

Masarykova univerzita v Brně
Přírodovědecká fakulta

Seminární práce na téma:
Výzkumný projekt mého potenciálního zaměření

Objev Lokiarchaeota
ve světle výzkumu eukaryogeneze

Úvod do problematiky

Teorie eukaryogeneze

Život bývá v současnosti rozřazován do tří domén – Archaea, Bacteria a Eukaryota, v souladu s třídoménovým systémem, zavedeným v současné podobě v roce 1990 na základě práce Carla Woese.^[1] Eukaryontní buňky jsou svou stavbou mnohonásobně složitější než prokaryontní (tj. organismů domén Archaea a Bacteria) a byť se předpokládá, že se Eukaryota vyvinuli z prokaryot, ve volné přírodě vědci nenalezli organismy, které by se nacházely ve fylogenetickém mezistupni. Teorií, jak mohla vzniknout tak komplexní buňka z primitivní, lze v současném uvažování o daném tématu najít několik.

Jednou z teorií eukaryogeneze je teorie archezoální. Archezoa měla být svou velikostí a komplexností již eukaryontní buňky, které fagocytovaly a ne zcela strávily α -proteobakterii, která se postupně vyvinula v endosymbionta. Nebyl však nikdy takový (tzn. amitochondriální) organismus nalezen, navíc se existence buňky takovýchto rozměrů bez energetického zásobení z mitochondrií nezdá vůbec možná.^[2]

Mitochondrie se tedy jeví být podmínkou pro samotný vývin Eukaryot. Další verze vzniku eukaryontních buněk předpokládá nejprve pohlcení bakterie Archeonem a samotná endosymbióza až spustila eukaryogenezi. Endosymbióza je však mezi Bacteria a Archaea velice vzácná.^[2]

V nedávných letech mikrobiologové našli v archaeálních genomech geny kódující homology některých proteinů, podílejících se na ultrastruktuře buněk. Dobrým příkladem mohou být homology ubiquitinu a enzymy s ním spojené v *Caldiarchoeum subterrenum*. Dále byly v různých skupinách Archaea nalezeny geny, kódující archaeální aktiny (tzv. krenaktiny), tubuliny či komplex ESCRT-III.^[2] Vzhledem k značnému horizontálnímu přenosu genů mezi Archaea není nepředstavitelné, že by se výše vyjmenované struktury nemohly objevit v jednom organismu, který by byl schopen primitivní formy fagocytózy a zachytit endosymbionta. Tato teorie je v podstatě spojením dvou výše zmíněných myšlenek.

Všechny myšlenky výše zmíněné předpokládají, že předek Eukaryot měl fagocytovat předka mitochondrie. Avšak žádná fagocytující prokaryota nejsou známa. S tímto faktem se vyrovnává vodíková hypotéza, podle které mitochondrie vznikla původně z anaerobní syntrofie dvou prokaryot. Předek mitochondrie byl (podle této teorie) fakultativní anaerob schopný jak dýchání, tak anaerobní fermentace s molekulou vodíku jako konečným produktem. Hostitel byl pak závislý na výskytu vodíku, což jej přivedlo do blízkosti předků mitochondrií. Ze dvou samostatných organismů se později staly symbionti, metabolické reakce a přenos genů způsobily integraci předka mitochondrií do ultrastruktury hostitele. Endosymbiont se pak postupně specializoval na produkci ATP. Hostitel tak nepotřeboval fagocytózu pro pohlcení endosymbionta. V přírodě, včetně prokaryot, lze najít takové případy.^[3]

Lokiarchaeota

Zkoumání mikrobiálních společenstev může prohloubit naše poznání a upřesnit teorie vzniku, případně i některé vyvrátit. V roce 2015 byl oznámen objev nové skupiny Archaea, nazvaných Lokiarchaeota, podle lokality Lokiho Hrad, pole hydrotermálních průduchů, nacházejících se v Severním ledovém oceánu mezi Norskem a Grónskem. Metodou metagenomiky vědci sekvenovali vzorky ze sedimentu, nacházejícího se asi patnáct kilometrů severoseverozápadně od Lokiho Hradu v hloubce 3283 metrů pod mořskou hladinou. Získali z asi 92 procent kompletní genom linie nazvané *Lokiarchaeum*, včetně kopií genů 16S a 23S rRNA. Sekvenovali i další dva menší genomy,

které nazvali Loki2 a Loki3. Segmenty těchto dvou linií neobsahovaly 16S rRNA geny, proto byly přiřazeny k Lokiarchaeota až na základě dalších analýz. Lokiarchaeum a Loki2 byly klasifikovány jako sesterské linie, Loki3 pak vyšlo jako sesterská linie Eukaryot.^[4]

Analýza proteomu Lokiarchaeum odhalila, že 32 % proteinů se nepodobalo žádnému známému proteinu, 26 % typicky archaeálním proteinům, 29 % bakteriálním, 3,3% pak eukaryontním. Asi 2,2 % všech proteinů patří mezi Ras GTPázy, které jsou v eukaryontních buňkách mj. součástí procesu fagocytózy. V jejich genomu byly pak nalezeny geny kódující pět aktinových homologů, které jsou bližší eukaryontním aktinům než archaeálním krenaktinům. Další geny kódují i ESCRT-III komplex a pravděpodobně i systém ubiquitinu.^[4] Všechny zmíněné skutečnosti hovoří proti archezoální teorii. Avšak Lokiarchaeum je stále typickým zástupcem Archaea, četné komponenty eukaryontních buněk chybí, tudíž objev skupiny Lokiarchaeota nemůže nyní plně vyvrátit tuto teorii, byť značně snižuje její kredibilitu.

