

Spor o mitochondrie

Měli je už nejstarší eukaryonti?

JIŘÍ LOM

Klasifikace nejjednodušších eukaryotických organizmů, protistů, byla založena až do poloviny osmdesátých let převážně na morfologii, zejména na srovnávacím studiu stavby buněk a jejich složek. Stejně na tom bylo i odhalování jejich fylogenetických vztahů a spekulace o stáří jednotlivých skupin, posuzovaném podle stupně složitosti buněčné organizace. Přitom bylo nutné překonávat mnoho těžkostí, a tak se určování fylogenetické původnosti a pokročilosti stále podobalo chůzi v mlze, z níž jen tu a tam vystrkávaly ostrůvky určitých tvarů.

Fascinující možnosti nabídl srovnávání sekvencí malých podjednotek ribozomální RNA (SSU rRNA), těchto „jedinečných fylogenetických hodin“ (C. R. Woese), které umožňovalo zjistit vzájemné fylogenetické postavení jednotlivých skupin protistů, a bylo proto uvítáno s obrovským zájmem (viz též Z. Storchová, Vesmír 76, 612, 1997/11). Překvapivá zjištění na sebe nedala dlouho čekat. Práce týmů M. L. Sogina a C. R. Vossbrincka v USA ukázaly, že podle

sekvencí podjednotek rRNA se jako první z vývojové linie eukaryontů odvětvily tři skupiny protistů: bičíkovci metamonády zastoupení známým rodem *Giardia*, nitrobuněční paraziti mikrosporidie (první byla osekvenována *Vairimorpha*) a bičíkovci skupiny Parabasalia (*Trichomonas*).

