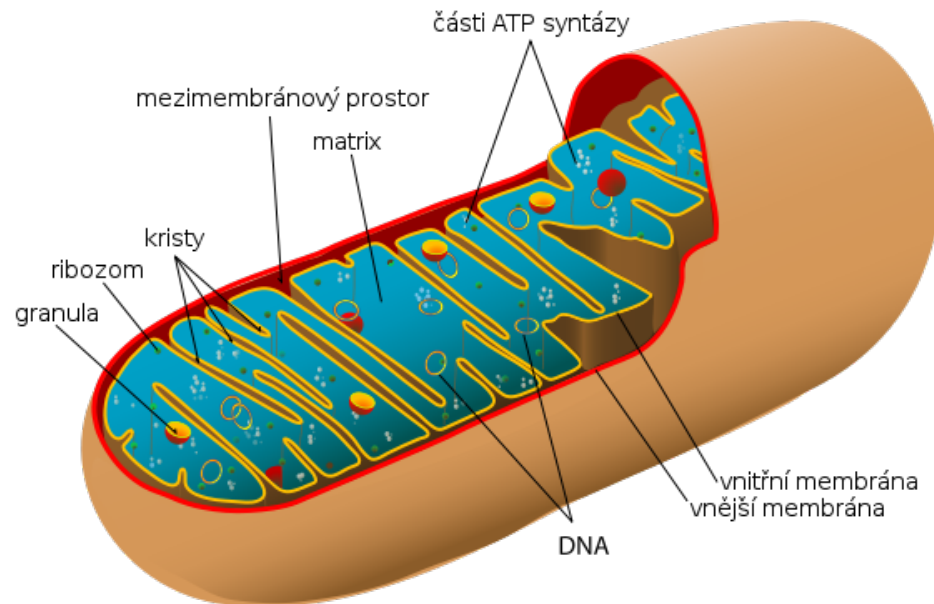


Mitochondrie

Struktura: membránově obalená organela, viz obrázek

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

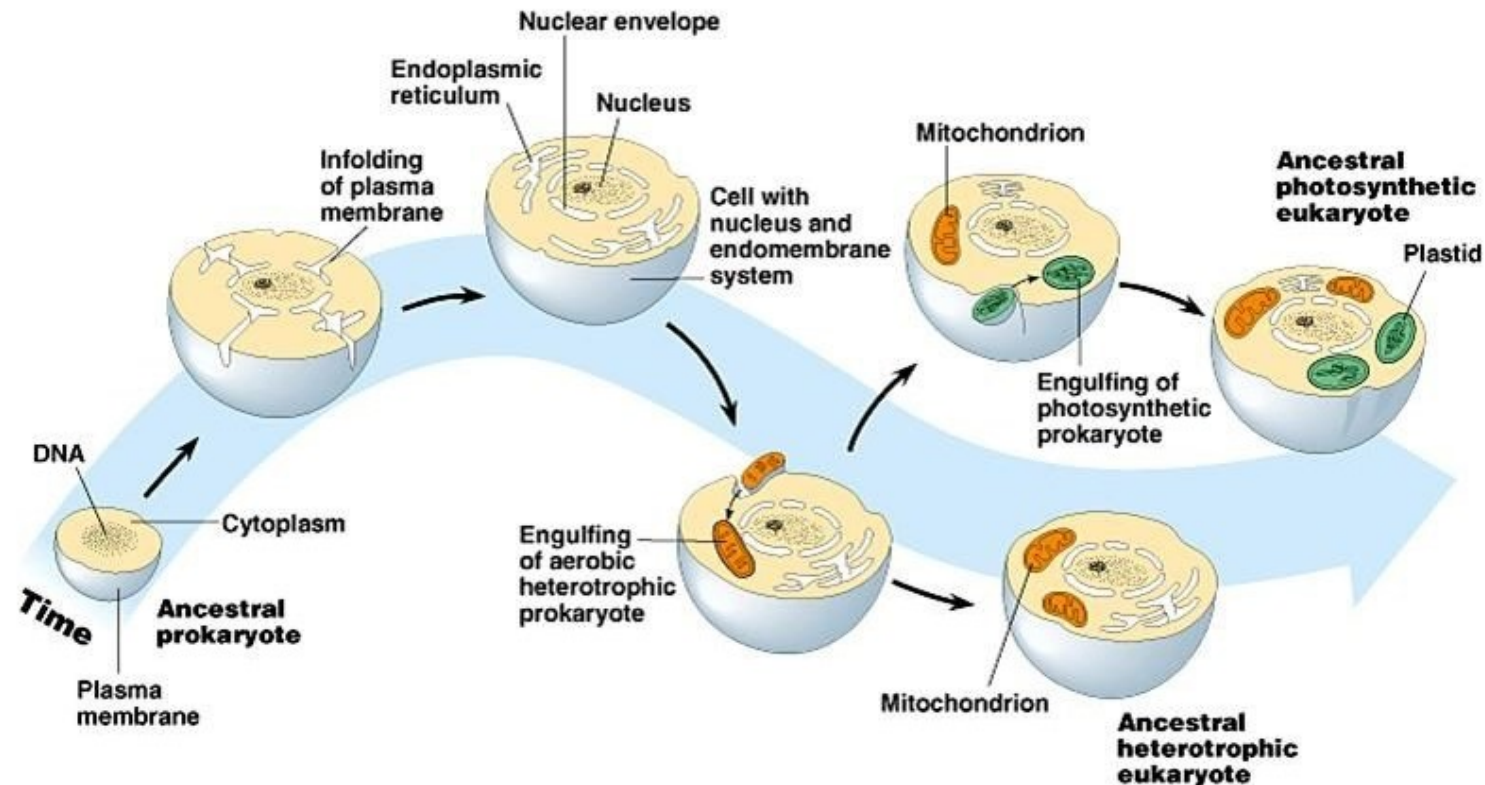
Metabolizmus: Krebsův cyklus, dýchací řetězec, beta-oxidace mastných kyselin a jiné