Hlubší analýza genomu ukázala, že Lokiarchaeota jsou vodík dependentní, anaerobní a pravděpodobně autotrofní. Tyto poznatky jsou v souladu s vodíkovou hypotézou.^[4] Fagocytóza totiž už z podstaty vyžaduje heterotrofii. Navíc je potřeba eukaryontní cytoskeleton, tvorba potravinových vakuol a systém intracelulárního vezikulárního transportu. Nic z toho však není v plné míře u Lokiarchaeota přítomno, tudíž i fagocytóza se jeví velice nepravděpodobná.

Definice problému a navržení řešení

Předchozí text byl shrnutím některých základních teorií eukaryogeneze a konfrontace těchto teorií s novými poznatky. Objev Lokiarchaeot vyvolal novou debatu, která se však nutně zůstává na poli domněnek. Analýza genomu a proteomu může sice leccos naznačit, nutno ale mít na mysli, že genom Lokiarchaeum není sekvenován celý, u linií Loki2 a Loki3 nemáme ani polovinu.^[4] Není ani znám žádný příbuzný genom, jenž bychom znali celý. Lokiarchaeota nebyla zatím izolována a kultivována v laboratoři, ba neexistuje ani fotografie. Nevíme nic o fyziologii ni morfologii těchto organismů. Je nutno dále zkoumat genom a proteom těchto tvorů a pokusit se získat údaje o podobě a stavbě buněk. Co se týče problému eukaryogeneze, pro ověření a zpřesňování teorie (resp. prozatím teorií) je nutno pokračovat ve výzkumu těch kmenů organismů z domén Archaea a Bacteria, jejichž předci by mohli být součástí linií, ze kterých se endosymbiózou stala Eukaryota.

Metoda řešení a očekávaný výsledek

Pomocí vyřešit otázky, které vyvstali po publikování objevu v roce 2015, by mohlo odebrání dalších vzorků sedimentů z lokace nálezů. Pro přesnější určení vlastností Lokiarchaeot je nutno sekvenovat celý genom všech tří linií. Pak bychom konečně zjistili, jak moc doopravdy jsou geneticky příbuzná Eukaryotám. Nejspíš se ukáže, že plně patří do své domény a nepotvrdí se domněnka, že jsou vývojovým mezistupněm. Dalším důležitým krokem k porozumění těmto organismům je izolace z prostředí a kultivace. Proces by to byl velice obtížný (pokud je vůbec možný), obecně se kultivace Archaea teprve vyvíjí, ale i "pouhá" izolace těchto buněk by mohla poskytnout odpověď na některé otázky. Pravděpodobně by se potvrdila domněnka, že se velikostí nevymykají hodnotám pro Archaea obvyklým. Vodík dependentní autotrofie, vyplývající z genomu, se také s nejvyšší pravděpodobností potvrdí.

Závěr

Normální velikost buňky by mohla, vzhledem k faktu, že jsou Lokiarchaeota ze známých prokaryot nejbližší k Eukaryotám, být další ránou pro archezoální teorii. Kompletní genom, ukáže-li, že dané geny nestačí pro vznik složitějších struktur eukaryontního cytoskeletu a dalších nezbytných složek

fagocytózy, sníží důvěryhodnost všech teorií, jež předpokládají, že byl endosymbiont fagocytován. Naopak vzroste význam vodíkové teorie; lze odhadovat, že se bude s novými informacemi upřesňovat a rozvíjet. Otázkou zůstává například způsob pohlcení endosymbionta, o čemž se v rámci objevu Lokiarchaeota také rozvířila nová debata.^[6]

Literatura

1 KEATS, JONATHON. *Discover* [online]. 2016, **37**(9), 8-9 [cit. 2017-01-03]. ISSN 02747529.

2 KOONIN, Eugene V. Archaeal ancestors of eukaryotes: not so elusive any more. *BMC Biology* [online]. 2015, **13**(1), 1-7 [cit. 2017-01-03]. DOI: 10.1186/s12915-015-0194-5. ISSN 17417007.

3 MARTIN, William F.;Neukirchen. Energy for two: New archaeal lineages and the origin of mitochondria. *BioEssays* [online]. 2016, **38**(9), 850-856 [cit. 2017-01-03]. DOI: 10.1002/bies.201600089. ISSN 02659247.

4 SPANG, Anja;Saw. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature* [online]. 2015, **521**(7551), 173-179 [cit. 2017-01-03]. DOI: 10.1038/nature14447. ISSN 00280836.

5 SOUSA FL;NEUKIRCHEN S;ALLEN JF;LANE N;MARTIN WF. Lokiarchaeon is hydrogen dependent. *Nature Microbiology* [online]. 2016, **1**, 16034 [cit. 2017-01-03]. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.34. ISSN 20585276.

6 BALL SG;BHATTACHARYA D;WEBER AP. EVOLUTION. Pathogen to powerhouse. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 2016, **351**(6274), 659-60 [cit. 2017-01-03]. DOI: 10.1126/science.aad8864. ISSN 10959203.