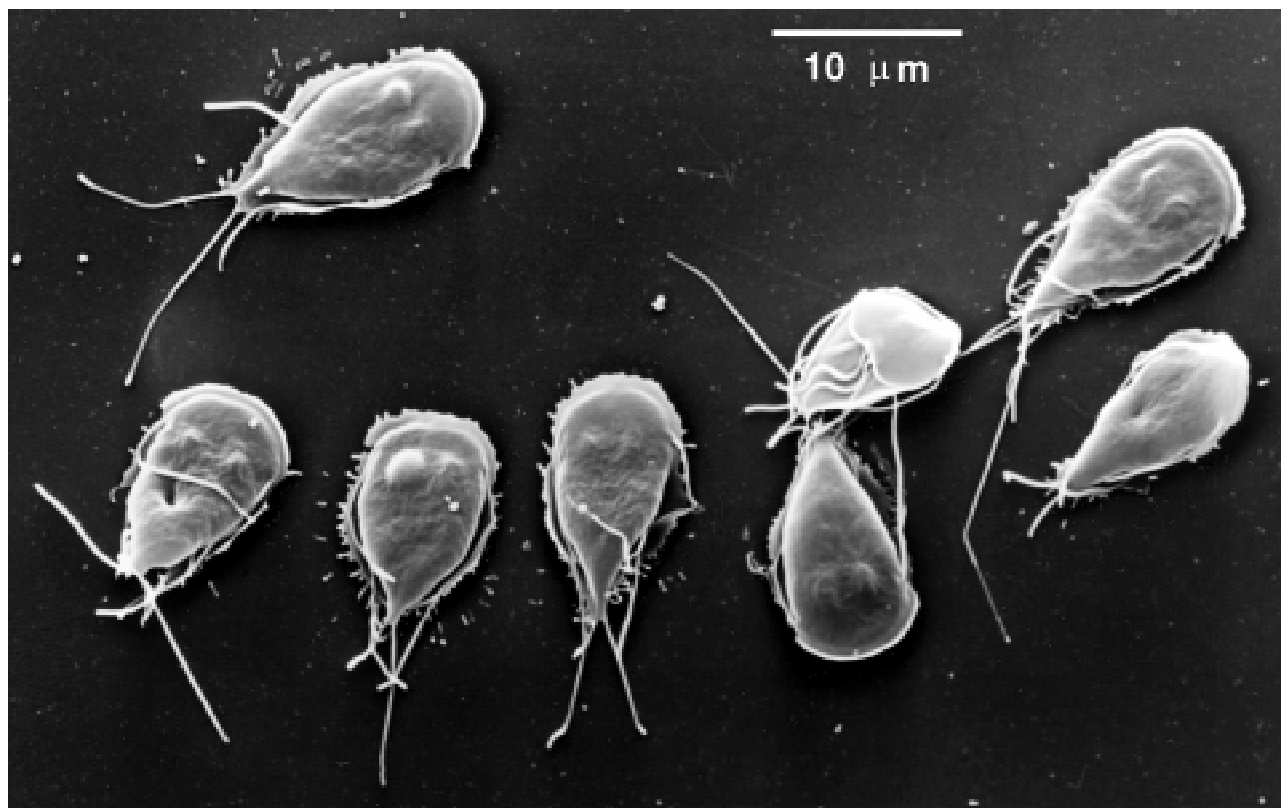
Tři skupiny protistů

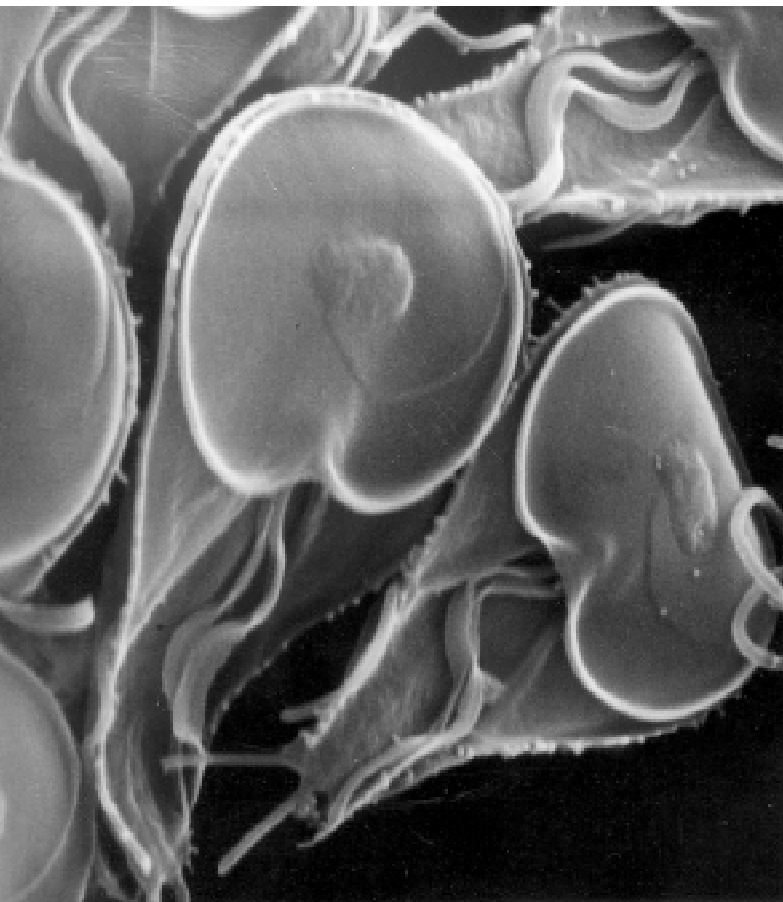
Stručně tyto organizmy představme: *Giardia intestinalis* (obr. 1 a 2), běžný střevní parazit člověka, který může ve střevě vyvolat zánět, patří k nejvyvinutějším zástupcům metamonád z řádu Diplomonadida, kteří představují dvojice natrvalo splynuvších jedinců s celkem osmi bičíky. Mikrosporidie (obr. 3 a 5) jsou známy jako cizopasnici téměř všech skupin živočichů, zejména jako patogeni u hmyzu a ryb. V poslední době na sebe soustředili pozornost jako paraziti člověka u pacientů trpících aidssem. Mají spory s jedinečným zařízením, vystřelovacím aparátem, jímž vstříkují infekční zárodek, sporoplazmu, jakoby injekční jehlou pod velkým tlakem do nového hostitele (podrobněji viz Vesmír 72, 578, 1993/10). *Trichomonas* (obr. 6 a 7), nejznámější rod parabazálií, zahrnuje parazitické bičíkovce převážně ze zažívacího traktu různých živočichů včetně člověka (např. *T. vaginalis* v urogenitálním traktu), má několik funkčně specializovaných bičíků, undulující membránu (lat. *unda* – vlna, *undare* – vlnit) a složitý mikrotubulární cytoskelet.

