrusionis*⁶⁵ (*Hodarchaeales*). Tots fermenten pèptids anaeròbicament en sintròfia amb metanògens o bacteris sulfat-reductors (SRB) que n'aprofiten l'hidrogen produït. Tenen una forma particular: un cos central amb protrusions suportades per un citoesquelet d'actina, però membranes amb lípids arqueans típics⁶²⁻⁶⁵. El contingut en ESPs^{7,66} i certes imatges, que semblaven mostrar ADN compartimentalitzat o condensat⁶⁷⁻⁶⁹, feren especular que els *Asgardarchaeota* (i el FECA) posseïen complexitat intracel·lular, amb proto-nucli o proto-sistema endomembranós, però cap dels organismes cultivats té compartimentalització interna. La presència de fenotips semblants en llinatges d'*Asgardarchaeota* distants,

Lokiarchaeia^{62–64} i *Heimdallarchaeia*⁶⁵, fa pensar que aquestes característiques podrien ser universals als *Asgardarchaeota*⁶⁵.

Coneixent la posició del FECA, podem imaginar-nos com era (Figura 2b) segons les característiques dels *Asgardarchaeota* moderns (cautament, perquè estan separats del FECA per tants anys d'evolució com els eucariotes^{5,10}). Probablement, era internament simple però tenia citoesquelet d'actina suportant protrusions⁶⁴ involucrades en sintròfia⁶⁵. El metabolisme és menys clar: els cultius⁶⁵ i algunes reconstruccions⁵ apunten a l'absència de la via Wood-Ljungdahl (WLP) en *Heimdallarchaeia* i a metabolisme fermentatiu peptidòtrof anaerobi (o aerotolerant com *Hodarchaeales*⁶⁵), secretant hidrogen en sintròfia. Però, també es reconstrueixen *Heimdallarchaeia* i *Hodarchaeales* ancestralment amb la WLP i acetògens autòtrofs consumidors d'hidrogen⁶¹. Tenia membrana de lípids arqueans^{4,5,63} (encara que certs *Asgardarchaeota* potencialment tinguin lípids bacterians^{70,71}) i moltes ESPs que ara sabem que s'originen als *Asgardarchaeota*^{5,10}. Destaquen les ESPs involucrades en processos informacionals^{5,7,8}, citoesquelet d'actina^{7,8,51} i tubulina^{8,55,72}, tràfic intracel·lular (especialment GTPases petites)^{5,7,8,54,73,74}, classificació endosomal^{5,7,53}, ubiquïtinització^{7,8,48} i N-glicosilació (Figura 2c). Els homòlegs de proteïnes eucariotes (ESPs incloses) es transfereixen freqüentment dins *Asgardarchaeota*, i cada espècie pot tenir-ne diferents. S'especula doncs que no totes eren al FECA: podrien haver evolucionat en diversos llinatges i transferir-s'hi post-FECA⁷⁵.

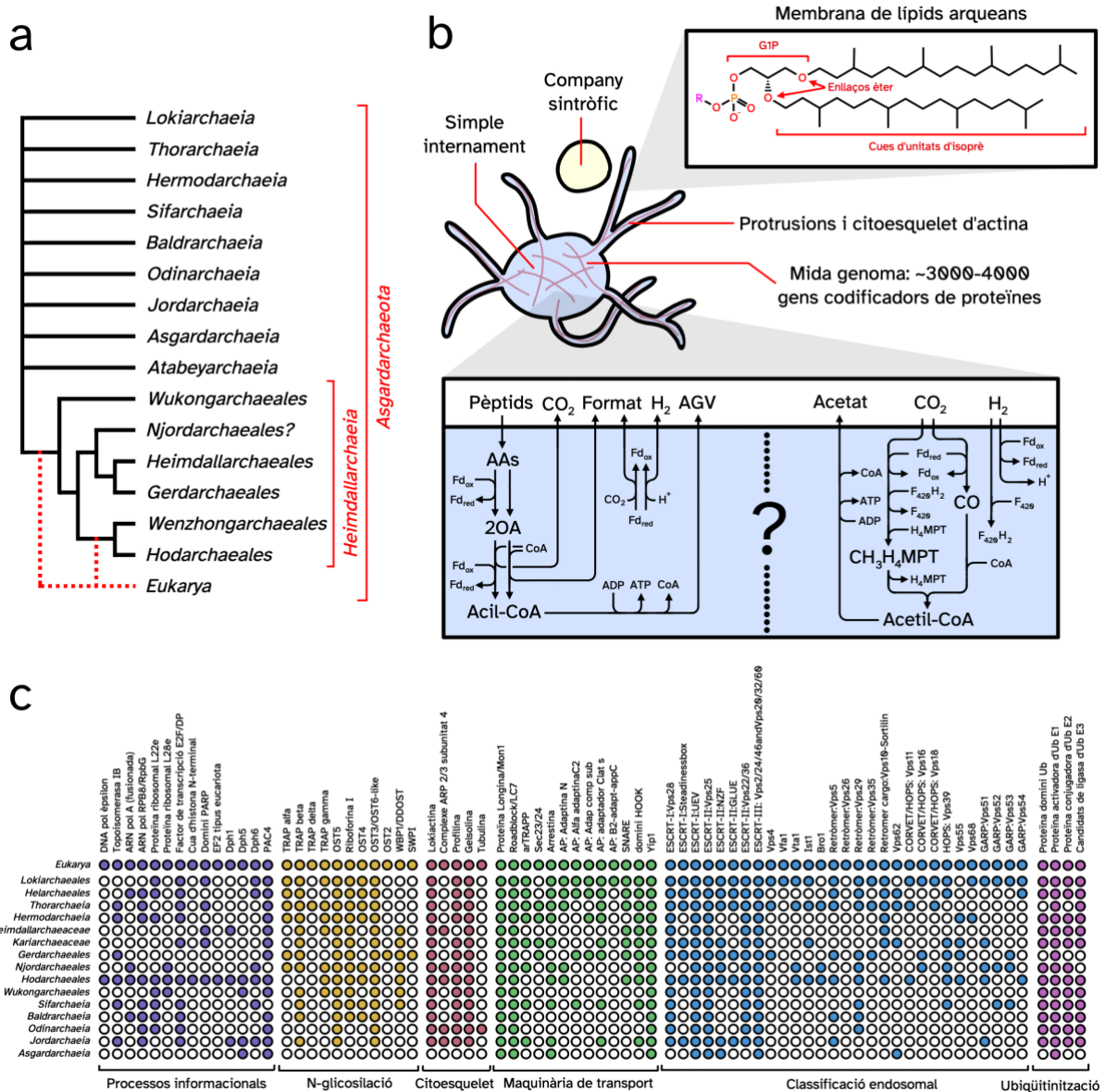


Figura 2: a, Arbre representant les classes d'*Asgardarchaeota*, els ordres de *Heimdallarchaeia*, i les dues posicions d'embranchament proposades^{5,46,61} per als eucariotes. La posició de *Njordarchaeales* és incerta^{5,61}. Modificat de ^{5,10,61} i amb l'addició d'*Atabeyarchaeia*⁴⁹. S'inclou aquí *Wukongarchaeales* dins *Heimdallarchaeia* i a la base. Tot i que de vegades es classifiquen com a classe separada, les anàlisis amb un resultat *Heimdallarchaeia*-germans les inclouen dins el grup germà als eucariotes. La descoberta de *Wenzhongarchaeales* és posterior a la hipòtesi hodarquaeals-germanes, però sembla que quan s'inclouen en anàlisis que donen suport a aquesta hipòtesi, realment els eucariotes són germans als dos ordres junts⁶¹. Tant en aquesta figura com a la resta del treball, la nomenclatura feta servir per als diferents llinatges d'*Asgardarchaeota* és la descrita a ^{5,50}, que fa servir "*Asgardarchaeota*" i "*Lokiarchaeia*". "*Asgard-*" i "*Loki-*" són més reconeixibles, i se n'ha parlat amb aquests noms molt més que amb els vàlidament publicats, "*Promethearchaeoti/Promethearchaeota*" i "*Promethearchaeia*"⁶³. Molta literatura prèvia assigna rang de filum (-ota) als diferents llinatges, però sota aquesta nomenclatura reben rang de classe (-ia) o inferior (-ales, -aceae). b, Representació dels trets del FECA. Mida del genoma extreta de ⁵. Al requadre inferior hi ha els dos metabolismes energètics diferents proposats: peptidotròfia fermentativa secretant hidrogen^{62,65}, o autotròfia amb la versió arqueana de la via Wood-Ljungdahl, consumint hidrogen^{61,76}. c, Presència d'ESPs, moltes de les quals el FECA presumiblement tenia, en diversos grups d'*Asgardarchaeota*, marcada per un cercle omplert. Extret i traduït de ⁵. 2OA, 2-oxoàcid; AAs, aminoàcids; AGV, àcid gras volàtil; CH₃H₄MPT, metiltetrahidrometanopterina; CoA, coenzim A; Fd_{ox}, ferredoxina oxidada; Fd_{red}, ferredoxina reduïda; F₄₂₀, coenzim F₄₂₀ oxidat; F₄₂₀H₂, coenzim F₄₂₀ reduït; G1P, glicerol 1-fosfat, H₄MPT, tetrahidrometanopterina.

