

PAWEŁ GOLIK

*Instytut Genetyki i Biotechnologii,  
Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski  
Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN  
Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa  
E-mail: [pgolik@igib.uw.edu.pl](mailto:pgolik@igib.uw.edu.pl)*

## POCHODZENIE I EWOLUCJA GENOMU MITOCHONDRIALNEGO

### POWSTANIE KOMÓREK EUKARIOTYCZNYCH A EWOLUCJA MITOCHONDRIÓW

Powstanie komórek eukariotycznych było jednym z najważniejszych przełomów ewolucyjnych w dziejach życia na Ziemi. Trudno jest dokładnie wskazać, kiedy mogło to nastąpić – wiadomo, że najstarsze skamieniałości sugerujące eukariotyczną organizację komórek mają około 1,5 miliarda lat, a pierwsze eukarionty mogły pojawić się już 2 miliardy lat temu. Odtworzenie przebiegu procesów, które zachodziły tak dawno temu jest niezwykle trudne; najcenniejszych przesłanek bez wątplenia dostarczyć może analiza współczesnych organizmów żywych i ich genomów.

Komórki eukariontów są bardziej skomplikowane od prokariotycznych – zawierają szereg oddzielonych systemem błon kompartmentów (organelli), wśród których wyróżniają się mitochondria i chloroplasty. Struktura tych dwóch typów organelli swym poziomem złożoności przypomina proste komórki prokariotyczne, w szczególności posiadają one własny, niezależny od jądrowego materiał genetyczny w postaci genomu zbudowanego z DNA. To właśnie odkrycie genomów organelarnych i analiza ich sekwencji dało impuls do stworzenia współczesnych teorii dotyczących pochodzenia komórek eukariotycznych.

Problem ten można rozpatrywać w kontekście ogólniejszego pytania, dotyczącego drogi, na której proces ewolucji prowadzi do wzrostu złożoności. Każdy system biologiczny ma bowiem określony poziom inherentnej złożoności, ograniczonej zasadniczo jego możliwościami przechowywania i od-

czytywania informacji. Musi jednak istnieć mechanizm ewolucyjny pozwalający na przekroczenie tej bariery i osiągnięcie kolejnego, wyższego poziomu złożoności. Jedną z możliwych dróg jest wytwarzanie złożoności przez fuzję systemów niższego poziomu. Mechanizm taki został zaproponowany dla najwcześniejszej fazy ewolucji prebiotycznej w świecie RNA – tzw. koncepcja hipercykli Eigena. Według tej teorii, pierwotne replikatory RNA, których złożoność była silnie ograniczona przez niską dokładność mechanizmu powielania informacji, łączyły się we współzależne sieci wyższego rzędu (zwane hipercykłami). Współdziałanie większej liczby niezależnych początkowo replikatorów pozwoliło na pokonanie bariery zawartości informacyjnej pojedynczego systemu (patrz artykuł WEINERA w tym zeszycie KOSMOSU).

Motyw współdziałania niezależnych systemów pojawia się również w koncepcji endosymbiontycznego pochodzenia struktury komórki eukariotycznej, w swej współczesnej wersji sformułowanej przez Lynn Margulis (MARGULIS 1970). Teoria ta, w uproszczeniu zakłada, że współczesne komórki eukariotyczne powstały przez fuzję pierwotnej komórki, pochodzącej najprawdopodobniej od Archaea, z komórkami z linii Bacteria, które dały początek mitochondriom i plastydom. Odkąd dzięki postępowi technik sekwencjonowania DNA poznajemy sekwencje coraz większej liczby genomów przedstawicieli różnych linii ewolucyjnych, teoria endosymbiontycznego

pochodzenia mitochondriów (a także chloroplastów) zyskuje coraz mocniejsze wsparcie,

i obecnie pozbawiona jest realistycznej alternatywy.

#### PRZODKOWIE MITOCHONDRIÓW I SCENARIUSZE ENDOSYMBIOZY

Przodkiem mitochondriów był organizm należący do tej samej linii, do której należą współczesne  $\alpha$ -proteobakterie, podczas gdy w powstaniu genomu jądrowego uczestniczył organizm z linii Archaea. Mimo dostępności coraz pełniejszych danych genomicznych i rozwoju coraz doskonalszych metod odtwarzania filogenezy, scenariusz powstania pierwszych komórek eukariotycznych wciąż kryje wiele tajemnic. Do niedawna uważano, że eukariogeneza przebiegała w kilku etapach, z których każdy wiązał się ze zdarzeniem typu endosymbiotycznego (tzw. teoria seryjnej endosymbiozy). W myśl tej koncepcji, najpierw powstały komórki o organizacji typowej dla eukariontów – posiadające jądro, siateczkę śródplazmatyczną i pozostałe, typowe dla tej grupy struktury – pozbawione jednak mitochondriów. Dopiero w kolejnym etapie taki pozbawiony mitochondriów, beztlenowy przodek eukariontów związał się z oddychającą tlenowo bakterią, która dała początek mitochondriom. Przesłanką sugerującą taki właśnie przebieg zdarzeń miałyby być istnienie współczesnych, zaliczanych do Protista, organizmów eukariotycznych pozbawionych mitochondriów i peroksysomów, prowadzących całkowicie beztlenowy tryb życia. Organizmy te, zwane Archezoa, miałyby być zatem potomkami pierwotnych eukariontów sprzed zajścia symbiozy mitochondrialnej.