Všechny tři skupiny postrádají mitochondrie – organely obsahující zejména oxidační enzymy a plnicí

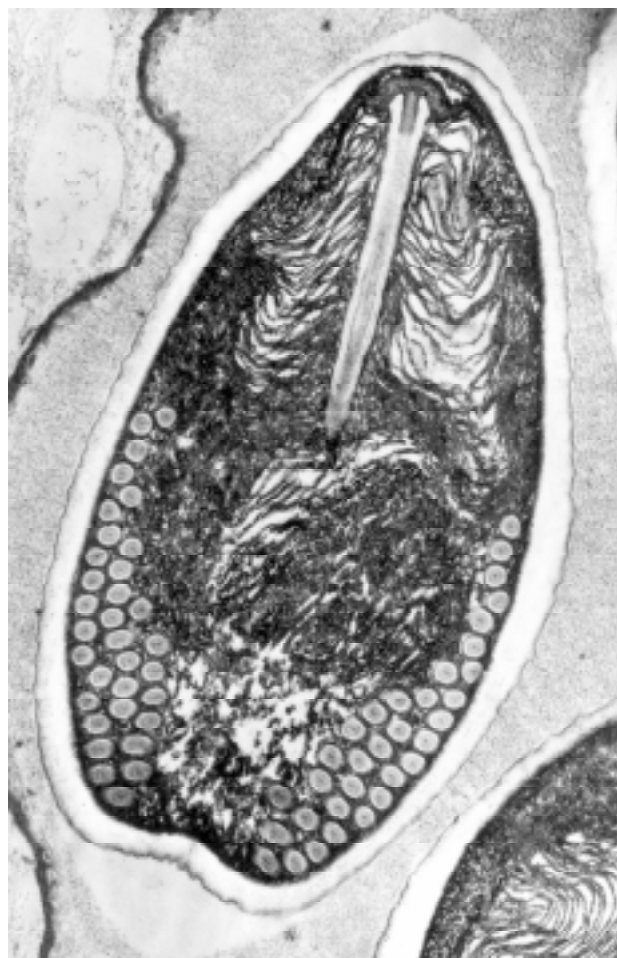
RNDr. Jiří Lom, DrSc., (*1931) vystudoval Biologickou fakultu UK v Praze. V Parazitologickém ústavu AV ČR v Českých Budějovicích se zabývá výzkumem cizopasných prvoků. (e-mail: lom@paru.cas.cz)

1. Skupina bičíkovců druhu *Giardia intestinalis* v řádkovacím elektronovém mikroskopu; až na jednoho jedince jsou všichni obráceni přísavným diskem dolů. Zvětšeno 2400krát. Tento dnes velmi populární prvok – je také v logu série mezinárodních protozoologických kongresů – byl objeven českým lékařem Dušanem Lambem r. 1859. Snímek © B. Koudela





2. Přísavný disk *G. intestinalis* je ovládán velmi složitým systémem cytoskeletálních prvků. Účinnému přichycení k sliznici střeva pomáhá pohyb ventrálních bičíků, které vystupují zpoza disku. Zvětšeno 12 200krát. Snímek řádkovacím mikroskopem © K. Vickermann



roli jakési buněčné „elektrárny“. To se pěkně shodovalo s představou velmi dávných forem, pocházejících ještě z doby před symbiotickým vznikem mitochondrií. Možnost druhotné ztráty mitochondrií se odsouvala do pozadí. Trochu ale udivovalo, že všechny tři „rané“ skupiny jsou už vysoce uzpůsobené k parazitizmu (mikrosporidie dokonce k výhradně nitrobuněčnému) a že žijí v hostitelích, kteří vznikli nerosvratelně později než jejich paraziti. To se dalo vysvětlit tak, že dávní amitochondriální a ještě volně žijící eukaryonti se zachraňovali před stoupající hladinou kyslíku v prostředí tím, že se uchýlili do bezkyslíkatých prostředí uvnitř hostitele. Adaptace jejich potomků k parazitizmu by pak vysvětlila jejich nyní velice pokročilou stavbu těla, jako je složitý cytoskelet metamonád i parabazálií nebo velmi důmyslné „injekční“ zařízení mikrosporidií.

