

# Mitochondriální evoluce

## Jak dostat protein přes membránu

Eukaryotická buňka je poněkud komplikovaná. Její útroby protínají lipidické membrány vytvářející škálu tubic a váčků, které se různě spojují a oddělují. Říkáme jim organely a odehrávají se v nich specializované pochody – kupříkladu v jádře dochází k přepisu DNA do RNA nebo v Golgiho komplexu k syntéze nových lipidů.

Důvodů této *kompartmentace* může být řada:

- metabolické dráhy koncentrované do malého prostoru jsou výkonnější, neboť enzymy si mohou rychleji předávat substrát;
- na různých místech mohou probíhat částečně protichůdné reakce, aniž by se enzymy nadarmo trápily v jalovém cyklu;
- prostorové oddělení procesů udržuje časovou posloupnost některých dějů, a tak se RNA nejdříve v jádře sestříhne a pak teprve v cytoplasmě přeloží do proteinu.

Většina membránových útvarů v buňce pochází z endomembránového systému, který počíná jadernou membránou, obepíná endoplazmatické retikulum a postupně se diferencuje do všech možných váčků sekrečního systému buňky.

Pavel Doležal, Ph.D. (\*1975) pracuje na katedře Parazitologie PřF UK. Ve sklepní laboratoři ve Viničné 7 se svou skupinou zkoumá mechanismy transportu proteinů přes mitochondriální a bakteriální membrány. Tato výzkumná orientace je kombinací jeho vzdělání na University of Melbourne a Přírodovědecké fakulty UK, kde má studium mitochondriální evoluce velmi silné zázemí. (pavel.dolezal@yahoo.com)

Každá eukaryotická buňka má také mitochondrii (viz rovněž Vesmír 75, 553, 1996/10; 86, 179, 2007/3). Ta může tvořit obrovskou retikulární síť (obr. 1) roztaženou a propletenou po celé buňce (tak ji známe třeba z našich buněk), anebo vytváří miniaturní váčky, které nacházíme u některých jednobuněčných anaerobních organismů a které snadno přehlédneme i na elektronovém mikroskopu. Mitochondrie je vždy vymezena dvojitou membránou, která se dělí nezávisle na okolních organelách. Uvnitř se kromě proteinů nachází také DNA, která tvoří malý mitochondriální genom a exprimuje se do několika málo proteinů a molekul RNA (mitochondrie našich buněk mají celkem 37 genů, 13 z nich kóduje proteiny).

### Původ mitochondrie

Asi před dvěma miliardami let se spojily osudy dvou buněk. Vznikl endosymbiotický vztah, který trvá dodnes. Během milionů let se host svému hostiteli podvolil, z větší části obětoval svou nezávislost a stal se pouhou organelou. Zatím neznáme podobu hostitelské buňky, avšak nedávné objevy vystopovaly příbuznost pohlceného endosymbionta s dosud živými alfaproteobakteriemi, které ne náhodou sdružují celou řadu nitrobuněčných bakterií (např. *Rickettsia*).

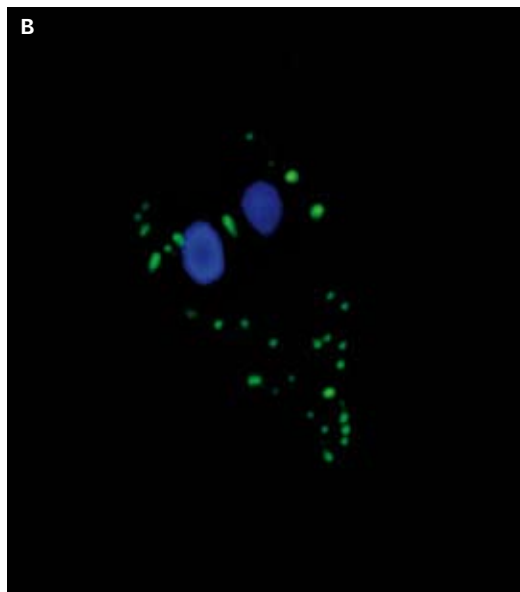
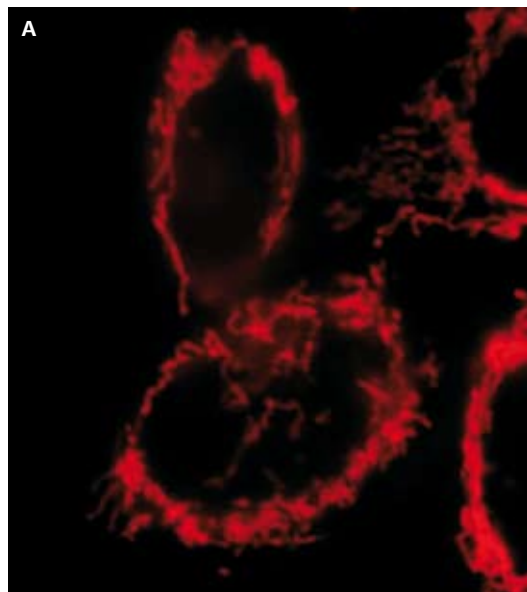
Alfaproteobakterie jsou stejně jako mitochondrie ohraničeny dvěma membránami. Mitochondrie s nimi navíc spojuje sekvenční podobnost genů kódovaných mitochondriál-