4. FMCA

4.1 Posició filogenètica

A diferència dels arqueus, sabem fa temps que el mitocondri deriva d'un alfaaproteobacteri endosimbiòtic^{26,77,78}, però la posició exacta també és debatuda^{16,79} (Figura 3a). Les primeres propostes⁸⁰⁻⁸² situaven els mitocondris dins o germans de *Rickettsiales*, que semblaria encaixar perquè molts són endosimbionts obligats. També s'han proposat *Rhodospirillales*⁸³⁻⁸⁵, *Rhizobiales*⁸⁶, *Pelagibacterales*⁸⁷ i *Iodidimonadales*⁸⁸. *Rickettsiales* i *Pelagibacterales*, com els mitocondris, tenen genomes petits i %AT alt, conseqüències de la reducció genòmica^{16,89}. Aquests trets, si són homoplàstics, poden apropar-los artefactualment als mitocondris^{16,79}, com és el cas en *Pelagibacterales*⁹⁰. Amb models menys sensibles a l'heterogeneïtat composicional, aplicant FSR i incloent gens nuclears d'origen mitocondrial, apareixen els mitocondris com a germans de tot *Alphaproteobacteria* excepte *Magnetococcales* i *MarineProteol*^{89,91-93} (hipòtesi "alfa-germans"), inclosa l'anàlisi amb més marcadors⁸⁹. Tanmateix, d'altres encara troben l'associació amb *Rickettsiales*^{79,94,95} (hipòtesi "rickettsials-germanes"), i argumenten que la posició "Alfa-germans" es deu a pèrdua de senyal per l'FSR o atracció de grup extern^{94,95}. Un estudi metagenòmic ha trobat MAGs basals que indiquen que les rickettsials no són ancestralment intracel·lulars⁹³. Això afebleix l'argument pro-rickettsials-germanes que la intracel·lularitat dels mitocondris és homòloga a la de *Rickettsiales*.

4.2 Reconstrucció del FMCA

Costa determinar com fou el FMCA sense saber-ne segur la posició filogenètica. Era un bacteri gram-negatiu, i com a mínim tenia les vies metabòliques que en eucariotes empren gens d'origen alfaaproteobacterià: metabolisme del piruvat, cicle de Krebs, fosforilació oxidativa, síntesi de lípids, de clústers ferro-sofre, d'altres cofactors, etc.^{17,29,96} El FMCA podia respirar aeròbicament, però més enllà es proposa des d'un heteròtrof aerobi^{16,62} o anaerobi facultatiu versàtil possiblement fotòtrof/mixòtrof^{16,97-100}, a un paràsit⁹⁶ o depredador¹⁰¹. És especialment discutit si el FMCA produïa hidrogen fermentant. S'argumenta que concordaria amb la producció d'hidrogen d'òrgànuls relacionats als mitocondris (MROs) presents en eucariotes anaerobis^{85,97,102,103}, però els gens involucrats semblen haver-se transferit de bacteris no alfaaproteobacteris¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Altrament, es dubta^{62,107} que consumís hidrogen⁹⁹, cap mitocondri modern ho fa. La subunitat central del complex MICOS, que ajuda a generar les crestes mitocondrials, té homòlegs alfaaproteobacterians involucrats en generar membranes intracel·lulars fotosintètiques. Això inspira un FMCA possiblement fotòtrof amb membranes intracel·lulars, característiques potser ancestrals de la majoria d'alfaaproteobacteris, i les crestes serien doncs homòlogues a aquestes membranes^{89,100} (Figura 3b).

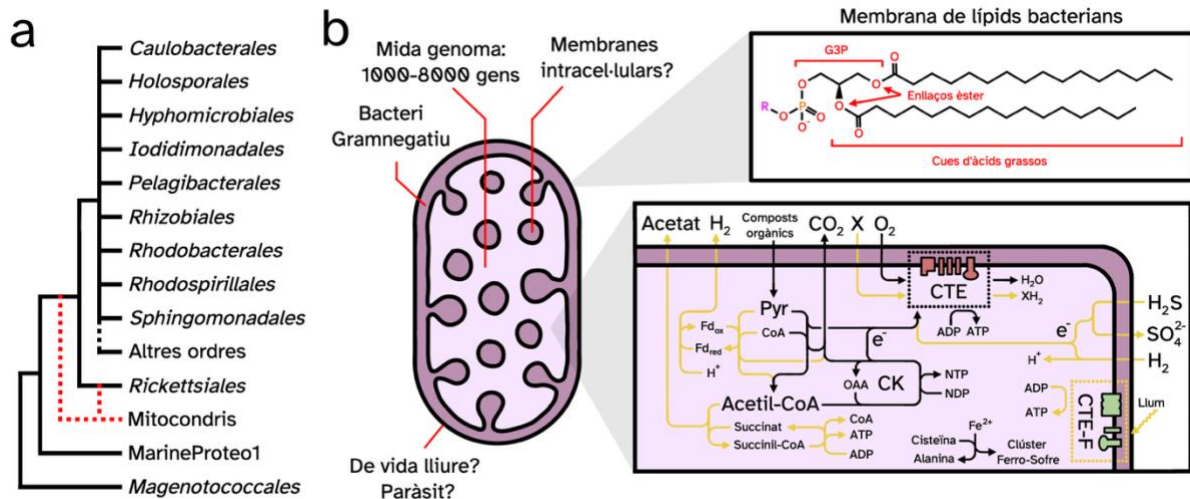


Figura 3: a, Arbre representant una selecció d'ordres d'alfaproteobacteris i les dues^{89,94} principals posicions d'embranchament proposades per als mitocondris. Cal destacar que en la hipòtesi "alfa-germans" realment dos clades, *Magnetococcales* i *MarineProteo1*, sí són més basals que els mitocondris. b, Representació dels trets del FMCA. Mida del genoma extreta de ¹⁰⁸. Al requadre inferior apareixen les vies metabòliques simplifiades proposades per al FMCA. Les fletxes negres representen les vies que sabem que tenia segur, i les fletxes grogues són vies que s'han proposat però no se n'està segur, per exemple producció d'hidrogen anaeròbia. CK, cicle de Krebs; CoA, coenzim A; CTE, cadena de transport d'electrons; CTE-F, cadena de transport d'electrons fotosintètica; e⁻, electrons; Fd_{ox}, ferredoxina oxidada; Fd_{red}, ferredoxina reduïda; G3P, glicerol 3-fosfat; OAA, oxalacetat; NDP, nucleòtid difosfat; NTP, nucleòtid trifosfat; Pyr, piruvat; X, Acceptor alternatiu d'electrons; XH₂, acceptor alternatiu d'electrons reduït.

5. LECA

Coneixent la distribució de trets dels eucariotes actuals, es reconstrueix un LECA d'una complexitat comparable a qualsevol eucariota modern^{19,109}. Tenia nucli, porus nuclears, cromosomes lineals, introns, sistema endomembranós (EMS), tràfic intracel·lular, citoesquelet desenvolupat, flagel eucariota, pseudopodis, mitosi, meiosi^{19,109}, metabolisme heteròtrof (glucòlisi, descarboxilació oxidativa, cicle de Krebs¹¹⁰) i mitocondris^{16,18} (Figura 4). La fagocitosi és incerta, certes reconstruccions¹¹¹ i l'evidència fòssil¹¹² no la prediuen clarament al LECA, però l'adaptació genòmica a l'hoste de *Legionellales* (patògens dependents de fagocitosi) el precedeix¹¹³. Aquestes característiques semblen les de molts petits flagel·lats heteròtrofs¹⁹, i potser aquest és el fenotip ancestral eucariota. Si com sembla,

l'arrel de l'arbre eucariota parteix els excavats¹¹⁴, explicaria la seva semblança morfològica però distància filogenètica¹¹⁵, perquè el fenotip dels excavats s'hauria heretat del LECA^{114,116}. Tots aquests trets associats als eucariotes moderns, com nucli o EMS, han d'aparèixer doncs durant l'eucariogènesi abans del LECA.

El mitocondri del LECA era ja un orgànul integrat amb crestes, metabolisme aerobi i genoma enormement reduït^{9,16}. S'hi prediuen 69 proteïnes^{16,108}, en contrast a 1000-8000 gens en alfaproteobacteris¹⁰⁸, encara que potser part de la reducció és convergent i post-LECA¹¹⁷. Es transferiren molts gens dels proto-mitocondris al nucli, procés anomenat transferència endosimbiòtica de gens (EGT)¹¹⁸. S'adquirí la capacitat d'importar proteïnes als proto-mitocondris (certes proteïnes sense senyal de localització semblen dirigir-se naturalment a orgànuls, potser ajudaren a desenvolupar-la inicialment?¹¹⁹). Això permeté que es pseudogenitzessin i perdessin gens perquè podien codificar-se al nucli i importar-se'n els productes¹²⁰. Així mateix, s'importaren proteïnes de l'hoste que substituïren moltíssimes funcions del simbiont i ajudaren a prendre'n control i integrar-lo^{17,120}. Diverses proteïnes mitocondrials transferides al nucli traspasaren l'activitat a altres compartiments^{16,17}. S'especula que els mitocondris retenen genoma perquè algunes proteïnes hidrofòbiques costen d'importar, o perquè així poden regular ràpidament la cadena de transport d'electrons per no generar espècies reactives (sobretot considerant que els MROs sense genoma l'han perdut)^{16,121}. És incert si el metabolisme anaerobi dels MROs era present als mitocondris del LECA¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

S'estima que el LECA tenia ~13000 gens²⁸ i els seus orígens (grups amb l'homòleg procariota més proper) tenen un patró sense explicació clara. N'hi ha sense homòlegs procariotes, originats durant l'eucariogènesi, però quan sí en tenen

l'origen bacterià és més freqüent que l'arqueà. Freqüentment, els gens arqueans són "informativels" (relacionats amb processament de la informació, inclosos alguns sempre heretats verticalment, que permeten determinar la posició filogenètica dels eucariotes³⁵) o estructurals; i els bacterians "operacionals" (relacionats amb metabolisme)^{84,122}. Únicament una fracció dels gens arqueans i especialment els bacterians s'afilien respectivament amb *Asgardarchaeota* i *Alphaproteobacteria*²⁸, i la resta tampoc s'afilien amb llinatges propers com s'esperaria si el problema fos pèrdua de senyal filogenètic¹⁵, sinó amb llinatges diversos i llunyans: *Actinomycetota*, *Bacillota*, *Deltaproteobacteria*, *Bacteroidota*...^{4,27,28}

El LECA, com els eucariotes, tenia lípids "bacterians", amb àcids grassos enllaçats per èster a glicerol 3-fosfat. Els arqueus (*Asgardarchaeota* inclosos^{62,63}) tenen lípids amb isoprenoides enllaçats per èter a glicerol 1-fosfat^{4,123}. Si les membranes d'arqueus i eucariotes són homòlogues, cal explicar com i per què canvià el tipus de lípid, quan no hi ha una pressió selectiva òbvia per fer-ho¹²³. No es coneixen membranes híbrides naturals, però incorporar lípids arqueans a la membrana d'*Escherichia coli* no n'afecta massa l'aptitud^{124,125} si no són lípids de tetraèter, comuns en arqueus però absents en *Heimdallarchaeia*¹²⁵.