Tyto tři skupiny, údajně potomky premitochondriálních eukaryont, zařadil už r. 1983 T. Cavalier-Smith jako kmeny do říše Archezoa, kterou nově ustavil. K nim přidal ještě problematicky různorodou skupinu Archamoebae (ve složeninách s první částí pocházející z ř. *archaios* – starý se mu zalíbilo). Do ní zařadil rody měňavkovitých organismů, které nemají mitochondrie, jako je velká, mnohoaderná, volně žijící měňavka *Pelomyxa* nebo střevní parazit zvířat i člověka *Entamoeba*. Některé další charakteristiky také svědčí o tom, že uvedené tři skupiny se oddělily od hlavní linie vedoucí k vyšším eukaryotům už v rané fázi eukaryotické evoluce (z toho mikrosporidie jako první). Mikrosporidie mají nadto některé vlastnosti, jimiž se podobají prokaryotům – ribozomy s charakteristikou 70 S (nejsou však samy – mj. je mají i Parabasalia – např. *Trichomonas*) a nejméně známé genomy, většinou pod 20 megabází, v některých případech dokonce menší než u bakterií. Mikrosporidie druhu *Encephalitozoon cuniculi*, cizopasník savců, má genom o méně než 2,9 megabáze.

Kmen Parabasalia (*Trichomonas*) však v říši Archezoa dlouho nepobyl. U Archezoí sice chybějí typické mitochondrie, ale zato mají orgány s jednoduchou či dvojitou membránou (známé už od sedmdesátých let a zřejmě postrádající vlastní genom), hydrogenozomy. Jsou vybaveny oxidačními enzymy spojenými s produkcí ATP, nikoliv sice oxidativní fosforylací, ale konverzí pyruvátu či malátu na acetylát, CO₂ a plynný vodík (odtud jejich jméno). Bylo předmětem dlouhých diskusí, zda jsou to přeměněné mitochondrie, nebo zda mají původ v endosymbiontech či snad v diferenciaci endomembránových systémů. Nejsou přítomny jen u parabazálií, ale i u některých nálevníků a měňavkovitých a houbových organismů. Nevstupují u nich nikdy spolu s mitochondriemi – např. ti nálevníci, kteří mají hydrogenozomy, nemají mitochondrie. To mluvilo spíše pro původ z přeměněných mitochondrií, a proto je Cavalier-Smith r. 1987 přeřadil do říše protozoí.

Rodokmen eukaryotických organismů

S postupem času byly poznány sekvence podjednotek ribozomální rRNA u několika set eukaryotických organismů, takže bylo možno sestavit podle nich jakýsi jejich rodokmen. Tento hypotetický strom je tvořen třemi doménami: základní, kam patří ony tři

3. Elektronoptický snímek podélného řezu sporou mikrosporidie druhu *Pleistophora hypnessobryconis* ze svaloviny akvarijních ryb. Uvnitř pevné stěny chitinové a bílkovinné povahy zaujímá hlavní místo vystřelovací aparát. Jeho hlavní část, pólová trubice, je ukotvena zvláštní strukturou pod předním koncem spory. Odtud probíhá membránami polaroplastu vzad, kde je spirálovitě ve třech vrstvách stocena podél stěny spory kolem vlastního zárodku, sporoplazmy, a prostoru zadní vakuoly. Zvětšeno 5700krát. Snímek © Jiří Lom

nad ní mají už bičíky a bazální tělíska, a u parabazálií se už objevuje Golgiho aparát. Skutečné mitochondrie a chloroplasty jako výsledek endosymbiózy s prokaryotickými organizmy se objevují teprve u protistů na úrovni „kmenu“.

