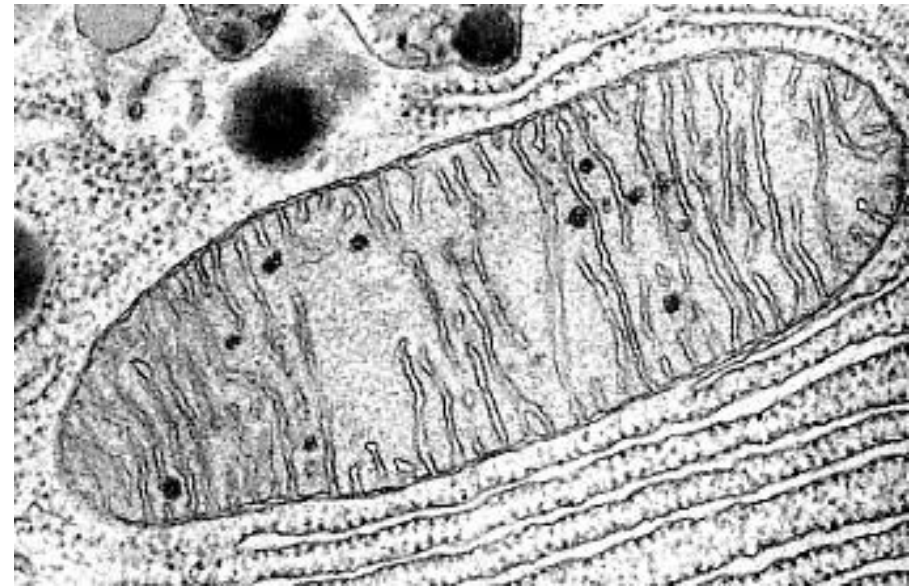
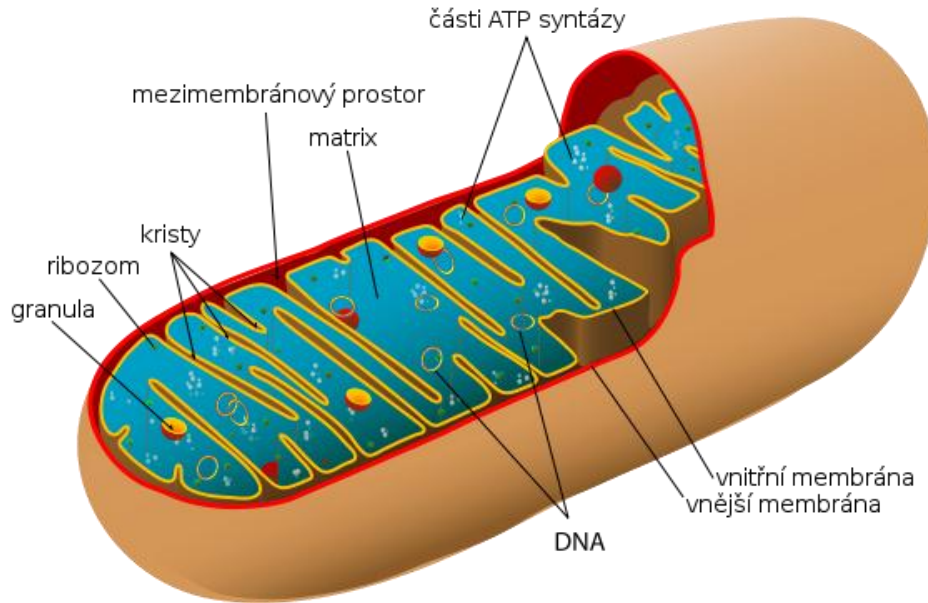


# Mitochondrie

Struktura: membránově obalená organela, viz obrázek

Dedičná informace: extranukleární genom (mtDNA), nesoucí geny pro proteiny ale i RNA

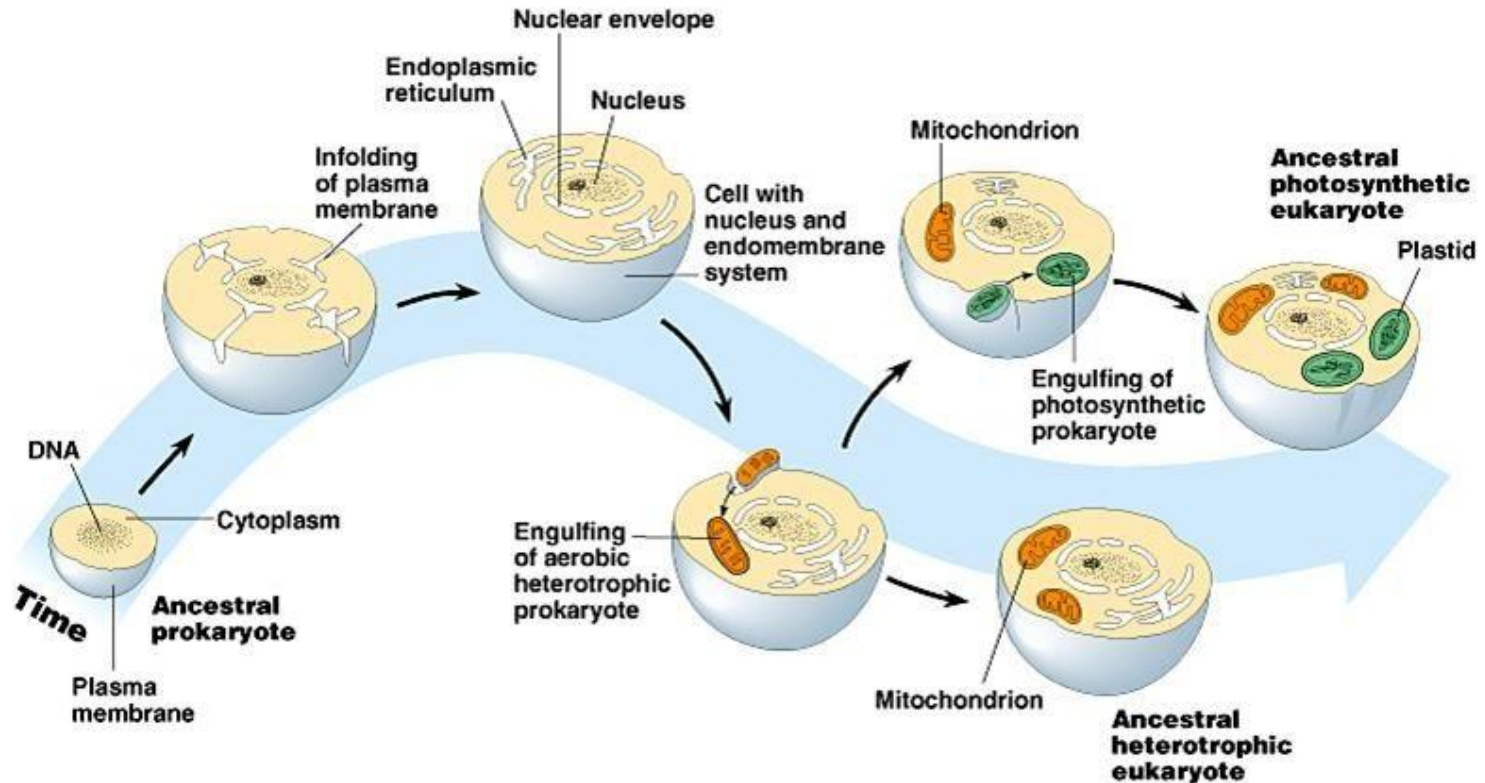
Metabolismus: Krebsův cyklus, dýchací řetězec, beta-oxidace mastných kyselin a jiné



# Vznik mitochondrie

Endosymbiotická hypotéza:

potomek endosymbiotické bakterie (pravděpodobně alfaproteobakterií z příbuzenského okruhu rodu *Rickettsia*), která se v procesu vzniku eukaryotické buňky určitým způsobem transformovala v semiautonómni organelu (před 2 miliardy let)



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

mtDNA vznikla redukcí genomu symbiotické bakterie přičemž došlo také k tzv. horizontálnímu transferu, tedy přechodu části genů z mitochondrie do jádra. V současnosti je 600–1000 mitochondriálních proteinů kódováno jadernou DNA a v mitochondriích je uloženo nanejvýš několik desítek genů.

