

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program Biologie
Biologie a geografie se zaměřením na vzdělávání



David Trokšiar

Ztráty mitochondrií a plastidů v evoluci eukaryot
Losses of mitochondria and plastids in the evolution of eukaryotes

Bakalářská práce

Školitel: doc. Mgr. Vladimír Hampl, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 23. 8. 2017

.....

David Trokšiar

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli doc. Mgr. Vladimíru Hamplovi, Ph.D. za pomoc a cenné rady při psaní této práce.

Abstrakt:

Mitochondrie i plastidy byly získány endosymbiotickou událostí, při které došlo k pohlcení prokaryotického organismu předky dnešních eukaryot. V evoluci plastidů je známo více endosymbiotických událostí. Při primární endosymbióze došlo k pohlcení sinice heterotrofním eukaryotickým organismem. Při následujících sekundárních, terciárních a kvartérních endosymbiotických událostech, došlo k pohlcení eukaryotické buňky jiným eukaryotem. Mitochondrie vznikla pohlcením α -proteobakterie. V evoluci eukaryot došlo u mnohých druhů k redukci mitochondrie, které umožnili život v anaerobním prostředí. Nejméně redukovanou formou jsou anaerobní mitochondrie, které si společně s aerobní mitochondrií a vodík produkující mitochondrií zachovaly genom. Hydrogenosomy a nejvíce redukované mitosomy si genom nezachovaly. Opakované redukce plastidů v mnohých liniích vedly ke ztrátě schopnosti fotosyntetizovat. V posledních letech přibývá dokladů o organismech, které semiautonmní organelu zcela ztratily. Ke ztrátě plastidu došlo minimálně u dvou parazitických zástupců alveolát, *Cryptosporidium parvum* a *Hematodinium* sp., a ke ztrátě mitochondrie u endobioticky žijící oxymonády *Monocercomonoides* sp.. Semiautonmní organely se staly u těchto druhů postradatelné, jelikož tyto organizmy dokázaly jejich metabolismus nahradit alternativními biosyntetickými drahými, nebo si dokáží svoji potřebu specifických látek uspokojit jejich získáváním z hostitele.

Klíčová slova: Mitochondrie, plastid, endosymbióza, ztráta, oxymonády, *Cryptosporidium*, *Hematodinium*

Abstract:

Mitochondria and plastids were acquired by endosymbiotic event, where prokaryotic organism was engulfed by ancestors of extant eukaryotes. There are more known endosymbiotic events in plastid evolution. In primary endosymbiosis cyanobacterium cell was engulfed by heterotrophic eukaryotic organism. In following secondary, tertiary and quaternary endosymbiotic events eukaryotic cell was engulfed by another eukaryote. Mitochondria originated by engulfment of α -proteobacteria. In the evolution of eukaryotes, reduction of mitochondria occurred in many lineages, making living under anaerobic conditions possible. The least reduced form is anaerobic mitochondria, which together with aerobic mitochondria and hydrogen producing mitochondria, possess genome. Hydrogenosomes and the most reduced form mitosomes, does not possess genome. Plastid reductions led to loss of photosynthetic ability. In last years, more examples of organisms that lost entirely their semi-autonomous organelle, are coming. Loss occur at two parasitic representatives of the Alveolata group, and one endobiotic oxymonad. Parasites *Cryptosporidium parvum* and *Hematodinium* lost nonphotosynthetic plastid, whereas *Monocercomoides* lost its mitochondria. Semi-autonomous organelles were dispensable, because all representatives have access to alternative biosynthetic pathways, or they can substitute the need for synthesis specific compounds by acquisition them from the host.

Key words: Mitochondrion, plastid, endosymbiosis, loss, oxymonads, *Cryptosporidium*, *Hematodinium*

Obsah

Abstrakt:	- 4 -
1. Úvod	- 7 -
2.1. Původ mitochondrie	- 8 -
2.2. Biochemické procesy v mitochondrii	- 8 -
2.2.1. Oxidativní fosforylace	- 8 -
2.2.2. Syntéza Fe-S center	- 8 -
2.3. Redukované mitochondrie.....	- 9 -
2.3.2. Anaerobní mitochondrie.....	- 10 -
2.3.3. Vodík produkující mitochondrie	- 10 -
2.3.4. Hydrogenosomy	- 10 -
2.3.5. Mitosomy	- 11 -
3.1. Původ a evoluce plastidu	- 11 -
3.2. Dráhy v plastidu	- 13 -
3.2.1. Fotosyntéza.....	- 13 -
3.2.2. Syntéza prekurzoru isoprenoidů	- 13 -
3.2.3. Syntéza tetrapyrrolů.....	- 14 -
3.2.4. Syntéza Fe-S center	- 14 -
3.2.5. Syntéza mastných kyselin	- 14 -
3.3. Redukované plastidy	- 15 -
3.3.1. Apikoplast	- 15 -
3.3.2. Plastid <i>Euglena longa</i>	- 15 -
3.3.3. Plastid <i>Prototheca wickerhamii</i>	- 16 -
3.3.4. Plastid <i>Helicosporidium</i> sp.....	- 16 -
4. Endosymbiotický genový transfer a transport do organel	- 16 -
4.1. Cílení proteinů do semiautonomních organel	- 17 -
4.1.1. Cílení proteinů do primárních plastidů.....	- 17 -
4.1.2. Cílení proteinů do sekundárních a vyšších plastidů	- 18 -
4.1.3. Cílení proteinů do mitochondrie.....	- 20 -
4.2. Endosymbiotický genový transfer	- 21 -
5. Ztráty genomů mitochondrií	- 21 -
6. Ztráty genomů plastidů	- 22 -
7. Ztráta mitochondrií	- 24 -
8. Ztráty plastidů	- 25 -
8.1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	- 25 -
8.2. <i>Hematodinium</i>	- 26 -
9. Závěr	- 28 -
Seznam použité literatury	- 30 -

1. Úvod

Eukaryotická buňka má mnoho odlišností od buňky prokaryotické. Ať už se jedná o velikost či organizaci, jejich rozdíly jsou patrné už pod světelným mikroskopem. Kromě toho, že eukaryotická buňka je značně větší, obsahuje také větší množství organel. Mezi nimi i organely semiautonomní, získané endosymbiózou. První z těchto organel, mitochondrie, byla získána pohlcením α -proteobakterie, zatímco v případě plastidu došlo k zakomponování sinice. K endosymbiotickému vzniku mitochondrie došlo před více než 1,5 miliardou let u předka všech dnešních eukaryot, a poté u některých eukaryotických linií následovalo i pozření plastidu.

V průběhu evoluce života na Zemi došlo k řadě modifikací semiautonomních organel. Jednalo se o změny k složitějším formám, ale i k redukci a zjednodušení. Při evoluci plastidu došlo k seriální endosymbióze, kdy byl pohlcen organismus s primárním plastidem heterotrofním eukaryotickým organismem a vznikl tak plastid sekundární. Složitější sekundární plastidy se vyznačují větším množstvím membrán a u některých linií také přítomným nukleomorfem či novou variantou chlorofylu – chlorofylem c. U mitochondrií neznáme případy seriální endosymbiózy, ale i tak se rozlišuje několik forem odvozených mitochondrií. Tyto formy jsou v porovnání s klasickou mitochondrií většinou redukovány. V extrémních a ojedinělých případech došlo dokonce ke kompletní ztrátě organel, a to jak plastidu, tak mitochondrie.

Ztráta semiautonomní organely je vzhledem k nízkému počtu organismů, u kterých k této události došlo, velmi vzácný jev. S čím tedy souvisí tak vzácná událost a jakým způsobem ke ztrátě dochází? V této práci shrnu dosavadní znalosti o ztrátách semiautonomních organel a co je spojuje.

2.1. Původ mitochondrie

Podle endosymbiotické teorie, již prosadila Lynn Margulisová v 60 letech minulého století, vznikla mitochondrie pohlcením bakterie (Sagan, 1967). Později bylo zjištěno, že pohlcená bakterie patřila mezi α -proteobakterie (Yang, et al., 1985). Ačkoli se za nejbližší příbuzné mitochondrie často považovali vnitrobuněční parazité rodu *Rickettsia* nebo *Ehrlichia* (Lang et al., 1999), podle nejnovějších výzkumů je bližší určení předka mitochondrie nejasné (Rodríguez-Ezpeleta & Embley, 2012). Tato událost se odehrála u společného předka všech dnešních eukaryotických organismů (López-García & Moreira, 2015).

2.2. Biochemické procesy v mitochondrii

V následujících kapitolách velmi stručně popíšu nejdůležitější biochemické dráhy probíhající v mitochondriích, přičemž se zaměřím na dvě dráhy důležité pro tuto práci – oxidativní fosforylaci a syntézu Fe-S center.

2.2.1. Oxidativní fosforylace

Oxidativní fosforylace je poháněná elektrony z kofaktorů NADH a FADH₂, které jsou získávány z pyruvátu, mastných kyselin, aminokyselin a z malátu. Tyto molekuly jsou za pomoci enzymů v matrix mitochondrie převedeny na acetyl-CoA, a následně jsou oxidovány v cyklu kyseliny citronové. Výslednými produkty cyklu jsou NADH a FADH₂ a CO₂ jakožto vedlejší produkt. Elektrony z NADH a FADH₂ jsou následně přeneseny do vnitřní mitochondriální membrány, kde se účastní reakcí v elektrontransportním řetězci. Ten se skládá ze čtyř proteinových komplexů: NADH-dehydrogenázový komplex (komplex I), sukcinát-dehydrogenázový komplex (komplex II), komplex cytochromů b-c₁ (komplex III) a cytochromoxidázový komplex (komplex IV) (Saraste, 1999). Při přenosu elektronů dochází k čerpání protonů napříč membránou a vytváření protonového gradientu (Hopfer et al., 1968). NADH-dehydrogenáza katalyzuje první reakci, kdy je z NADH odštěpen proton a dva vysokoenergetické elektrony. Tyto elektrony jsou poté v řetězci předávány za pomoci přenašečů mezi komplexy. Z prvního a druhého komplexu jsou elektrony přenášeny na třetí komplex pohyblivým ubichinonem a mezi třetím a čtvrtým komplexem pohyblivým přenašečem cytochromem c. Ostatní přenašeče jsou vázané na proteiny a patří mezi ně Fe-S centra, či hemové skupiny. Elektrony postupně ztrácejí energii. Při výstupu z cytochromoxidázy se spojí s molekulou O₂ za vzniku vody. Vytvořený protonový gradient se využívá pro pohon ATP-syntázy, skrze kterou prochází protony ve směru z vysoké koncentrace do nižší, tedy do matrix (Senior, 1988). Procházející protony umožňují vznik ATP z ADP a P_i (Alberts et al., 2002).

2.2.2. Syntéza Fe-S center

Další velmi důležitý proces, který musí probíhat v každé buňce, je syntéza železo-sírných center. Enzymy zapojené ve fixaci dusíku, fotosyntéze, nebo oxidativní fosforylaci využívají právě Fe-S

centra pro přenos elektronů. Přenos elektronů není ale jediná funkce těchto center, využívají se i při transkripci a translaci (Kiley & Beinert, 2003). Pro syntézu Fe-S center je napříč organismy využíváno hned několik různých drah: cytosolic iron-sulfur cluster assembly (CIA), iron sulfur cluster assembly (ISC), sulfur formation (SUF) a nitrogen fixation (NIF). Z těchto drah jen ISC probíhá přímo v mitochondrii (Wiedemann et al., 2006). Všechny eukaryotické buňky využívají cytosolickou CIA dráhu, která však není schopná pracovat zcela samostatně. ISC dráha syntetizuje Fe-S centra pro mitochondriální proteiny, ale je nutná i pro fungování cytosolické CIA dráhy (Kispal et al., 1999). Sloučenina obsahující síru je za pomoci ABC přenašečů dodávána z mitochondriální dráhy ISC do cytosolu pro finální sestavení Fe-S centra dráhou CIA (Lill & Stehling, 2013).

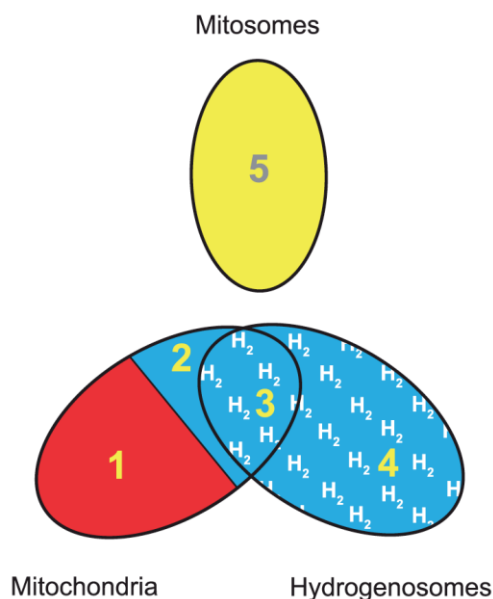
NIF dráha se nejčastěji vyskytuje u dusík fixujících bakterií, jako je například *Azobacter binelandii* (Johnson et al., 2005). Ale dva zástupci archaméb, parazitická *Entamoeba histolytica* a její volně žijící příbuzný *Mastigamoeba balamuthi*, využívají NIF dráhu pro syntézu Fe-S center (Ali et al., 2004)(Gill et al., 2007). NIF dráha byla u zmíněných archaméb získána pravděpodobně horizontálním genovým přenosem u společného předka *E. histolytica* a *M. balamuthi* (Ali et al., 2004).

SUF dráha se vyskytuje u bakterií a mezi eukaryoty je nejčastěji přítomná u organismů s plastidem (Bernard et al., 2013), ale také například u anaerobního parazita *Blastocystis*, kde je lokalizovaná v cytosolu (Tsaousis et al., 2012). Podle Tsaousis et al. (2012) byla SUF dráha v případě *Blastocystis* získána horizontálním genovým přenosem od methanogenních archeí ze skupiny *Methanomicrobiales*. U *Plasmodium falciparum* je většina SUF proteinů lokalizovaná v apikoplastu a úzce spolupracuje s dráhou ISC (Gisselberg et al., 2013).