Ještě nežli uvedené představy o skupině archeozoi jako prapůvodních eukaryontech vešly v širší známost a začaly pronikat do učebnic, ukázalo srovnání sekvencí podjednotky SSU rRNA, že zástupci archaméb, *Entamoeba* a *Pelomyxa*, se odvíjejí od hlavní linie až spolu s eukaryonty vybavenými mitochondriemi. Asi tedy mitochondrie mohly mít a pak je ztratit podobně jako pravděpodobně parabazálie. Ještě průkaznější byl pozdější nález dvou mitochondriálních genů kódujících bílkoviny v genomu entamoeb (pyridin-nukleotid transhydrogenázy a chaperoninu cpn60), kam se dostaly přenosem z genomu původního symbionta. To byl první test pravdy pro říši Archezoa, ve kterém její původnost neobstála.

Pozůstatky mitochondrií byly pak nalezeny i u metamonád. Je nutné říci, že vše, co přispívá k poznání fylogeneze této skupiny, bylo objeveno u rodu *Giardia*. V loňském roce podaný průkaz chaperoninového genu 60, podobného mitochondriálním genům, silně svědčí také o někdejší existenci endosymbiontů, patrně předků mitochondrií, v buňce metamonád.

Mají mikrosporidie společné předky s houbami?

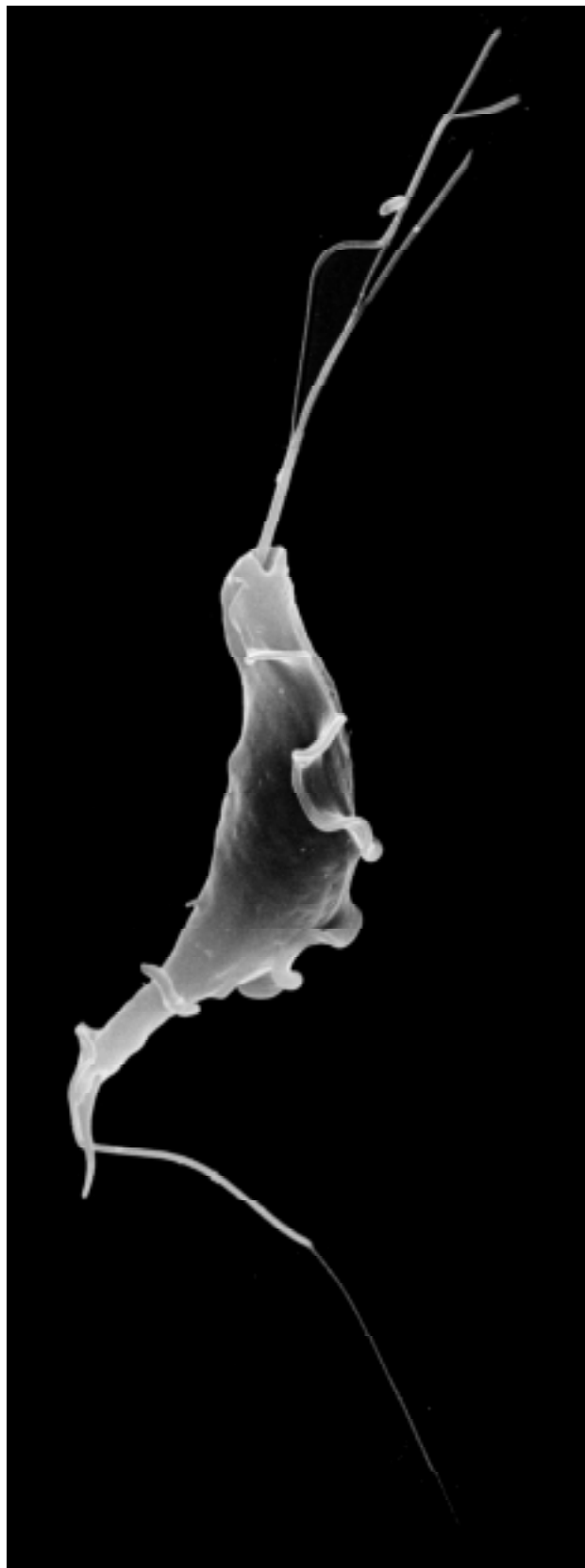
Zvláště silně je novými nálezy ovlivněno postavení mikrosporidií. Konečně je možno mít za prokázané, že struktury dlouho pokládané za „primitivní“ Golgiho aparát jím skutečně jsou, i s diferenciací podobnou té u vyšších eukaryontů. To není nic zvláštního vzhledem k překvapivým zjištěním, která naznačují, že se mikrosporidie mohly vyvinout z „terminální koruny“ eukaryontů a patrně sdílejí společné předky s houbami. Geny bílkovin elongačního faktoru mají totiž vloženou sekvenci, která je společná mikrosporidiím, živočichům a houbám a některé enzymy (dihydrofolátreduktáza a thymidylátsyntáza) mají u těchto tří skupin strukturu odlišnou od ostatních eukaryontů. Ještě důležitější je nález mitochondriálních chaperoninových genů cpn70 v genomech mikrosporidií rodů *Nosema* a *Vairimorpha*.