En concordança amb el model 2D, hi ha biomarcadors que evidencien l'activitat d'arqueus¹²⁶ i bacteris¹²⁷ a l'Arqueà (~3.5 Ga). Al registre fòssil, no apareixen eucariotes fins al Paleoproterozoic tardà/Mesoproterozoic (~1.8 Ga en endavant), en forma d'acritarcs (alguns potser amb nucli¹²⁸) que probablement representin eucariotes troncs. El primer eucariota terminal conegut és *Bangiomorpha pubescens*, un rodòfit d'1.047 Ga^{14,129,130}. Amb aquestes i altres calibracions, s'estima que l'edat del LECA és 1.842-1.21 Ga (Proterozoic) la del FECA 3.0-2.3 Ga i del FMCA 2.1-1.2 Ga¹³¹.

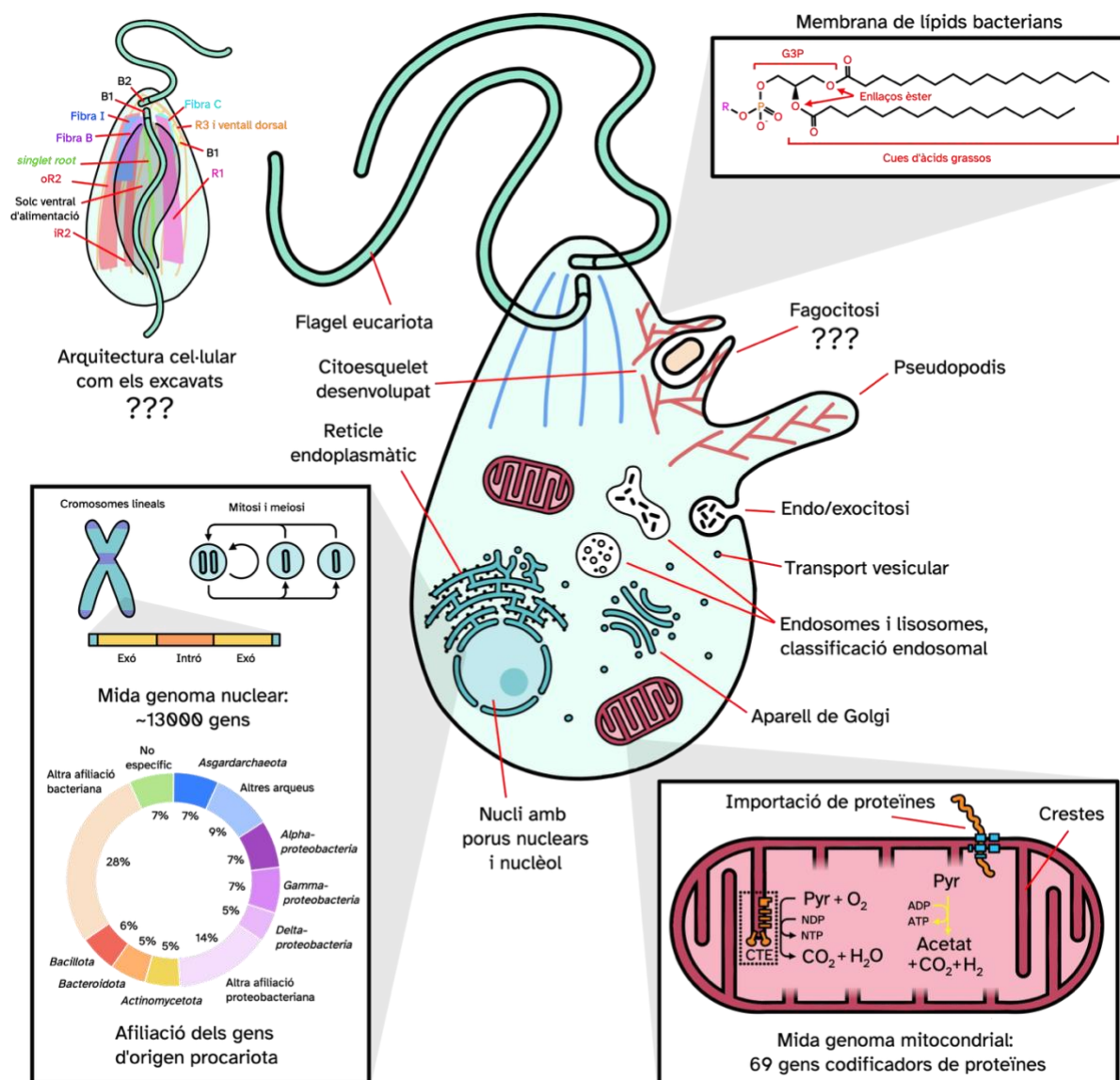


Figura 4: Característiques inferides al LECA i el seu mitocondri. Mida del genoma nuclear i afiliació dels gens d'origen procariota extreta de ²⁸. Mida del genoma mitocondrial extreta de ¹⁶. La fletxa groga del metabolisme anaerobi al mitocondri indica que no s'hi reconstrueix amb certesa. CTE, cadena de transport d'electrons; G3P, glicerol 3-fosfat; NDP, nucleòtid difosfat; NTP, nucleòtid trifosfat; Pyr, piruvat.

6. Què passà durant l'eucariogènesi?

6.1 Hipòtesis

Les hipòtesis sobre com s'encetà la simbiosi durant l'eucariogènesi són nombrosíssimes¹²¹. Es discutiran aquí principalment les desenvolupades amb coneixement dels *Asgardarchaeota*.

La hipòtesi de l'hidrogen⁹⁷ (HH) planteja una sintròfia entre un arqueu autòtrof acetògen⁷⁶ consumidor d'hidrogen i un alfa-proteobacteri que en produiria fermentant (però també podria respirar). L'arqueu n'acabaria depenent obligatòriament i l'envoltaria fins internalitzar-lo. Aleshores, esdevindria capaç d'importar i degradar compostos orgànics per nodrir el simbiònt, però li caldria eliminar el metabolisme autòtrof; si no, sintetitzaria carbohidrats en lloc de degradar-los. Sense l'autotròfia, no dependria de l'hidrogen ni d'ambients anòxics, i el simbiònt s'adaptaria per produir ATP respirant aeròbicament. Aquesta hipòtesi prediu que el metabolisme productor d'hidrogen dels MROs es conservà des d'aquest alfa-proteobacteri fermentador (Figura 5a).

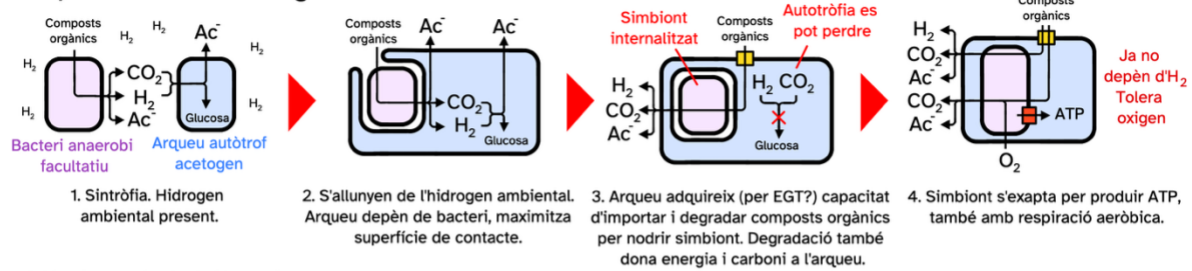
La hipòtesi del flux invers⁹⁹ (HFI) inverteix el flux de la sintròfia. Proposa un arqueu que produiria hidrogen per la WLP inversa consumint àcids orgànics (funciona igualment bé amb un arqueu peptidòtrof). En canvi, un alfa-proteobacteri versàtil consumiria l'hidrogen, reduint oxigen o altres acceptors d'electrons i acabaria sent internalitzat, potser amb ajuda de protrusions (Figura 5b).

En les hipòtesis entortolligar-engolir-endogenitzar^{62,65} (HE³) i sintròfica^{98,132} (HS), l'arqueu fermentaria pèptids secretant hidrogen en sintròfia amb un

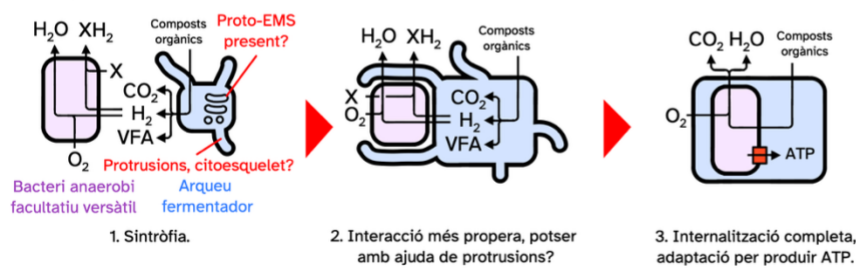
deltaproteobacteri sulfat-reductor, com els *Asgardarchaeota* cultivats coneguts. En l'E³, en context d'oxigen atmosfèric creixent per la Gran Oxigenació, els companys sintròfics reclutarien un alfaproteobacteri aerobi facultatiu que eliminaria oxigen tòxic. L'arqueu l'entortolligaria amb protrusions fins internalitzar-lo fusionant-les. Compartiria inicialment 2-oxoàcids amb l'alfaproteobacteri a canvi d'eliminar oxigen o nutrients, però acabaria delegant-hi la producció d'energia, més eficient en ser aeròbica. Perdria els enzims per degradar 2-oxoàcids, sensibles a l'oxigen, i ja no caldria l'SRB (Figura 5c). Segons la HS, l'SRB internalitzaria l'arqueu, i també un alfaproteobacteri versàtil que oxidaria sulfur i proporcionaria sulfat. La membrana interna de l'SRB envoltaria l'arqueu invaginant-se, per apropar-hi els productes d'enzims hidrolítics periplasmàtics. Es donaria EGT del deltaproteobacteri a l'arqueu fins perdre-se'n el genoma. El periplasma s'acabaria d'internalitzar per esdevenir l'EMS i embolcall nuclear al voltant de l'arqueu (nucli), que produiria proteïnes per a tot el consorci. L'alfaproteobacteri acabaria proporcionant tota l'energia mitjançant respiració aeròbica (Figura 5d).