Wyniki najnowszych badań (patrz prace przeglądowe LANG i współaut. 1999, KURLAND i ANDERSSON 2000 oraz EMBLEY i MARTIN 2006) mocno jednak zachwiały tą koncepcją. U Archezoa odkryto bowiem organella przypominające strukturą i niektórymi aspektami metabolizmu bardzo zredukowane mitochondria (tzw. hydrogenosomy i mitosomy). Poza tym, w genomach Archezoa odnaleziono geny pochodzące ewidentnie z linii Bacteria, a nie Archaea, co może sugerować ich pochodzenie od eubakteryjnego endosymbionta, zwłaszcza że chodzi tu o geny kodujące białka, należące do grup białek szoku cieplnego, które u pozostałych eukariontów funkcjonują w mitochondriach. Wydaje się więc, że współczesne pozbawione mitochondriów organizmy eukariotyczne pochodzą od przodków, którzy mitochondria posiadali, lecz w toku ewolucji uległy one znacznej re-

dukcji. Pojawiły się zatem koncepcje sugerujące, że do powstania komórek eukariotycznych mogła wystarczyć pojedyncza symbioza, a dalszy wzrost złożoności odbywał się już przez stopniową ewolucję. Dostępne nam dane nie pozwalają jednoznacznie rozstrzygnąć tego problemu, ponadto analizę filogenetyczną najdawniejszych rozgałęzień drzewa organizmów utrudnia fakt, że we wczesnych etapach ewolucji często dochodziło do horyzontalnej wymiany genów między organizmami różnych linii (wciąż częściej u bakterii) – drzewa poszczególnych genów nie muszą zatem odzwierciedlać historii całych genomów.

Innym interesującym zagadnieniem (patrz prace przeglądowe KURLAND i ANDERSSON 2000 oraz EMBLEY i MARTIN 2006) jest to, jak wyglądał metabolizm organizmów, których endosymbioza doprowadziła do powstania posiadających mitochondria eukariontów, a zwłaszcza, jakie korzyści związek ten początkowo niósł dla obu partnerów. Jedną z głównych funkcji współczesnych mitochondriów jest wytwarzanie energii w drodze fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS), trudno jednak wyobrazić sobie, że funkcja ta była istotna dla przodków eukariontów, żyjących wciąż w atmosferze zasadniczo beztlenowej. Ponadto do funkcjonowania fosforylacji oksydacyjnej konieczne jest złożone współdziałanie mitochondriów z resztą komórki, np. transport ATP/ADP, a na wyewoluowanie tych mechanizmów potrzebny był czas. Współczesne koncepcje endosymbiozy zakładają raczej, że podstawą związku przodków eukariontów z przodkami mitochondriów mógł być wodór – według sformułowanej w 1998 r. tzw. hipotezy wodorowej (MARTIN i MÜLLER 1998), heterotroficzny endosymbiont wytwarzał wodór jako produkt metabolizmu, natomiast dla chemoautotroficznego gospodarza wodór stanowił źródło energii. Inna hipoteza zakłada, że endosymbiont od początku wykorzystywał tlen, który dla komórek gospodarza był toksyczny, podobnie jak dla wielu współczesnych mikroorganizmów beztlenowych. Endosymbiont usuwając toksyczny dla gospodarza tlen umożliwiał mu przeżycie w środowiskach częściowo utlenionych, które zaczynały pojawiać się na Ziemi. Oczywiście

oba te mechanizmy mogły mieć znaczenie na różnych etapach ewolucji eukariontów.

W tym momencie warto sobie zadać pytanie, która z licznych funkcji mitochondriów jest najbardziej kluczowa dla komórki. Wiadomo, że wiele organizmów (np. niektóre drożdże i Protista) może obywać się bez oddychania tlenowego, a nawet komórki ssaków pozbawione DNA mitochondrialnego można utrzymać w hodowli, mimo całkowitej dysfunkcji fosforylacji oksydacyjnej. Żadna komórka eukariotyczna nie jest jednak w stanie przeżyć bez mitochondriów, lub przynajmniej (jak w przypadku *Archezoa*) ich odpowiedników. Z badań prowadzonych głównie na drożdżach *S. cerevisiae* wynika, że jedną z niezbędnych dla życia funkcji mitochondriów jest synteza centrów żelazowo-siarczkowych (Fe-S), które stanowią kofaktory wielu kluczowych enzymów w komórce (LILL i współaut 2005). Co ciekawe, proces ten u pozbawionych w pełni funkcjonalnych mitochondriów *Archezoa* wciąż zachodzi w

silnie zredukowanych hydrogenosomach i mitosomach (EMBLEY i MARTIN 2006). Jest to zatem przypuszczalnie bardzo stara ewolucyjnie funkcja mitochondriów, starsza niż oddychanie komórkowe obecnie najczęściej kojarzone z tymi organellami.