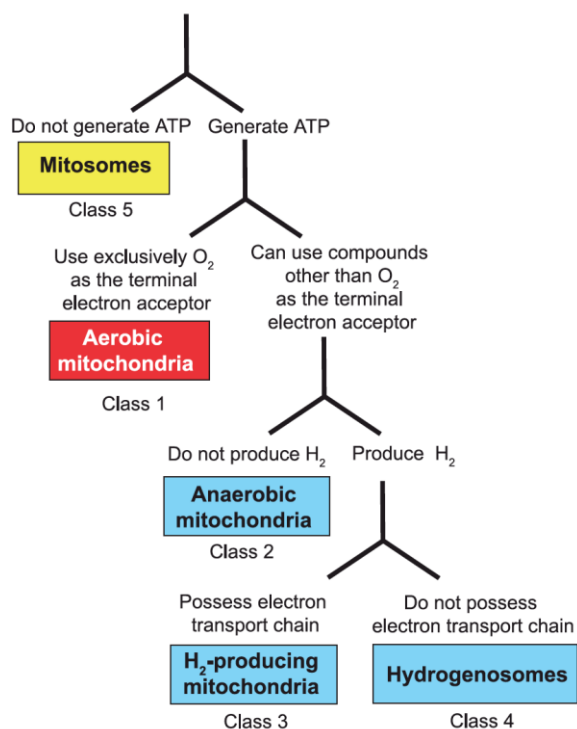
2.3. Redukované mitochondrie

V učebnicích buněčné biologie se pod pojmem mitochondrie skrývá dvoumembránová organela, jejíž vnitřní membrána vytváří záhyby viditelné pod mikroskopem zvané kristy. Mitochondrie se významně podílí na energetickém metabolismu, jelikož obsahuje enzymy pro cyklus kyseliny citronové a oxidativní fosforylaci. Díky reakcím katalyzovaným těmito enzymy je možné vytvářet ATP a transportovat jej do cytosolu. V roce 1973 byly nalezeny první důkazy, že pro všechny mitochondrie neplatí jen výše uvedené charakteristiky, ale že pravděpodobně existují mitochondrie redukované (Lindmark & Müller, 1973). Ty jsou nazývány organelami mitochondriálního původu a podle Müller et al. (2012) se rozdělují do pěti typů (obr. 1). Klasifikace však není zcela jasná, protože dochází k prolínání jednotlivých typů mezi sebou. V následujících odstavcích stručně popíšu jednotlivé typy tak, jak je uvádí Müller et al. (2012). Nebudu se více věnovat aerobní mitochondrii, která odpovídá popisu v úvodu této kapitoly, obsahuje vždy mitochondriální genom a jako terminální elektronový akceptor používá kyslík.

A. Organelles of Mitochondrial Origin



B. Functional Classification



Obr. 1: Organely mitochondriálního původu. Převzato z Müller et al. (2012).

2.3.2. Anaerobní mitochondrie

Anaerobní mitochondrie jsou přítomné jak u řady protist, tak i u některých zástupců skupiny Metazoa (Tielens et al., 2002). V případě *Euglena gracilis*, ale i jiných organismů se jedná spíše o fakultativně anaerobní mitochondrie. *E. gracilis* se může chovat jako autotrofní organismus při dostatku světla a využívat fotosyntézy, ale některé kmeny mohou žít i ve tmě a anaerobně (Zimorski et al., 2017). V případě anaerobních mitochondrií je jako terminální elektronový akceptor využívána nejčastěji sloučenina endogenního původu, jako je fumarát, ale někdy jsou využívány i sloučeniny exogenního původu, například nitrát (NO_3^-) (Tielens et al., 2002).

2.3.3. Vodík produkující mitochondrie

Nyctotherus ovalis je nálevník, jehož mitochondrie je schopná produkovat vodík, ale přitom se odlišuje od hydrogenosomů (De Graaf et al., 2011). Hlavní rozdíl spočívá v přítomnosti genomu a částečného elektron transportního řetězce, který však nevyužívá kyslík jako terminální akceptor (De Graaf et al., 2011; Müller et al., 2012). Díky schopnosti využívat protony jako terminální akceptory elektronů pomocí [Fe] hydrogenázy, dochází k produkci vodíku.

2.3.4. Hydrogenosomy

Hydrogenosomy lze najít u protistních organismů většinou žijících parazitickým způsobem života v anoxickém prostředí, nebo v místech s nedostatkem kyslíku (Müller, 1993). Příkladem organismů s hydrogenosomem jsou *Tritrichomonas foetus* (Lindmark & Müller, 1973), *Trichomonas vaginalis*

(Lindmark et al., 1975) a *Neocallimastix patriciarum* (Yarlett et al., 1986). Hydrogenosomy se od vodík produkujících mitochondrií liší absencí genomu, elektron transportního řetězce a enzymy cyklu kyseliny citronové (Clemens & Johnson, 2000). Nikdy netvoří kristy. Oxidací pyruvátu nebo malátu dokáží produkovat molekulární vodík (Müller, 1993). ATP je syntetizováno prostřednictvím fosforylace na substrátové úrovni (Schneider et al., 2011).

2.3.5. Mitosomy

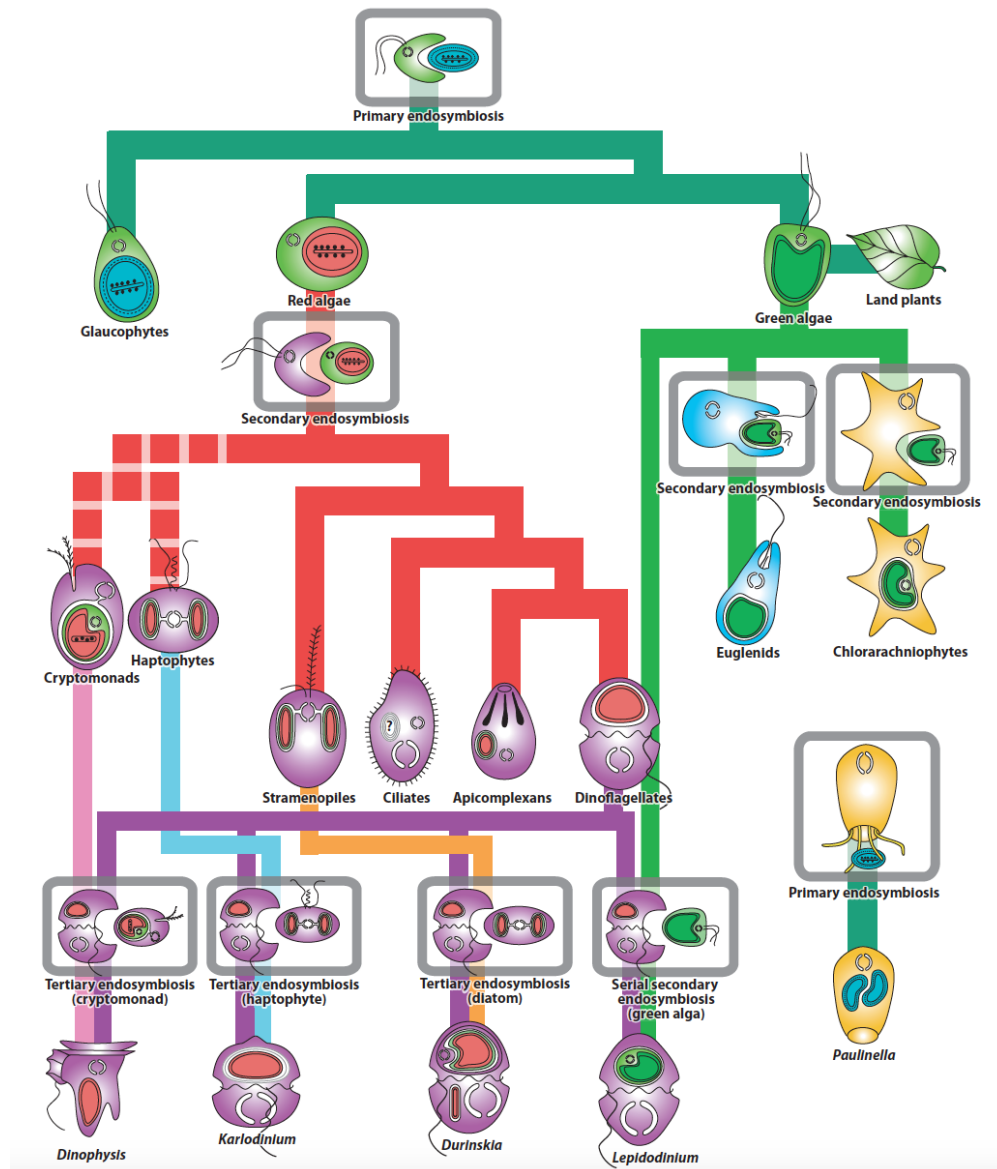
Organismy mající mitochondrie redukované na mitosomy jsou vždy anaerobní paraziti jako *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* (Tovar et al., 1999) a *Cryptosporidium parvum*. Mitosomy jsou dvoumembránové struktury bez krist (Tachezy & Šmíd, 2007). Lze je považovat za nejvíce redukovanou formu mitochondrie, ve které nedochází k produkci ATP. Organismy, které mají mitosomy, musí syntetizovat veškeré ATP v cytosolu. Funkce mitosomů nejsou zcela jasné, jediná zatím prokázaná funkce, je schopnost syntetizovat Fe-S centra u giardie nebo aktivovaného síranu u entaméby (Mi-ichi et al., 2015). Právě biosyntéza Fe-S center prostřednictvím ISC (Iron Sulfur Cluster assembly) dráhy, by mohla být důvod, proč si eukaryota zachovala velmi redukovanou formu mitochondrie i v anaerobním životním prostředí (Tachezy & Šmíd, 2007). Proti tomuto tvrzení, ale stojí fakt, že ISC dráha pro syntézu Fe-S center nebyla nalezena u *E. histolytica* (Tachezy & Šmíd, 2007). V *E. histolytica* jsou však přítomny komponenty alternativní dráhy NIF (Nitrogen Fixation), která se účastní biosyntézy Fe-S center, avšak není jasné, zdali figurují některé součásti NIF systému v mitosomu (Mi-ichi et al., 2009). Nicméně naprostá nezbytnost syntetizovat Fe-S centra zůstává.

3.1. Původ a evoluce plastidu

Zdrojem organely umožňující fotosyntézu u eukaryot byla primární endosymbióza, při které došlo k pohlcení a udržení si autotrofního symbionta v cytoplazmě eukaryotického hostitele (De Clerck et al., 2012). Za nejbližší žijící příbuzné plastidu se uvádí sinice *Gloeomargarita lithophora* (Ponce-Toledo et al., 2017). Endosymbiotická událost vedla k zakomponování dvoumembránového plastidu do buňky hostitele. Primární plastid se nachází jen u tří skupin česky pojmenovaných jako glaukophyty, zelené řasy a červené řasy, známé pod latinskými názvy: Glaucophyta, Chloroplastida a Rhodophyceae (Adl et al., 2012). Jelikož obě membrány plastidu vykazují vlastnosti membrán gram negativních bakterií, došlo pravděpodobně k zániku fagotrofního váčku (Cavalier-Smith, 2000). Homologii vnější membrány plastidu a sinice podporuje přítomnost galaktolipidů (Jarvis et al., 2000) a beta-barrelových proteinů (Schleiff, 2003). Zánik fagotrofního váčku se považuje za důležitý moment přerodu pohlcené bakterie v organelu (Keeling, 2013).

Během evoluce plastidů proběhla i následná sekundární endosymbióza (případně endosymbiózy ještě vyšších řádů), při kterých došlo k pohlcení eukaryota s plastidem jinou eukaryotickou buňkou a uchování plastidu endosymbionta. U sekundární endosymbiózy náležely pohlcené organismy do skupin Rhodophyceae nebo Chloroplastida (Keeling, 2004). Plastid vzniklý

sekundární endosymbiózou je nejčastěji obalený čtyřmi membránami, protože tentokrát nedošlo k degradaci fagotrofního váčku a došlo k zachování plazmatické membrány endosymbionta a dvou původních membrán (Keeling, 2004). Endosymbiózy sekundární a vyšších řádů vedly ke vzniku plastidů u mnoha linií (obr. 2). Jako příklady uvádím chlorarachniophyta, kryptophyta, haptophyta, stramenopila a apikomplexa. U dvou linií, Dinoflagellata a Euglenida, došlo ke ztrátě jedné z membrán, pravděpodobně plazmatické membrány endosymbionta (Keeling, 2013). Plastid tedy obklopují membrány tři. Jak po primární, tak i po sekundární endosymbióze následovalo období ztráty genů a jejich přesunů z genomu organely do jádra (Adams & Palmer, 2003).



Obr. 2: Schematické zobrazení hlavních endosymbiotických událostí. Převzato z Keeling (2013).

3.2. Dráhy v plastidu

V následujících odstavcích je stručný přehled biochemických drah a jejich produktů, které probíhají v plastidech. Z hlediska zaměření této práce jsou důležité procesy zejména fotosyntéza, syntéza isoprenoidů, tetrapyrólů, mastných kyselin a Fe-S center.

3.2.1. Fotosyntéza

Fotosyntéza jako zásadní reakce pro život na Zemi je dobře známá a její průběh je striktně spojen s plastidem, ve kterém probíhají její dvě fáze – primární a sekundární, známé také jako světelná a temnostní.

Primární fáze probíhá v thylakoidech, ve kterých se mění světelná energie na energii chemickou. Celý proces začíná ve fotosystému II, kde reakční centrum P680 absorbuje foton a následně ztrácí elektron, jež je excitován na vyšší energetickou hladinu. Tento elektron se následně přesouvá po přenašečových molekulách do fotosystému I. Přenašeče s názvy feofytin, plastochinon, komplex cytochromu a plastocyanin vytváří protonový gradient H^+ v lumenu thylakoidu, který bude využit ATP syntázou. Reakční centrum P680 získává zpět elektron z reakce probíhající v kyslík tvořícím komplexu obsahujícím mangan. Zde vznikne z molekuly vody molekula kyslíku a vodíku. Fotosystém I obsahuje reakční centrum P700, které následně po pohlcení světla excituje svůj elektron, jež putuje na enzym ferredoxin-NADP⁺-reduktázu, kde dojde k redukci NADP⁺ na NADPH. V předchozích procesech vznikl protonový gradient v lumenu thylakoidu, který je v procesu fotofosforylace využit ATP-syntázou poháněnou tokem H^+ z lumen thylakoidu do stromatu a z ADP a P_i generuje ATP. Produktem primární fáze fotosyntézy jsou adenosintrifosfát, kyslík a redukované koenzymy NADPH + H^+ .

Sekundární fáze, probíhající ve stromatu již nepotřebuje světelnou energii. Dochází při ní k ukládání získané chemické energie v primární fázi do sacharidů. K tomu dochází v Calvinově cyklu, ve kterém jakožto první produkt vznikají dvě molekuly tří uhlíkatého 3-fosfoglycerátu z CO_2 a ribulózy-1,5-bisfosfátu za účasti enzymu RuBisCo. 3-fosfoglycerát se redukuje s pomocí NADPH na glyceraldehyd-3-fosfát, z části molekul glyceraldehyd-3-fosfátu jsou syntetizované sacharidy a ze zbytku vzniká opět ribulóza-1,5-bisfosfát (Alberts et al., 2002).

3.2.2. Syntéza prekurzoru isoprenoidů

Isoprenoidy jsou součástí mnoha biochemických funkcí. Jsou součástí některých hormonů, jako jsou kyselina abscisová, gibbereliny, brasinosteroidy (Pulido, Perello, & Rodriguez-Concepcion, 2012). Ale lze je nalézt i v membránách, některých pigmentech, jako jsou karotenoidy nebo jako součást chinonů v elektron transportním řetězci (Langeet et al., 2000). Důležitou součástí isoprenoidů, mezi které patří steroly, karotenoidy a terpeny, je jejich prekurzor isopentenyl difosfát (IPP). K syntéze IPP může docházet pomocí dráhy v cytosolu, ale byla objevena i dráha zajišťující syntézu IPP v plastidu. Tyto dvě dráhy spolu často fungují v organismu společně (Adam et al., 1999). MVA dráha pojmenovaná po

kyselině mevalonové probíhá v cytosolu (Bick & Lange, 2003). V plastidu probíhá později objevená dráha DOXP, která je známa pod třemi názvy. Již uvedená zkratka je odvozená od deoxyxylulózy-5-fosfát, ale někteří autoři dávají přednost zkratce MEP (2C-metyl-D-erythriol-4-fosfát), či jednoduššímu názvu non-mevalonate pathway (Hunter, 2007). DOXP a MEP jsou produkty, vznikající v první, respektive třetí fázi dráhy (Hunter, 2007). Obě dráhy vytvářejí dva prekurzory, ze kterých se dále syntetizují isoprenoidy: IPP a DMAPP (dimetylalyl pyrofosfát) (Hunter, 2007).