Vznik mitochondrie

Endosymbiotická hypotéza:

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



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

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

mtDNA

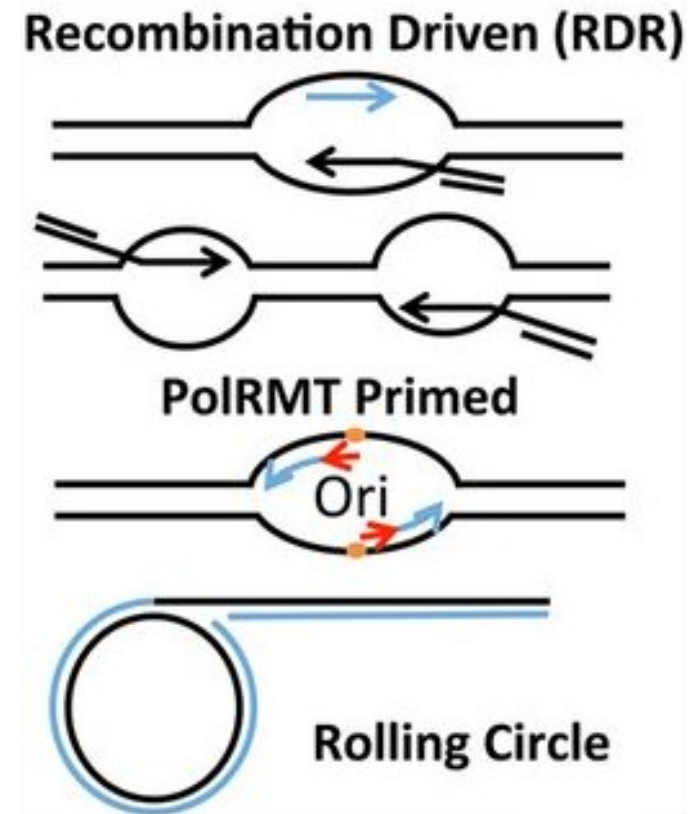
- Většina mtDNA genomu jsou cirkulární a superspiralizované (někteří prvoci a houby a tedy i kvasinky mají lineární mtDNA)
- mtDNA není vázaná histony nebo jim podobnými proteinami (podobně jako u bakterií)
- V jedné buňce je vícero kopií mtDNA v jedné mitochondrii
- Velikost mtDNA se liší mezi různými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