5. Šikmý elektronoptický řez dvěma sporami druhu *Microsporidium* sp. ze svaloviny ryby *Pangasius sutchi*. Ačkoliv spory všech mikrosporidií jsou stavěny podle stejného plánu, v jednotlivostech mohou být rozdíly – tento druh má např. velmi slabě vyvinutý poloplast. V cytoplazmě sporoplazmy jsou husté pásy ribozomů. Zvětšeno 1950krát. Snímek © Jiří Lom



4. Rodokmen organizmů podle Bardeleho

amitochondriální skupiny a z níž jako z kořenů vyrůstá „kmen“ tvořený skupinou bičíkovců Euglenozoa (kam patří známé volně žijící krásnoočko, *Euglena gracilis*, ale také cizopasně trypanozomy, včetně původců spavé nemoci) i nejrůznější měňavkovité organizmy. Třetí je velmi široká „terminální koruna“, která zahrnuje ohromnou škálu protistů a také tři říše mnohobuněčných – rostliny, živočichy a houby. Tomu odpovídaly názory na to, v jaké posloupnosti se u protistů objevovaly buněčné orgány. Mikrosporidie v základní doméně mají jen endoplazmatické retikulum, archaméby a metamonády o něco výše



6. Snímek trichomonády druhu *Trichomonas gallinae* v rádkovacím elektronovém mikroskopu. Čtyři bičíky jsou namířeny vpřed, další se táhne jako undulující membrána po povrchu těla k zadnímu konci, který přesahuje jako volný bičík. Zvětšeno 5900krát. Snímek © B. Koudela

Pro příbuznost mikrosporidií s houbami zprvu mluvily jen podobnosti neobvyklého průběhu meiotického cyklu mikrosporidií a některých hub, ale nyní je tato domněnka posílena fylogenezí bílkovin α a β tubulinu, jimiž se mikrosporidie řadí do fylogenetické radiace hub. Další podporou je, že ve fylogenetických

rodokmenech se sekvence genů *cpn70* větví, i když slabě, spolu se sekvencemi mitochondriálních genů hub rodu *Boveria*. Mikrosporidie tedy s velkou pravděpodobností nejsou potomci prastarých nebo primitivních eukaryontů, ve velké míře pozměněných adaptacemi k parazitizmu, ale naopak vzešly z organizmů značně pokročilých.

Dvě základní charakteristiky archezoí, jejich primitivnost, místo na samém počátku vývoje a s tím spojená původní nepřítomnost mitochondrií, byly tedy zpochybněny. Ukazuje se, že i dva základní sloupy archezoí, metamonády a mikrosporidie, pokročily hodný kus cesty od uskutečnění mitochondriální symbiózy, ke které došlo daleko dříve než k jejich vzniku a patrně také dříve než k vzniku všech dnes známých eukaryont. Další existence zvláštní říše Archezoa je tedy neudržitelná.

Proč se mikrosporidie odvětvují na bázi eukaryont, jestliže vznikly z „terminální koruny“?