3.2.3. Syntéza tetrapyrolů

Syntéza tetrapyrolů je nutná pro syntézu chlorofylů a hemu. Hem slouží jako prostetická skupina u mnoha proteinů. Například globinů, cytochromů b_5 a zastává důležitou roli i v elektron transportním řetězci, kde je součástí sukcinát dehydrogenázy (komplex II), cytochromu bc_1 (komplexu III) a cytochrom oxidázy (komplexu IV) (van Dooren et al, 2012). Syntéza těchto látek se uskutečňuje prostřednictvím dvou drah. U heterotrofních eukaryot jsou tetrapyroly syntetizovány z části v mitochondrii a z části v cytosolu C4 dráhou. C4 dráha začíná v mitochondrii sloučením sukcinyl koenzymu A s glycinem, pro vytvoření kyseliny δ -aminolevulové (ALA) za spolupráce enzymu ALA syntázy (ALAS) (Shemin & Russell, 1953). Poté dojde k exportu ALA do cytosolu, kde z ní série reakcí vytvoří koproporfyrinogen III (CPIII), které se vrátí do mitochondrie a tam se po posledních čtyřech krocích tvoří hem (Kořený et al., 2011). U prokaryot a autotrofních eukaryot jsou tetrapyroly syntetizovány prostřednictvím dráhy C5 lokalizované v plastidu (Cihlář et al., 2016). U C5 dráhy vzniká ALA z glutamátu a poté je již celý proces totožný s C4 dráhou včetně homologických enzymů účastnících se dalších reakcí (Vavilin & Vermaas, 2002). Další změna oproti C4 dráze nastane u větvení u protoporfyrinogenu IX (CPIX), kdy jedna větev tvoří hem, ale v druhé se generuje chlorofyl (Vavilin & Vermaas, 2002).

3.2.4. Syntéza Fe-S center

Pro syntézu Fe-S center existují dráhy lokalizované v plastidu, mitochondrii, nebo cytosolu. V plastidech se uplatňuje dráha SUF viz kapitola 2.2.2.

3.2.5. Syntéza mastných kyselin

Mastné kyseliny jsou součástí velkého množství důležitých látek. Jsou stavební jednotkou mnoha lipidů a složkou fosfolipidů, z nichž jsou tvořeny membrány (Wakil, 1989). K syntéze mastných kyselin dochází opakovaným přidáváním dvou uhlíků z acetyl-CoA za pomoci syntázy mastných kyselin (FAS komplex) (Wakil, 1989). Existují však dva typy těchto komplexů. Rozlišuje se prokaryotický typ II FAS a eukaryotický typ I FAS. Tyto komplexy mají odlišnou lokalizaci a složení. Typ II FAS je složený ze sedmi proteinů a vytváří tak multiproteinový komplex, který je lokalizován v plastidu, zatímco typ I FAS představuje jeden multienzymový protein, který zastává svoji funkci v cytosolu (Schweizer & Hofmann, 2004).

3.3. Redukované plastidy

Kromě zelených plastidů, jejichž hlavní funkcí je fotosyntéza, bylo nalezeno i množství plastidů, které schopnost fotosyntetizovat již nemají. U různých eukaryotických linií jsou různě degenerované, a to jak funkčně, tak strukturně. V následujících kapitolách uvedu několik příkladů redukovaných plastidů, respektive organismů, ve kterých se nachází.

3.3.1. Apikoplast

Apikoplast je degenerovaný pozůstatek plastidu, který je možné najít u zástupců kmene Apicomplexa. Apikomplexa je kmen parazitických jednobuněčných organismů vyznačující se typickým klouzavým pohybem a složitými životními cykly (Adl et al., 2012). Většina z nich má apikální komplex sloužící k průniku do hostitelské buňky, kortikální alveoly a nefotosyntetický plastid, apikoplast. Mezi zástupce patří významní parazité člověka, kteří způsobují často až život ohrožující onemocnění jako jsou malárie, toxoplazmóza a babezióza.

Apikoplast byl nejlépe popsán u parazitů jako jsou *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii* a *Eimeria tenella* (Köhler et al. 1997; Cai et al. 2003). Byl získán sekundární nebo vyšší endosymbiózou, čemuž nasvědčují čtyři membrány obklopující tuto organelu. Organela pravděpodobně vznikla pozřením červené řasy nebo sekundárního plastidu z červené linie, jelikož *Chromera velia*, volně žijící fotosyntetický příbuzný apikomplex, má plastid odvozený od červené řasy (Moore et al., 2008). Na červený původ ukazují i studie genomu apikoplastu (Harper & Keeling, 2003). Genom apikoplastu je jeden z nejvíce redukovaných plastidových genomů, jehož velikost se zmenšila ze zhruba 150 kb na 35 kb (Maréchal & Cesbron-Delauw, 2001). Genom apikoplastu kóduje geny pro DNA replikaci, transkripci a translaci (Köhler et al., 1997). Geny kódované v jádře a cílené do plastidu odhalují další metabolické dráhy jako jsou syntéza hemu, isoprenoidů, mastných kyselin a železo-sírných center (Ralph et al., 2004). Za esenciální dráhu pro zachování apikoplastu u krevních stádií *Plasmodium falciparum*, je považována syntéza isoprenoidů. Protože při experimentu autorů Yeh a DeRisi (2011), bylo prokázáno, že dodání IPP do média, kde byly krevní stádia *P. falciparum* pod vlivem antibiotik tlumících apikoplast, obnoví jejich životaschopnost. V důsledku působení antibiotik nedojde k replikaci genomu apikoplastu v druhém opakování životního cyklu, což vede ke ztrátě apikoplastu (Yeh & DeRisi, 2011). Pro obnovení životaschopnosti je třeba výhradně prekurzoru IPP, jelikož jiné prekurzory isoprenoidů jako DMAPP nemají žádný účinek na obnovení životaschopnosti.

3.3.2. Plastid *Euglena longa*

Euglena longa je heterotrofní příbuzný organismus k autotrofní *Euglena gracilis* (Gockel & Hachtel, 2000). Plastidy Euglenophyta vznikly sekundární endosymbiózou pohlcením zelené řasy (Rogers et al., 2007). *E. longa* má plastid, který nemá fotosyntetický pigment a obsahuje zbytek plastidového

genomu (Gockel & Hachtel, 2000). Genom plastidu *E. longa* je velký 73 kb, což ho činí asi o polovinu menším než je plastidový genom *E. gracilis* (Gockel & Hachtel, 2000). *Euglena longa* ztratila všechny geny využívané pro fotosyntézu, kromě *rbcL* genu, který kóduje velkou podjednotku ribulózy-1,5-bisfosfát karboxylázy/oxidázy (RubisCo) (Záhonová et al., 2016). Funkce tohoto plastidu je nejasná.

3.3.3. Plastid *Prototheca wickerhamii*

Prototheca wickerhamii je zejména volně žijící jednobuněčná řasa patřící do třídy Trebouxiophyceae (Adl et al., 2012). Příležitostně se však *P. wickerhamii* chová jako oportunistický patogen způsobující kožní infekce a systémová onemocnění u imunokomprimovaných lidí (Lass-Flörl & Mayr, 2007). U tohoto běžného obyvatele půdy a vodních stanovišť byl při ultrastrukturních studiích nalezen plastid, který obsahoval částice škrobu (Nadakavukaren & McCracken, 1977). Podle Knauf a Hachtel (2002) plastidový genom *P. wickerhamii* je velmi redukovaný ve srovnání s fotosyntetickými příbuznými. Většina genomu kóduje funkce zapojené v genové expresi a neobsahuje žádné geny spojené s fotosyntézou (Knauf & Hachtel, 2002). V nefotosyntetickém plastidu *P. wickerhamii* byly nalezeny dráhy pro metabolismus sacharidů, lipidů a aminokyselin, ale i dráhy pro syntézu isoprenoidů, tetrapyrólů a purinů (Borza et al., 2005).

3.3.4. Plastid *Helicosporidium* sp.

Helicosporidium je zástupce parazitické skupiny Helicosporidia, který má, podobně jako jeho příbuzný organismus *Prototheca*, primární plastid neschopný fotosyntézy (Tartar et al., 2002). V plastidu byly nalezeny biosyntetické dráhy pro syntézu mastných kyselin, tetrapyrólů, isoprenoidů, aminokyselin a dráha pro redoxní reakce. Podle de Koning a Keeling (2004) využívá *Helicosporidium* pro metabolismus mastných kyselin dráhu FAS typu II, která v jeho případě funguje pravděpodobně jak v mitochondrii, tak v plastidu. Pro biosyntézu tetrapyrólů *Helicosporidium* využívá C5 dráhy. Plastid je místem biosyntézy isoprenoidů i aminokyselin (de Koning & Keeling, 2004). Pro redoxní reakce kóduje *Helicosporidium* ferredoxin, který poskytuje elektrony enzymům závislým na tomto kofaktoru (de Koning & Keeling, 2004).

4. Endosymbiotický genový transfer a transport do organel

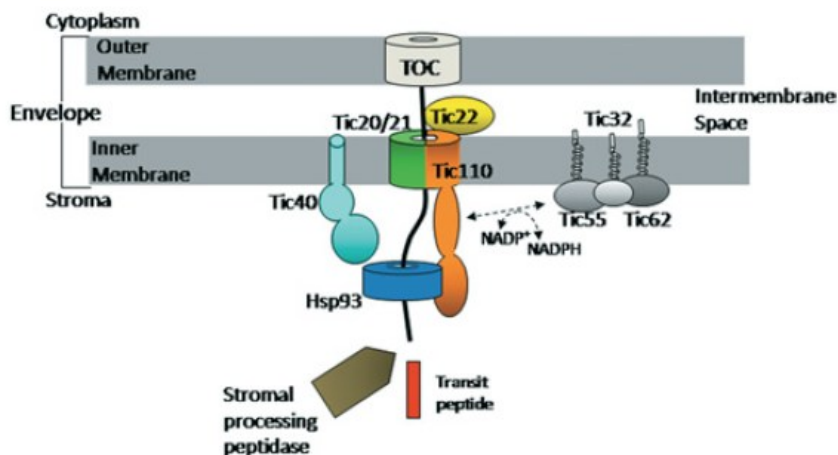
Po pozření předchůdce semiautonomní organely vždy následoval přenos genů ze symbionta a budoucí organely do jádra hostitele (Adams & Palmer, 2003). To mělo za následek významnou redukci genomů semiautonomních organel a obohacování jaderného genomu eukaryot. Z tohoto důvodu musejí být některé proteiny kódované v jádře cíleny do semiautonomních organel. V následujících kapitolách stručně popíšu přenos genetické informace do jádra hostitele a průběh cílení proteinů zpět do organely.

4.1. Cílení proteinů do semiautonomních organel

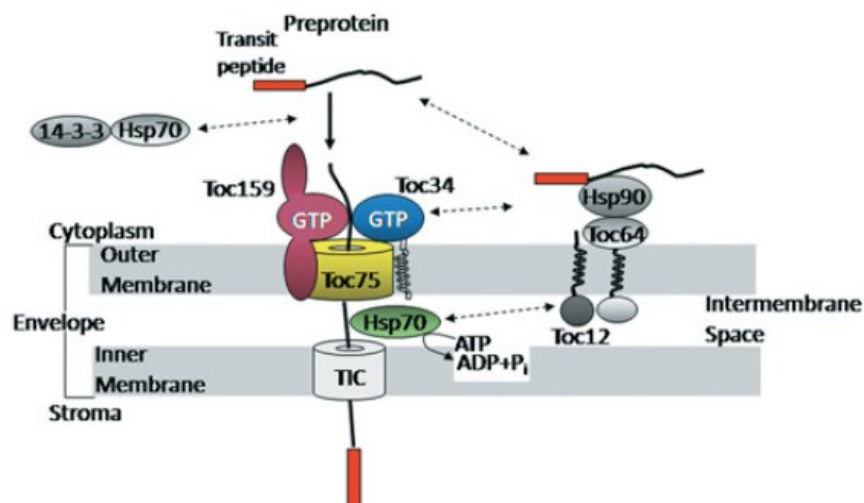
Proteiny syntetizované v cytosolu, které jsou posttranslačně přesunuty do semiautonomních organel, musí být syntetizovány jako pre-proteiny, které nesou signál pro jejich správnou identifikaci cílovými organelami.

4.1.1. Cílení proteinů do primárních plastidů

V případě primárních plastidů je nutné, aby proteiny překonaly bariéru dvou membrán, které organelu obklopují. Import proteinů z jádra do plastidu přes plastidové membrány umožňují N-terminální konce neboli transitní peptidy (Patron & Waller, 2007). Většinou jsou transitní peptidy rozeznávány translokony, za pomoci kterých překonávají membránu. Každá membrána má svůj vlastní translokon. Rozlišuje se tedy translokon vnější membrány (TOC) a translokon vnitřní membrány (TIC) (obr. 3. a obr. 4.) (Schnell et al., 1997). TOC i TIC se skládají z několika podjednotek s různými funkcemi. Podjednotky Tic22 a Toc12 spojují translokony TIC a TOC, další podjednotky fungují jako receptory (Toc34, Toc64 a Toc159) nebo jako kanál pro proteiny (Toc75, Tic20, Tic21 a Tic110) (Gagat et al., 2013). Jako regulátory fungují podjednotky Tic32, Tic55, Tic62 a Tic40 (Gagat et al., 2013). Import přes TIC a TOC translokony využívá 2100 až 3600 proteinů kódovaných v jádře (Leister, 2003).



Obr. 3: Schematický náčrt komplexu TIC. Převzato z Inaba & Schnell, (2008).



Obr. 4: Schematický náčrt komplexu TOC. Převzato z Inaba & Schnell, (2008).

Alternativou jsou proteiny cílené do plastidu prostřednictvím endoplazmatického retikula nebo Golgiho aparátu – RB60, α Amy7, NPP1 a CAH1 (Levitan et al. 2005; Kitajima et al. 2009; Nanjo et al. 2006; Villarejo et al. 2005). Protein α Amy3 má naopak signální peptid, který je zodpovědný za jeho import pouze do endoplazmatického retikula (Chen et al., 2004). Cesta proteinů přes membrány končí tím, že protein dosáhne stromatu, v tento moment je transitní peptid odštěpen a proteiny zaujmou funkční konformaci případně zamíří do tylakoidů.

4.1.2. Cílení proteinů do sekundárních a vyšších plastidů

Sekundární plastidy a plastidy vyšších řádů mají obvykle tři, nebo čtyři membrány (McFadden, 2001). Většina plastidového proteomu je kódována v hostitelském jádře. To znamená, že velké množství proteinů nutných pro nezbytné plastidové funkce musí překročit všechny obalové membrány, nebo počítáme-li tylakoidní membránu při přechodu některých proteinů až do lumenu tylakoidu, tak je nutné přejít skrze ještě další membránu. Transport proteinů do těchto plastidů je složitější a je odlišný u plastidů se třemi a čtyřmi membránami.