La hipòtesi de l'arqueu fagocític¹³³ (HAF) proposa un arqueu que desenvoluparia citoesquelet i fagocitosi gràcies a un genoma enriquit en ESPs involucrades en aquests processos, i esdevindria bacteriòvor. Apareixeria la membrana nuclear per evitar que massa HGT desestabilitzés el genoma, perquè ingeriria molt material genètic. Un alfaproteobacteri ingerit no seria digerit i es tornaria endosimbiòtic, conferint respiració aeròbica a l'hoste.

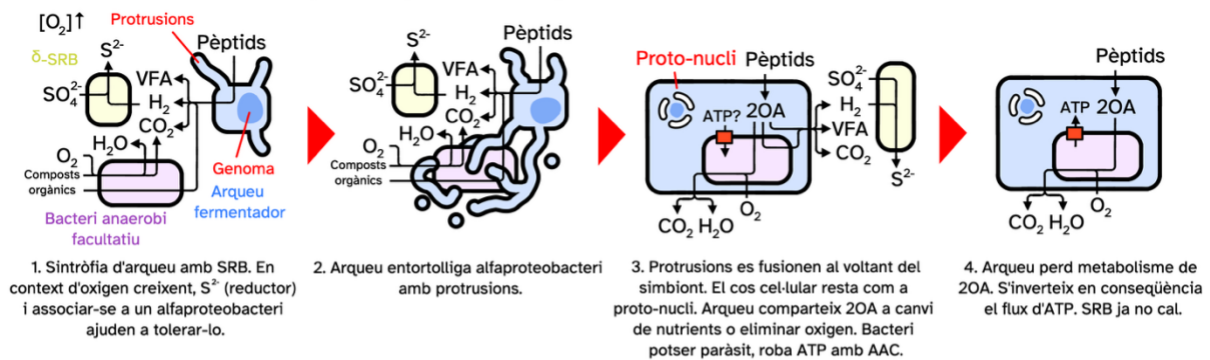
a. Hipòtesi de l'hidrogen



b. Hipòtesi del flux invers



c. Hipòtesi entortolligar-engolir-endogenitzar



d. Hipòtesi sintròfica

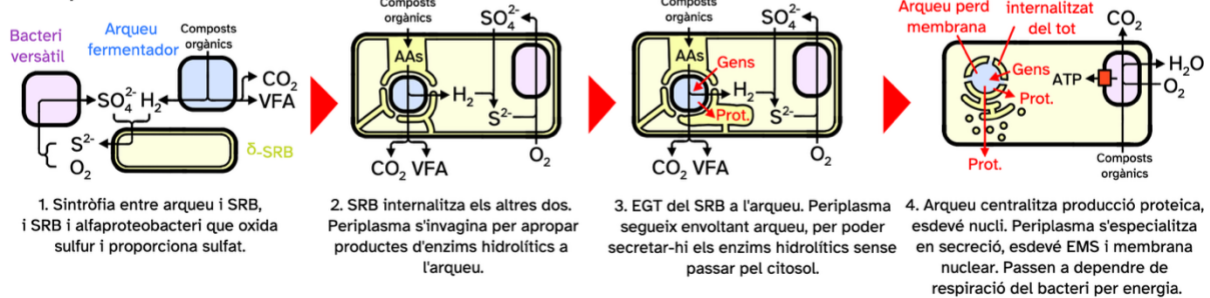


Figura 5: Hipòtesis per l'eucariogènesi que involucren sintròfia. **a.** Hipòtesi de l'hidrogen. **b.** Hipòtesi del flux invers. **c.** Hipòtesi entortolligar-engolir-endogenitzar. **d.** Hipòtesi sintròfica. Els requadres vermells representen el translocador ADP/ATP (AAC), fet servir pels mitocondris moderns per exportar ATP al citosol, que no és homòleg al de *Rickettsiales* ni altres procariotes¹³⁴. 2OA, 2-oxoàcid; AAs, aminoàcids; Ac^- , acetat; δ -SRB, deltaproteobacteri sulfat-reductor; Prot., proteïnes; VFA, àcid gras volàtil; X, acceptor d'electrons; XH_2 , acceptor d'electrons reduït.

La hipòtesi *Neomura*, radicalment diferent, planteja que arqueus i eucariotes són grups germans descendits de planctomicets^{60,135}. Rep poc suport¹³⁶.

Es desconeix com s'originaren el nucli, EMS, mitosi i meiosi o com canvià el tipus de lípid. Moltes hipòtesis no n'expliciten els mecanismes, però hi ha diverses propostes, i sovint intervé el mitocondri. Algunes proposen EMS i embolcall nuclear derivats de vesícules de membrana externa del mitocondri^{30,137}. D'altres els deriven de cavitats originades en fusionar-se protrusions al voltant de l'alfaproteobacteri^{62,138,139}. Els introns eucariotes, que requereixen desacoblar transcripció i traducció, s'utilitzen freqüentment per explicar l'origen del nucli, i potser venen d'introns tipus II d'alfaproteobacteris¹⁴⁰⁻¹⁴². Sovint es proposa que els lípids del proto-mitocondri substituïren els arqueans a la membrana plasmàtica^{65,137,139}. Una teoria especula que meiosi i mitosi s'originaren en eucariotes troncats sincicials¹⁴².

6.2 *Mito-early o mito-late?*

Classifiquem les hipòtesis segons quan plantegen que s'adquireix el mitocondri durant l'eucariogènesi^{15,28,30}. Les *mito-early* opinen que cal adquirir-lo per desenvolupar la complexitat cel·lular eucariota, i adquirir-lo és doncs el primer pas de l'eucariogènesi. N'és l'exemple típic la HH³⁰. Les *mito-late* diuen que cal algun element de complexitat eucariota, generalment fagocitosi, per adquirir-lo. L'hoste aleshores seria ja complex, potser un "proto-eucariota". N'és prototípica la hipòtesi dels arquezous^{143,144}, que proposava que els eucariotes amitocondriats representaven aquest estadi complex pre-simbiòtic. Avui dia sabem que aquests eucariotes abans tenien mitocondris^{23,37}, però en seria una versió moderna la HAF. L'estira-i-arronsa dels bàndols *mito-early* i *mito-late* és un dels debats principals sobre l'eucariogènesi.

El volum cel·lular procariota està limitat per la superfície de membrana disponible per a produir energia (s'incrementa menys que el volum en créixer) i també perquè cal un genoma prop de la maquinària energètica per regular-la; els bacteris gegants són poliploides o tenen molt citoplasma inert^{30,145}. Els mitocondris, en desvincular la producció energètica de la membrana i el genoma principal, permeten créixer en mida^{30,145,146}. S'argumenta que als eucariotes la mida enorme però nombre de gens no gaire superior respecte procariotes els dona exponencialment més "energia/gen", permetent evolucionar i mantenir la complexitat. S'afavoreixen així escenaris *mito-early*^{30,145}. Aquest raonament té problemes: el cost de manteniment cel·lular creix amb la mida¹⁴⁶⁻¹⁴⁸, totes les còpies dels genomes mitocondrials no es computen en l'"energia/gen"¹⁴⁶ i la complexitat no requereix excessiva energia¹⁴⁹, sinó més aviat reassignar-hi recursos¹⁴⁷. Un càlcul més precís¹⁴⁶ trobà només un lleuger increment en energia/gen en adquirir mitocondris. Sí sembla que els procariotes estan constrenyits: no poden créixer molt en mida cel·lular o genòmica sense dedicar massa energia a sustentar el citosol o a replicació. El mitocondri elimina aquest topall, però no hi ha un salt energètic insalvable entre eucariotes i procariotes¹⁴⁶.

Per la banda *mito-early*, es raona que la fagocitosi requereix un EMS i citoesquelet ja desenvolupats, consumeix massa energia, o és incompatible amb produir energia a la membrana plasmàtica perquè se'n digeriria la maquinària³⁰. Tanmateix, *Candidatus Uabimicrobium* spp. són procariotes amb fagocitosi (no homòloga a l'eucariota)^{150,151} i existeixen protists amitocondriats (inclosos de no parasítics i *Monocercomonoides exilis*, que no té cap mitocondri ni MRO) fagocítics¹⁴⁹. L'existència de fagocitosi al LECA és debatuda^{111,113}, però fer-ne no sembla requerir mitocondris. La fagocitosi, no obstant, tampoc sembla necessària

per adquirir endosimbionts, car certs procariotes (no fagocítics) semblen tenir-ne^{152–154}.

Construint filogènies de famílies de proteïnes presents al LECA, incloent-hi homòlegs procariotes, podem calcular la longitud de branca (distància filogenètica corregida per taxa d'evolució) per a cada família entre LECA i divergència dels homòlegs procariotes (longitud de tronc)¹⁵⁵, o bé entre LECA i duplicació que originà dos o més paràlegs al LECA (longitud de duplicació)²⁸. Més longitud de branca representa més temps des de la divergència/duplicació. Les branques de proteïnes relacionades amb els processos com EMS, citoesquelet o tràfic intracel·lular són més llargues de mitjana que les alfaproteobacterianes i operacionals. Possiblement doncs, es desenvolupà certa complexitat duplicant o adquirint proteïnes abans del mitocondri^{28,155}, encara que altres anàlisis troben resultats diferents¹⁵⁶.