Dopiero później nastąpiło przejście gospodarza na heterotrofię i uzależnienie symbionta od dostarczanych przez niego związków organicznych. Symbiont stał się mitochondrium, a zależność została przypieczętowana utratą niezależności symbionta, związaną z redukcją jego genomu. Jak już wspomniano wcześniej, niektórzy badacze uważają też, że niezależnie od endosymbiozy prowadzącej do powstania mitochondriów, wcześniej zaszła endosymbioza komórki pochodzącej z linii Archaea z komórką linii Bacteria, która dała początek systemowi jądra i błon siateczki. W myśl tej koncepcji gospodarz, który przyjął przodka mitochondriów sam był już wynikiem wcześniejszego procesu endosymbiotycznego.

#### DEGENERATYWNA EWOLUCJA GENOMU MITOCHONDRIALNEGO

Niezależnie od tego, który ze scenariuszy endosymbiotycznej eukariogenezy jest prawdziwy, pochodzenie mitochondriów od endosymbiotycznych  $\alpha$ -proteobakterii wydaje się dobrze ugruntowane. Genom mitochondrialny byłby w myśl tej koncepcji resztką genomu symbionta. Analizy sekwencji, głównie rRNA, umieszczają genomy mitochondrialne na jednej gałęzi drzewa filogenetycznego, co sugeruje ich monofiletyzm. Badania te wskazują, że najbliższymi mitochondriom współczesnymi bakteriami jest grupa  $\alpha$ -proteobakterii obejmująca wewnątrzkomórkowe pasożyty eukariontów takie, jak *Rickettsia*, *Ehrlichia* i *Anaplasma*. Interesujące w tym kontekście jest częste wśród  $\alpha$ -proteobakterii występowanie zjawisk endosymbiozy i endopasożytnictwa (np. *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Rickettsia*). Oczywiście pamiętać należy, że współczesne endopasożytnicze lub endosymbiotyczne  $\alpha$ -proteobakterie nie są przodkami mitochondriów, dzielą jednak z nimi wspólnego przodka, który musiał być szczególnie predestynowany do wchodzenia w ścisłe relacje z komórkami innych organizmów.

Zawiązanie się trwałego związku endosymbiotycznego między mitochondriami a ich gospodarzami pociągnęło za sobą redukcję genomu symbionta i transfer genów do

jądra (patrz praca przeglądowa KURLAND i ANDERSSON 2000). Ewolucja miała więc tutaj przebieg degeneratywny, redukujący autonomię organellum. Przykładem wcześniejszego stadium takiej ewolucji może być genom *Rickettsia prowazekii*, wewnątrzkomórkowego pasożyta z grupy  $\alpha$ -proteobakterii (ANDERSSON i KURLAND 1998, ANDERSSON i współaut 1998). Utracił on częściowo autonomię, zachowując jedynie około 900 genów, prawdopodobnie około połowy wyjściowej liczby. Co ciekawe, zachowały się w nim wszystkie geny odpowiadające za procesy oddychania tlenowego, takie jak geny białek z kompleksów łańcucha oddechowego, enzymów cyklu kwasów trójkarboksylowych itp. *Rickettsia* straciła jednak wszystkie geny kodujące enzymy wcześniejszych, beztlenowych etapów katabolizmu związków organicznych, np. glikolizy, a także geny, których produkty odpowiadają za procesy syntezy aminokwasów i nukleotydów. Pasożytnictwo wewnątrzkomórkowe upodobniło ją zatem z metabolicznego i genetycznego punktu widzenia do mitochondrium. Można spekulować, że podobnie mogły wyglądać najwcześniejsze etapy procesu prowadzącego do powstania mitochondriów, choć w przypadku typowego pasożyta, jakim jest *Rickettsia* nie doszło do przeniesienia genów do genomu gospodarza.

U współczesnych eukariontów, mimo ogromnej różnorodności organizacji ich genomów mitochondrialnych, liczba zachowanych w nich genów jest bardzo nieduża. Większość genomów mitochondrialnych zawiera około kilkudziesięciu genów, z czego kilkanaście zaledwie koduje białka. Wyjątkową pozycję ma tutaj genom mitochondrialny *Reclinomonas americana*, dosyć prymitywnego, słodkowodnego heterotroficznego wiciowca (LANG i współaut 1997). Spośród wszystkich znanych genomów mitochondrialnych zachował on najwięcej cech genomu eubakteryjnego. Zawiera największą liczbę genów – 97. Są wśród nich wszystkie geny występujące w mtDNA innych organizmów a ponadto kilkanaście genów nie występujących w żadnych innych genomach mitochondrialnych. Są to, między innymi, geny wielopodjednostkowej polimerazy RNA typu eubakteryjnego, nie przypominającej polimeraz mitochondrialnych innych organizmów, a także liczne geny białek rybosomalnych. Mitochondria *R. americana* zachowały standardowy kod genetyczny, oraz niespotykane w innych mitochondriach, a charakterystyczne dla bakterii oddziaływanie rRNA z mRNA typu Shine-Dalgarno podczas inicjowania translacji. Ponadto widoczne są ślady organizacji operonowej, z zachowanymi u różnych bakterii grupami genów.