V případě plastidů se třemi membránami se rozlišují tři druhy proteinů se signálním koncem (pre-protein) (Durnford & Gray, 2006). Pre-protein první kategorie začíná signálním peptidem na N-konci následovaným transitním peptidem a stop sekvencí před kódující sekvencí zralého proteinu (Bolte et al., 2009). Pre-protein druhé kategorie má dvoudílnou signální sekvenci bez hydrofobní stop sekvence (Durnford & Gray, 2006). Třetí kategorie náleží pre-proteinům, které při importu přecházejí přes membránu tylakoidu, které se odlišují další částí nutnou pro vstup skrze tylakoidní membránu (Inagaki et al., 2000). Podle Inagaki et al. (2000) transport proteinů kategorie I a II začíná kotranslačním transportem pre-proteinu do lumenu endoplazmatického retikula, v jehož membráně je pre-protein kategorie I ukotven pomocí hydrofobní části, kdežto pre-protein kategorie II projde celý až do jeho lumen. Dále jsou pre-proteiny přenášeny váčky odškrcenými z Golgiho aparátu, které při

kontaktu s vnější membránou plastidu fúzí pravděpodobně za pomoci receptorů, které se zatím nepodařilo identifikovat (Sulli et al., 1999).

U organismů se čtyřmi membránami existuje rozdíl u první, od plastidu nejvzdálenější membrány a tím pádem pravděpodobně i v prvních fázích importu proteinu. Haptophyta, kryptophyta a heterokontophyta mají, na rozdíl od apikomplex a chlorarachniophyt, tuto membránu posetou ribozomy a spojenou s membránou endoplazmatického retikula (Bolte et al., 2009). Z těchto ribozomů proteiny kotranslačně překonávají první membránu. Nejdříve jsou proteiny importovány do sekrečního systému, kdy transportovaný protein prochází endoplazmatickým retikulem. Poté co se vezikuly odštěpí z endoplazmatického retikula, následuje jejich přesun do první membrány apikoplastu bez zapojení Golgiho aparátu (Tonkin et al., 2006).

Pro přechod přes druhou membránu existovalo hned několik hypotéz. Podle Kilian a Kroth (2005) mohou transport zprostředkovávat vezikuly, které byly v membránách pozorovány elektronovou mikroskopií (Gibbs, 1981). Alternativou je i transport přes zatím neznámý pór (Kroth & Strotmann, 1999). Bylo zjištěno, že pro přechod proteinů přes druhou membránu je využíván systém ERAD (endoplasmatic reticulum associated protein degradation), jehož hlavní funkcí je translokace nesložených proteinů přes membránu endoplazmatického retikula do cytosolu (Meusser et al., 2005). U apikomplex a rozsivek byl objeven sERAD systém, který je odvozený od ERAD mašinerie a také funguje jako translokon přes druhou membránu (Sommer et al., 2007). Jakmile protein překoná druhou membránu, je odštěpen signální peptid a dojde tak k odkrytí tranzitního peptidu, který je nezbytný pro transport přes zbylé membrány (Hempel et al., 2007). Existují dvě varianty proteinů, které se liší strukturou a místem kam jsou cílené. V obou variantách mají proteiny signální i transitní peptid a jediný rozdíl je (v případě plastidů odvozených od červené linie) pravděpodobně v tom, že stromální proteiny mají aromatickou aminokyselinu na první pozici transitního peptidu, zatímco periplastidální proteiny jen velmi zřídka (Gould et al., 2006). Další odlišností je, že periplastidální proteiny musí překonat jen první dvě membrány a stromální proteiny s aromatickou aminokyselinou musí projít přes další dvě membrány. Poté co se proteiny dostanou do stromatu, dojde k odštěpení transitních peptidů a proteiny se skládají do finální konformace (Bolte et al., 2009).

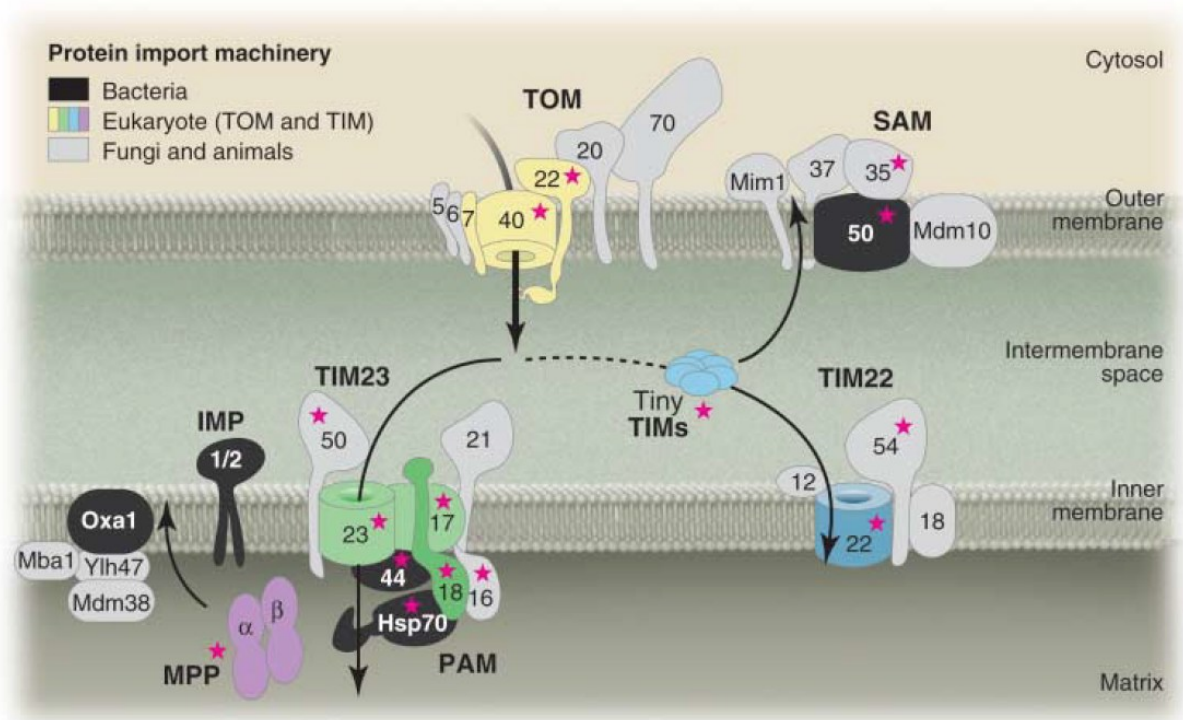
Přenos přes třetí membránu probíhá pomocí TOC translokonu, který Wunder et al. (2007) našel ve třetí membráně rozsivky *Phaeodactylum tricorutum*. Později se TOC translokon ve třetí membráně podařilo nalézt i u haptophyt, apikomplex a nedávno u chlorarachniophyt (Hirakawa et al., 2012).

V případě čtvrté membrány dochází k importu proteinů přes TIC komplex, který byl identifikován u heterokontophyt, chlorarachniophyt, kryptophyt a apikomplex (Hirakawa et al., 2012).

Když dorazí proteiny do stromatu, tak dojde k odštěpení transitních peptidů za pomoci stromal processing peptidázy (Richter & Lamppa, 1998). Poté jsou proteiny skládány do jejich finální konformace a přeneseny na místo určení (Bolte et al., 2009). Proteiny, které musí projít navíc přes membránu tylakoidu, jsou přes ní importovány za pomoci sekreční dráhy (Schünemann, 2007).

4.1.3. Cílení proteinů do mitochondrie

Hlavními komponenty přenosu proteinů do mitochondrie jsou komplexy TOM (translocase of the outer membrane) a TIM (translocase of the inner membrane) (Obr. 5). TOM komplex se skládá z mnoha proteinů s různými funkcemi. Tom70 a Tom20 vykonávají funkci receptorů (Model et al., 2001). Kanál, kterým proteiny prochází se skládá z podjednotek Tom40, Tom22, Tom7, Tom6 a Tom5 (Doležal et al., 2006). Z nichž Tom22 dopravuje proteiny do mezimembránového prostoru (Rehling et al., 2004). Podjednotky Tim23 a Tim17 tvoří kanál vnitřní mitochondriální membrány (Doležal et al., 2006).



Obr. 5: Schematický náčrt TIM a TOM komplexů u *Sacharomyces cerevisiae*. Převzato z Doležal et al., (2006).

Pro cílení proteinů do mitochondrií musí proteiny obsahovat presekvenci dlouhou asi 20-50 aminokyselin a tato presekvence musí být schopná tvořit amfipatický helix (Pfanner, 2000). Mitochondriální proteiny kódované jadernými geny jsou dopravovány z mitochondrie posttranslačně. Pro dopravení pre-proteinu z cytosolu k membráně se využívají cytosolické faktory, z nichž některé se navazují přímo na vzniklé pre-proteiny a dopravují je k receptoru na první vnější membráně mitochondrie (Neupert, 1997). Pro funkci cytosolických faktorů jako jsou Hsp70 a MSF je třeba ATP (Wachter et al., 1994). Pre-proteiny jsou na vnější membráně rozeznány receptory, které jsou součástí TOM komplexu, jež poté zprostředkuje i jejich transport přes membránu. U vnitřní mitochondriální membrány Tim22 naváže presekvenci, což spustí změnu konformace a následné otevření kanálu tvořeného Tim23 a Tim17. V matrix mitochondrie poté dojde k závěrečnému sestavení proteinu do konečné podoby za pomoci chaperonů jako je například Hsp70 (Doležal et al., 2006).

4.2. Endosymbiotický genový transfer

Studie ukazují že od vzniku eukaryot bylo mnoho genů relokováno ze semiautonómni organely do jádra. Poté co některé jaderné geny převzaly funkce genů původních, došlo i k relokaci biosyntetických drah do cytosolu. Tyto jaderné geny potřebují pro zachování svojí funkce speciální genetickou strukturu. Je třeba mít presekvence, které nasměrují protein na správné místo a promotor, který řídí genovou expresi (Martin & Herrmann, 1998). Pro samotný mechanismus transferu genů do jádra existují dvě hypotézy. Hypotéza pojmenovaná bulk DNA říká, že transfer genů probíhá přímo přenosem a zakomponováním sekvencí DNA do jaderného genomu (Henze & Martin, 2001). Zatímco podle hypotézy cDNA intermediátů, je transfer do jádra zprostředkován za pomoci RNA, která prošla reverzní transkripcí a poté byla zakomponována do jaderného genomu (Adams & Palmer, 2003). Proti hypotéze cDNA intermediátů stojí argument, že kopie cDNA rekombinují častěji s mitochondriální, než s jadernou DNA (Henze & Martin, 2001). Experimentálně byl již demonstrován únik DNA z organely a její vložení do jádra. V experimentu autorů Thorsness a Fox (1990) se to podařilo prokázat u *Saccharomyces cerevisiae*. Do média byl přidáván plasmid pMK2, který obsahoval počátek replikace pMK2 plasmidu a geny URA3, COX2. U některých mutantů byla zjištěna přítomnost plasmidů v mitochondrii a později došlo k přesunu těchto plasmidů do jádra u $2 \cdot 10^{-5}$ buněk za jednu generaci (Thorsness & Fox, 1990). V práci Huang et al. (2003) se podařilo prokázat přenos genů z plastidu do jádra u tabáku (*Nicotiana tabacum*) v jednom zrna z 16 000. Vložili gen neoSTLS2 a aadA do plastidového genomu tabáku. Gen neoSTLS2 obsahuje promotor a jaderný intron a funguje jen když je přítomný v jádře a gen aadA je gen pro rezistenci na spektinomycin (Huang et al., 2003). K úniku DNA z organel může docházet v důsledku narušení membrán, které se děje při dělení, fúzi, nebo při buněčném stresu. Narušení membrán může zpřístupnit DNA. Když je jaderná DNA zpřístupněná, může dojít k začlenění DNA z organel během opravy konců dvojitězrcových zlomů. Tento druh opravy nevyžaduje téměř žádnou homologii sekvencí (Ricchetti et al., 1999).

Předchůdce mitochondrie i plastidu měl pravděpodobně velké množství genů, které pro transformaci v endosymbionta nebyly nutné (Adams & Palmer, 2003). Proto se předpokládá, že k výrazným ztrátám genů docházelo hlavně v časně historii eukaryot, kdy u předchůdce mitochondrie mohla být ztracena nějaká funkce, pro níž nebylo tím pádem nutné dále kódovat protein (Adams & Palmer, 2003). V jiných případech může dojít i ke ztrátě genů, jejichž funkce je stále nezbytná, a proto je nutné jejich nahrazení jadernými geny se stejnou funkcí.

5. Ztráty genomů mitochondrií

Všechny aerobní mitochondrie si zachovaly genom, jehož velikost je velmi variabilní. Jedná se o 6 kbp v případě parazita rodu *Plasmodium* (Feagin, 2000), a až o 490 kbp v případě *Oryza sativa* (Notsu et al., 2002). V mitochondriích je velmi různý obsah genů. *Plasmodium falciparum* má jen tři protein kódující geny (Feagin et al., 2012). Oproti tomu *Andalucia godoyi* obsahuje největší počet protein kódujících sekvencí a to 66 (Burger et al., 2013). U mitochondrií existují dva geny, které jsou

přítomné ve všech mitochondriálních genomech, které byly dosud osekvenovány. Jedná se o geny, které jsou součástí dýchacího řetězce, a to o gen pro cytochrom b (cyt b) a gen pro I podjednotku cytochrom c oxidázy (cox1) (Zíková et al., 2016). Mezi další velmi časté geny přítomné v mitochondriálních genomech eukaryot patří geny pro II komplex dýchacího řetězce sdh2, sdh3, sdh4 (Johnston & Williams, 2016). Jádro naopak častěji kóduje periferní genové produkty, jako jsou ribozomální rps a rpl (Johnston & Williams, 2016).

Jak již bylo zmíněno (kap. 2.3.4. a kap. 2.3.5.), tak kompletní ztráty mitochondriálního genomu se týkají organismů s organelou podobnou mitochondrii (MRO). Výjimkou jsou *Blastocystis hominis* a *Nyctotherus ovalis*, jejichž vodík produkující mitochondrie mají genom, a v obou případech kódují alespoň část dýchacího řetězce (Stechmann et al. 2008; de Graaf et al. 2011). Všechny organismy, které mají mitochondrie redukované na hydrogenosomy a neobsahují dýchací řetězec mitochondriální genom nemají. Mezi tyto organismy patří zástupce říše Excavata *Trichomonas vaginalis* nebo zástupce říše Amoebozoa *Mastigamoeba balamuthi* (Clemens & Johnson, 2000). Všechny organismy s mitosomy nemají mitochondriální genom (Tachezy & Šmíd, 2007). Do této skupiny patří rody *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, a *Giardia*. Ztráta genomu může tedy souviset se ztrátou oxidativní fosforylace, která není přítomná ve všech mitosomech a hydrogenosomech. Proč zrovna deriváty mitochondrie, které neobsahují žádnou podjednotku dýchacího řetězce, nemají genom? První hypotéza říká, že geny pro proteiny, jež jsou součástí podjednotek dýchacího řetězce, nemůžou být přeneseny do jádra, protože transport proteinů nemůže být úspěšný kvůli jejich struktuře (Popot & Vitry, 1990). Podle jiných studií je jejich transport přes mitochondriální membrány možný, ale N-terminální konec může mást jejich směřování a cílit je do endoplazmatického retikula místo do mitochondrie (Björkholm et al., 2015). Poslední hypotéza navrhuje, že exprese genů pro podjednotky dýchacího řetězce přímo v organele je nutná pro jemnou regulaci elektron transportního řetězce jako takového (Allen, 1993).