# mtDNA

- Většina mtDNA genomu jsou cirkulární a superspiralizované (někteří prvoci a houby a tedy i kvasinky mají lineární mtDNA)
- mtDNA není vázaná histony nebo jim podobnými proteinami (podobně jako u bakterií)
- V jedné buňce je vícero kopií mtDNA v jedné mitochondrii
- Velikost mtDNA se liší mezi různými organizmi (i kvasinkami)

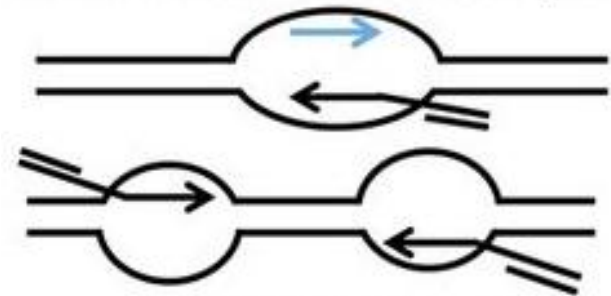
| Organismus                                       | <i>S. cerevisiae</i> | <i>H. sapiens</i> | <i>R. americana</i> (prvok) |
|--|----------------------|-------------------|-----------------------------|
| <b>Velikost mtDNA (kb)</b>                       | 75                   | 17                | 69                          |
| <b>Počet genů</b>                                | 35                   | 37                | 97                          |
| <i>Protein-kódující geny</i>                     | 8                    | 13                | 62                          |
| <i>Ribosomální proteiny</i>                      | 1                    | –                 | 27                          |
| <i>tRNA</i>                                      | 24                   | 22                | 26                          |
| <i>rRNA</i>                                      | 2                    | 2                 | 4                           |
| <b>Odhadovaná velikost proteomu mitochondrie</b> | 1000                 | 1500              | –                           |

- Mutace v mtDNA genech vedou k respirační deficienci buněk – vznik petit buňek
- Některé kvasinky tolerují ztrátu celé mtDNA, rho0 mutace
- Existují též rho- mutanti, kde je zachován jen krátký úsek mtDNA (mt translace neběží)
- Mit- mutanti mají bodové mutace v genech pro oxidační fosforylaci (mt translace funguje)

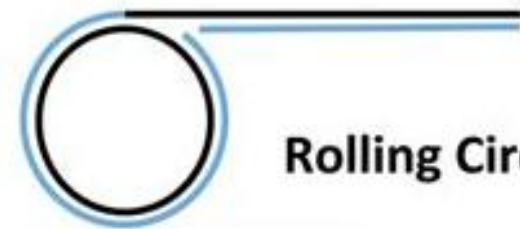
# Replikace mtDNA

- Replikace mtDNA je semikonzervativní (jako u jaderné DNA replikace) a využívá specifickou mitochondriální polymerázu  $\gamma$  (MIP1) a primázu (POLRMT)
- K replikaci dochází během celého buněčného cyklu podle potřeb buňky (nejen během S-fázy)
- Mitochondrie (jako organela) není syntetizována *de novo*, ale roste a dělí se podobně jako buňky, mtDNA je tak přenášena do nové buňky

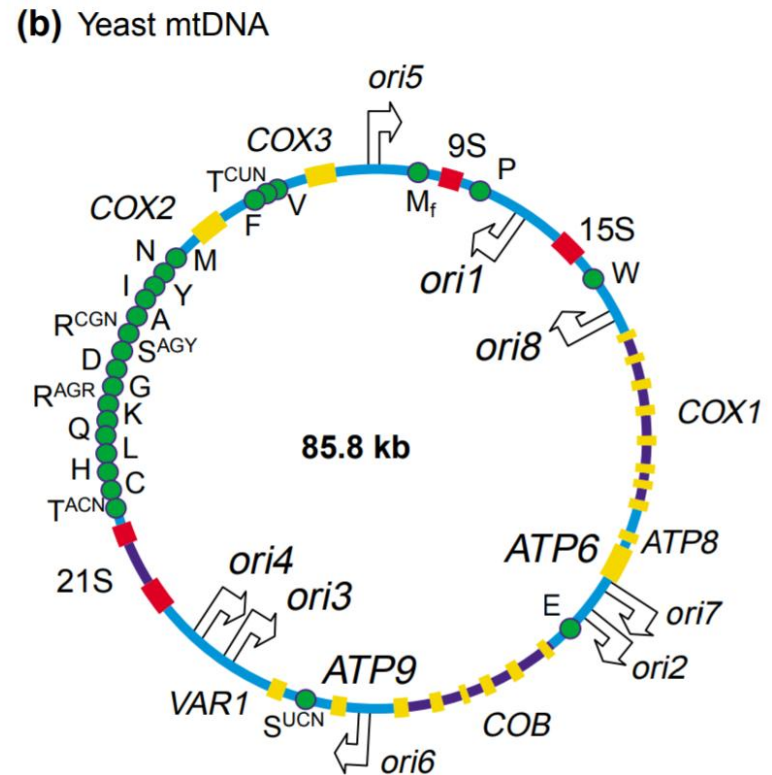
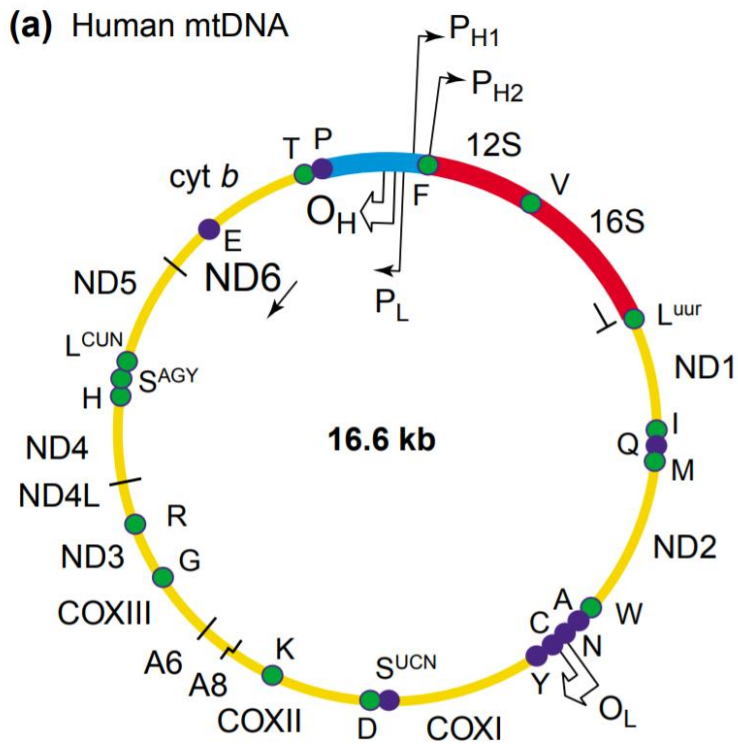
## Recombination Driven (RDR)