**PAVEL  
DOLEŽAL**

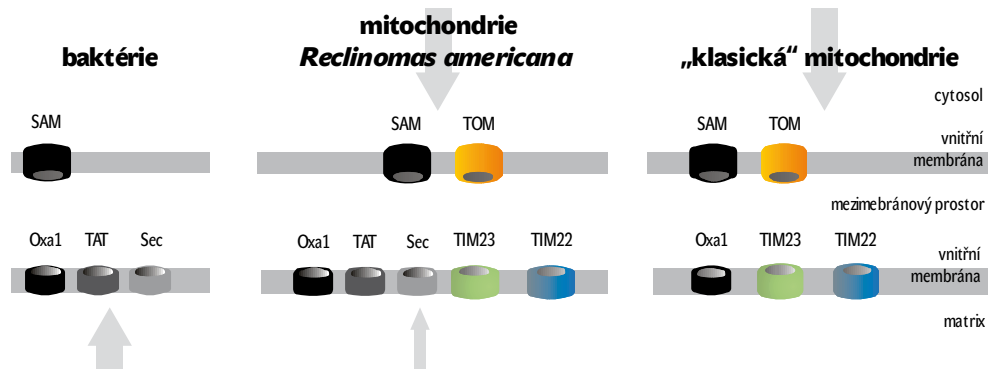
**1. Morfologie mitochondrií. Přestože všechny mitochondrie jsou potomky jedné endosymbiotické bakterie, v průběhu evoluce se organela dramaticky adaptovala podle potřeb organismu. Zatímco metazoa přeměnila mitochondrii na dynamickou retikulární síť (A), některá anaerobní jednobuněčná eukaryota dnes využívají služeb jednoduchých, avšak stále dvoumembránových váčků (B), které dokonce ztratily i poslední zbytky mitochondriálního genomu.**

**A) HeLa buňky s mitochondriální sítí obarvenou červeně pomocí fluorescenční sondy Mito Tracker Red, která se specificky hromadí v místech s velkým membránovým potenciálem.**

**B) Mitozomy (zeleně) – minimalistické mitochondrie v buňce *Giardia intestinalis*, jednobuněčného eukaryotického střevního parazita obratlovců včetně člověka. Mitozomy byly detekovány pomocí specifické protilátky proti mitochondriálnímu proteinu IscU. Modře jsou obarvena dvě jádra jedné buňky *G. intestinalis*.**



2. Z bakterie je organela. Změna směru transportu proteinů přes mitochondriální membránu si vyžádala inventuru membránových translokáz. Uprostřed je schematicky znázorněna mitochondrie *Reclinomonas americana*, která má jak prokaryotické, tak eukaryotické rysy. Šipky znázorňují směr (a velikost) transportu proteinů.



ní DNA, ale i genů pro některé mitochondriální proteiny, které jsou kódovány v jaderné DNA. Roli korunního svědka v případě původu mitochondrie sehrál jednobuněčný bičíkovec *Reclinomonas americana*, který plave v kdejaké louži. Jeho mitochondriální genom je dosud největší, jaký známe. Má téměř 100 genů, které jsou sekvenčně podobné těm bakteriálním a zároveň jsou na mitochondriální DNA seřazeny ve stejném pořadí jako na bakteriálním chromozomu.