6. Ztráty genomů plastidů

Ve většině případů si i nefotosyntetické plastidy genom zachovaly. V případě nefotosyntetických plastidů genom obsahuje zejména geny účastníci se exprese plastidové DNA, zatímco geny spojené s fotosyntézou nejsou přítomny (Krause et al., 2012). Jednobuněčnými organismy, které přišly o genom primárního plastidu, jsou zástupci rodu *Polytomella* spp. (Smith & Lee, 2014). *P.* spp. je skupina heterotrofních volně žijících zelených řas, příbuzných *Chlamydomonas* mající plastid bez fotosyntetických barviv získaný primární endosymbiózou (Pringsheim, 1955). Mezi čtyři známé druhy v této linii patří *Polytomella parva*, *Polytomella piriformis*, *Polytomella capuana* a *Polytomella magna*. U zástupců této skupiny se po mnoha pokusech nepodařilo najít plastidový genom (Smith & Lee, 2014). Při genomovém sekvenování *P. parva* byly nalezeny proteiny cílené do plastidu. Jedná se o geny zapojené v syntéze aminokyselin, purinů, porfyrinů, sacharidů, lipidů, isoprenoidů a v metabolických procesech (Smith & Lee, 2014). Naopak nebyly nalezeny žádné geny

zapojené v expresi, replikaci a opravě plastidové DNA, ani plastidové ribosomální proteiny, či proteiny pro regulaci plastidové transkripce, či translace (Smith & Lee, 2014).

Ztráty genomu plastidu jsou známé i u cévnatých rostlin. Konkrétně u jednoho druhu parazitických tropických rostlin čeledi *Rafflesiaceae* (Molina et al., 2014). Raflézie nevypadají jako typická cévnatá rostlina, netvoří totiž kořeny, stonk ani listy. Raflézie jsou známé díky tomu, že tvoří největší květy ze všech rostlin vyrůstající z kořenů či stonků hostitelských rostlin. *Rafflesia lagascae*, parazitující na rodu *Tetrastigma*, je druh, u kterého nebyl ani po intenzivním hledání nalezen plastidový genom (Molina et al., 2014). Genom nebyl nalezen i přes to, že při transmisní elektronové mikroskopii byly nalezeny struktury podobné plastidu. Ale pro úplné výsledky je nutné osekvenovat a analyzovat kompletní genetickou informaci tohoto parazita.

Mezi zástupce, kteří ztratili plastidový genom komplexního plastidu, patří například parazit ústřic, *Perkinsus marinus*, náležící do skupiny Alveolata, který si zřejmě zachoval nefotosyntetický sekundární plastid bez genomu (Fernández Robledo et al., 2011). U *Perkinsus marinus* nebyl za pomoci metod světelné ani elektronové mikroskopie nalezen plastid, ale byly identifikovány biosyntetické dráhy, které typicky v plastidu probíhají. Mezi nalezené dráhy patří MEP, jejíž všechny enzymy byly objeveny i s N-terminálním zakončením, které je typické pro sekundární plastidy (Matsuzaki et al., 2008). A při imunofluorescenční mikroskopii jednoho z enzymů, 1-deoxy-D-xylulózy 5-fosfát reduktiozomerázy (IspC), bylo možné sledovat více míst s detekovaným IspC, což může nasvědčovat více plastidům bez genomu (Matsuzaki et al., 2008). Typicky plastidová FAS II pro syntézu mastných kyselin byla identifikována pomocí Triclosanu, inhibitoru FAS II enzymu FabI, který inhiboval růst *P. marinus* (Lund et al., 2004). Nicméně existuje případ, kdy zástupce apikomplex *Theileria* je citlivý na Triclosan i přes to, že prokazatelně nemá žádné enzymy z FAS II dráhy (Gardner et al., 2005). *Perkinsus marinus* je citlivý i na inhibitor acetyl-CoA karboxylázy, dalšího enzymu zapojenému v syntéze mastných kyselin (Stelter et al., 2007). Syntéza hemu probíhá v cytosolu (Fernández Robledo et al., 2011). Některé geny pro enzymy katalyzující reakce Shikimátové dráhy, lokalizované v plastidu, byly nalezeny a podporují tak hypotézu, že *Perkinsus marinus* má plastid bez genomu (Fernández Robledo et al., 2011). Mezi další příklady ztráty plastidového genomu patří tři zástupci chrompodelidů. Chrompodelida je skupina příbuzná apikomplexům s heterotrofními zástupci jako jsou: *Voromonas pontica*, *Colpodella angusta* a *Alphamonas edax*. Stejně jako *P. marinus* i *A. edax* využívá FAS typu II pro syntézu mastných kyselin, zatímco zbývající zástupci využívají cytosolickou dráhu FAS typ I (Janouškovec et al., 2015). Pro syntézu isoprenoidů využívají všichni zástupci plastidovou dráhu MEP stejně jako *P. marinus* (Janouškovec et al., 2015).

Gregarina niphandrodes, je zástupce apikomplex, který podle Toso a Omoto (2007) také nemá plastidový genom. Od *P. marinus* ji ale odlišovala reakce na Triclosan, kdy v případě *G. niphandrodes* nedošlo k inhibici růstu, ale naopak byl zaznamenán růst intenzivnější (Toso & Omoto,

2007). To svědčí o pravděpodobné nepřítomnosti plastidové dráhy FAS typu II pro syntézu mastných kyselin a schopnosti získávat mastné kyseliny z hostitele (Toso & Omoto, 2007).

7. Ztráta mitochondrií

První případ kompletní ztráty organely mitochondriálního původu je znám u skupiny Oxymonadida, konkrétně u druhu *Monocercomonoides* sp. kmen PA203 (obr. 6) (Karnkowska et al., 2016). Řád Oxymonadida obsahuje anaerobní endobioticky žijící bičíkovce, kteří se nejčastěji vyskytují ve střevech hmyzu. V případě rodu *Monocercomonoides* i ve střevech některých obratlovců (Hampl, 2017).



Obr. 6: *Monocercomonoides* sp. PA203. Převzato z (Karnkowska & Hampl, 2016).

Snaha najít u oxymonád mitochondrii za pomoci elektronové mikroskopie, byla vždy neúspěšná (Brugerolle, 1991). Podle Dacks et al. (2001) jsou oxymonády blízce příbuzné s exkavátním rodem *Paratrimastix* (dříve *Trimastix*). Mitochondrie nacházející se u volně žijícího *Paratrimastix* poukazuje na přítomnost mitochondrie v minulosti i u oxymonád (Simpson et al., 2002).

Pro pochopení události, která umožnila ztrátu organely mitochondriálního původu, je nutné pochopit přizpůsobení buňky žijící bez jakéhokoli pozůstatku mitochondrie. Genom *Monocercomonoides* nekóduje proteiny zapojené v citrátovém cyklu nebo v dýchacím řetězci, kóduje však enzymy zapojené do glykolýzy a anaerobní fermentace (Karnkowska et al., 2016). Enzymy anaerobní fermentace – pyruvát syntáza (PFOR) a [FeFe] hydrogenáza - jsou lokalizovány v cytosolu (Karnkowska et al., 2016). Metabolismus *Monocercomonoides* je tedy závislý na glykolýze jako hlavním zdroji ATP. NADH vzniklé při glykolýze se následnou fermentací spotřebuje za produkce acetátu a etanolu, nebo může být teoreticky produkován vodík za pomoci [FeFe]-hydrogenázy (Karnkowska et al., 2016). U *Monocercomonoides* byly nalezeny také enzymy účastníci se arginin deiminázové dráhy, která se může v některých případech významnou měrou podílet na produkci ATP (Novák et al., 2016). Arginin deiminázová dráha vytváří ATP z ADP a fosfátu při přeměně argininu na ornitin, oxid uhličitý a amoniak (Novák et al., 2016). Množství vytvořeného ATP je u *G. intestinalis* až 8krát větší než ATP vyrobené glykolýzou (Schofield et al., 1992). Tato dráha se často vyskytuje u prokaryot (Cunin et al., 1986). Nicméně u eukaryot byla potvrzena jen u skupiny Metamonada.

Kritické pro fungování buňky bez mitochondrie je nalézt řešení pro syntézu Fe-S center. U *Monocercomonoides* byly nalezeny 4 proteiny účastníci se CIA dráhy: Nbp35, Nar1, Cia1 a Cia2, ale naopak nebyl nalezen žádný protein spojený s mitochondriální ISC dráhou (Karnkowska et al.,

2016). Jak ale funguje syntéza Fe-S center v případě, že v buňce není přítomna ISC dráha? Místo ISC byly u tohoto organismu nalezeny geny kódující podjednotky SUF dráhy: SufB, SufC, SufS a SufU (Karnkowska et al., 2016). V buňce *Monocercomonoides* tedy zřejmě funguje dráha SUF, která dokáže syntetizovat Fe-S centra od základu, ale není zcela jasné jak a zda interaguje s dráhou CIA. Zisk alternativní dráhy SUF, společným předkem *Monocercomonoides* a volně žijícího rodu *Paratrimastix* vedl zřejmě ke ztrátě původní ISC dráhy a následně mohl umožnit i ztrátu mitochondriální organely jako takové.

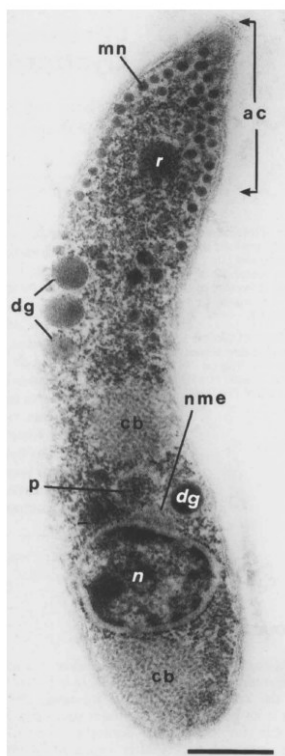
8. Ztráty plastidů

Nyní popíšu zatím jediné dva známé případy ztráty plastidu. Tyto případy nejsou podpořené jen zkoumáním ultrastruktur, ale v obou případech byly provedeny studie genomu, které potvrdily nepřítomnost genů kódujících proteiny fungující v plastidu.

8.1. *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium parvum je intracelulární parazit, způsobující kryptosporidiózu, která u imunokomprimovaných osob může způsobit až život ohrožující infekci. Tento parazit neobsahuje mitochondriální genom (Keithly, 1997), ani genom apikoplastu (Zhu et al., 2000).

Při prvních pokusech o pozorování ultrastruktury *C. parvum* byla nalezena organela obklopená membránami, která byla považována za apikoplast (obr. 7) (Tetley et al., 1998). Později bylo zjištěno, že tato organela je obklopená dvěma membránami, což naznačovalo, že se jedná o pozůstatek mitochondrie. V roce 2005 při ultrastrukturních studiích byl za použití transmisní elektronové mikroskopie nalezen Golgiho aparát a mitosom, ale apikoplast nikoliv (Keithly et al., 2005).



Obr. 7: Sporozoit *C. parvum*. Mn – micronemy, r – rhoptrie, ac – přední konec, n – jádro, cb – krystalická tělíska, cb – zadní konec, dg – granula, p – plastidu podobná organela. Převzato z Tetley et al., (1998).

Paraziti ze skupiny Apicomplexa využívají pro syntézu mastných kyselin obvykle typ II FAS dráhu lokalizovanou v apikoplastu (Waller et al., 1998). U *C. parvum* došlo společně s předpokládanou ztrátou apikoplastu také ke ztrátě typu II FAS dráhy pro syntézu mastných kyselin (Abrahamsen, 2004). V genomu *C. parvum* byly však nalezeny geny kódující FAS I dráhu, skládající se z 21 enzymatických domén, které jsou uspořádány do startovací jednotky tří vnitřních modulů pro elongaci mastných kyselin a reduktázy (Zhu et al., 2000). Podle Abrahamsen et al. (2004) dochází v případě *C. parvum* k syntéze mastných kyselin prostřednictvím FAS dráhy typu I lokalizované v cytosolu. Ale Zhu et al. (2000) navrhuje, že i přes přítomnost FAS I syntázy, nedokáže *C. parvum*

syntetizovat mastné kyseliny de novo, ale pravděpodobně je získává ze svého hostitele.

U apikomplex jsou isoprenoidy syntetizovány výhradně v apikoplastu, ale u *Cryptosporidium parvum* nebyla nalezena žádná dráha, která by to umožňovala (Bessoff et al., 2013). Z genových sekvencí vyplývá, že *C. parvum* nekóduje žádné proteiny spojené s dráhami pro syntézu isoprenoidů – MVA a MEP (Artz et al., 2008). Kóduje však orthology enzymů jako jsou prenyltransferáza (farnesyl difosfát syntáza), prenyltransferáza (oktaprenyl difosfát syntetáza/undecaprenyl difosfát syntetáza), jejichž produktem je polyprenyl difosfát, který se dá využít jako prekurzor pro syntézu isoprenoidů (Artz et al., 2008). To naznačuje, že *C. parvum* dokáže syntetizovat isoprenoidy z IPP nebo DMAPP a tyto prekurzory musí být buď syntetizované neznámou dráhou nebo získávány z hostitele (Artz et al., 2008). Zisk prekurzorů z hostitele je podpořen tím, že v případě inhibice MVA dráhy pomocí statinů se inhibuje růst *C. parvum*, a dále tím, že tento růst je částečně napraven v případě dodání IPP (Bessoff et al., 2013). Prekurzory (DMAPP, GPP, FPP, GGPP) jsou využity jako substrát pro polyprenyl pyrofosfát syntázu (CpNPPPS), která syntetizuje polyprenyl fosfáty, jež se mohou dále účastnit dalších biosyntetických drah (Artz a kol. 2008). Díky CpNPPPS může *C. parvum* syntetizovat dlouhé řetězce isoprenoidů z krátkých či středně dlouhých řetězců získaných z hostitele (Artz et al., 2008).

Ačkoli všechny organismy patřící do skupiny Apicomplexa syntetizují Fe-S centra pomocí drah ISC a SUF (Seeber, 2002), *Cryptosporidium parvum* je opět výjimkou. Nekóduje totiž enzymy pro plastidovou dráhu SUF, nicméně si zachovalo enzymy pro mitochondriální dráhu ISC (LaGier et al., 2003). V *Cryptosporidium parvum* byl nalezen jediný hem obsahující protein s neznámou funkcí (van Dooren et al., 2012). *C. parvum* pravděpodobně získává hem z hostitele. Výše zmíněné skutečnosti naznačují, že *C. parvum* ztratilo apikoplast.