## PolRMT Primed



## Rolling Circle



- tRNA (H, L strand)
- Protein coding
- rRNA
- Noncoding (D-loop)
- ⤴ Replication origin
- ⤵ Promoter
- Transcriptional terminator

- tRNA
- Protein coding
- rRNA and 9S RNA
- Noncoding
- Intron
- ⤴ Replication origin

## Transkripce mtDNA mtDNA genomu:

- mRNAs je syntetizována z mtDNA a translatována v mitochondriích
- tRNA geny pro tRNA u kvasinek neoddělují další mt geny na rozdíl od *H. sapiens*
- Mezery mezi geny jsou u kvasinek mnohem větší
- Mt geny u kvasinek mají introny
- Některé geny u kvasinek nemají standardní stop kodon
- Transkripce je monocistronická (u lidí je polycistronická)

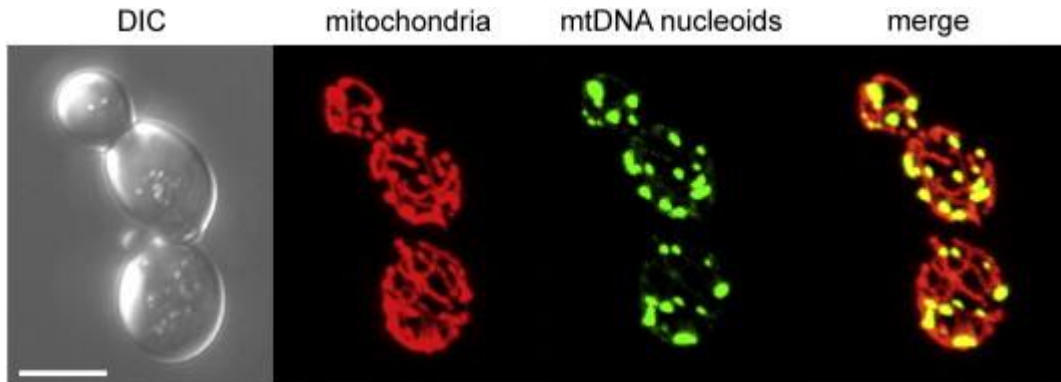
## Translace mtDNA genomu:

- Mitochondriální mRNA nemá 5'čepičku, kvasinka má 5'netranslatovanou oblast
- Existují mtDNA-specifické iniciační faktory, elongační faktory a uvolňující faktory pro translaci.
- AUG je startovací kodon (váže fMet-tRNA jako u bakterie).
- Není potřeba tolik tRNA genů jako u jaderního párování bazí mezi tRNA a mRNA
- Mutace v genech potřebných pro translaci vedou k tvorbě respiračně deficientních buněk (petit)

**Table 21.2 Nonuniversal codons found in mtDNA**

| Codon | Universal Code | mtDNA      |                   |            |
|-------|----------------|------------|-------------------|------------|
|       |                | Vertebrate | <i>Drosophila</i> | Yeast      |
| UGA   | Stop           | Tryptophan | Tryptophan        | Tryptophan |
| AUA   | Isoleucine     | Methionine | Methionine        | Methionine |
| AGA   | Arginine       | Stop       | Serine            | Arginine   |

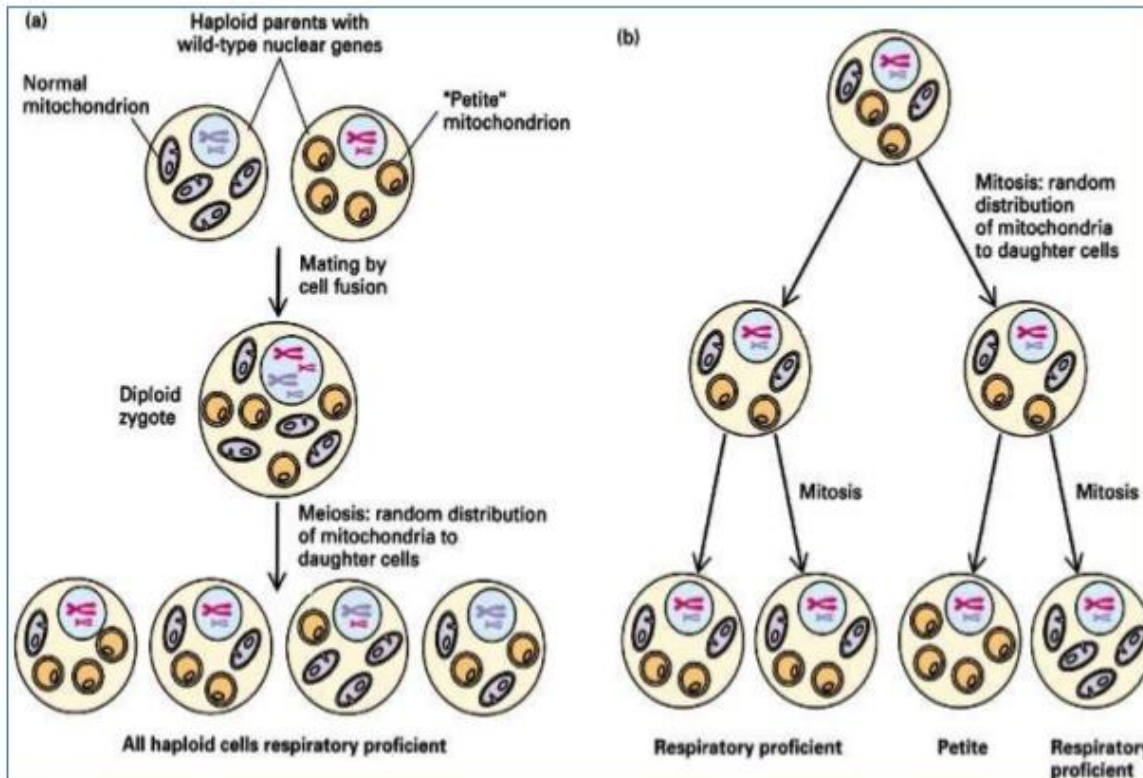
# Kvasinkové mitochondrie – organelová síť



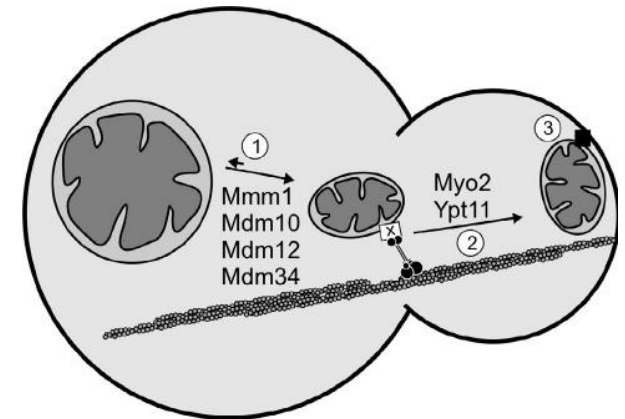
mitochondria targeted ERFP  
červený signál