Porównanie genomów wewnątrzkomórkowego pasożyta o zbliżonym do mitochondrialnego metabolizmie (*Rickettsia*), pierwotnego genomu mitochondrialnego o wyraźnych cechach bakteryjnych (*Reclinomonas*) oraz współczesnych, silnie zredukowanych genomów mitochondrialnych wykazuje więc, że ewolucja mtDNA przebiegała drogą postępującej redukcji zawartości informacyjnej, upraszczania systemów regulacyjnych (zwłaszcza na poziomie transkrypcyjnym) oraz pojawiania się odstępstw od powszechnych mechanizmów genetycznych (np. zmienionego kodu genetycznego).

Głównym mechanizmem odpowiedzialnym za tendencję do utraty zawartości informacyjnej genomu mitochondrialnego jest tzw. „zapadka Müllera” (rola tego mechanizmu w ewolucji genomów organellarnych oraz genomów pasożytów wewnątrzkomórkowych jest omówiona w pracy przeglądowej ANDERSSON i KURLAND 1998). Jest to mechanizm działający na populacje o niskiej liczebności i pozbawione mechanizmów rekombinacji, polegający na nagromadzeniu w nich niekorzystnych mutacji, czyli nieodwracalnej degeneracji informacji genetycznej. Mutacje o niekorzystnym

adaptacyjnie efekcie są statystycznie znacznie częstsze od mutacji korzystnych. W dużych populacjach nagromadzenie się niekorzystnych mutacji jest równoważone przez dobór naturalny i wytwarza się równowaga. Przy redukcji liczebności („wąskie gardło” populacyjne) na skutek fluktuacji może zdarzyć się, że w określonym momencie wszystkie osobniki będą obciążone mutacją. Przy braku rekombinacji (która pozwoliłaby na odtworzenie „prawidłowego” allelu z dwóch różnych alleli zmutowanych) takie obniżenie wartości przystosowawczej populacji będzie nieodwracalne, gdyż mutacje powrotne są dużo mniej częste. Na tym polega nieodwracalność mechanizmu zapadkowego – obciążenie populacji mutacjami nieuchronnie będzie wzrastać.

Efekty działania zapadki Müllera obserwuje się w wielu przypadkach populacji endopasożytów, np. wirusów. Wyraźne też są ślady działania tego mechanizmu w genomie *Rickettsia prowazekii*. Geny, których produkty nie są niezbędne dla funkcjonowania tej bakterii zostały utracone, część zanikła całkowicie, a niektóre pozostawiły w DNA bakterii ślady w postaci rozpoznawalnych pseudogenów. Gen *metK* jest przykładem początkowych faz tego procesu – pewne szczepy *Rickettsia* posiadają jego funkcjonalny allel, w innych zawiera on już mutacje uniemożliwiające ekspresję. Zanik tego genu dopiero się rozpoczął.

Genomy mitochondrialne stanowią końcowy etap reduktywnej ewolucji, w której jednym z głównych mechanizmów jest omówiona powyżej zapadka Müllera. Endosymbioza, która dała początek mitochondriom, była pierwszym i najważniejszym etapem znacznego zawężenia populacji endosymbionta. Wszystkie dzisiejsze eukarionty są pod względem mitochondrialnym monofiletyczne, a zatem powstały w wyniku jednej skutecznej endosymbiozy, która dała im przewagę selekcyjną. Kolejne generacje genomów organellarnych ewoluowały już w warunkach względnej izolacji i utrudnionej wymiany materiału genetycznego, co sprzyjało utracie informacji genetycznej spowodowanej działaniem zapadki Müllera (ANDERSSON i KURLAND 1998). U wielu, chociaż nie wszystkich, współczesnych eukariontów mitochondria są zasadniczo aseksualne, ponieważ dziedziczone są tylko od jednego z rodziców. Mimo, że u grzybów i roślin stwierdzono rekombinację mtDNA, a najprawdopodobniej występuje ona też w mitochondriach zwierząt, to przez większą część trwania mitochondria tworzą małe, odizolowane i jednorodne genetycznie populacje. U współczesnych Eukaryota proces

degeneracji genomu mitochondrialnego wydaje się być zatrzymany, w czym znaczącą rolę musi odgrywać dobór naturalny, działający na organizmy gospodarzy, którym mitochondria zapewniają niezbędną do życia funkcję. W koń-

cowej części niniejszego artykułu omówiono też różne hipotezy próbujące wytłumaczyć to, dlaczego genom mitochondriów nie zaniknął całkowicie, przenosząc resztkę kodowanej informacji do genomu gospodarza.