8.2. Hematodinium

Kmen Dinoflagellata je zajímavý množstvím zisků a ztrát plastidů v průběhu evoluce (Saldarriaga et al., 2001). U obrněnek se dá rozlišit až pět druhů plastidů poukazujících hned na několik endosymbiotických událostí (Schnepf & Elbrächter, 1999). Nejběžnější plastid obrněnek obsahuje peridinin a je obklopen třemi membránami (Hackett et al. 2004). Peridininový plastid je zřejmě původním plastidem obrněnek a je odvozený od červené řasy. Další typ plastidu u obrněnek byl získán terciální endosymbiózou řasy ze skupiny Haptophyta, jelikož s plastidy haptophyt sdílí fukoxantiny a neobsahuje peridinin (Tengs et al., 2000). Následující příklady mohou být plastidy původem z kryptophyt (Pyke, 1998), nebo z rozsivek (Chesnick et al., 1996), či sekundární zelený plastid původem z prasinophyt (Watanabe et al., 1987).

Přes četné ztráty fotosyntézy se u obrněnek obvykle zachovaly redukované plastidy. Například u nefotosyntetické obrněnky rodu *Oxyrrhis* probíhají v plastidu nezbytné biosyntetické dráhy pro výrobu isoprenoidů a tetrapyrolů (Slamovits & Keeling, 2008). Podobný příklad je obrněnka *Crypthecodinium cohnii*, v jejímž plastidu probíhají dráhy pro výrobu isoprenoidů (Sanchez-Puerta et

al. 2007; Matsuzaki et al. 2008). Avšak existuje jedna výjimka. Parazit korýšů *Hematodinium* sp. činí populace krabů rodu *Chionoecetes bairdi* nepoužitelnými pro prodej (Meyers et al., 1987). U tohoto parazita nebyl nalezen plastid ani za použití molekulárních metod (Gornik et al., 2015). Podle Gornik et al. (2015) ztratilo *Hematodinium* sp. plastid, protože syntézy esenciálních sloučenin u něj neprobíhají v plastidu, ale za pomoci jiných drah s jinou lokalizací. Podrobnosti jejich studie se pokusím shrnout níže.

Společný předek apikomplex a obrněnek měl oba typy komplexů pro syntézu mastných kyselin a v některých liniích docházelo ke ztrátám jednoho z nich (Gornik et al., 2015). Podle Gornik et al. (2015) si *Hematodinium* zachovalo eukaryotický typ I FAS a syntéza mastných kyselin tedy zřejmě probíhá v cytosolu. Na rozdíl od heterotrofních eukaryot, které využívají C4 dráhu pro syntézu hemu, autotrofní Dinoflagellata si pravděpodobně zachovaly C5 dráhu včetně glutamyl-tRNA reduktázy (GTR) a glutamát 1-semi-aldehyd aminotransferázy (GSA-AT) (Kořený et al., 2011). GTR a GSA-AT však nelze nalézt u *Hematodinium* sp., které naopak na rozdíl od ostatních nebazálních obrněnek využívá δ -aminolevulinickou syntázu (ALAS) (Danne et al., 2013). *Hematodinium* obsahuje geny pro enzymy HemB, HemC a HemE, které jsou typické pro cytosol, ale i gen pro enzym HemD, jenž je naopak typický plastidový, mohlo tedy dojít k relokaci, protože je jasné, že předek plastid měl (Gornik et al., 2015). Syntéza tetrapyrólů tedy probíhá zřejmě z části v mitochondrii a z části v cytosolu.

Většina prokaryot a rostlin syntetizují aminokyselinu lysin za pomoci dráhy pojmenované po kyselině diaminopimelové (DAP), zatímco houby využívají alternativní dráhy nazývané podle kyseliny α -aminoadipové (AAA) (Velasco a kol. 2002). V DAP dráze figuruje devět enzymů nazvaných: LysC, Asd, DapA, DapB, DapD, DapC, DapE, DapF a LysA (Velasco et al., 2002). Syntéza lysinu u rostlin probíhá v chloroplastech (Mills & Wilson, 1978). Gornik et al. (2015) našli enzym DapL, který nahrazuje funkci DapD, DapC a DapE. U dalších eukaryotických linií s plastidem jako jsou Haptophyta, Cryptophyta, Stramenopila a bazální Dinoflagellata, byl tento enzym objeven také a obsahuje N-terminální peptid směřující jej do plastidu. *Hematodinium* sp. tuto signální sekvenci nemá u žádného genu kódující enzym účastnící se DAP dráhy (Gornik et al., 2015). Z devíti enzymů nebyl u *Hematodinium* sp. nalezen jen DapF. Odvozená DAP dráha je tedy pravděpodobně relokována do cytosolu. Evoluční původ této dráhy je momentálně nejasný a je možné, že byla získána horizontálním genovým přenosem (Gornik et al., 2015). Je již známý případ zisku DAP dráhy horizontálním genovým přenosem z bakterie u trubénky rodu *Monosiga brevicollis* (Sun & Huang, 2011).

Pro syntézu isoprenoidů existují dvě alternativní dráhy: mevalonátová (MVA) dráha a nonmevalonátová (DOXP/MEP) dráha. Autotrofní i heterotrofní zástupci kmene Dinoflagellata obsahují jen plastidovou DOXP dráhu, jelikož ke ztrátě MVA dráhy došlo pravděpodobně už u společného předka apikomplex a dinoflagelátů (Gornik et al., 2015). *Hematodinium* však nekóduje žádný gen související s dráhou MVA nebo DOXP. Nicméně byly nalezeny enzymy schopné používat

isopentenyl pyrofosfát (IPP) či dimetylalyl pyrofosfát (DMAPP) jako je farnesyl-pyrofosfát syntáza (Gornik et al., 2015). Farnesyl-pyrofosfát syntáza katalyzuje reakci DMAPP se dvěma jednotkami IPP a alfa a beta podjednotkami farnesyltransferázy a geranylgeranyltransferázy. Při této reakci vzniká farnesyl pyrofosfát, prekurzor syntézy isoprenů. Podle Gornik et al. (2015) je tento parazit zřejmě schopný získávat IPP nebo DMAPP z prostředí ve kterém žije, podobně jako *Cryptosporidium*. Korýši, na kterých parazituje, produkují metylovanou lineární C15 isoprenoidovou molekulu – metyl farnesoát – jakožto důležitý hormon (Nagaraju, 2007). Metyl farnesoát hraje roli v morfogenezi a je vylučován do hemolymfy, kde roste *Hematodinium* sp. (Nagaraju, 2007). Tato látka může být použita pro výrobu isoprenoidů, nebo může být přeměněna zpátky na IPP nebo DMAPP.

Absence plastidových metabolických a biosyntetických drah u obrněnky *Hematodinium* naznačuje, že se jedná o druhý případ ztráty plastidu.

9. Závěr

Vzhledem k velmi nízkému počtu organismů, u kterých máme doklady o tom, že došlo ke ztrátě semiautonomní organely, lze usuzovat, že se jedná o velmi vzácné události. Všechny případy těchto ztrát spojuje nahrazení nebo úplné vyřazení metabolických drah, které v ztracené organelce původně probíhaly. Mezi tyto důležité metabolické dráhy patří zejména dráhy pro syntézu Fe-S center u mitochondrií a dráhy pro syntézu isoprenoidů, tetrapyrólů a mastných kyselin u plastidů.

V případě první známé ztráty mitochondrie u *Monocercomonoides* sp. je důležitý i pohled na energetický metabolismus, který je omezený na glykolýzu a arginin deiminázovou dráhu typickou pro prokaryota. Mnohem zásadnější je však zjistit, jak si buňka bez mitochondrie poradí s úkolem syntetizovat životně důležitá Fe-S centra. Oxymonáda využívá cytosolickou dráhu CIA a pravděpodobně taktéž v cytosolu lokalizovanou dráhu SUF, kterou získal její předek horizontálním genovým přenosem z bakterie.

Cryptosporidium parvum, i *Hematodinium* sp. obešli nutnost syntetizovat isoprenoidy *de novo*. Umí získávat důležité prekurzory ze svých hostitelů a ty poté přeměnit na konečné produkty. Také podle výsledků experimentů na *Plasmodium falciparum* se ukazuje, že právě syntéza isoprenoidů, je esenciální dráha pro zachování plastidu u tohoto parazitického druhu. V tomto experimentu bylo prokázáno, že při endogenním dodání prekurzoru isoprenoidů IPP je zastaven negativní účinek antibiotik na růst a u dalších generací dojde ke ztrátě apikoplastu. U *C. parvum* a *Hematodinium* nečiní plastid nepostradatelným ani další metabolické dráhy. Mastné kyseliny jsou v obou případech syntetizovány v cytosolu, nebo podle jiného autora v případě *C. parvum* jsou získávány z hostitele. Syntéza Fe-S center probíhá v obou případech prostřednictvím drah ISC a CIA v mitochondrii respektive v cytosolu. Syntéza tetrapyrólů probíhá u obrněnky v cytosolu a mitochondrii a *C. parvum* má schopnost získávat aminokyseliny a pirimidiny z hostitele.

V budoucnu se může objevit více příkladů ztráty organel. Na obzoru jsou například *Gregarina niphandrodes*. Autoři Toso a Omoto (2007) v ní nenašli při elektronové mikroskopii plastid a při

analýze DNA nenašli žádné plastidové produkty. Při použití Triklosanu, který měl inhibovat plastidovou dráhu pro syntézu mastných kyselin nezaznamenaly výrazné snížení růstu.

Rod *Pelomyxa illinoisensis* byl podroben v šedesátých letech elektronové mikroskopii, kde ačkoli autoři našli struktury, považované za mitochondrie, nepodařilo se s jistotou určit, zdali se o mitochondrie jedná (Daniels & Roth, 1961). To co autoři považovali za mitochondrie nemá vnitřní strukturu typickou pro mitochondrie, a tak je možné že se o mitochondrie nejedná. Žádné organely připomínající mitochondrie nebyly dosud pozorovány u zástupců rodu *Retortamonas* izolovaných ze savčích hostitelů (Ivan Čepička, osobní sdělení).

Informace shrnuté v této práci naznačují, že na ztrátu semiautonomní organely jsou extrémně vzácné ale možné. Více náchylní k takové ztrátě jsou paraziti nebo organismy žijící endobiotickým způsobem života, který umožňuje přísun metabolitů z hostitelského organismu. Pro ztrátu semiautonomní organely je také nezbytné mít alternativní dráhy pro syntézu sloučenin, které organismy nedokáží získávat z prostředí. Tyto alternativní dráhy byly získány u předků v některých případech horizontálním genovým přenosem a umožnily tak ztrátu organely.

Seznam použité literatury

- Abrahamsen, M. S. (2004). Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science*, *304*(5669), 441–445.
- Adam, K. P., Thiel, R., & Zapp, J. (1999). Incorporation of 1-¹³C-13 deoxy-D-xylulose in chamomile sesquiterpenes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *369*(1), 127–132.
- Adams, K. L., & Palmer, J. D. (2003). Evolution of mitochondrial gene content: Gene loss and transfer to the nucleus. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *29*(3), 380–395.
- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., ... Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *59*(5), 429–514.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell. 4th Edition, New York.*
- Ali, V., Shigeta, Y., Tokumoto, U., Takahashi, Y., & Nozaki, T. (2004). An intestinal parasitic protist, *Entamoeba histolytica*, possesses a non-redundant nitrogen fixation-like system for iron-sulfur cluster assembly under anaerobic conditions. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(16), 16863–16874.
- Allen, J. F. (1993). Control of gene expression by redox potential and the requirement for chloroplast and mitochondrial genomes. *Journal of Theoretical Biology*.
- Artz, J. D., Dunford, J. E., Arrowood, M. J., Dong, A., Chruszcz, M., Kavanagh, K. L., ... Hui, R. (2008). Targeting a uniquely nonspecific prenyl synthase with bisphosphonates to combat cryptosporidiosis. *Chemistry & Biology*, *15*(12), 1296–1306.
- Bernard, D. G., Netz, D. J., Lagny, T. J., Pierik, a J., & Balk, J. (2013). Requirements of the cytosolic iron-sulfur cluster assembly pathway in *Arabidopsis*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *368*(1622), 20120259.
- Bessoff, K., Sateriale, A., Lee, K. K., & Huston, C. D. (2013). Drug repurposing screen reveals FDA-approved inhibitors of human HMG-CoA reductase and isoprenoid synthesis that block *Cryptosporidium parvum* growth. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *57*(4), 1804–1814.
- Bick, J. A., & Lange, B. M. (2003). Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: Unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *415*(2), 146–154.
- Björkholm, P., Harish, A., Hagström, E., Ernst, A. M., & Andersson, S. G. E. (2015). Mitochondrial genomes are retained by selective constraints on protein targeting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(33), 10154–10161.
- Bolte, K., Bullmann, L., Hempel, F., Bozarth, A., Zauner, S., & Maier, U. G. (2009). Protein targeting into secondary plastids. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *56*(1), 9–15.
- Borza, T., Popescu, C. E., & Lee, R. W. (2005). Multiple metabolic roles for the nonphotosynthetic plastid of the green alga *Prototheca wickerhamii*. *Eukaryotic Cell*, *4*(2), 253–261.
- Brugerolle, G. (1991). Flagellar and cytoskeletal systems in amitochondrial flagellates: Archamoeba, Metamonada and Parabasala. *Protoplasma*, *164*(1–3), 70–90.

- Burger, G., Gray, M. W., Forget, L., & Lang, B. F. (2013). Strikingly bacteria-like and gene-rich mitochondrial genomes throughout jakobid protists. *Genome Biology and Evolution*, 5(2), 418–438.
- Cai, X., Fuller, A. L., McDougald, L. R., & Zhu, G. (2003). Apicoplast genome of the coccidian *Eimeria tenella*. *Gene*, 321(1–2), 39–46.
- Cavalier-Smith, T. (2000). Membrane heredity and early chloroplast evolution. *Trends in Plant Science*, 5(4), 174–182.
- Cihlář, J., Füssy, Z., Horák, A., & Oborník, M. (2016). Evolution of the tetrapyrrole biosynthetic pathway in secondary algae: Conservation, redundancy and replacement. *PLoS ONE*, 11(11), 1–22.
- Clemens, D. L., & Johnson, P. J. (2000). Failure to detect DNA in hydrogenosomes of *Trichomonas vaginalis* by nick translation and immunomicroscopy. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 106(2), 307–313.
- Cunin, R., Glansdorff, N., Piérard, A., & Stalon, V. (1986). Biosynthesis and metabolism of arginine in bacteria. *Microbiological Reviews*, 50(3), 314–352.
- Dacks, J. B., Silberman, J. D., Simpson, A. G. B., Moriya, S., Kudo, T., Ohkuma, M., & Redfield, R. J. (2001). Oxymonads are closely related to the excavate taxon *Trimastix*. *Molecular Biology and Evolution*, 18(6), 1034–1044.
- Daniels, E. W., & Roth, L. E. (1961). X-irradiation of the giant amoeba, *Pelomyxa illinoisensis*: III. Electron microscopy of centrifuged organisms. *Radiation Research*, 14(1), 66.
- Danne, J. C., Gornik, S. G., MacRae, J. I., McConville, M. J., & Waller, R. F. (2013). Alveolate mitochondrial metabolic evolution: Dinoflagellates force reassessment of the role of parasitism as a driver of change in apicomplexans. *Molecular Biology and Evolution*, 30(1), 123–139.
- De Clerck, O., Bogaert, K. A., & Leliaert, F. (2012). Diversity and evolution of algae (pp. 55–86).
- De Graaf, R. M., Ricard, G., Van Alen, T. A., Duarte, I., Dutilh, B. E., Burgdorf, C., ... Hackstein, J. H. P. (2011). The organellar genome and metabolic potential of the hydrogen-producing mitochondrion of *Nyctotherus ovalis*. *Molecular Biology and Evolution*, 28(8), 2379–2391.
- de Koning, A. P., & Keeling, P. J. (2004). Nucleus-encoded genes for plastid-targeted proteins in *Helicosporidium*: Functional diversity of a cryptic plastid in a parasitic alga. *Eukaryotic Cell*, 3(5), 1198–1205.
- Doležal, P., Likic, V., Tachezy, J., & Lithgow, T. (2006). Evolution of the molecular machines for protein import into mitochondria. *Science*, 313(5785), 314–318.
- Durnford, D. G., & Gray, M. W. (2006). Analysis of *Euglena gracilis* plastid-targeted proteins reveals different classes of transit sequences. *Eukaryotic Cell*, 5(12), 2079–2091.
- Feagin, J. E. (2000). Mitochondrial genome diversity in parasites. *International Journal for Parasitology*, 30(4), 371–90.
- Feagin, J. E., Harrell, M. I., Lee, J. C., Coe, K. J., Sands, B. H., Cannone, J. J., ... Gutell, R. R. (2012). The fragmented mitochondrial ribosomal RNAs of *Plasmodium falciparum*. *PLoS ONE*, 7(6), e38320.