Abf2-GFP zelený signál

## Mitochondrial Inheritance in Yeast



## Ne-Mendelovská dědičnost

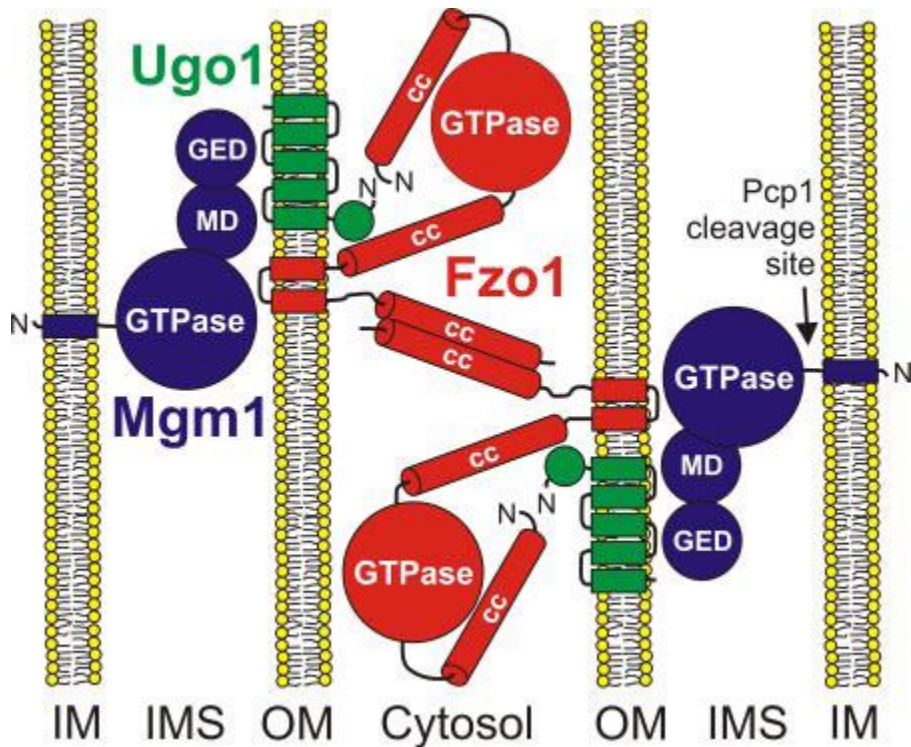


- 1) Udržování transportovatelých mitochondriálních jednotek
- 2) Transport mitochondrie do pupenu
- 3) Zachycení mitochondrie v špičce pupenu

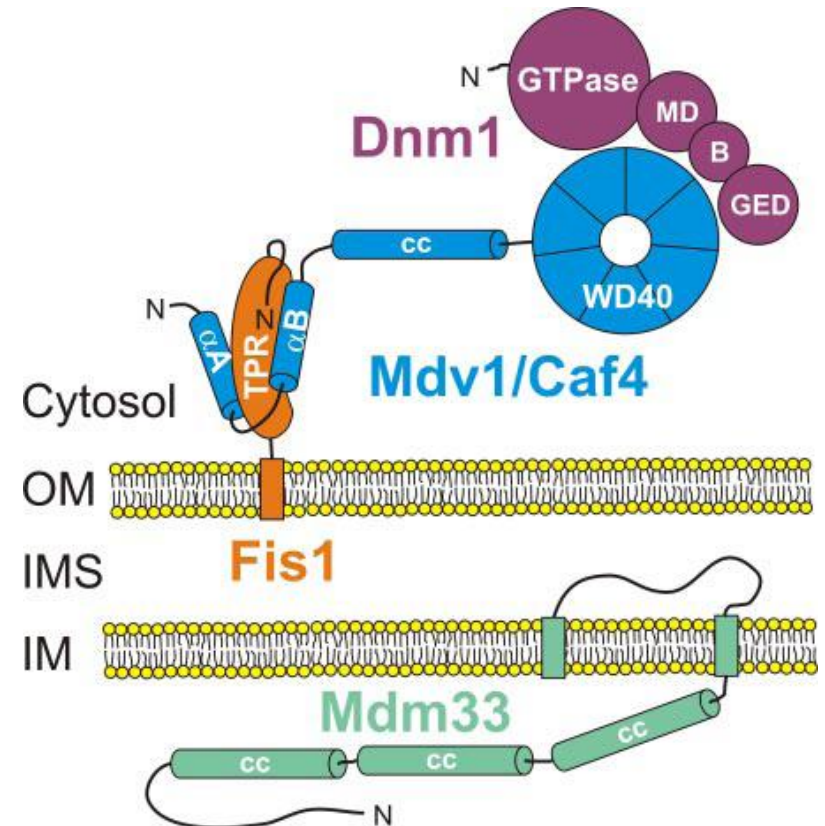
## Fúze mitochondrií (fusion)

## Rozdělení mitochondrií (fission)

**IM** vnitřní mt membrána, **IMS** mezimembránový prostor, **OM** vnější mt membrána



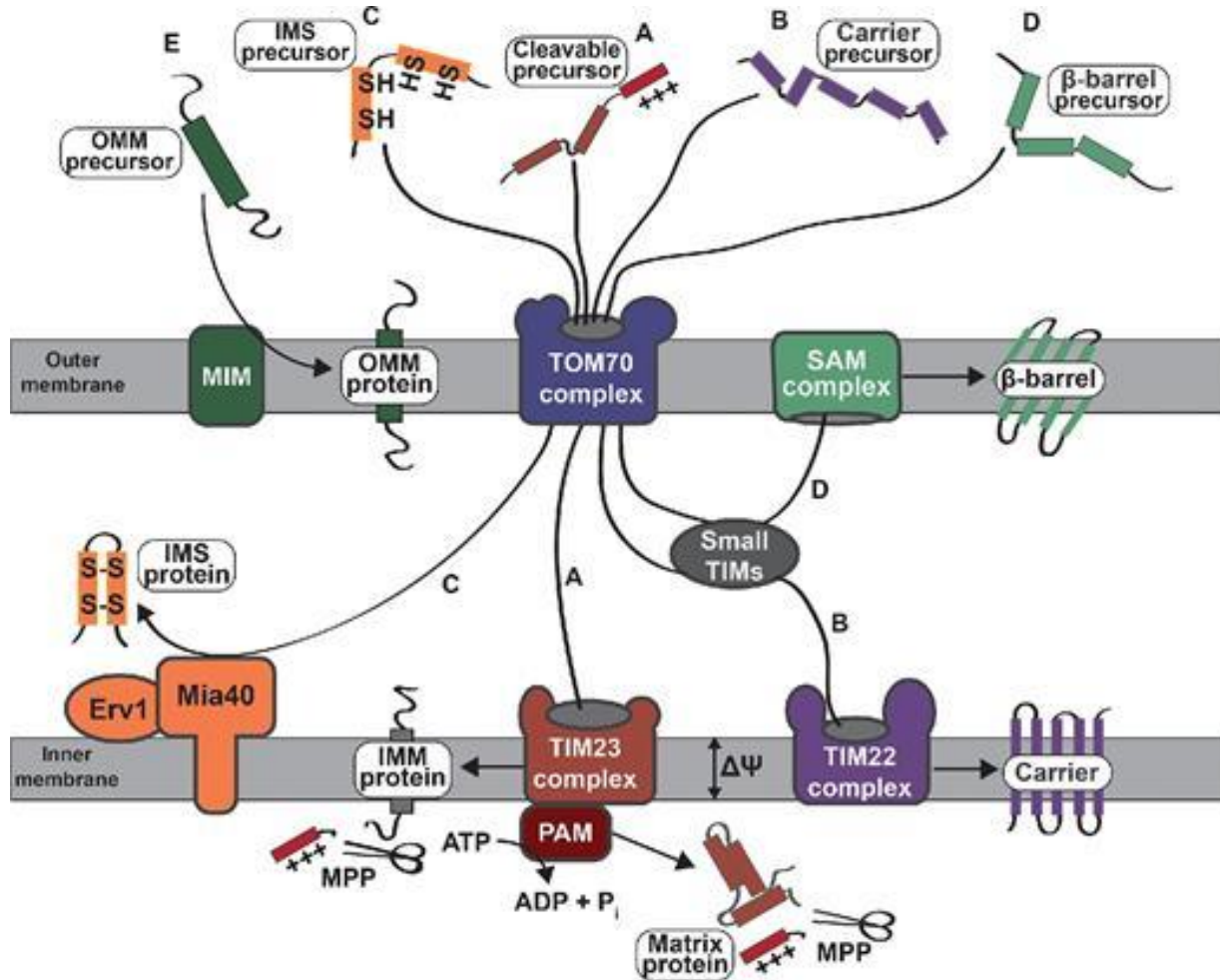
Ugo1 interaguje s Fzo1 a Mgm1 proteinem  
Štěpení Mgm1 pomocí Pcp1 vede k fúzi  
a je regulováno hladinou ATP