## POCHODZENIE I EWOLUCJA PROTEOMU MITOCHONDRIÓW

Utrata informacji zakodowanej w genomie mitochondriów pociągnęła za sobą przejście większości jego funkcji przez genom jądrowy. W proteomie mitochondriów, liczącym od około 600 (drożdże) do prawie dwóch tysięcy (ssaki) białek, jedynie kilkanaście (maksymalnie 67 u *R. americana*) białek kodowanych jest przez genom tego organellum. Ich ewolucyjna historia jest dosyć złożona (patrz artykuły przeglądowe KURLAND i ANDERSSON 2000, BURGER i współaut. 2003). Część stanowią geny pochodzące z genomu endosymbionta, które w toku ewolucji przeniosły się do genomu jądrowego. Najprawdopodobniej większość genów pochodzenia eubakteryjnego znajdujących w genomach eukariontów ma takie właśnie pochodzenie, choć nie można wykluczyć, że niektóre trafiły tam przez transfer horyzontalny albo są pozostałościami innych zdarzeń symbiotycznych niż powstanie mitochondriów. Ucieczkę DNA z mitochondriów do jądra można zaobserwować nawet w warunkach laboratoryjnych (u drożdży *S. cerevisiae*), wiele przesłanek przemawia zatem za takim mechanizmem pochodzenia tej części proteomu mitochondriów. Drugą grupę stanowią geny gospodarza, które w toku ewolucji pojawiły się, lub zmieniły dotychczasową rolę tak, by zapewniać niezbędne dla organellum funkcje. Mogły one zastąpić utracone geny endosymbionta, albo dostarczyć nowe funkcje, niezbędne dla współdziałania organellum z resztą komórki. Filogenetycznie są to geny bliższe genom Archaea niż eubakterii, choć po ponad miliardzie lat ewolucji sygnał filogenetyczny często ulega zatarciu.

Bardzo interesującą, choć mniej liczną grupę stanowią geny, które nie pochodzą ani z genomu endosymbionta, ani z genomu gospodarza. Fascynującym przykładem są geny kodujące polimerazę RNA, która odpowiada za transkrypcję genów mitochondrialnych (BURGER i współaut. 2003, SHUTT i GRAY 2006). W prymitywnych mitochondriach *Reclinomonas americana*, które zachowały wiele cech bakterii, za transkrypcję odpowiada polimeraza bardzo przypominają-

ca enzym znany u bakterii, kodowana przez genom mitochondrialny. Tymczasem u praktycznie wszystkich znanych eukariontów funkcję tę pełni enzym kodowany w jądrze, którego sekwencja przypomina polimerazy RNA bakteriofagów z grupy T (zwłaszcza T7 i T3). W toku ewolucji doszło zatem do zastąpienia funkcji kodowanej przez genom mitochondrialny przez białko pochodzenia wirusowego. W tym kontekście niezwykle ciekawym przypadkiem są mitochondria brunatnicy *Pylaiella littoralis* (ROUSVOAL i współaut. 1998, SHUTT i GRAY 2006). W genomie mitochondrialnym tego organizmu zachowały się ślady działania polimerazy RNA typu bakteryjnego, w postaci specyficznych dla niej sekwencji promotorowych. Znajduje się w nim także wstawiony fragment DNA, o charakterze zbliżonym do sekwencji plazmidowych, który koduje polimerazę RNA typu fagowego. Mitochondria *Pylaiella* stanowią zatem ślad wskazujący na to, jak mogła przebiegać ewolucja białek odpowiedzialnych za transkrypcję w tych organellach – począwszy od kodowanej w DNA mitochondrialnym polimerazy typu bakteryjnego (jak u *Reclinomonas*), poprzez wstawienie genów pochodzenia wirusowego do genomu symbionta mitochondrialnego (jak u *Pylaiella*), aż do obserwowanej w ogromnej większości organizmów sytuacji, w której geny pochodzenia fagowego zostały przeniesione do genomu jądrowego – gospodarza.

Ciekawym świadectwem ewolucyjnej przeszłości jest też nierównomierny rozkład genów pochodzących od gospodarza i od endosymbionta w różnych klasach funkcjonalnych (KURLAND i ANDERSSON 2000, EMBLEY i MARTIN 2006). Największy udział genów pochodzenia eubakteryjnego (a zatem pochodzących z genomu symbionta, choć przeniesionych już do jądra) znajdziemy wśród odpowiadających za ekspresję genomu mitochondrialnego, przemiany energii i procesy biosyntetyczne. Natomiast ogromna większość genów, kodujących białka budujące strukturę błony, regulujące metabolizm organellum i zapewniające transport sub-

stancji pomiędzy mitochondriami a cytoplazmą pochodzi z genomu gospodarza. Można na tej podstawie pokusić się o stwierdzenie, że to głównie ewolucja genomu gospodarza

doprowadziła do „udomowienia” endosymbionta i zintegrowania go z metabolizmem całej komórki.