Kam se ale poděly stovky a možná tisíce genů, které si s sebou přinesla první endosymbiotická alfa-proteobakterie? Některé se podle všeho ztratily během přeměny endosymbionta na organelu a některé se přestěhovaly do jádra hostitele. Zde jsou pod dohledem hostitelova transkripčního aparátu, který tak snáze kontroluje jejich expresi. S velkým stěhováním genů do jádra však vyvstává významný problém, který musela eukaryotická buňka záhy vyřešit. Jak dostat zpátky do mitochondrie potřebné proteiny, které jsou teď kódovány v jádře a překládány na volných ribozomech v cytoplazmě?

### Transport proteinů přes membrány

Obecně využívají živé organismy k transportu proteinů (opomeneme-li membránovou fúzi) „díry a motoru“. To znamená, že pasivní proteinový pór v membráně spolupracuje s molekulárním chaperonem (Vesmír 77, 15, 1998/1), který opakovanou vazbou na přenášený substrát pohání celý transport. K tomu, aby byl protein nasměrován ke správné membráně, vyvinuly živé organismy systém molekulárních adres. Jsou to proteinové sekvence s určitým pořadím aminokyselin, jež jsou součástí přenášených proteinů. Rozpoznávají je specifické receptory zakotvené v sousedství póru. Protože jsou póry příliš úzké, putují proteiny přes membrány jako rozložené polypeptidy, a tak mohou být jejich adresy snadno rozpoznány.

Přenášet proteiny přes membrány dokážou i všechna prokaryota (obr. 2). Sekretují do okolního prostředí nebo zabudovávají do své vnější membrány nejrůznější efektorové molekuly. Nejdůležitějším kanálem ve vnitřní bakteriální membráně je SecY translokáza, která v trochu pozměněné podobě pracuje na plně obrátky také v membráně našeho endoplazmatického retikula (protein Sec61). Další bakteriální translokáza YidC pomáhá SecY při vkládání komplikovaných proteinů do vnitřní membrány. Šnád nejzáhadnější je zatím translokáza TAT, která je schopná, byť pomalu, přenášet

přes membránu již sbalené proteiny a proteinové komplexy. Způsob transportu systémem TAT je dosud nejasný, ale stojí v popředí zájmu biotechnologických oborů, neboť by umožnil obejít obtížné postupy pro izolaci rekombinantních proteinových komplexů.

### Cesta tam a zase zpátky

Všechny tyto tři translokázy byly přítomny také v membráně první mitochondrie (obr. 2). Ta tedy mohla vesele uvolňovat své proteiny do cytosolu hostitele. Mohly ale také pomocí těchto kanálů vstupovat proteiny zpět do mitochondrie? Translokázy TAT a YidC toho nejsou konstrukčně schopné. Řada dílčích prací však ukazuje možnou účast proteinu Sec61 na exportu proteinu z endoplazmatického retikula. Zda jedna a ta samá molekula kanálu přenáší proteiny oběma směry, nebo jde o dvě oddělené populace, či zda se dokonce Sec61 tohoto procesu účastní jen jako podjednotka vlastního kanálu, není dosud známo.

Ať už byl ale SecY schopen po určitou dobu importu proteinů do mitochondrie nebo ne, jisté je, že to netrvalo dlouho. Pouze jediný organismus má stále ve svých mitochondriích gen pro SecY. Je jím právě *Reclinomonas americana*, který si kromě SecY ve svém mitochondriálním genomu ponechal i komponenty TAT a YidC. Studium této jedinečné mitochondrie však ukazuje spíše na unikátní případ zpomalené mitochondriální evoluce nežli na funkční adaptaci translokázy. V mitochondriích tohoto prvoka jsou zároveň přítomny komplexy TIM, TOM a SAM, které dnes fungují u všech eukaryot jako univerzální mitochondriální translokázy. Jejich přítomnost u všech eukaryotických linií napovídá, že byly vytvořeny záhy po vzniku mitochondrie. Kde se ale vzaly?