Mdv1 (anebo Caf4) slouží jako adaptor  
spojující Dnm1 a Fis1, Dnm1 tvoří dynamické  
oligomery obepínající mitochondrii což vede  
k rozdělení, funkce Mdm33 není známa



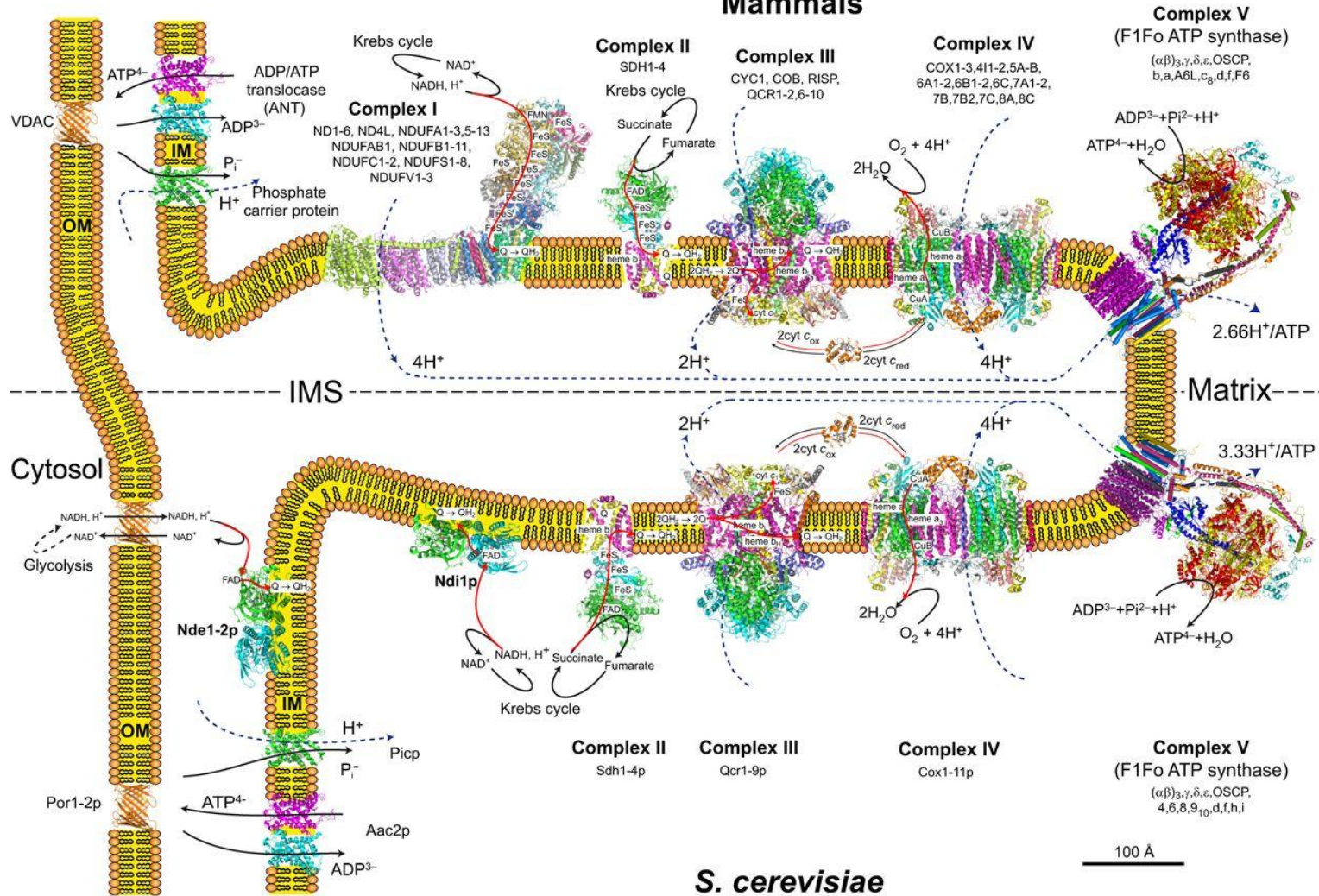
## Mitochondriální importní mašinerie



(A) Cesta využívající odštěpitelnou presekveni pro import prekurzorového proteinu do vnitřní membrány a matrixu (B) Importní cesta pro hydrofobní přenašeče metabolitů (C) Import prekurzoru bohatých na cystein do mezimembránového prostoru pomocí MIA mašinerie (D) Proteiny obsahující  $\beta$ -barely jsou translokovány přes TOM komplex a pak vázané na TIM šaperony a vloženy do vnější mt membrány pomocí SAM mašinerie (E) Několik dalších cest existuje pro import  $\alpha$ -helikálních proteinů do vnější membrány, např. přes MIM komplex. MPP, mitochondriální membránová peptidáza