### RÓŻNORODNOŚĆ ORGANIZACJI GENOMÓW MITOCHONDRIALNYCH

Pomimo tego że mitochondria współczesnych eukariontów są najprawdopodobniej monofiletyczne, ich różnorodność pod względem organizacji i mechanizmów ekspresji zawartego w nich materiału genetycznego jest zdumiewająca (patrz praca przeglądowa BURGER i współaut 2003). Dotyczy to zwłaszcza obszarów niekodujących i różnych mechanizmów ekspresji genów, gdyż zawartość informacyjna wszystkich mtDNA jest stosunkowo niewielka – w najbardziej rozbudowanym genomie mitochondrialnym (*Reclinomonas americana*) nie przekracza 100 genów. W genomach mitochondrialnych spotkać możemy najróżniejsze formy organizacji fizycznej: liniowe chromosomy występujące pojedynczo lub w postaci konkatamerów (czyli połączonych kolejno wielu kopii cząsteczki), zestawy cząsteczek liniowych, chromosomy kolisty, a nawet złożone sieci splecionych ze sobą cząsteczek kolistych (u Kinetoplastida).

Ogromną różnorodność stwierdza się również wśród mechanizmów ekspresji genów mitochondrialnych. Często (u Metazoa, grzybów i części Protista, ale już nie u roślin) stwierdza się odstępstwa od standardowego kodu genetycznego. Transkrypty mitochondrialne często (wyjątkiem są tu zwierzęta) zawierają introny grupy I i II (czyli odmienne od występujących w genach jądrowych), niekiedy zawierające wewnątrzintronowe geny. Spotyka się takie mechanizmy, jak redagowanie (ang. editing) RNA, niekiedy (jak u Kinetoplastida) bardzo powszechne i dotyczące wszystkich transkryptów.

Wielkość mtDNA różnych organizmów waha się w bardzo szerokim zakresie, którego granice wyznaczają z jednej strony rośliny wyższe (do 2400 kb), zaś z drugiej strony Metazoa (14–42 kb). Najmniejszym znanym genomem mitochondrialnym jest mtDNA pierwotniaka *Plasmodium falciparum* o długości 6 kb. Za to zróżnicowanie odpowiadają głównie obszary niekodujące, brak bowiem korelacji między rozmiarem genomu mitochondrialnego a liczbą zawartych w nim genów. Wśród genomów mitochondrialnych spotykamy takie, których

organizacja jest bardzo zwarta, a prawie całość niewielkiego genomu wykorzystana jest do kodowania informacji. Przykładem są mitochondria zwierząt (Metazoa), gdzie najczęściej spotyka się wielkość około 16 kb. Brak w nich długich obszarów niekodujących, geny pozbawione są intronów i sekwencji niepodlegających translacji (UTR). Stosunkowo krótki obszar regulatorowy odpowiada za replikację i za powstanie nielicznych (2–3) policistronowych transkryptów, z których w toku obróbki RNA wycinane są ostateczne mRNA, tRNA i rRNA. W innych grupach spotykamy natomiast genomy mitochondrialne o bardziej luźnej organizacji. U drożdży *S. cerevisiae* genom mitochondrialny liczy już ponad 80 kb, z czego większość przypada na sekwencje niekodujące. W części transkryptów występują introny, mRNA zawiera długie sekwencje UTR (pełniące ważną rolę w regulacji translacji). Niektóre transkrypty są policistronowe, jednak miejsc startu transkrypcji jest wyraźnie więcej, niż u zwierząt (około 13 pierwotnych transkryptów). Skrajny przykład stanowi DNA mitochondrialny niektórych roślin lądowych, dochodzący do 2000 kb (u dyniowatych). W transkryptach występują liczne introny, a bardzo długie obszary niekodujące pomiędzy genami zawierają liczne sekwencje powtórzone, w obrębie których często dochodzi do rekombinacji.

Co ciekawe, nie ma związku między zwartością genomu jądrowego i mitochondrialnego – genom mitochondrialny ssaków jest bardzo zwarty, podczas gdy ich genom jądrowy zawiera liczne introny i sekwencje niekodujące, natomiast u drożdży *S. cerevisiae* obserwujemy sytuację odwrotną – genom jądrowy jest zwarty, zawiera niewiele intronów, a obszary międzygenowe są krótkie, zaś genom mitochondrialny ma organizację o wiele luźniejszą, niż u zwierząt. Widać zatem, że organizacja genomu jądrowego i mitochondrialnego jest w odmienny sposób kształtowana przez dobór naturalny w ewolucji.

## DLACZEGO MITOCHONDRIA WCIAŻ ZACHOWUJĄ WŁASNY GENOM?

Wspominając o działaniu doboru naturalnego nie sposób na zakończenie nie zastanowić się nad jednym, fundamentalnym pytaniem – jaki jest ewolucyjny sens utrzymywania się szczątkowego i silnie zredukowanego genomu mitochondrialnego i dlaczego redukcja genomu mitochondrialnego nie doprowadziła do jego całkowitego zaniku? Koduje on zaledwie kilkanaście białek, czyli około 1% proteomu mitochondriów, tymczasem w zapewnienie jego utrzymania, replikacji i ekspresji zaangażowanych jest co najmniej 100 białek kodowanych w genomie jądrowym (dane dla drożdży, w przypadku wyższych eukariontów liczba ta jest prawdopodobnie większa). Istnieje wiele teorii próbujących wyjaśnić, dlaczego nie wszystkie geny endosymbionta zostały przeniesione do genomu jądrowego albo zastąpione genami gospodarza.