- Fernández Robledo, J. A., Caler, E., Matsuzaki, M., Keeling, P. J., Shanmugam, D., Roos, D. S., & Vasta, G. R. (2011). The search for the missing link: A relic plastid in *Perkinsus*? *International Journal for Parasitology*, *41*(12), 1217–1229.
- Gagat, P., Bodył, A., & Mackiewicz, P. (2013). How protein targeting to primary plastids via the endomembrane system could have evolved? A new hypothesis based on phylogenetic studies. *Biology Direct*, *8*(1), 18.
- Gardner, M. J., Bishop, R., Shah, T., de Villiers, E. P., Carlton, J. M., Hall, N., ... Nene, V. M. (2005). Genome sequence of *Theileria parva*, a bovine pathogen that transform lymphocytes. *Science*, *309*(2005), 134–137.
- Gibbs, S. P. (1981). The chloroplast endoplasmic reticulum: structure, function, and evolutionary significance. In *Int Rev Cytol* (Vol. 72, pp. 49–99).
- Gill, E. E., Diaz-Triviño, S., Barberà, M. J., Silberman, J. D., Stechmann, A., Gaston, D., ... Roger, A. J. (2007). Novel mitochondrion-related organelles in the anaerobic amoeba *Mastigamoeba balamuthi*. *Molecular Microbiology*, *66*(6), 1306–1320.
- Gisselberg, J. E., Dellibovi-Ragheb, T. A., Matthews, K. A., Bosch, G., & Prigge, S. T. (2013). The Suf iron-sulfur cluster synthesis pathway is required for apicoplast maintenance in malaria parasites. *PLoS Pathogens*, *9*(9), e1003655.
- Gockel, G., & Hachtel, W. (2000). Complete gene map of the plastid genome of the nonphotosynthetic euglenoid flagellate *Astasia longa*. *Protist*, *151*(4), 347–351.
- Gornik, S. G., Febrimarsa, Cassin, A. M., MacRae, J. I., Ramaprasad, A., Rchiad, Z., ... Waller, R. F. (2015). Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(18), 5767–72.
- Gould, S. B., Sommer, M. S., Hadfi, K., Zauner, S., Kroth, P. G., & Maier, U. G. (2006). Protein targeting into the complex plastid of cryptophytes. *Journal of Molecular Evolution*, *62*(6), 674–681.
- Hackett, J. D., Anderson, D. M., Erdner, D. L., & Bhattacharya, D. (2004). Dinoflagellates: A remarkable evolutionary experiment. *American Journal of Botany*, *91*(10), 1523–1534.
- HAMPL, V. (2017). Preaxostyla. In J. M. Archibald, A. G. B. Simpson, & C. H. Slamovits (Eds.), *Handbook of the Protists* (2nd ed., pp. 1139–1174). Springer International Publishing.
- Harper, J. T., & Keeling, P. J. (2003). Nucleus-encoded, plastid-targeted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) indicates a single origin for chromalveolate plastids. *Molecular Biology and Evolution*, *20*(10), 1730–1735.
- Hempel, F., Bozarth, A., Sommer, M. S., Zauner, S., Przyborski, J. M., & Maier, U. G. (2007). Transport of nuclear-encoded proteins into secondarily evolved plastids. *Biological Chemistry*, *388*(9), 899–906.
- Henze, K., & Martin, W. (2001). How do mitochondrial genes get into the nucleus? *Trends in Genetics*, *17*(7), 383–387.
- Hirakawa, Y., Burki, F., & Keeling, P. J. (2012). Genome-based reconstruction of the protein import machinery in the secondary plastid of a chlorarachniophyte alga. *Eukaryotic Cell*, *11*(3), 324–333.

- Hopfer, U., Lehninger, A., & Thompson, T. (1968). Protonic conductance across phospholipid bilayer membranes induced by uncoupling agents for oxidative phosphorylation. *Proceedings of the ...*, 59(2), 484–490.
- Huang, C. Y., Ayliffe, M. A., & Timmis, J. N. (2003). Direct measurement of the transfer rate of chloroplast DNA into the nucleus. *Nature*, 422(6927), 72–76.
- Hunter, W. N. (2007). The non-mevalonate pathway of isoprenoid precursor biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 282(30), 21573–21577.
- Chen, M.-H., Huang, L.-F., Li, H.-M., Chen, Y.-R., & Yu, S.-M. (2004). Signal peptide-dependent targeting of a rice alpha-amylase and cargo proteins to plastids and extracellular compartments of plant cells. *Plant Physiology*, 135(3), 1367–77.
- Chesnick, J. M., Morden, C. W., & Schmieg, A. M. (1996). Identity of the endosymbiont of *Peridinium foliaceum* (Pyrrophyta): Analysis of the *rbcLS* operon. *Journal of Phycology*, 32(5), 850–857.
- Inaba, T., & Schnell, D. J. (2008). Protein trafficking to plastids: one theme, many variations. *Biochem. J*, 413, 15–28.
- Inagaki, J., Fujita, Y., Hase, T., & Yamamoto, Y. (2000). Protein translocation within chloroplast is similar in *Euglena* and higher plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 277(2), 436–442.
- Janouškovec, J., Tikhonenkov, D. V., Burki, F., Howe, A. T., Kolísko, M., Mylnikov, A. P., & Keeling, P. J. (2015). Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(33), 10200–10207.
- Jarvis, P., Dörmann, P., Peto, C. A., Lutes, J., Benning, C., & Chory, J. (2000). Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the *Arabidopsis* MGD synthase 1 mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(14), 8175–8179.
- Johnson, D. C., Dos Santos, P. C., & Dean, D. R. (2005). NifU and NifS are required for the maturation of nitrogenase and cannot replace the function of *isc* -gene products in *Azotobacter vinelandii*. *Biochemical Society Transactions*, 33(1), 90–93.
- Johnston, I. G., & Williams, B. P. (2016). Evolutionary inference across eukaryotes identifies specific pressures favoring mitochondrial gene retention. *Cell Systems*, 2(2), 101–111.
- Karnkowska, A., & Hampl, V. (2016). The curious case of vanishing mitochondria. *Microbial Cell*, 3(10), 361–364.
- Karnkowska, A., Vacek, V., Zubáčová, Z., Treitli, S. C., Petrželková, R., Eme, L., ... Hampl, V. (2016). A Eukaryote without a mitochondrial organelle. *Current Biology*, 26(10), 1274–1284.
- Keeling, P. J. (2004). Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. *American Journal of Botany*, 91(10), 1481–1493.
- Keeling, P. J. (2013). The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annual Review of Plant Biology*, 64(February), 583–607.
- Keithly, J. S. (1997). The mitochondrion-related organelle of *Cryptosporidium parvum*. In *Hydrogenosomes and Mitosomes: Mitochondria of Anaerobic Eukaryotes* (Vol. 43, pp. 231–253). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

- Keithly, J. S., Langreth, S. G., Buttle, K. F., & Mannella, C. A. (2005). Electron tomographic and ultrastructural analysis of the *Cryptosporidium parvum* relict mitochondrion, its associated membranes, and organelles. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *52*(2), 132–140.
- Kiley, P. J., & Beinert, H. (2003). The role of Fe-S proteins in sensing and regulation in bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, *6*(2), 181–185.
- Kilian, O., & Kroth, P. G. (2005). Identification and characterization of a new conserved motif within the presequence of proteins targeted into complex diatom plastids. *Plant Journal*, *41*(2), 175–183.
- Kispal, G., Csere, P., Prohl, C., & Lill, R. (1999). The mitochondrial proteins Atm1p and Nfs1p are essential for biogenesis of cytosolic Fe/S proteins. *EMBO Journal*, *18*(14), 3981–3989.
- Kitajima, A., Asatsuma, S., Okada, H., Hamada, Y., Kaneko, K., Nanjo, Y., ... Mitsui, T. (2009). The rice alpha-amylase glycoprotein is targeted from the Golgi apparatus through the secretory pathway to the plastids. *The Plant Cell*, *21*(9), 2844–58.
- Knauf, U., & Hachtel, W. (2002). The genes encoding subunits of ATP synthase are conserved in the reduced plastid genome of the heterotrophic alga *Prototheca wickerhamii*. *Molecular Genetics and Genomics*, *267*(4), 492–497.
- Köhler, S., Delwiche, C. F., Denny, P. W., Tilney, L. G., Webster, P., Wilson, R. J., ... Roos, D. S. (1997). A plastid of probable green algal origin in Apicomplexan parasites. *Science (New York, N.Y.)*, *275*(5305), 1485–1489.
- Kořený, L., Sobotka, R., Janouškovec, J., Keeling, P. J., & Oborník, M. (2011). Tetrapyrrole synthesis of photosynthetic chromerids is likely homologous to the unusual pathway of apicomplexan parasites. *The Plant Cell*, *23*(9), 3454–62.
- Krause, K., Oetke, S., & Krupinska, K. (2012). Dual targeting and retrograde translocation: Regulators of plant nuclear gene expression can be sequestered by plastids. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(9), 11085–11101.
- Kroth, P., & Strotmann, H. (1999). Diatom plastids: Secondary endocytobiosis, plastid genome and protein import. *Physiologia Plantarum*, *107*(1), 136–141.
- LaGier, M. J., Tachezy, J., Stejskal, F., Kutisova, K., & Keithly, J. S. (2003). Mitochondrial-type iron-sulfur cluster biosynthesis genes (IscS and IscU) in the apicomplexan *Cryptosporidium parvum*. *Microbiology*, *149*(12), 3519–3530.
- Lang, B. F., Gray, M. W., & Burger, G. (1999). Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, *33*(1), 351–397.
- Lange, B. M., Rujan, T., Martin, W., & Croteau, R. (2000). Isoprenoid biosynthesis: the evolution of two ancient and distinct pathways across genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(24), 13172–7.
- Lass-Flörl, C., & Mayr, A. (2007). Human protothecosis. *Clinical Microbiology Reviews*, *20*(2), 230–242.
- Leister, D. (2003). Chloroplast research in the genomic age. *Trends in Genetics*, *19*(1), 47–56.
- Levitan, A., Trebitsh, T., Kiss, V., Pereg, Y., Dangoor, I., & Danon, A. (2005). Dual targeting of the protein disulfide isomerase RB60 to the chloroplast and the endoplasmic reticulum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(17), 6225–30.

- Lill, R., & Stehling, O. (2013). The role of mitochondria in cellular iron – sulfur processes , and diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1–17.
- Lindmark, D. G., Muller, M., & Shio, H. (1975). Hydrogenosomes in *Trichomonas vaginalis*. *The Journal of Parasitology*, 61(3), 552.
- Lindmark, G., & Müller, M. (1973). A cytoplasmic organelle flagellate *Tritrichomonas foetus* , and its role in pyruvate metabolism. *Biological Chemistry*, 248(22), 7724–7728.
- López-García, P., & Moreira, D. (2015). Open Questions on the Origin of Eukaryotes. *Trends in Ecology and Evolution*, 30(11), 697–708.
- Lund, E. D., Chu, F. L. E., & Harvey, E. (2004). In vitro effects of temperature and salinity on fatty acid synthesis in the oyster protozoan parasite *Perkinsus marinus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 307(1), 111–126.
- Maréchal, E., & Cesbron-Delauw, M. F. (2001). The apicoplast: A new member of the plastid family. *Trends in Plant Science*, 6(5), 200–205.
- Martin, W., & Herrmann, R. G. (1998). Gene transfer from organelles to the nucleus: How much, what happens, and why? *Plant Physiology*, 118(1), 9–17.
- Matsuzaki, M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., Kita, K., & Nozaki, H. (2008). A cryptic algal group unveiled: A plastid biosynthesis pathway in the oyster parasite *Perkinsus marinus*. *Molecular Biology and Evolution*, 25(6), 1167–1179.
- McFadden, G. I. (2001). Primary and secondary endosymbiosis and the origin of plastids. *Journal of Phycology*, 37(6), 951–959.
- Meusser, B., Hirsch, C., Jarosch, E., & Sommer, T. (2005). ERAD: The long road to destruction. *Nature Cell Biology*, 7(8), 766–772.
- Meyers, T., Koeneman, T., Botelho, C., & Short, S. (1987). Bitter crab disease: a fatal dinoflagellate infection and marketing problem for Alaskan Tanner crabs *Chionoecetes bairdi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 3, 195–216.
- Mi-ichi, F., Abu Yousuf, M., Nakada-Tsukui, K., & Nozaki, T. (2009). Mitosomes in *Entamoeba histolytica* contain a sulfate activation pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51), 21731–21736.
- Mi-ichi, F., Miyamoto, T., Takao, S., Jeelani, G., Hashimoto, T., Hara, H., ... Yoshida, H. (2015). *Entamoeba* mitosomes play an important role in encystation by association with cholesteryl sulfate synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(22), E2884–E2890.
- Model, K., Meisinger, C., Prinz, T., Wiedemann, N., Truscott, K. N., Pfanner, N., & Ryan, M. T. (2001). Multistep assembly of the protein import channel of the mitochondrial outer membrane. *Nature Structural Biology*, 8(4), 361–370.
- Molina, J., Hazzouri, K. M., Nickrent, D., Geisler, M., Meyer, R. S., Pentony, M. M., ... Purugganan, M. D. (2014). Possible loss of the chloroplast genome in the parasitic flowering plant *Rafflesia lagascae* (Rafflesiaceae). *Molecular Biology and Evolution*, 31(4), 793–803.
- Moore, R. B., Oborník, M., Janouškovec, J., Chrudimský, T., Vancová, M., Green, D. H., ... Carter, D. A. (2008). A photosynthetic alveolate closely related to apicomplexan parasites. *Nature*, 451(7181), 959–963.