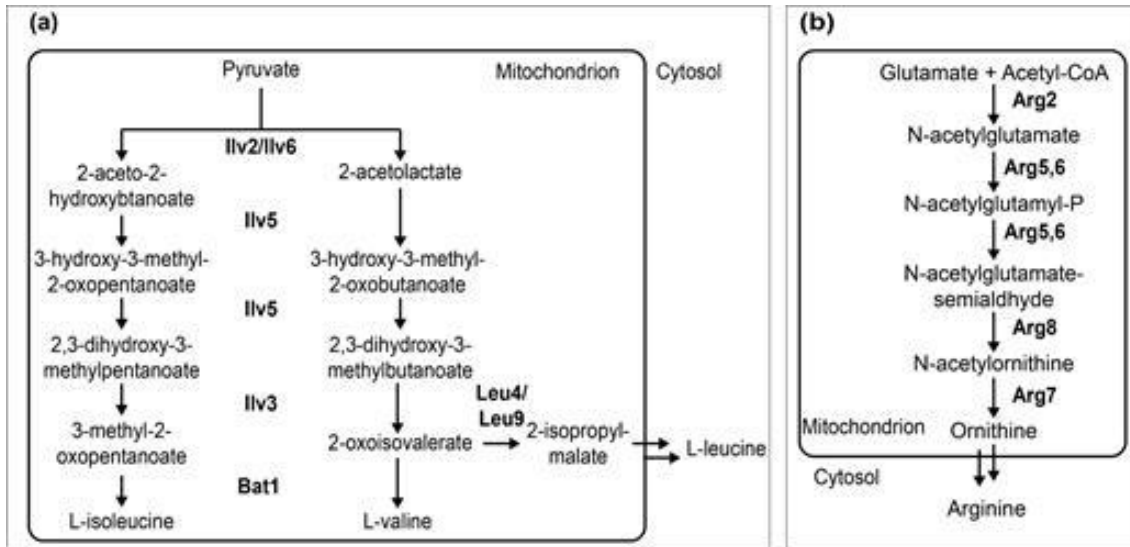
# Oxidační fosforylace OXPHOS

## Mammals



Komplexy I-IV spolu s ubiquinonem (Q) and cytochromem c (cyt c) přenášejí elektrony na kyslík pocházející z NADH a sukcinátu produkovaného v Krebsově cyklu, tento přenos je spřažen s translokací protonů přes mt matrix do mezimembránového prostoru, protonový gradient přes vnitřní membránu je pak dále využit komplexem V na produkci ATP z ADP a anorganického fosfátu. U kvasinek je komplex I zastoupen NADH dehydrogenázou (Ndi1p)

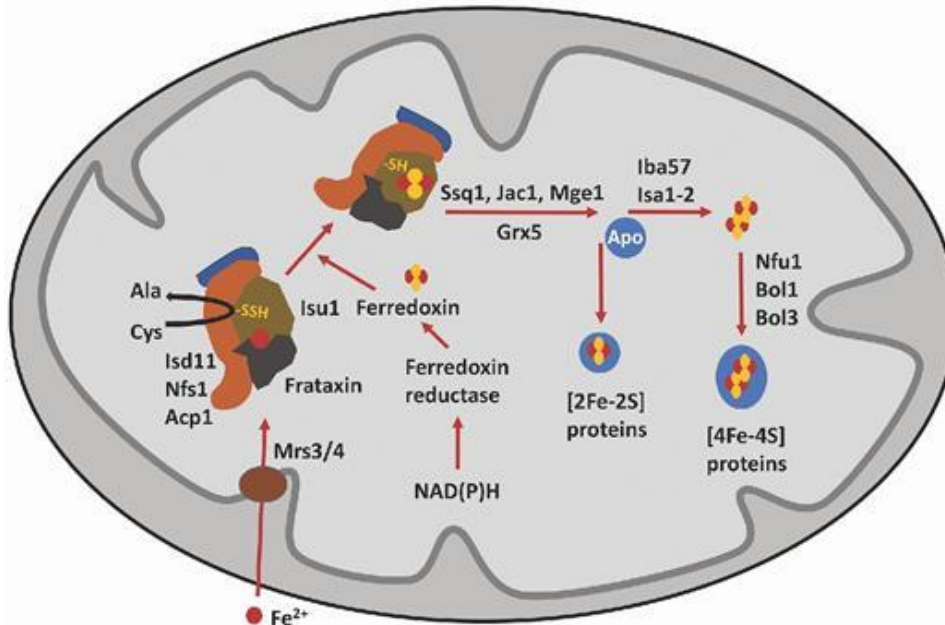
# Kvasinkový mitochondriální metabolismus aminokyselin



(a) Syntéza leucinu, izoleucinu a valinu

(b) Syntéza ornitinu, meziprojektu při biosyntéze argininu

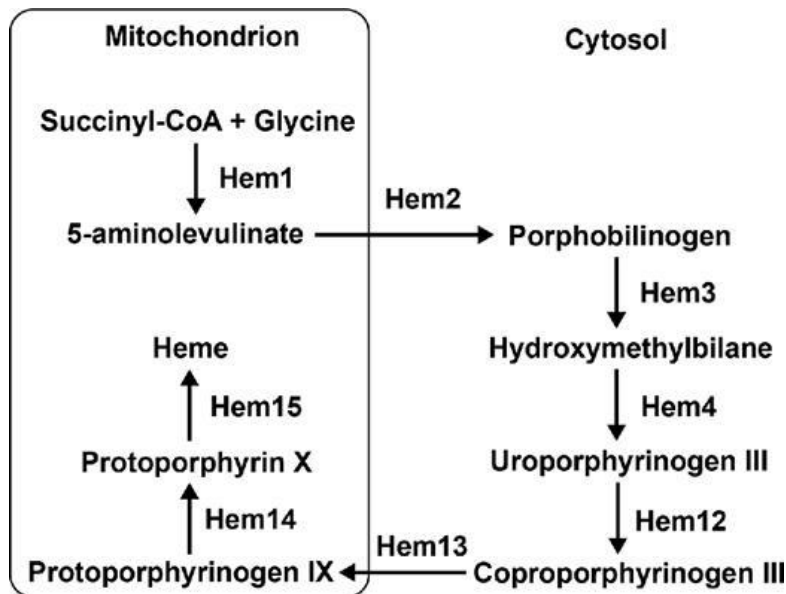
## Biogeneze Fe/S železo-sulfidových klastrů u kvasinek



Fe<sup>2+</sup> jonty jsou importované přes membránu skrze Mrs3/4, syntéza Fe/S klastrů na Isu1 proteine, použitím síry z cysteinu desulfurázového komplexu Nfs1-Isd11-Acp1 a elektronů z řetězce sestávajícího z NAD(P)H, ferredoxin reduktázy a ferredoxinu.

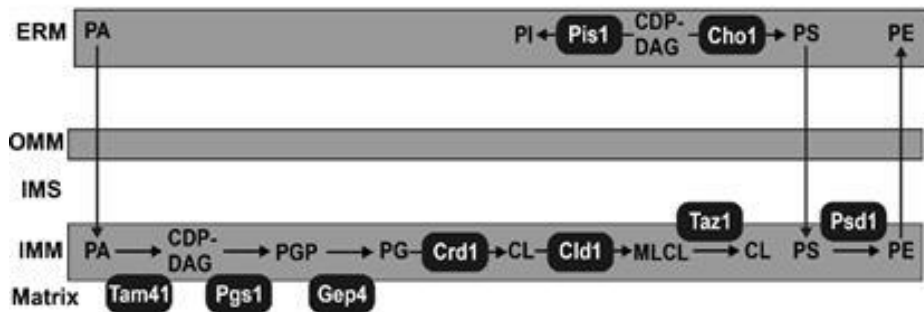
Klastry jsou pak přenášeny dále pomocí dalších faktorů na cílové proteiny