Molekulární biologové na to mají různé odpovědi. Vysoce divergentní sekvence SSU rRNA se mohou umístit ve fylogenetických stromech na nesprávném místě, a v genech mikrosporidií je skutečně podíl substitucí výjimečně vysoký. Takové geny se někdy druží přednostně s jinými vysocí divergentními substitucemi, a to u fylogenetického stromu znamená velmi časně větvení. Dále, rodokmeny založené na podjednotkách ribozomální RNA jsou navzájem těžko slučitelné s těmi, které jsou založeny na genech kódujících bílkoviny, jako např. α a β tubulin. Řadu

7. Hydrogenozomy trichomonády druhu *Trichomonas foetus*, „anaerobní mitochondrie“, se mitochondriím vůbec nepodobají. Nad nimi probíhá *kosta* – část cytoskeletu s periodickou strukturou – která se táhne pod undulující membránou. Ta je vidět vlevo nahoře, je tvořena záhybem membrány povrchu těla, který nese bičík. Prozařovací elektronový mikroskop, zvětšeno 57 600krát. Snímek © J. Kulda



dalších léček uvádějí ve svých pracích A. Adoutte a H. Philippe. Podtrhují, že molekulární fylogeneze zpřesnila charakteristiku monofyletických skupin protistů, identifikovaných elektronovou mikroskopií, ale potýká se s podobnými potížemi jako elektronová mikroskopie, pokud chce přesně určit, v jakém pořadí skupiny vznikaly. To je způsobeno také tím, že soudobé formy patrně vznikly bouřlivým šířením (radiací) během relativně krátkého časového údobí.

Základem této radiace byla snad událost mitochondriální symbiózy, ke které došlo patrně jen jedenkrát před miliardou let, když koncentrace kyslíku v atmosféře dosáhla zhruba dnešní hodnoty. Z tohoto předka pocházejí snad všichni existující protisti. S tím je spojena otázka vztahu mitochondrií a hydrogenozomů a příbuznosti protistů vybavených mitochondriemi s těmi, kteří je nemají, čili problém, který stál u zrodu archeozí. Novou hypotézou se na to r. 1998 pokusili odpovědět W. Martin a M. Müller. Podle obecně přijímané endosymbiotické teorie Lynn Margulisové dávná fagocytující archebakterie pohltila aerobní bakterii, patrně α -proteobakterii, ale nestrávila ji, podržela si ji jako symbionta. Ten dýchal, poskytoval ATP výměnou za metabolizovatelné substráty a úkryt, jeho geny byly z valné části pře-

neseny do genomu archebakterie, a tak se vyvinula mitochondrie. Martin a Müller naopak předpokládají, že autotrofní metanogenní archebakterie pohltila fermentující α -proteobakterii. Vyvinul se podobný vztah vzájemné závislosti, a zároveň přeměna hostitelské archebakterie z autotrofní na heterotrofní. Posléze se symbiont přeměnil v hydrogenozom, nebo, za podmínek globálního vzestupu hladiny atmosférického kyslíku a díky své dřívější metabolické rozrůzněnosti se vyvinul v mitochondrii, anebo se z buňky hostitele ztratil. Autoři nedávají tyto pochody do souvislosti se vznikem cytoskeletálních a endomembránových systémů, ale trvají na tom, že obě orgány, mitochondrie i hydrogenozom, měly společného předka. Jako každá teorie bude i tato prověřována dalším výzkumem, ale zatím – podle názoru obou autorů – lépe vysvětluje energetický metabolismus eukaryotických buněk bez mitochondrií. □

LITERATURA

- P. J. Keeling: A kingdom's progress: Archezoa and the origin of eukaryotes, *BioEssays* 20, 87–95, 1998
W. Martin a M. Müller: The hydrogen hypothesis for the first eukaryote, *Nature* 392, 37–41, 1998
H. Philippe a A. Adoutte (1996): How far can we trust the molecular phylogeny of protists? *Ver. Deutsch. Zool. Ges.* 89, 49–62, 1996/2

Bude počítač reprodukovat vůně?

PETR VYSOKÝ

Virtuální realita, tedy počítačové modely určitých segmentů reálného světa, které mají dávat pokud možno věrnou iluzi světa reálného, zatím z našich smyslů využívá jen tři. Opírá se zejména o vizuální vnímání, které je doplněno akustickými a taktilními (hmatovými) informacemi. Čich a chuť se zatím elektronicky přenáší a zaznamenávat nedaly. Že tomu v dohledné době může být jinak, ukazují výsledky prací v Pacifické severozápadní národní laboratoři v Richlandu ve státě Washington.