6.3 D'on venen els gens?

Es prediuen més del triple de gens al LECA que al FECA, molts d'ells bacterians. L'EGT n'explica clarament alguns¹¹⁸, i altres s'inventaren durant l'eucariogènesi^{10,28}. D'on ve la resta? Cada gen del LECA es duplicà un cop de mitjana^{28,157} i *Heimdallarcheia* tenia ancestralment alta taxa de duplicació⁵. Els gens d'origen arqueà, informacionals, o involucrats en citoesquelet, EMS, i tràfic intracel·lular es duplicaren especialment sovint^{28,157}. Hi ha grans famílies gèniques eucariotes en què cada paràleg actua en un compartiment o fase diferent de l'EMS. Se suggereix que la reiterada duplicació i especialització fou essencial per l'evolució d'aquests sistemes durant l'eucariogènesi¹⁵⁸.

Així mateix, els gens alfaaproteobacterians tenen longituds de tronc menors als bacterians d'altra afiliació. S'explicaria tant aquest patró com l'origen dels gens bacterians no-alfaaproteobacterians del LECA^{15,155} si s'haguessin transferit d'altres bacteris als eucariotes troncats abans del mitocondri. També es proposa l'existència d'endosimbiosis pre-mitocondrials, que "prepararien" l'hoste per al mitocondri i donarien gens via EGT¹⁵; es coneixen substitucions d'endosimbionts en insectes¹⁵⁹.

La contribució de gens al LECA de llinatges addicionals a *Asgardarchaeota* i *Alphaproteobacteria* genera controvèrsia. Cap tercer llinatge donador apareix clarament^{160,161}. Un origen no-alfaaproteobacterià d'un gen no desmenteix que fos al FMCA, perquè l'HGT desdibuixa les filogènies de gens procariotes. Gens presents al FMCA transferits a altres llinatges, però perduts en alfaaproteobacteris, no semblen alfaaproteobacterians^{84,102,162}. Alguns neguen l'existència d'HGT en eucariotes^{30,102,163} i critiquen la validesa de les longituds de branca¹⁶⁴. Certament, el FMCA tenia gens no-alfaaproteobacterians transferits horitzontalment (i el FECA no-asgardarqueans). Els *Asgardarchaeota* semblen tenir un nombre constant de gens arqueans, i en créixer el genoma creix el nombre de gens bacterians adquirits horitzontalment⁷⁵. El FECA ja tenia aleshores gens de diverses fonts. Tanmateix, hi ha exemples demostrats d'HGT eucariota^{165,166}. Mesurar longituds de tronc dona resultats fiabls aplicant-se a altres qüestions¹³, i tolera canvis en taxa evolutiva pre/post-LECA¹⁶⁶. El mètode té limitacions (per exemple descobrir nous tàxons pot alterar els resultats^{13,28,166}) però cal valorar les dades que aporta i la possibilitat que més organismes proveïssin gens durant l'eucariogènesi.

6.4 S'imposa cap hipòtesi?

La simplicitat cel·lular i metabolisme sintròfic en *Lokiarchaeia/Heimdallarchaeia* cultivats⁶¹ fa improbable la fagocitosi o compartimentalització extensa al FECA o l'inici de l'eucariogènesi, afeblint les hipòtesis *mito-late*, com la HAF. El metabolisme dels *Asgardarchaeota* indica que la sintròfia amb transferència d'hidrogen fou essencial per l'eucariogènesi.

Descartar escenaris *mito-late* reforça que fou imprescindible mitocondri per desenvolupar la complexitat eucariota completa. El mitocondri explica també per què altres procariotes no esdevenen complexes^{146,167}. Tanmateix, els *Asgardarchaeota* tenen un citoesquelet més complex que altres procariotes^{55,64} i protrusions que potser permeteren envoltar i internalitzar el simbiot, com proposen la HE³ o HFI^{62,65,99,168}. És plausible un escenari "*mito-intermediate*"¹⁶⁹, desenvolupant complexitat parcial en citoesquelet o deformació de membranes abans del mitocondri, com suggereixen les longituds de branca^{28,155}, però també és viable un *mito-early*.

Un FECA heteròtrof⁵, com els *Asgardarchaeota* cultivats, encaixaria amb la HFI, HS i HE³. L'origen en *Asgardarchaeota* d'alguns enzims glucolítics eucariotes recolza que potser era heteròtrof¹¹⁰. Si les prediccions de dades genòmiques sobre metabolisme autòtrof^{61,76} en *Heimdallarchaeia* es confirmessin s'afavoriria la HH. Un FMCA metabòlicament versàtil^{89,100} (alfa-germans) encaixa amb totes les hipòtesis, però un d'organoheteròtrof aerobi o paràsit^{16,96} (rickettsials-germanes) sobretot amb l'E³, que té el consum d'oxigen com a benefici inicial de l'alfaproteobacteri.

La HS i la HE³ expliquen l'origen dels gens deltaproteobacterians del LECA amb un tercer bacteri involucrat, però la contribució d'organismes addicionals és debatuda. La HS és l'única que explica fàcilment perquè els lípids eucariotes no són arqueans, ja que planteja un hoste bacterià, però res indica que el nucli fou mai un simbiote^{121,170}. La producció d'hidrogen dels MROs no sembla descendir d'alfaproteobacteris com postula la HH^{105,106}, però altrament cap mitocondri consumeix hidrogen com suggeriria la HFI^{62,107}. Les edats predites per al FMCA i LECA no s'associen temporalment a la Gran Oxigenació, fet problemàtic per la HE³, que hi vincula l'adquisició mitocondrial^{107,131}. Cap hipòtesi doncs explica totes les dades observades, i desconeixent el metabolisme dels organismes implicats, cap emergeix clarament com certa.

7. Conclusions

Els *Asgardarchaeota* han tancat diversos debats sobre l'eucariogènesi: s'ha imposat un model 2D en què els eucariotes són quimeres d'un *Heimdallarchaeia* o parent proper internament simple i d'un alfaproteobacteri; sembla ser-hi clau la sintròfia mitjançant transferència d'hidrogen. En canvi, el metabolisme i posició filogenètica exacta dels dos participants, com s'associaren, si hi ha participants addicionals i l'ordre i mode d'aparició dels trets eucariotes segueixen discutint-se intensament. Noves dades sovint contradiuen altres dades recents (per exemple^{5,61}), les diferències d'opinió generen intenses disputes (per exemple^{91,92,94,95}) i els artefactes de reconstrucció infesten les filogènies amb divergències llunyanes^{12,34,35}.

El debat, però, és viu. La metagenòmica que descobrí els *Asgardarchaeota* encara ens pot desvelar llinatges més propers als eucariotes o especialment als

mitocondris: la diversitat microbiana segueix poc explorada. Tanmateix, cal ser curosos interpretant dades metagenòmiques^{171,172}, moltes especulacions sobre els *Asgardarchaeota* es falsificaren en cultivar-ne un. Cultivar més *Asgardarchaeota* i caracteritzar-ne funcionalment les ESPs ens revelarà la seva fisiologia i què els permet fer el seu repertori genòmic. Cultivar, per exemple, un *Heimdallarchaeia* autòtrof refermaria que és un metabolisme possible del FECA.

Amb la informació disponible, que abasta nombrosos camps de la biologia, no s'albira cap consens proper sobre l'eucariogènesi. Queda encara molt per descobrir i debatre d'aquest capítol fonamental de la història de la vida a la terra, que just comencem a entendre.

8. Bibliografia

1. Theobald, D. L. A formal test of the theory of universal common ancestry. *Nature* **465**, 219–222 (2010).
2. Woese, C. R., Kandler, O. & Wheelis, M. L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **87**, 4576–4579 (1990).
3. Gribaldo, S., Poole, A. M., Daubin, V., Forterre, P. & Brochier-Armanet, C. The origin of eukaryotes and their relationship with the Archaea: are we at a phylogenomic impasse? *Nat. Rev. Microbiol.* **8**, 743–752 (2010).
4. López-García, P. & Moreira, D. The symbiotic origin of the eukaryotic cell. *C. R. Biol.* **346**, 55–73 (2023).
5. Eme, L. *et al.* Inference and reconstruction of the heimdallarchaeial ancestry of eukaryotes. *Nature* **618**, 992–999 (2023).
6. Williams, T. A., Cox, C. J., Foster, P. G., Szöllősi, G. J. & Embley, T. M. Phylogenomics provides robust support for a two-domains tree of life. *Nat. Ecol. Evol.* **4**, 138–147 (2020).
7. Spang, A. *et al.* Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature* **521**, 173–179 (2015).
8. Zaremba-Niedzwiedzka, K. *et al.* Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature* **541**, 353–358 (2017).
9. Gabaldón, T. Origin and Early Evolution of the Eukaryotic Cell. *Annu. Rev. Microbiol.* **75**, 631–647 (2021).