Jednym z mechanizmów blokujących dalszy transfer genów do jądra mogą być różnice w kodzie genetycznym wykorzystywanym przez mitochondria i jądro (DE GREY 2005), choć pamiętać należy, że istnieją grupy organizmów (np. rośliny), u których kod mitochondrialny nie różni się od standardowego. Kod genetyczny nie stanowiłby też przeszkody dla przejmowania funkcji przez istniejące lub nowo powstające geny gospodarza. Niewątpliwie jednak zmieniony kod genetyczny, a zwłaszcza zmiana znaczenia kodonu UGA, który w kodzie standardowym jest kodonem STOP, a w mitochondriach zwierząt i grzybów koduje tryptofan, może być poważną barierą dla transferu genów mitochondrialnych do jądra i przyczyniać się do utrzymania mitochondrialnego systemu genetycznego.

Inna, bardzo popularna koncepcja zakłada, że głównym powodem, dla którego niektóre białka są wciąż kodowane w genomie mitochondrium jest to, że ich synteza w cytoplazmie i import do organellum byłyby niemożliwe lub bardzo kosztowne ze względu na właściwości biofizyczne (DE GREY 2005). Wskazuje się tu zwłaszcza na znaczną hydrofobowość białek takich jak apocytochrom b, które u wszystkich znanych eukariontów kodowane są w genomie mitochondrialnym. Dotyczy to również dłuższych cząsteczek RNA, czyli rRNA (tRNA mogą być importowane do mitochondrium). W przypadku niektórych kodowanych mitochondrialnie białek udało się w laboratorium stworzyć ich

warianty, kodowane w genomie jądrowym i importowane do organellum (np. atp8 u drożdży), jednak dla wielu innych się to nie udało, mimo wielu prób. Możliwość maszynierii importującej białka do mitochondriów wydają się zatem być realnym czynnikiem, który może ograniczać transfer genów do jądra. Pewnym wariantem tej hipotezy jest sugestia, że białka kodowane w genomie mitochondrialnym mogłyby być bardzo szkodliwe dla komórki, gdyby przypadkowo zostały wbudowane w inne błony, niż wewnętrzna błona mitochondrium – utrzymanie kodujących je genów w genomie organellum byłoby zatem zabezpieczeniem przed wydostaniem się ich poza mitochondrium.

Kolejne koncepcje opierają się na obserwacji, że u wszystkich eukariontów wśród białek kodowanych przez genom mitochondrialny znajdują się podjednostki głównych kompleksów łańcucha oddechowego. Teoria CORR (ang. CO-location for Redox Regulation) zakłada, że w genomie organellarnym kodowane są białka, których ekspresja jest bezpośrednio regulowana przez stan redox przenośników elektronów, lub przez inne parametry metaboliczne (ALLEN i współaut 2005). Wadą tej koncepcji jest słabe wsparcie doświadczalne – stwierdzono dotychczas jedynie regulację przez stan redox ekspresji genów chloroplastowych, a u drożdży wykazano zależność transkrypcji genów mitochondrialnych od poziomu ATP. Nie wiadomo jednak, na ile są to mechanizmy uniwersalne.

Źródłem następnej hipotezy jest obserwacja, że u roślin wyższych i u zwierząt wielokomórkowych wyewoluowały, najprawdopodobniej niezależnie od siebie, mechanizmy zapewniające dziedziczenie genów mitochondrialnych wyłącznie od jednego z rodziców. Całe grupy sprzężonych polimorfizmów w mtDNA dziedziczą się zatem razem i nie są rozbijane przez rekombinację. Stwierdzono też, że różne warianty mtDNA człowieka, do niedawna uważane za neutralne polimorfizmy, mogą podlegać doborowi naturalnemu, głównie zależnemu od klimatu (patrz artykuł BARTNIK w tym zeszycie KOSMOSU). W połączeniu z wysoką zmiennością genetyczną genomu mitochondrialnego obserwacje te prowadzą do wniosku, że genom mitochondrialny może być wydzielony ze względu na duże możliwości adaptacji do warunków środowiska, a wyselekcjonowane i zgrane ze sobą układy wa-

riantów w poszczególnych genach dziedziczą się w sposób niezakłócony przez rekombinację (WALLACE 2007). Genom mitochondrialny stanowiłby zatem ewolucyjną pierwszą linię reakcji na zmieniające się warunki środowiska dzięki wysokiej zmienności i zapewnianemu przez dziedziczenie jednorodzicielskie utrzymaniu sprzężenia koewoluujących wariantów poszczególnych genów.