## Biosyntéza hemu v kvasinkách



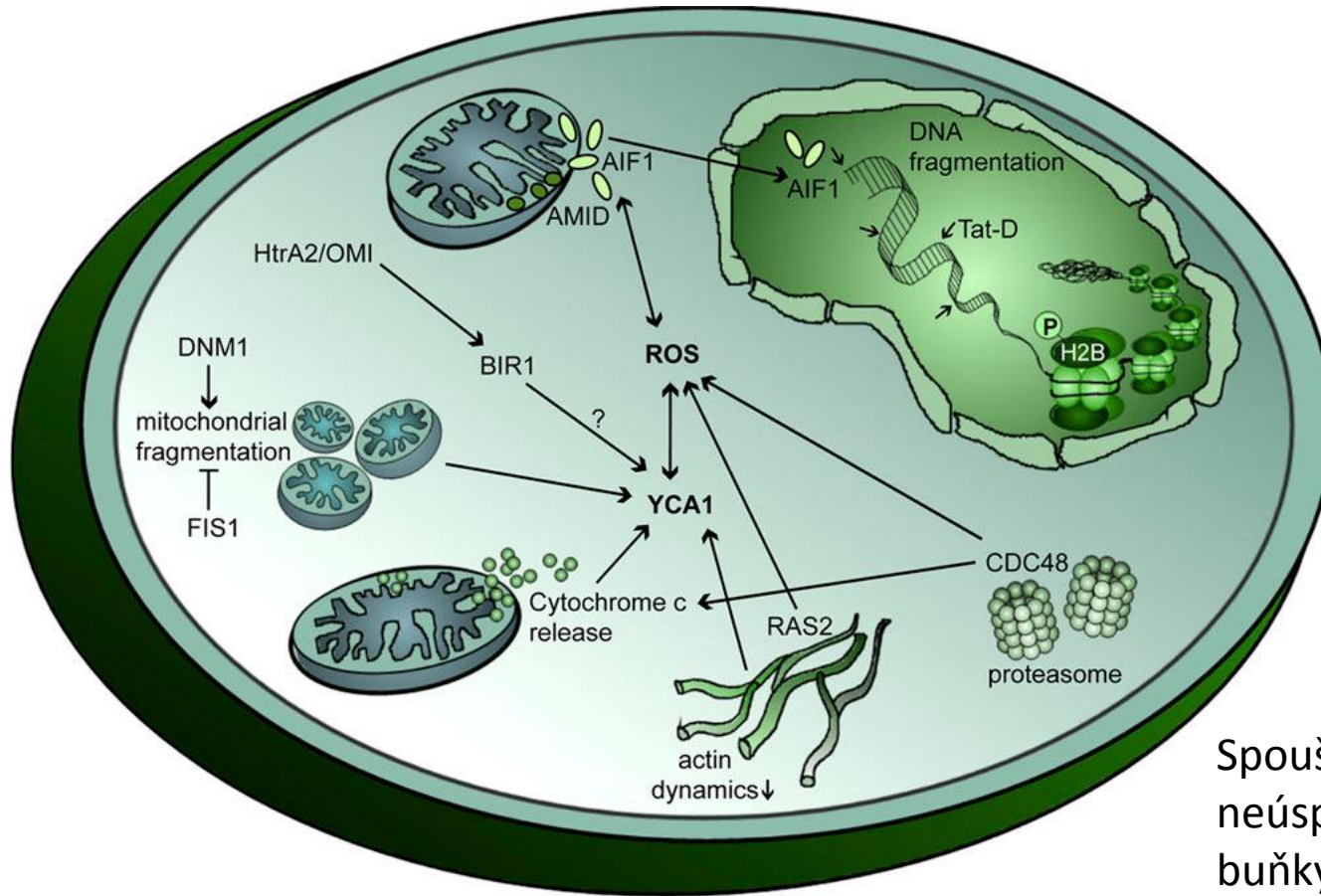
## Metabolizmus lipidů v kvasinkové mitochondrii

- (a) PA, phosphatidic acid; CDP-DAG, CDP-diacylglycerol; PGP, phosphatidylglycerolphosphate; PG, phosphatidylglycerol; MLCL, monolysocardiolipin; PS, phosphatidylserine.



- (b) Biosyntéza fosfatidyletanolaminu (PE) a cardiolipinu (CL) ERM- membrána endoplazmatického retikulu
- (b) Syntéza mastných kyselin v mitochondriích
- 
- The diagram shows the synthesis of fatty acids in the mitochondria:
- Starts with **Acetyl-Coa**.
  - Enzyme **Hfa1** converts **Acetyl-Coa** to **Malonyl-Coa**.
  - Enzyme **Mct1** converts **Malonyl-Coa** to **Malonyl-ACP**.
  - Enzyme **Cem1** converts **Malonyl-ACP** to **3-ketoacyl-ACP**.
  - Enzyme **Oar1** converts **3-ketoacyl-ACP** to **3-hydroxyacyl-ACP**.
  - Enzyme **Htd2** converts **3-hydroxyacyl-ACP** to **Trans-2-enoyl-ACP**.
  - Enzyme **Etr1** converts **Trans-2-enoyl-ACP** to **Acyl-ACP**.

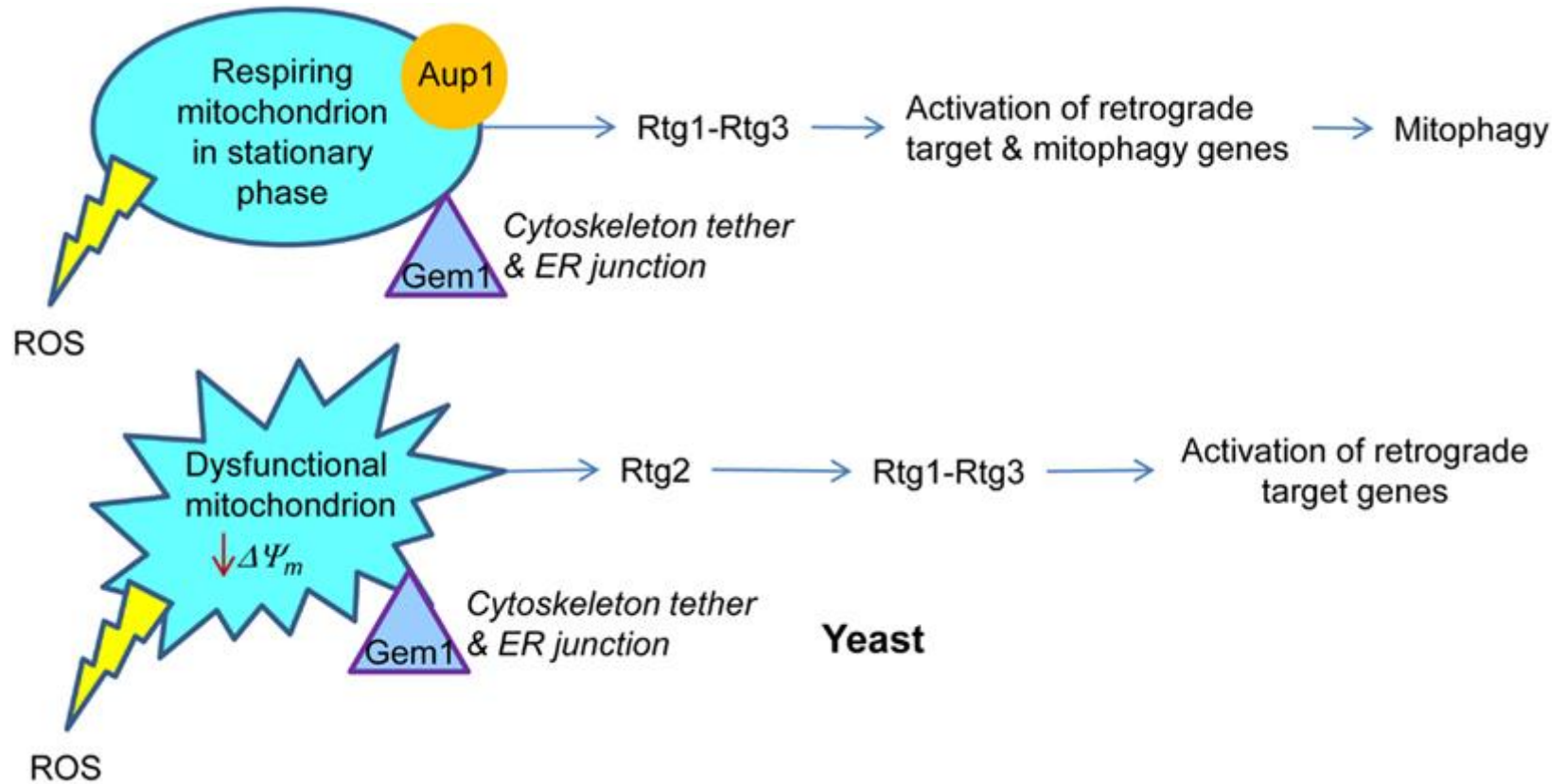
## Základní molekulární mašinerie kvasinkové apoptózy