10. Vosseberg, J. *et al.* The emerging view on the origin and early evolution of eukaryotic cells. *Nature* **633**, 295–305 (2024).
11. O'Malley, M. A., Leger, M. M., Wideman, J. G. & Ruiz-Trillo, I. Concepts of the last eukaryotic common ancestor. *Nat. Ecol. Evol.* **3**, 338–344 (2019).
12. Eme, L., Spang, A., Lombard, J., Stairs, C. W. & Ettema, T. J. G. Archaea and the origin of eukaryotes. *Nat. Rev. Microbiol.* **15**, 711–723 (2017).
13. Donoghue, P. C. J. *et al.* Defining eukaryotes to dissect eukaryogenesis. *Curr. Biol. CB* **33**, R919–R929 (2023).
14. Dacks, J. B. *et al.* The changing view of eukaryogenesis – fossils, cells, lineages and how they all come together. *J. Cell Sci.* **129**, 3695–3703 (2016).
15. Gabaldón, T. Relative timing of mitochondrial endosymbiosis and the 'pre-mitochondrial symbioses' hypothesis. *IUBMB Life* **70**, 1188–1196 (2018).
16. Roger, A. J., Muñoz-Gómez, S. A. & Kamikawa, R. The Origin and Diversification of Mitochondria. *Curr. Biol. CB* **27**, R1177–R1192 (2017).
17. Gabaldón, T. & Huynen, M. A. From Endosymbiont to Host-Controlled Organelle: The Hijacking of Mitochondrial Protein Synthesis and Metabolism. *PLOS Comput. Biol.* **3**, e219 (2007).
18. Gray, M. W., Burger, G. & Lang, B. F. Mitochondrial Evolution. *Science* **283**, 1476–1481 (1999).
19. Richards, T. A. *et al.* Reconstructing the last common ancestor of all eukaryotes. *PLOS Biol.* **22**, e3002917 (2024).
20. Kowallik, K. V. & Martin, W. F. The origin of symbiogenesis: An annotated English translation of Mereschowsky's 1910 paper on the theory of two plasma lineages. *Biosystems* **199**, 104281 (2021).
21. Martin, W. & Kowallik, K. Annotated English translation of Mereschowsky's 1905 paper 'Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche'. *Eur. J. Phycol.* **34**, 287–295 (1999).
22. Wallin, I. E. *Symbiogenesis and the Origin of Species / by Ivan E. Wallin.* (Williams & Wilkins Company, Baltimore 1927). doi:10.5962/bhl.title.11429.
23. Archibald, J. M. Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution. *Curr. Biol. CB* **25**, R911–921 (2015).
24. Sagan, L. On the Origin of Mitosing Cells. (1967).
25. Lazcano, A. & Peretó, J. Prokaryotic symbiotic consortia and the origin of nucleated cells: A critical review of Lynn Margulis hypothesis. *Biosystems* **204**, 104408 (2021).
26. Bonen, L., Cunningham, R. S., Gray, M. W. & Doolittle, W. F. Wheat embryo mitochondrial 18S ribosomal RNA: evidence for its prokaryotic nature. *Nucleic Acids Res.* **4**, 663–671 (1977).
27. Koonin, E. V. The origin and early evolution of eukaryotes in the light of phylogenomics. *Genome Biol.* **11**, 209 (2010).
28. Vosseberg, J. *et al.* Timing the origin of eukaryotic cellular complexity with ancient duplications. *Nat. Ecol. Evol.* **5**, 92–100 (2021).

29. Gabaldón, T. & Huynen, M. A. Reconstruction of the Proto-Mitochondrial Metabolism. *Science* **301**, 609–609 (2003).
30. Martin, W. F. Symbiogenesis, gradualism, and mitochondrial energy in eukaryote origin. *Period. Biol.* **119**, (2017).
31. Lake, J. A., Henderson, E., Oakes, M. & Clark, M. W. Eocytes: a new ribosome structure indicates a kingdom with a close relationship to eukaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **81**, 3786–3790 (1984).
32. Brown, J. R., Douady, C. J., Italia, M. J., Marshall, W. E. & Stanhope, M. J. Universal trees based on large combined protein sequence data sets. *Nat. Genet.* **28**, 281–285 (2001).
33. Ciccarelli, F. D. *et al.* Toward Automatic Reconstruction of a Highly Resolved Tree of Life. *Science* **311**, 1283–1287 (2006).
34. Williams, T. A., Foster, P. G., Cox, C. J. & Embley, T. M. An archaeal origin of eukaryotes supports only two primary domains of life. *Nature* **504**, 231–236 (2013).
35. Cox, C. J., Foster, P. G., Hirt, R. P., Harris, S. R. & Embley, T. M. The archaeobacterial origin of eukaryotes. (2008).
36. Foster, P. G., Cox, C. J. & Embley, T. M. The primary divisions of life: a phylogenomic approach employing composition-heterogeneous methods. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **364**, 2197–2207 (2009).
37. Guy, L. & Ettema, T. J. G. The archaeal ‘TACK’ superphylum and the origin of eukaryotes. *Trends Microbiol.* **19**, 580–587 (2011).
38. Ettema, T. J. G., Lindås, A. & Bernander, R. An actin-based cytoskeleton in archaea. *Mol. Microbiol.* **80**, 1052–1061 (2011).
39. Yutin, N. & Koonin, E. V. Archaeal origin of tubulin. *Biol. Direct* **7**, 10 (2012).
40. Nunoura, T. *et al.* Insights into the evolution of Archaea and eukaryotic protein modifier systems revealed by the genome of a novel archaeal group. *Nucleic Acids Res.* **39**, 3204–3223 (2011).
41. Lindås, A.-C., Karlsson, E. A., Lindgren, M. T., Ettema, T. J. G. & Bernander, R. A unique cell division machinery in the Archaea. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 18942–18946 (2008).
42. Takai, K. & Horikoshi, K. Genetic Diversity of Archaea in Deep-Sea Hydrothermal Vent Environments. *Genetics* **152**, 1285–1297 (1999).
43. Vetriani, C., Jannasch, H. W., MacGregor, B. J., Stahl, D. A. & Reysenbach, A.-L. Population Structure and Phylogenetic Characterization of Marine Benthic Archaea in Deep-Sea Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 4375–4384 (1999).
44. Takai, K., Komatsu, T., Inagaki, F. & Horikoshi, K. Distribution of Archaea in a Black Smoker Chimney Structure. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 3618–3629 (2001).
45. Seitz, K. W., Lazar, C. S., Hinrichs, K.-U., Teske, A. P. & Baker, B. J. Genomic reconstruction of a novel, deeply branched sediment archaeal phylum with pathways for acetogenesis and sulfur reduction. *ISME J.* **10**, 1696–1705 (2016).

46. Liu, Y. *et al.* Expanded diversity of Asgard archaea and their relationships with eukaryotes. *Nature* **593**, 553–557 (2021).
47. Sun, J. *et al.* Recoding of stop codons expands the metabolic potential of two novel Asgardarchaeota lineages. *ISME Commun.* **1**, 30 (2021).
48. Xie, R. *et al.* Expanding Asgard members in the domain of Archaea sheds new light on the origin of eukaryotes. *Sci. China Life Sci.* **65**, 818–829 (2022).
49. Valentin-Alvarado, L. E. *et al.* Asgard archaea modulate potential methanogenesis substrates in wetland soil. *Nat. Commun.* **15**, 6384 (2024).
50. Tamarit, D. *et al.* Description of *Asgardarchaeum abyssi* gen. nov. spec. nov., a novel species within the class *Asgardarchaeia* and phylum *Asgardarchaeota* in accordance with the SeqCode. *Syst. Appl. Microbiol.* **47**, 126525 (2024).
51. Akıl, C. & Robinson, R. C. Genomes of Asgard archaea encode profilins that regulate actin. *Nature* **562**, 439–443 (2018).
52. Carilo, I., Senju, Y., Yokoyama, T. & Robinson, R. C. Intercompatibility of eukaryotic and Asgard archaea ribosome-translocon machineries. *J. Biol. Chem.* **300**, 107673 (2024).
53. Souza, D. P. *et al.* Asgard archaea reveal the conserved principles of ESCRT-III membrane remodeling. *Sci. Adv.* **11**, eads5255 (2025).
54. Zhu, J. *et al.* Asgard Arf GTPases can act as membrane-associating molecular switches with the potential to function in organelle biogenesis. *Nat. Commun.* **16**, 2622 (2025).
55. Wollweber, F. *et al.* Microtubules in Asgard archaea. *Cell* S0092-8674(25)00254–5 (2025) doi:10.1016/j.cell.2025.02.027.
56. Spang, A. *et al.* Asgard archaea are the closest prokaryotic relatives of eukaryotes. *PLOS Genet.* **14**, e1007080 (2018).
57. Cunha, V. D., Gaia, M., Gadelle, D., Nasir, A. & Forterre, P. Lokiarchaea are close relatives of *Euryarchaeota*, not bridging the gap between prokaryotes and eukaryotes. *PLOS Genet.* **13**, e1006810 (2017).
58. Cunha, V. D., Gaia, M., Nasir, A. & Forterre, P. Asgard archaea do not close the debate about the universal tree of life topology. *PLOS Genet.* **14**, e1007215 (2018).
59. Nasir, A., Mughal, F. & Caetano-Anollés, G. The tree of life describes a tripartite cellular world. *BioEssays* **43**, 2000343 (2021).
60. Cavalier-Smith, T. & Chao, E. E.-Y. Multidomain ribosomal protein trees and the planctobacterial origin of neomura (eukaryotes, archaeobacteria). *Protoplasma* **257**, 621–753 (2020).
61. Zhang, J. *et al.* Deep origin of eukaryotes outside *Heimdallarchaeia* within *Asgardarchaeota*. *Nature* (2025) doi:10.1038/s41586-025-08955-7.
62. Imachi, H. *et al.* Isolation of an archaeon at the prokaryote–eukaryote interface. *Nature* **577**, 519–525 (2020).