P. Keller se spolupracovníky zkonstruoval prototyp elektronického „nosu“, který může zjišťovat řadu vůní a zápachů, informací o nich uložit v elektronické formě na záznamové médium či přenést na dálku a opět rekonstruovat. Páry látek, které jsou za výrazné vůně odpovědné, lze analyzovat chromatografickými metodami (viz též *Vesmír* 77, 593, 1998/10). Navrhované zařízení má ale pracovat v reálném čase, to znamená, že musí mít velmi rychlou odezvu, aby výskyt příslušné aromatické látky v daném místě zjistilo téměř okamžitě. Chromatografické metody jsou ale metody sekvenční a bylo by obtížné s nimi pracovat v reálném čase.

Navrhované zařízení proto využívá snímače na bázi tenkých vrstev oxidů cínů, které svoji vodivost mění při kontaktu s různými aromatickými látkami. Snímač může být navržen tak, že má maximální citlivost právě pro danou látku. Vodivost snímače závisí pochopitelně na dalších veličinách, zejména na teplotě a vlhkosti.

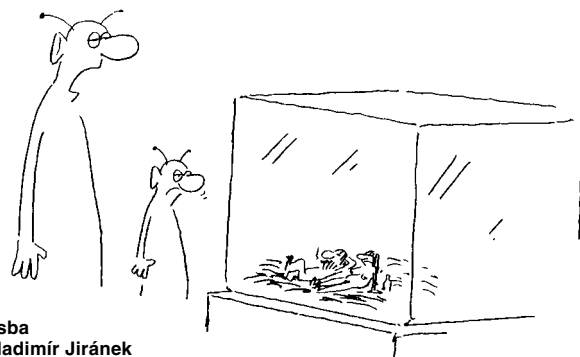
Samotný elektronický „nos“ se skládá z matice těchto snímačů (v předváděném prototypu jich bylo jen devět), snímače teploty a snímače vlhkosti. Každý snímač má maximální citlivost pro jinou aromatickou látku. Výstupní signály ze snímačů jsou vedeny na několika vrstvou neuronovou síť. Výstupy této sítě odpovídají třídám, do nichž lze jednotlivé vůně zařadit. Síť se nyní učí pod dohledem zkušeného operátora rozpoznávat jednotlivé vůně. Vstupní snímače jsou vystaveny parám příslušné látky a operátor rozhodne, do které třídy má síť vůni zařadit. Po několika desítkách či stovkách takových experimentů se to síť naučí rozlišovat. Je zřejmé, že nejde o objektivní chemickou analýzu, ale síť se naučí subjektivní klasifikaci jednotlivých vůní tak, jak

to cítí operátor. Uvedený prototyp dokázal rozlišovat řadu vůní či zápachů, se kterými se setkáváme v běžném životě (aceton, amoniak, etylalkohol, ocet ad.). Vůně jednotlivých látek rozeznával velmi přesně, vůně směsí již s horší přesností a s mnohem delší dobou učení, podobně jako člověk.

V dalším kroku byly výstupy z neuronové sítě přenášeny na dálku, kde jimi byly buzeny akční členy odpařující příslušné aromatické látky. Takže se vlastně vůně a zápachy snímané na jednom místě daly reprodukovat na jiném místě, popřípadě (při zápisu do paměti) v jinou dobu. Zatím jde o jednoduchý experiment, při němž se přenáší několik základních vůní a zápachů. Nejsou ale zřejmě žádné principiální překážky, které by bránily, aby obdobné zařízení těch vůní přenášelo stovky. (Průměrný člověk je údajně schopen rozeznat asi 500 vůní a zápachů.)

Čtenář, který by se o dané problematice chtěl dovědět víc, najde podrobnější informace na adrese <http://www.emsl.pnl.gov:2080/proj/neuron/papers/keller.mmvr95.abs.html>. Nejspíš ale přece jen chvíli potrvá, než bude naše surfování po internetu doprovázeno vůní exotických krajín. □

MÍT RÁD LIDI BOHUŽEL TAKY ZNAMENÁ SNÁŠET JEJICH ZÁPACHY.



Kresba
© Vladimír Jiránek