Badania nad DNA mitochondrialnym stanowiły klucz do zrozumienia najważniejszych momentów w ewolucji eukariontów. Historię życia na Ziemi w ciągu ostatniego miliarda-dwóch miliardów lat kształtowała wspólna

ewolucja dwóch współdziałających systemów genetycznych o różnym pochodzeniu. Badając ewolucję mtDNA możemy też odpowiadać na pytania dotyczące niedawnej historii różnych gatunków, w tym człowieka (patrz też artykuł BARTNIK w tym zeszycie KOSMOSU). Mimo, że ostatnie lata przyniosły w tej dziedzinie wiele nowych odkryć, a rozwój metod sekwencjonowania DNA pozwala liczyć na coraz szybsze i skuteczniejsze pozyskiwanie nowych danych, problem pochodzenia i ewolucji mitochondriów wciąż kryje wiele tajemnic i zapowiada wiele fascynujących odkryć w przyszłości.

## THE ORIGIN AND EVOLUTION OF THE MITOCHONDRIAL GENOME

### Summary

The origin of the eukaryotic cellular organisation was one of the most important evolutionary breakthroughs. Current models closely tie the origin of the eukaryotic cell to the endosymbiotic acquisition of mitochondria, that descent from the eubacterial lineage. Currently existing amitochondriate eukaryotes have organelles that appear to be degenerate mitochondria, deprived of the respiratory function, suggesting that the last common ancestor of Eukaryotes did contain a mitochondrial symbiont. In the course of evolution the organellar genome lost most of its informational content, most likely due to the degenerative effect acting on isolated asexual populations, known as the Müller's ratchet. In modern eukaryotes it encodes only a handful of proteins, while the

majority of the mitochondrial proteome is encoded in the nucleus. Mitochondrial proteins are encoded partly by ancient eubacterial endosymbiont's genes that were transferred to the nucleus, partly by host's genes descended from the archaeobacterial ancestor, and partly by genes of other origins, like the mitochondrial RNA polymerase genes, derived from bacteriophages. Why the mitochondria still retain their rudimentary genome, that requires a considerable expense to maintain and express, is not clear. Several explanations were put forward, linking the persistence of the mitochondrial genome to the particular biophysical properties of the proteins it encodes, or to its role in adaptation to the requirements of the environment.

### LITERATURA

- ALLEN J. F., PUTHIYAVEETIL S., STRÖM J., ALLEN C. A., 2005. *Energy transduction anchors genes in organelles*. *BioEssays* 27, 426-435.
- ANDERSSON S. G., KURLAND C. G., 1998. *Reductive evolution of resident genomes*. *Trends Microbiol.* 6, 263-268.
- ANDERSSON S. G., ZOMORODIPOUR A., ANDERSSON J. O., SICHERITZ-PONTEN T., ALSMARK U. C., PODOWSKI R. M., NASLUND A. K., ERIKSSON, A. S., WINKLER H. H., KURLAND C. G., 1998. *The genome sequence of Rickettsia prowazekii and the origin of mitochondria*. *Nature* 396, 133-140.
- BURGER G., GRAY M. W., LANG B. F., 2003. *Mitochondrial genomes: anything goes*. *Trends Genet.* 19, 709-716.
- DE GREY A. D. N. J., 2005. *Forces maintaining organellar genomes: is any as strong as genetic code disparity or hydrophobicity?* *BioEssays* 27, 436-446.
- EMBLEY T. M., MARTIN W., 2006. *Eukaryotic evolution, changes and challenges*. *Nature* 440, 623-630.
- KURLAND C. G., ANDERSSON S. G. E., 2000 *Origin and evolution of the mitochondrial proteome*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 786-820.
- LANG B. F., BURGER G., O'KELLY C. J., CEDERGREN R., GOLDING G. B., LEMIEUX C., SANKOFF D., TURMEL M., GRAY M. W., 1997. *An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature*. *Nature* 387, 493-497.
- LANG B. F., GRAY M. W., BURGER G., 1999. *Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes*. *Annu. Rev. Genet.* 33, 351-397.
- LILL R., FEKETE Z., SIPOS K., ROTTE C., 2005. *Is there an answer? Why are mitochondria essential for life?* *IUBMB Life* 57, 701-703.
- MARGULIS L., 1970. *Origin of eukariotic cells*. Yale University Press, New Haven.
- MARTIN W., MÜLLER M., 1998. *The hydrogen hypothesis for the first eukaryote*. *Nature* 392, 37-41.
- ROUSVOAL S., OUDOT M., FONTAINE J., KLOAREG B., GOËR S. L., 1998. *Witnessing the evolution of transcription in mitochondria: the mitochondrial genome of the primitive brown alga Pylaiella littoralis (L.) Kjellm. Encodes a T7-like RNA polymerase*. *J. Mol. Biol.* 277, 1047-1057.
- SHUTT T. E., GRAY M. W., 2006. *Bacteriophage origins of mitochondrial replication and transcription proteins*. *Trends Genet.* 22, 90-95.
- WALLACE D. C., 2007. *Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine*. *Annu. Rev. Biochem.* 76, 781-821.