### Mitochondriální translokázy

Nejdříve krátce k jejich funkci, jak ji známe z kvasinkových nebo savčích mitochondrií (obr. 3). Adresové sekvence mitochondriálních proteinů rozeznávají receptory Tom20 (rozpuštěné proteiny) nebo Tom70 (membránové proteiny) na vnější mitochondriální membráně. Receptory spolu s dalšími proteiny tvoří komplex TOM (translocase of the outer membrane), který je vystaven kolem centrálního kanálu Tom40. Tom40 je vzdáleně příbuzný bakteriálním porinům, které přenášejí celou řadu metabolitů přes vnější bakteriální membránu. Poriny i Tom40 mají velice kompaktní soudkovitý tvar, a jsou proto ideální jako nezávislé transportní jednotky. Všechny

**Abstract: Mitochondrial evolution by Pavel Doležal.** Mitochondrion has played crucial role in the evolution of the eukaryotic cell. Some two billion years ago this organelle, which now produces most of the cellular ATP and mediates programmed cell death, used to be a free-living gram-negative bacterium. The early endosymbiotic relationship was followed by the transfer of bacterial genetic information into the host cell nucleus and resulted in the enslavement of the endosymbiont. Hence mitochondrial proteins are translated on free cytosolic ribosomes and transported into the organelle. To this aim eukaryotic cell installed new translocases in the mitochondrial membranes. Origin of these multimeric complexes nicely illustrates mechanisms of molecular evolution. This review summarizes several aspects of the mitochondrial evolution and our current ideas on the origin of mitochondrial translocases.

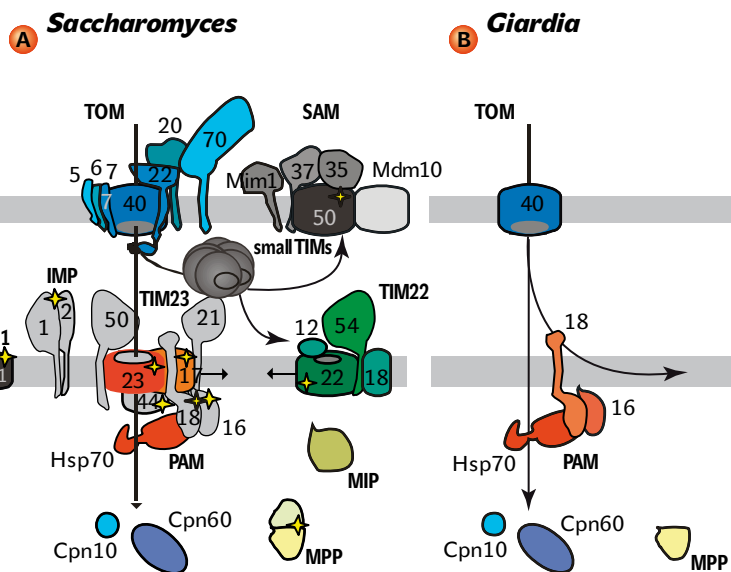
ny mitochondriální proteiny, ať už směřují do mitochondriální matrix nebo do vnější membrány, musejí projít skrze Tom40. Poté si je rozeberou importní dráhy specificky vyladěné na jednotlivé mitochondriální subkompartmenty. Jakmile hydrofobní proteiny vnější a vnitřní membrány vstoupí do vodného prostředí mezimembránového prostoru mitochondrie, riskují, že skončí jako proteinové sraženiny. Proto je záhy obalí malé Tim proteiny a drží se jich až do kontaktu s membránou.

Proteiny vnitřní membrány rozeznává komplex TIM22 (translocase of the inner membrane), zatímco rozpustné proteiny mitochondriální matrix odlišný komplex TIM23. Import proteinů do vnitřní membrány vyžaduje přítomnost mebránového potenciálu, který vzniká během dýchání mitochondrie. Proteiny mitochondriální matrix navíc potřebují ATP, aby mohl pracovat chaperon Hsp70, který proteiny vtahuje dovnitř. Tento volně rozpustný protein musí být v blízkosti translokačního kanálu. To zajišťuje skupina proteinů vytvářejících PAM (presequence translocase associated motor), jehož úkolem je zakotvit Hsp70 k membráně a stimulovat jeho aktivitu.