Spouštění apoptózy při neúspěšném páření, stárnutí buňky, napadení killer toxinami

Kritické proteiny spouštějící buňkovou smrt jsou konzervované i u kvasinek, kaspáza YCA1, mitochondriálně lokalizované proteiny: apoptosis-inducing factor 1 (AIF1), HtrA2/Omi (NMA111), a AMID (NDI1), a antiapoptotické proteiny CDC48 a BIR1. Kvasinková programovaná smrt je též spojená s fragmentací mitochondrií, uvolněním cytochromu c, cytoskeletálními turbulencemi, a fosforylací histonů H2B.

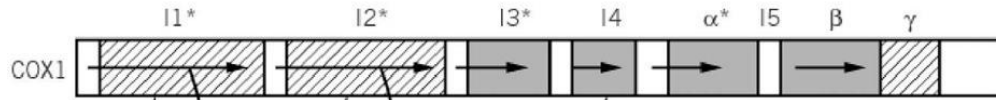
## Retrográdní signalizace v kvasinkách



Respirující mitochondrie v nedělicí se buňce aktivuje retrográdní odpovědí specifické geny a geny pro mitofagii, buňka se adaptuje na stacionární fázi. Aup1, protein fosfatáza mezimembránového prostoru je esenciální pro tuto dráhu. RTG1-Rtg3 jsou retrográdní transkripční faktory.

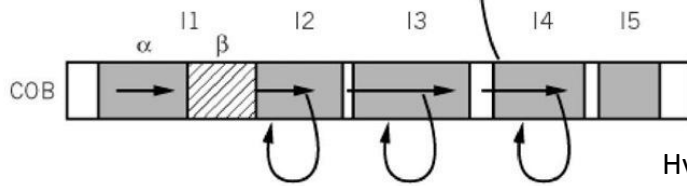
Dysfunkční mitochondrie v rostoucích mitochondriích spouštějí klasickou RTG dráhu, kde RTG2 hraje esenciální úlohu.

# Mitochondriální introny



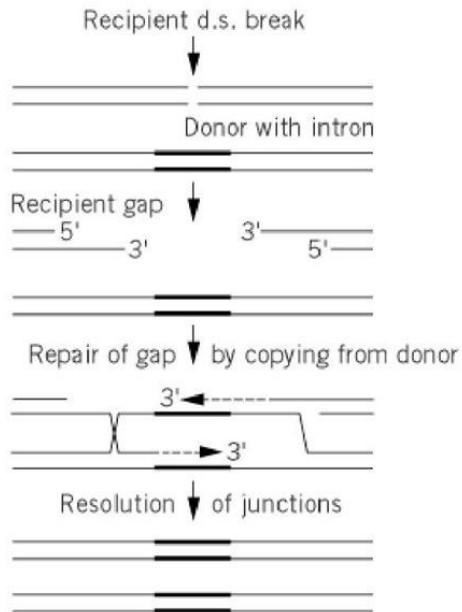
Prázdné pole-exon  
šrafované pole - Intron I skupiny,  
plné pole Intron II skupiny

Šipky představují ORF  
Produkty stimulují splicing  
- maturázy

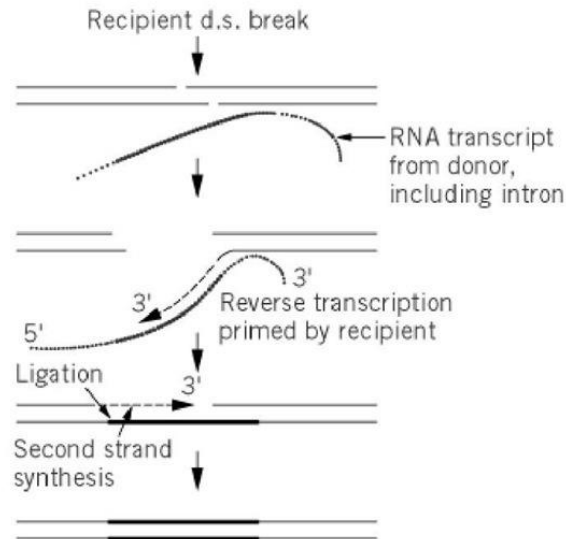


Hvězdička – introny  
přeskakující do bezintronové  
mtDNA „Homing“

## Homing

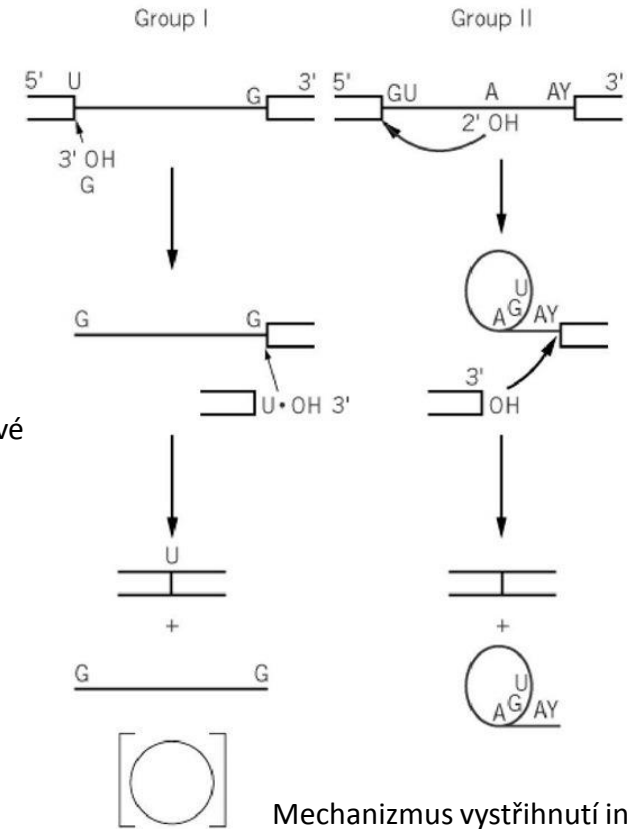


(a) Skupina I introny



(b) Skupina II introny

## Splicing



Mechanismus vystřihnutí intronu  
RNA funguje jako ribozym, má 3D  
specifickou strukturu

Nukleární faktory potřebné pro splicing mtDNA  
intronu

Např. Mss116, the DEAD-box RNA šaperon  
Oxa1, inzertáza