- Müller, M. (1993). Review article: The hydrogenosome. *Journal of General Microbiology*, 139(12), 2879–2889.
- Müller, M., Mentel, M., van Hellemond, J. J., Henze, K., Woehle, C., Gould, S. B., ... Martin, W. F. (2012). Biochemistry and evolution of anaerobic energy metabolism in eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 76(2), 444–495.
- Nadakavukaren, M. J., & McCracken, D. A. (1977). An ultrastructural survey of the genus *Prototheca* with special reference to plastids. *Mycopathologia*, 61(2), 117–119.
- Nagaraju, G. P. C. (2007). Is methyl farnesoate a crustacean hormone? *Aquaculture*, 272(1–4), 39–54.
- Nanjo, Y., Oka, H., Ikarashi, N., Kaneko, K., Kitajima, A., Mitsui, T., ... Pozueta-Romero, J. (2006). Rice plastidial N-glycosylated nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase is transported from the ER-golgi to the chloroplast through the secretory pathway. *Plant Cell*, 18(10), 2582–2592.
- Neupert, W. (1997). Protein import into mitochondria. *Annual Review of Biochemistry*, 66(1), 863–917.
- Notsu, Y., Masood, S., Nishikawa, T., Kubo, N., Akiduki, G., Nakazono, M., ... Kadowaki, K. (2002). The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome: Frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants. *Molecular Genetics and Genomics*, 268(4), 434–445.
- Novák, L., Zubáčová, Z., Karnkowska, A., Kolisko, M., Hroudová, M., Stairs, C. W., ... Hampl, V. (2016). Arginine deiminase pathway enzymes: evolutionary history in metamonads and other eukaryotes. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1), 197.
- Patron, N. J., & Waller, R. F. (2007). Transit peptide diversity and divergence: A global analysis of plastid targeting signals. *BioEssays*, 29(10), 1048–1058.
- Pfanner, N. (2000). Protein sorting: Recognizing mitochondrial presequences. *Current Biology*, 10(11), 412–415.
- Ponce-Toledo, R. I., Deschamps, P., López-García, P., Zivanovic, Y., Benzerara, K., & Moreira, D. (2017). An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids. *Current Biology*, 27(3), 386–391.
- Popot, J. L., & Vitry, C. (1990). On the microassembly of integral membrane proteins. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, 19(1), 369–403.
- Pringsheim, E. G. (1955). The genus *Polytomella* *. *The Journal of Protozoology*, 2(4), 137–145.
- Pulido, P., Perello, C., & Rodriguez-Concepcion, M. (2012). New insights into plant Isoprenoid metabolism. *Molecular Plant*, 5(5), 964–967.
- Pyke, K. (1998). Plastid division: The origin of replication. *The Plant Cell*, 10(12), 1971.
- Ralph, S. A., van Dooren, G. G., Waller, R. F., Crawford, M. J., Fraunholz, M. J., Foth, B. J., ... McFadden, G. I. (2004). Tropical infectious diseases: metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast. *Nature Reviews. Microbiology*, 2(3), 203–216.
- Rehling, P., Brandner, K., & Pfanner, N. (2004). Mitochondrial import and the twin-pore translocase. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(7), 519–530.

- Ricchetti, M., Fairhead, C., & Dujon, B. (1999). Mitochondrial DNA repairs double-strand breaks in yeast chromosomes. *Nature*, *402*(6757), 96–100.
- Richter, S., & Lamppa, G. K. (1998). A chloroplast processing enzyme functions as the general stromal processing peptidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(13), 7463–7468.
- Rodríguez-Ezpeleta, N., & Embley, T. M. (2012). The SAR11 group of alpha-proteobacteria is not related to the origin of mitochondria. *PLoS ONE*, *7*(1), e30520.
- Rogers, M. B., Gilson, P. R., Su, V., McFadden, G. I., & Keeling, P. J. (2007). The complete chloroplast genome of the chlorarachniophyte *Bigeloviella natans*: Evidence for independent origins of chlorarachniophyte and euglenid secondary endosymbionts. *Molecular Biology and Evolution*, *24*(1), 54–62.
- Ronald Mills, W., & Wilson, K. G. (1978). Effects of lysine, threonine and methionine on light-driven protein synthesis in isolated pea (*Pisum sativum* L.) chloroplasts. *Planta*, *142*(2), 153–160.
- Sagan, L. (1967). On the origin of mitosing cells. *Journal of Theoretical Biology*, *14*(3), 225–274.
- Saldarriaga, J. F., Taylor, F. J. R., Keeling, P. J., & Cavalier-Smith, T. (2001). Dinoflagellate nuclear SSU rRNA phylogeny suggests multiple plastid losses and replacements. *Journal of Molecular Evolution*, *53*(3), 204–213.
- Sanchez-Puerta, M. V., Lippmeier, J. C., Apt, K. E., & Delwiche, C. F. (2007). Plastid Genes in a Non-Photosynthetic Dinoflagellate. *Protist*, *158*(1), 105–117.
- Saraste, M. (1999). Oxidative phosphorylation at the fin de siècle. *Science (New York, N.Y.)*, *283*(5407), 1488–1493.
- Seeber, F. (2002). Biogenesis of iron-sulphur clusters in amitochondriate and apicomplexan protists. *International Journal for Parasitology*, *32*(10), 1207–1217.
- Senior, A. (1988). ATP synthesis by oxidative phosphorylation. *Physiological Reviews*, *68*(1), 177–231.
- Shemin, D., & Russell, C. S. (1953). δ -Aminolevulinic acid, its role in the biosynthesis of porphyrins and purines. *J. Am. Chem. Soc.*, *75*(19), 4873–4874.
- Schleiff, E. (2003). Prediction of the plant beta-barrel proteome: A case study of the chloroplast outer envelope. *Protein Science*, *12*(4), 748–759.
- Schneider, R. E., Brown, mark T., Shiflett, A. M., Dyall, S. D., Hayes, R. D., Xie, Y., ... Johnson, P. J. (2011). The *Trichomonas vaginalis* hydrogenosome proteome is highly reduced relative to mitochondria, yet complex compared with mitosomes. *International Journal for Parasitology*, *41*(13–14), 1421–1434.
- Schnell, D. J., Blobel, G., Keegstra, K., Kessler, F., Ko, K., & Soll, J. (1997). A consensus nomenclature for the protein-import components of the chloroplast envelope. *Trends in Cell Biology*, *7*(8), 303–304.
- Schnepf, E., & Elbrächter, M. (1999). Dinophyte chloroplasts and phylogeny - A review. *Grana*, *38*(June), 81–97.
- Schofield, P. J., Edwards, M. R., Matthews, J., & Wilson, J. R. (1992). The pathway of arginine catabolism in *Giardia intestinalis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, *51*(1), 29–36.

- Schünemann, D. (2007). Mechanisms of protein import into thylakoids of chloroplasts. *Biological Chemistry*, 388(9), 907–915.
- Schweizer, E., & Hofmann, J. (2004). Microbial type I fatty acid synthases (FAS): Major players in a network of cellular FAS systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(3), 501–517.
- Simpson, A. G. B., Radek, R., Dacks, J. B., & O’Kelly, C. J. (2002). How oxymonads lost their groove: An ultrastructural comparison of Monocercomonoides and excavate taxa. *Journal Of Eukaryotic Microbiology*, 49(3), 239–248.
- Slamovits, C. H., & Keeling, P. J. (2008). Plastid-derived genes in the nonphotosynthetic alveolate *Oxyrrhis marina*. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1297–1306.
- Smith, D. R., & Lee, R. W. (2014). A plastid without a genome: evidence from the nonphotosynthetic green algal genus *Polytomella*. *Plant Physiology*, 164(4), 1812–9.
- Sommer, M. S., Gould, S. B., Lehmann, P., Gruber, A., Przyborski, J. M., & Maier, U. G. (2007). Der1-mediated preprotein import into the periplastid compartment of chromalveolates? *Molecular Biology and Evolution*, 24(4), 918–928.
- Stechmann, A., Hamblin, K., Pérez-Brocal, V., Gaston, D., Richmond, G. S., van der Giezen, M., ... Roger, A. J. (2008). Organelles in *Blastocystis* that blur the distinction between mitochondria and hydrogenosomes. *Current Biology*, 18(8), 580–585.
- Stelter, K., El-Sayed, N. M., & Seeber, F. (2007). The expression of a plant-type ferredoxin redox system provides molecular evidence for a plastid in the early dinoflagellate *Perkinsus marinus*. *Protist*, 158(1), 119–130.
- Sulli, C., Fang, Z. W., Muchhal, U., & Schwartzbach, S. D. (1999). Topology of *Euglena* chloroplast protein precursors within endoplasmic reticulum to Golgi to chloroplast transport vesicles. *Journal of Biological Chemistry*, 274(1), 457–463.
- Sun, G., & Huang, J. (2011). Horizontally acquired DAP pathway as a unit of self-regulation. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(3), 587–595.
- Tachezy, J., & Šmíd, O. (2007). Mitosomes in parasitic protists. In *Hydrogenosomes and Mitosomes: Mitochondria of Anaerobic Eukaryotes* (Vol. 43, pp. 201–230). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Tartar, A., Boucias, D. G., Adams, B. J., & Becnel, J. J. (2002). Phylogenetic analysis identifies the invertebrate pathogen *Helicosporidium* sp. as a green alga (Chlorophyta). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(1), 273–279.
- Tengs, T., Dahlberg, O. J., Shalchian-Tabrizi, K., Klaveness, D., Rudi, K., Delwiche, C. F., & Jakobsen, K. S. (2000). Phylogenetic analyses indicate that the 19’Hexanoyloxy-fucoxanthin-containing dinoflagellates have tertiary plastids of haptophyte origin. *Molecular Biology and Evolution*, 17(5), 718–729.
- Tetley, L., Brown, S. M. A., McDonald, V., & Coombs, G. H. (1998). Ultrastructural analysis of the sporozoite of *Cryptosporidium parvum*. *Microbiology*, 144(12), 3249–3255.
- Thorsness, P. E., & Fox, T. D. (1990). Escape of DNA from mitochondria to the nucleus in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, 346(6282), 376–379.
- Tielens, A. G. M., Schagger, H., Cramer, W. A., & Vonjagow, G. (2002). Mitochondria as we don ’ t know them. *Analytical Biochemistry*, 27(11), 564–572.

- Tonkin, C. J., Struck, N. S., Mullin, K. A., Stimmler, L. M., & McFadden, G. I. (2006). Evidence for Golgi-independent transport from the early secretory pathway to the plastid in malaria parasites. *Molecular Microbiology*, *61*(3), 614–630.
- Toso, M. A., & Omoto, C. K. (2007). Gregarina niphandrodes may lack both a plastid genome and organelle. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *54*(1), 66–72.
- Tovar, J., Fischer, A., & Clark, C. G. (1999). The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite Entamoeba histolytica. *Molecular Microbiology*, *32*(5), 1013–1021.
- Tsaousis, a. D., Ollagnier de Choudens, S., Gentekaki, E., Long, S., Gaston, D., Stechmann, a., ... Roger, a. J. (2012). Evolution of Fe/S cluster biogenesis in the anaerobic parasite Blastocystis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(26), 10426–10431.
- van Dooren, G. G., Kennedy, A. T., & McFadden, G. I. (2012). The use and abuse of heme in apicomplexan parasites. *Antioxidants & Redox Signaling*, *17*(4), 634–56.
- Vavilin, D. V., & Vermaas, W. F. J. (2002). Regulation of the tetrapyrrole biosynthetic pathway leading to heme and chlorophyll in plants and cyanobacteria. *Physiologia Plantarum*, *115*(1), 9–24.
- Velasco, A. M., Leguina, J. I., & Lazcano, A. (2002). Molecular evolution of the lysine biosynthetic pathways. *Journal of Molecular Evolution*, *55*(4), 445–459.
- Villarejo, A., Burén, S., Larsson, S., Déjardin, A., Monné, M., Rudhe, C., ... Samuelsson, G. (2005). Evidence for a protein transported through the secretory pathway en route to the higher plant chloroplast. *Nature Cell Biology*, *7*(12), 1224–1231.
- Wachter, C., Schatz, G., & Glick, B. S. (1994). Protein import into mitochondria: the requirement for external ATP is precursor-specific whereas intramitochondrial ATP is universally needed for translocation into the matrix. *Molecular Biology of the Cell*, *5*(4), 465–474.
- Wakil, S. J. (1989). Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry*, *28*(11), 4523–4530.
- Waller, R. F., Keeling, P. J., Donald, R. G., Striepen, B., Handman, E., Lang-Unnasch, N., ... McFadden, G. I. (1998). Nuclear-encoded proteins target to the plastid in Toxoplasma gondii and Plasmodium falciparum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(21), 12352–7.
- Watanabe, M. M., Takeda, Y., Sasa, T., Inouye, I., Suda, S., Sawaguchi, T., & Chihara, M. (1987). A green dinoflagellate with chlorophylls a and b: morphology, fine structure of the chloroplast and chlorophyll composition. *Journal of Phycology*, *23*(s2), 382–389.
- Wiedemann, N., Urzica, E., Guiard, B., Müller, H., Lohaus, C., Meyer, H. E., ... Pfanner, N. (2006). Essential role of Isd11 in mitochondrial iron-sulfur cluster synthesis on Isu scaffold proteins. *The EMBO Journal*, *25*(1), 184–95.
- Wunder, T., Martin, R., Löffelhardt, W., Schleiff, E., & Steiner, J. M. (2007). The invariant phenylalanine of precursor proteins discloses the importance of Omp85 for protein translocation into cyanelles. *BMC Evolutionary Biology*, *7*(1), 236.
- Yang, D., Oyaizu, Y., Oyaizu, H., Olsen, G. J., & Woese, C. R. (1985). Mitochondrial origins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *82*(13), 4443–4447.

- Yarlett, N., Orpin, C. G., Munn, E. A., Yarlett, N. C., & Greenwood, C. A. (1986). Hydrogenosomes in the rumen fungus *Neocallimastix patriciarum*. *The Biochemical Journal*, *236*(3), 729–739.
- Yeh, E., & DeRisi, J. L. (2011). Chemical rescue of malaria parasites lacking an apicoplast defines organelle function in blood-stage *Plasmodium falciparum*. *PLoS Biology*, *9*(8), e1001138.
- Záhonová, K., Füssy, Z., Oborník, M., Eliáš, M., & Yurchenko, V. (2016). RuBisCO in non-photosynthetic alga *Euglena longa*: Divergent features, transcriptomic analysis and regulation of complex formation. *PLoS ONE*, *11*(7), 1–15.
- Zhu, G., Marchewka, M. J., & Keithly, J. S. (2000). *Cryptosporidium parvum* appears to lack a plastid genome. *Microbiology*, *146*(2), 315–321.
- Zíková, A., Hampl, V., Paris, Z., Týč, J., Lukeš, & Julius. (2016). Aerobic mitochondria of parasitic protists: Diverse genomes and complex functions. *Molecular and Biochemical Parasitology*, *209*(1–2), 46–57.
- Zimorski, V., Rauch, C., van Hellemond, J. J., Tielens, A. G. M., & Martin, W. F. (2017). The mitochondrion of *Euglena gracilis*. In S. D. Schwartzbach & S. Shigeoka (Eds.) (Vol. 979, pp. 19–37). Cham: Springer International Publishing.