Protože ani jeden z těchto komplexů se u bakterií nevyskytuje, mělo se dlouhou dobu za to, že nám opět chybí „evoluční článek“. V posledních několika letech se však ukázalo, že pro řadu podjednotek importních komplexů můžeme nalézt alespoň částečné bakteriální homology (obr. 3).

Některé bakteriální proteiny se během mitochondriální evoluce dostaly do nových komplexů (např. bakteriální komplex BAM se změnil na mitochondriální SAM), jiné prošly „molekulárním roubováním“, kdy se jejich funkční domény pospojovaly s jinými doménami a vytvořily proteiny zcela nové (např. bakteriální TimB byl pozměněn na mitochondriální Pam18). Výsledkem jsou naprosto unikátní membránové komplexy, které pracují jako izolované funkční moduly.

Srovnávací evoluční studie ukazují, že klíčové složky komplexů SAM, TOM, TIM



**3. Evoluce importu proteinů do mitochondrie. A.** Znárodně jsou podjednotky jednotlivých komplexů vnější a vnitřní mitochondriální membrány, tak jak byly popsány zejména v buňkách *Saccharomyces cerevisiae*. Žluté hvězdičky ukazují na proteiny, které mají sekvenční homology v prokaryotické říši. Některé z nich se účastní zcela jiných buněčných procesů a byly „poupraveny“ pro jinou funkci. **B.** Pro srovnání jsou znázorněny podjednotky importních drah u *G. intestinalis*, jejichž mitozomy představují v současnosti jedny z nejpřimitivnějších mitochondrií. Současný stav této organely odráží dlouhou nezávislou evoluci eukaryotické linie, kam *G. intestinalis* patří, i její adaptaci na parazitický život bez kyslíku.

a PAM jsou společné pro všechny skupiny eukaryotických organismů. Ty si ale nezávisle vytvořily řadu dalších podjednotek, které umožnily „vyladění“ mitochondriálního importu pro své specifické proteiny.

Přestože import proteinů do mitochondrií patří mezi nejlépe prostudované transportní systémy, dosud neznáme mechanismus importu pro řadu funkčně nesmírně důležitých proteinů. Mezi ně patří zejména regulátory programované buněčné smrti ze skupiny Bcl-2, které se na daný podnět doslova zapichují do vnější mitochondriální membrány. Navíc existují pozorování vezikulárního transportu mezi mitochondriemi a dalšími organelami. Ale o tom až někdy příště.

INZERCE

**RÁDIO NA VLNĚ POHODY**  
MARIE ROTTROVÁ VÁS ZVE K POSLECHU ČESKÉHO ROZHLASU 2 – PRAHA

WWW.ROZHLAS.CZ/PRAHA

VKV (FM) – ÚDAJE V MHz: BRNO 92.6 FM, ČESKÉ BUDĚJOVICE 103.7 FM, HODONÍN 107.8 FM, CHOMUTOV 94.2 FM, JESENÍK 88.7 FM, JIČÍN 106.9 FM, JIHLAVA 107.1 FM, KLATOVY 90.3 FM, KUTNÁ HORA 102.2 FM, LIBEREC 89.9 FM, NOVÉ HRADY 102.2 FM, OLOMOUČ 107.2 FM, OPAVA 101.7 FM, OSTRAVA 101.9 FM, PARDUBICE 100.1 FM, PÍSEK 98.9 FM, PLZEN 101.7 FM, PRAHA 100.7 A 91.2 FM, SLAVONICE 103.3 FM, TŘINEC 107.8 FM, ÚSTÍ NAD LABEM 98.6 FM, VALAŠSKÉ MEZIRÍČÍ 89.9 FM, VOTICE 103.2 FM, VRBNO POD PRADEDEM 103.6 FM, VSETÍN 102.9 FM, ZLÍN 107.7 FM, ZNOJMO 89.6 FM

SV (AM) – ÚDAJE V kHz: ČESKÉ BUDĚJOVICE 954 AM, DOBROCHOV 954 AM, KARLOVY VARY 954 AM, LIBLICE 639 AM, MORAVSKÉ BUDĚJOVICE 1332 AM, OSTRAVA 639 AM