

## ABSTRAKT (CZECH)

Mitochondrie plní řadu významných funkcí v eukaryotických buňkách, jako je energetický metabolismus, syntéza železo-sirných center, apoptóza, buněčná signalizace, kontrola kvality proteinů atd. Většina mitochondriálních proteinů je syntetizována na cytosolických ribozomech a transportována do organel za pomoci cytosolických chaperonů a mitochondriálních membránových translokáz, které rozpoznávají specifické adresové sekvence. Přestože základní principy importu proteinů jsou známy, mnoho otázek zůstává nezodpovězeno, zejména u vysoce modifikovaných mitochondrií, jako jsou hydrogenosomy. Cílem této studie bylo prozkoumat translokaci proteinů do hydrogenosomů lidského parazita *Trichomonas vaginalis* (Tv), se zaměřením na složení, funkci a strukturu proteinových translokáz a roli adresových sekvencí.

Translokáza vnější mitochondriální membrány (TOM) je zodpovědná za import většiny proteinů do mitochondrií. Ačkoliv přítomnost komplexu TOM v hydrogenosomech trichomonád byla predikována na základě analýzy genomu, jednotlivé složky komplexu nebyly známy. Navíc ani celková struktura mitochondriálního komplexu TOM nebyla zcela vyřešena. Tato studie ukázala, že komplex TvTOM je velmi divergentní, sestávající se ze dvou modifikovaných základních podjednotek – TvTom40, který tvoří translokační kanál a protein podobný Tom22, a dále ze dvou podjednotek specifických pro linii trichomonád – Tom36 a Tom46, které pravděpodobně fungují jako receptory. TvTOM navíc tvoří stabilní superkomplex se Sam50, který se podílí na biogenezi  $\beta$ -barelových proteinů. Elektronová mikroskopie odhalila, že studovaná translokáza obsahuje triplet pórů a má neobvyklý tvar připomínající lebku.

Preproteiny, které jsou určeny pro transport do mitochondriální matrix obvykle nesou N-terminální adresovou sekvenci (NTS). Je proto zajímavé, že glykolytický enzym, ATP-dependentní fosfofruktokináza (ATP-PFK) je importován do hydrogenosomů bez predikovatelné NTS. Lokalizační experimenty prokázaly, že TvATP-PFK a homologní ATP-PFK z kvasinek a *E. coli* mají neznámé interní adresové signály (ITS), které jsou rovněž rozpoznávány importní mašinerií. Z evolučního hlediska může být schopnost mitochondrií a hydrogenosomů rozpoznávat proteiny jako je ATP-PFK na základě ITS původním mechanismem, zatímco import, který závisí na NTS se objevil později. *T. vaginalis* má řadu proteinů kotvených C-terminální doménou (tail-anchored, TA) ve vnější hydrogenosomální membráně, včetně nově charakterizovaných podjednotek TvTOM. Analýzy fyzikálně-

chemických vlastností a lokalizační experimenty ukázaly specifické vlastnosti hydrogenosomálních TA proteinů, jako je vyšší kladný náboj v C-terminálním segmentu, který je v ostatních eukaryotických buňkách charakteristický pouze pro peroxisomální TA proteiny, a ve srovnání s mitochondriálními TA proteiny, hydrogenosomální TA proteiny mají delší transmembránovou doménu.

Celkově tyto studie ukazují, že import proteinů do hydrogenosomů je ve srovnání s mitochondriemi v mnoha aspektech odlišný. Ačkoliv komplex TOM s tripletem pórů složených ze tří centrálních podjednotek, byl patrně přítomen již u posledního společného předka eukaryotických organismů, periferní receptory se vyvíjely nezávisle v různých eukaryotických liniích. Změny pozorované ve struktuře translokáz a adresových sekvencích u hydrogenosomů s největší pravděpodobností odrážejí adaptaci hydrogenosomů k anaerobním podmínkám, zejména ztrátu respiračních komplexů, která vedla ke snížení nebo ztrátě membránového potenciálu.