63. Imachi, H. *et al.* *Promethearchaeum syntrophicum* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, obligately syntrophic archaeon, the first isolate of the lineage 'Asgard' archaea, and proposal of the new archaeal phylum *Promethearchaeota* phyl. nov. and kingdom *Promethearchaeati* regn. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **74**, (2024).
64. Rodrigues-Oliveira, T. *et al.* Actin cytoskeleton and complex cell architecture in an Asgard archaeon. *Nature* **613**, 332–339 (2023).
65. Imachi, H. *et al.* Eukaryotes' closest relatives are internally simple syntrophic archaea. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2025.02.26.640444> (2025).
66. Koonin, E. V. Archaeal ancestors of eukaryotes: not so elusive any more. *BMC Biol.* **13**, 84 (2015).
67. Salcher, M. M. *et al.* Visualization of *Lokiarchaeia* and *Heimdallarchaeia* (*Asgardarchaeota*) by Fluorescence *In Situ* Hybridization and Catalyzed Reporter Deposition (CARD-FISH). *mSphere* **5**, 10.1128/msphere.00686-20 (2020).
68. Avcı, B. *et al.* Spatial separation of ribosomes and DNA in Asgard archaeal cells. *ISME J.* **16**, 606–610 (2022).
69. Avcı, B. *et al.* Peculiar morphology of Asgard archaeal cells close to the prokaryote-eukaryote boundary. *mBio* e00327-25 (2025) doi:10.1128/mbio.00327-25.
70. Villanueva, L., Schouten, S. & Damsté, J. S. S. Phylogenomic analysis of lipid biosynthetic genes of Archaea shed light on the 'lipid divide'. *Environ. Microbiol.* **19**, 54–69 (2017).
71. Cai, M. *et al.* Diverse Asgard archaea including the novel phylum *Gerdarchaeota* participate in organic matter degradation. *Sci. China Life Sci.* **63**, 886–897 (2020).
72. Akıl, C. *et al.* Structure and dynamics of *Odinarchaeota* tubulin and the implications for eukaryotic microtubule evolution. *Sci. Adv.* **8**, eabm2225 (2022).
73. Surkont, J. & Pereira-Leal, J. B. Are There Rab GTPases in Archaea? *Mol. Biol. Evol.* **33**, 1833–1842 (2016).
74. Klinger, C. M., Spang, A., Dacks, J. B. & Ettema, T. J. G. Tracing the Archaeal Origins of Eukaryotic Membrane-Trafficking System Building Blocks. *Mol. Biol. Evol.* **33**, 1528–1541 (2016).
75. Wu, F. *et al.* Unique mobile elements and scalable gene flow at the prokaryote–eukaryote boundary revealed by circularized Asgard archaea genomes. *Nat. Microbiol.* **7**, 200–212 (2022).
76. Sousa, F. L., Neukirchen, S., Allen, J. F., Lane, N. & Martin, W. F. Lokiarchaeon is hydrogen dependent. *Nat. Microbiol.* **1**, (2016).
77. Schwartz, R. M. & Dayhoff, M. O. Origins of Prokaryotes, Eukaryotes, Mitochondria, and Chloroplasts: A perspective is derived from protein and nucleic acid sequence data. *Science* **199**, 395–403 (1978).
78. Yang, D., Oyaizu, Y., Oyaizu, H., Olsen, G. J. & Woese, C. R. Mitochondrial origins. *Proc Natl Acad Sci USA* (1985).
79. Wang, Z. & Wu, M. An integrated phylogenomic approach toward pinpointing the origin of mitochondria. *Sci. Rep.* **5**, (2015).
80. Olsen, G. J., Woese, C. R. & Overbeek, R. The winds of (evolutionary) change: breathing new life into microbiology. *J. Bacteriol.* **176**, 1–6 (1994).

81. Andersson, S. G. E. *et al.* The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature* **396**, 133–140 (1998).
82. Fitzpatrick, D. A., Creevey, C. J. & McInerney, J. O. Genome Phylogenies Indicate a Meaningful α -Proteobacterial Phylogeny and Support a Grouping of the Mitochondria with the *Rickettsiales*. *Mol. Biol. Evol.* **23**, 74–85 (2006).
83. Esser, C. *et al.* A Genome Phylogeny for Mitochondria Among α -Proteobacteria and a Predominantly Eubacterial Ancestry of Yeast Nuclear Genes. *Mol. Biol. Evol.* **21**, 1643–1660 (2004).
84. Thiergart, T., Landan, G., Schenk, M., Dagan, T. & Martin, W. F. An Evolutionary Network of Genes Present in the Eukaryote Common Ancestor Polls Genomes on Eukaryotic and Mitochondrial Origin. *Genome Biol. Evol.* **4**, 466–485 (2012).
85. Degli Esposti, M. *et al.* Alpha proteobacterial ancestry of the [Fe-Fe]-hydrogenases in anaerobic eukaryotes. *Biol. Direct* **11**, 34 (2016).
86. Abhishek, A., Bavishi, A., Bavishi, A. & Choudhary, M. Bacterial genome chimaerism and the origin of mitochondria. *Can. J. Microbiol.* **57**, 49–61 (2011).
87. Georgiades, K., Madoui, M.-A., Le, P., Robert, C. & Raoult, D. Phylogenomic analysis of *Odyssella thessalonicensis* fortifies the common origin of *Rickettsiales*, *Pelagibacter ubique* and *Reclimonas americana* mitochondrion. *PloS One* **6**, e24857 (2011).
88. Geiger, O., Sanchez-Flores, A., Padilla-Gomez, J. & Degli Esposti, M. Multiple approaches of cellular metabolism define the bacterial ancestry of mitochondria. *Sci. Adv.* **9**, eadh0066 (2023).
89. Muñoz-Gómez, S. A. *et al.* Site-and-branch-heterogeneous analyses of an expanded dataset favour mitochondria as sister to known *Alphaproteobacteria*. *Nat. Ecol. Evol.* **6**, 253–262 (2022).
90. Rodríguez-Ezpeleta, N. & Embley, T. M. The SAR11 Group of Alpha-Proteobacteria Is Not Related to the Origin of Mitochondria. *PLOS ONE* **7**, e30520 (2012).
91. Martijn, J., Vosseberg, J., Guy, L., Offre, P. & Ettema, T. J. G. Deep mitochondrial origin outside the sampled alphaproteobacteria. *Nature* **557**, 101–105 (2018).
92. Martijn, J., Vosseberg, J., Guy, L., Offre, P. & Ettema, T. J. G. Phylogenetic affiliation of mitochondria with Alpha-II and *Rickettsiales* is an artefact. *Nat. Ecol. Evol.* **6**, 1829–1831 (2022).
93. Schön, M. E., Martijn, J., Vosseberg, J., Köstlbacher, S. & Ettema, T. J. G. The evolutionary origin of host association in the *Rickettsiales*. *Nat. Microbiol.* **7**, 1189–1199 (2022).
94. Fan, L. *et al.* Phylogenetic analyses with systematic taxon sampling show that mitochondria branch within Alphaproteobacteria. *Nat. Ecol. Evol.* **4**, 1213–1219 (2020).
95. Fan, L. *et al.* Reply to: Phylogenetic affiliation of mitochondria with Alpha-II and *Rickettsiales* is an artefact. *Nat. Ecol. Evol.* **6**, 1832–1835 (2022).
96. Wang, Z. & Wu, M. Phylogenomic Reconstruction Indicates Mitochondrial Ancestor Was an Energy Parasite. *PLOS ONE* **9**, e110685 (2014).

97. Martin, W. & Müller, M. The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature* **392**, 37–41 (1998).
98. López-García, P. & Moreira, D. The Syntrophy hypothesis for the origin of eukaryotes revisited. *Nat. Microbiol.* **5**, 655–667 (2020).
99. Spang, A. *et al.* Proposal of the reverse flow model for the origin of the eukaryotic cell based on comparative analyses of Asgard archaeal metabolism. *Nat. Microbiol.* **4**, 1138–1148 (2019).
100. Muñoz-Gómez, S. A., Wideman, J. G., Roger, A. J. & Slamovits, C. H. The Origin of Mitochondrial Cristae from *Alphaproteobacteria*. *Mol. Biol. Evol.* **34**, 943–956 (2017).
101. Davidov, Y. & Jurkevitch, E. Predation between prokaryotes and the origin of eukaryotes. *BioEssays* **31**, 748–757 (2009).
102. Martin, W. F. Too Much Eukaryote LGT. *BioEssays* **39**, 1700115 (2017).
103. Martin, W. F., Tielens, A. G. M., Mentel, M., Garg, S. G. & Gould, S. B. The Physiology of Phagocytosis in the Context of Mitochondrial Origin. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **81**, e00008-17 (2017).
104. Leger, M. M., Eme, L., Stairs, C. W. & Roger, A. J. Demystifying Eukaryote Lateral Gene Transfer (Response to Martin 2017 DOI: 10.1002/bies.201700115). *BioEssays* **40**, 1700242 (2018).
105. Stairs, C. W., Leger, M. M. & Roger, A. J. Diversity and origins of anaerobic metabolism in mitochondria and related organelles. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **370**, 20140326 (2015).
106. Stairs, C. W. *et al.* Chlamydial contribution to anaerobic metabolism during eukaryotic evolution. *Sci. Adv.* **6**, eabb7258 (2020).
107. Mills, D. B. *et al.* Eukaryogenesis and oxygen in Earth history. *Nat. Ecol. Evol.* **6**, 520–532 (2022).
108. Burger, G., Gray, M. W., Forget, L. & Lang, B. F. Strikingly Bacteria-Like and Gene-Rich Mitochondrial Genomes throughout Jakobid Protists. *Genome Biol. Evol.* **5**, 418–438 (2013).
109. Koumandou, V. L. *et al.* Molecular paleontology and complexity in the last eukaryotic common ancestor. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **48**, 373–396 (2013).
110. Santana-Molina, C., Williams, T. A., Snel, B. & Spang, A. Chimeric origins and dynamic evolution of central carbon metabolism in eukaryotes. *Nat. Ecol. Evol.* (2025) doi:10.1038/s41559-025-02648-0.
111. Bremer, N., Tria, F. D. K., Skejo, J., Garg, S. G. & Martin, W. F. Ancestral State Reconstructions Trace Mitochondria But Not Phagocytosis to the Last Eukaryotic Common Ancestor. *Genome Biol. Evol.* **14**, evac079 (2022).
112. Mills, D. B. The origin of phagocytosis in Earth history. *Interface Focus* **10**, 20200019 (2020).
113. Hugoson, E., Guliaev, A., Ammunét, T. & Guy, L. Host Adaptation in *Legionellales* Is 1.9 Ga, Coincident with Eukaryogenesis. *Mol. Biol. Evol.* **39**, msac037 (2022).
114. Williamson, K. *et al.* A robustly rooted tree of eukaryotes reveals their excavate ancestry. *Nature* (2025) doi:10.1038/s41586-025-08709-5.
115. Burki, F., Roger, A. J., Brown, M. W. & Simpson, A. G. B. The New Tree of Eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.* **35**, 43–55 (2020).

116. Yubuki, N., Čepička, I. & Leander, B. S. Evolution of the microtubular cytoskeleton (flagellar apparatus) in parasitic protists. *Mol. Biochem. Parasitol.* **209**, 26–34 (2016).
117. Moreira, D., Blaz, J., Kim, E. & Eme, L. A gene-rich mitochondrion with a unique ancestral protein transport system. *Curr. Biol. CB* **34**, 3812–3819.e3 (2024).
118. Timmis, J. N., Aylliffe, M. A., Huang, C. Y. & Martin, W. Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat. Rev. Genet.* **5**, 123–135 (2004).
119. Fang, Y.-K., Vaitová, Z. & Hampl, V. A mitochondrion-free eukaryote contains proteins capable of import into an exogenous mitochondrion-related organelle. *Open Biol.* **13**, 220238 (2023).
120. Sørensen, M. E. S., Stiller, M. L., Kröninger, L. & Nowack, E. C. M. Protein import into bacterial endosymbionts and evolving organelles. *FEBS J.* (2024) doi:10.1111/febs.17356.
121. Martin, W. F., Garg, S. & Zimorski, V. Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **370**, 20140330 (2015).
122. Rivera, M. C., Jain, R., Moore, J. E. & Lake, J. A. Genomic evidence for two functionally distinct gene classes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **95**, 6239–6244 (1998).
123. López-García, P. & Moreira, D. Open Questions on the Origin of Eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.* **30**, 697–708 (2015).
124. Caforio, A. *et al.* Converting *Escherichia coli* into an archaeobacterium with a hybrid heterochiral membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, 3704–3709 (2018).
125. Chen, H. *et al.* Engineering archaeal membrane-spanning lipid GDGT biosynthesis in bacteria: Implications for early life membrane transformations. *mLife* **4**, 193–204 (2025).
126. Ueno, Y., Yamada, K., Yoshida, N., Maruyama, S. & Isozaki, Y. Evidence from fluid inclusions for microbial methanogenesis in the early Archaean era. *Nature* **440**, 516–519 (2006).
127. Shen, Y., Buick, R. & Canfield, D. E. Isotopic evidence for microbial sulphate reduction in the early Archaean era. *Nature* **410**, 77–81 (2001).
128. Carlisle, E. M., Jobbins, M., Pankhania, V., Cunningham, J. A. & Donoghue, P. C. J. Experimental taphonomy of organelles and the fossil record of early eukaryote evolution. *Sci. Adv.* **7**, eabe9487 (2021).
129. Eme, L., Sharpe, S. C., Brown, M. W. & Roger, A. J. On the Age of Eukaryotes: Evaluating Evidence from Fossils and Molecular Clocks. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **6**, a016139 (2014).
130. Javaux, E. J. The Early Eukaryotic Fossil Record. in *Eukaryotic Membranes and Cytoskeleton: Origins and Evolution* 1–19 (Springer, New York, NY, 2007). doi:10.1007/978-0-387-74021-8_1.
131. Betts, H. C. *et al.* Integrated genomic and fossil evidence illuminates life's early evolution and eukaryote origin. *Nat. Ecol. Evol.* **2**, 1556–1562 (2018).
132. Moreira, D. & Lopez-García, P. Symbiosis Between Methanogenic Archaea and δ -Proteobacteria as the Origin of Eukaryotes: The Syntrophic Hypothesis. (1998).

133. Martijn, J. & Ettema, T. J. G. From archaeon to eukaryote: the evolutionary dark ages of the eukaryotic cell. *Biochem. Soc. Trans.* **41**, 451–457 (2013).
134. Winkler, H. H. & Neuhaus, H. E. Non-mitochondrial ATP transport. *Trends Biochem. Sci.* **24**, 64–68 (1999).
135. Devos, D. P. Reconciling *Asgardarchaeota* Phylogenetic Proximity to Eukaryotes and *Planctomycetes* Cellular Features in the Evolution of Life. *Mol. Biol. Evol.* **38**, 3531–3542 (2021).
136. McNerney, J. O. *et al.* *Planctomycetes* and eukaryotes: a case of analogy not homology. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* **33**, 810–817 (2011).
137. Gould, S. B., Garg, S. G. & Martin, W. F. Bacterial Vesicle Secretion and the Evolutionary Origin of the Eukaryotic Endomembrane System. *Trends Microbiol.* **24**, 525–534 (2016).
138. Baum, B. & Spang, A. On the origin of the nucleus: a hypothesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR* **87**, e0018621 (2023).
139. Baum, D. A. & Baum, B. An inside-out origin for the eukaryotic cell. *BMC Biol.* **12**, 76 (2014).
140. Martin, W. & Koonin, E. V. Introns and the origin of nucleus–cytosol compartmentalization. *Nature* **440**, 41–45 (2006).
141. Vosseberg, J., Schinkel, M., Gremmen, S. & Snel, B. The spread of the first introns in proto-eukaryotic paralogs. *Commun. Biol.* **5**, 1–9 (2022).
142. Garg, S. G. & Martin, W. F. Mitochondria, the Cell Cycle, and the Origin of Sex via a Syncytial Eukaryote Common Ancestor. *Genome Biol. Evol.* **8**, 1950–1970 (2016).
143. Cavalier-Smith, T. Eukaryotes with no mitochondria. *Nature* **326**, 332–333 (1987).
144. Cavalier-Smith, T. The Origin of Eukaryote and Archaeobacterial Cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **503**, 17–54 (1987).
145. Lane, N. & Martin, W. The energetics of genome complexity. *Nature* **467**, 929–934 (2010).
146. Schavemaker, P. E. & Muñoz-Gómez, S. A. The role of mitochondrial energetics in the origin and diversification of eukaryotes. *Nat. Ecol. Evol.* **6**, 1307–1317 (2022).
147. Muñoz-Gómez, S. A. The energetic costs of cellular complexity in evolution. *Trends Microbiol.* **32**, 746–755 (2024).
148. Lynch, M. & Marinov, G. K. Reply to Lane and Martin: Mitochondria do not boost the bioenergetic capacity of eukaryotic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113**, (2016).
149. Hampl, V., Čepička, I. & Eliáš, M. Was the Mitochondrion Necessary to Start Eukaryogenesis? *Trends Microbiol.* **27**, 96–104 (2019).
150. Shiratori, T., Suzuki, S., Kakizawa, Y. & Ishida, K. Phagocytosis-like cell engulfment by a planctomycete bacterium. *Nat. Commun.* **10**, 5529 (2019).
151. Wurzbacher, C. E. *et al.* ‘*Candidatus* Uabimicrobium helgolandensis’-a planctomycetal bacterium with phagocytosis-like prey cell engulfment, surface-dependent motility, and cell division. *mBio* **15**, e0204424 (2024).

152. Wujek, D. E. Intracellular Bacteria in the Blue-Green Alga *Pleurocapsa minor*. *Trans. Am. Microsc. Soc.* **98**, 143–145 (1979).
153. von Dohlen, C. D., Kohler, S., Alsop, S. T. & McManus, W. R. Mealybug beta-proteobacterial endosymbionts contain gamma-proteobacterial symbionts. *Nature* **412**, 433–436 (2001).
154. Kobińska, M., Michalik, A., Walczak, M., Junkiert, Ł. & Szklarzewicz, T. Sulcia symbiont of the leafhopper *Macrosteles laevis* (Ribaut, 1927) (Insecta, Hemiptera, Cicadellidae: Deltocephalinae) harbors *Arsenophonus* bacteria. *Protoplasma* **253**, 903–912 (2016).
155. Pittis, A. A. & Gabaldón, T. Late acquisition of mitochondria by a host with chimaeric prokaryotic ancestry. *Nature* **531**, 101–104 (2016).
156. Tria, F. D. K. *et al.* Gene Duplications Trace Mitochondria to the Onset of Eukaryote Complexity. *Genome Biol. Evol.* **13**, evab055 (2021).
157. Makarova, K. S., Wolf, Y. I., Mekhedov, S. L., Mirkin, B. G. & Koonin, E. V. Ancestral paralogs and pseudoparalogs and their role in the emergence of the eukaryotic cell. *Nucleic Acids Res.* **33**, 4626–4638 (2005).
158. Dacks, J. B. & Field, M. C. Evolution of the eukaryotic membrane-trafficking system: origin, tempo and mode. *J. Cell Sci.* **120**, 2977–2985 (2007).
159. Chong, R. A. & Moran, N. A. Evolutionary loss and replacement of *Buchnera*, the obligate endosymbiont of aphids. *ISME J.* **12**, 898–908 (2018).
160. Rochette, N. C., Brochier-Armanet, C. & Gouy, M. Phylogenomic test of the hypotheses for the evolutionary origin of eukaryotes. *Mol. Biol. Evol.* **31**, 832–845 (2014).
161. Ku, C. *et al.* Endosymbiotic origin and differential loss of eukaryotic genes. *Nature* **524**, 427–432 (2015).
162. Esser, C., Martin, W. & Dagan, T. The origin of mitochondria in light of a fluid prokaryotic chromosome model. *Biol. Lett.* **3**, 180–184 (2007).
163. Martin, W. F. Eukaryote lateral gene transfer is Lamarckian. *Nat. Ecol. Evol.* **2**, 754–754 (2018).
164. Martin, W. F. *et al.* Late Mitochondrial Origin Is an Artifact. *Genome Biol. Evol.* **9**, 373–379 (2017).
165. Roger, A. J. Reply to ‘Eukaryote lateral gene transfer is Lamarckian’. *Nat. Ecol. Evol.* **2**, 755–755 (2018).
166. Roger, A. J., Susko, E. & Leger, M. M. Evolution: Reconstructing the Timeline of Eukaryogenesis. *Curr. Biol.* **31**, R193–R196 (2021).
167. Raval, P. K., Sg, G. & Sb, G. Endosymbiotic selective pressure at the origin of eukaryotic cell biology. *eLife* **11**, (2022).
168. Romero, H. *et al.* Membrane fusion and fission during eukaryogenesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* **86**, 102321 (2024).
169. Ettema, T. J. G. Mitochondria in the second act. *Nature* **531**, 39–40 (2016).
170. Martin, W. A briefly argued case that mitochondria and plastids are descendants of endosymbionts, but that the nuclear compartment is not. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **266**, 1387–1395 (1999).
171. Dey, G., Thattai, M. & Baum, B. On the Archaeal Origins of Eukaryotes and the Challenges of Inferring Phenotype from Genotype. *Trends Cell Biol.* **26**, 476–485 (2016).

172. Knopp, M., Stockhorst, S., van der Giezen, M., Garg, S. G. & Gould, S. B. The Asgard Archaeal-Unique Contribution to Protein Families of the Eukaryotic Common Ancestor Was 0.3. *Genome Biol. Evol.* **13**, evab085 (2021).