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

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

Replikace mtDNA

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



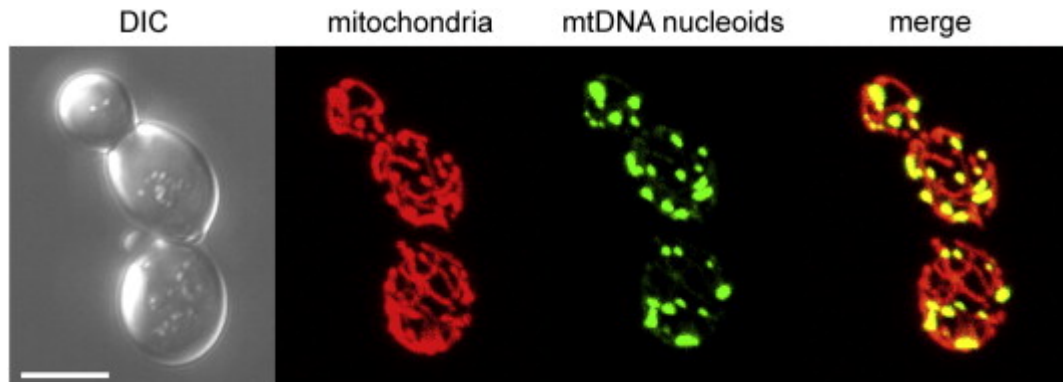
Translace mtDNA genomu:

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

Table 21.2 Nonuniversal codons found in mtDNA

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

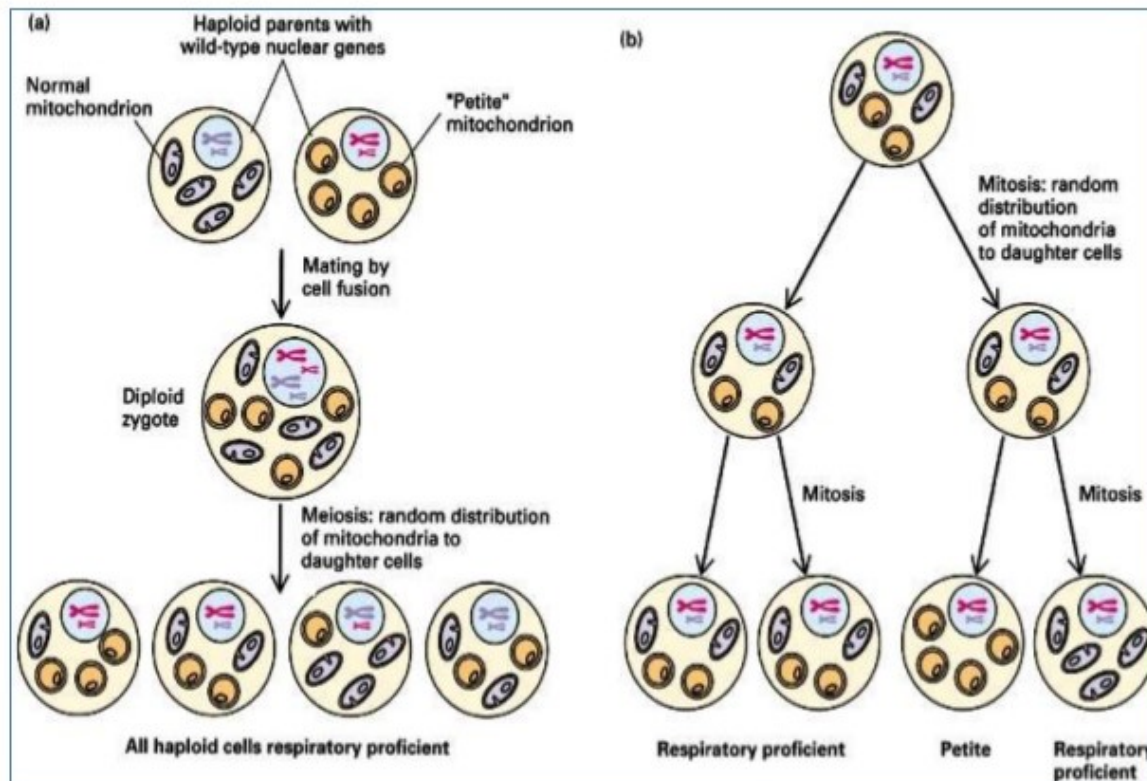
Kvasinkové mitochondrie – organelová síť



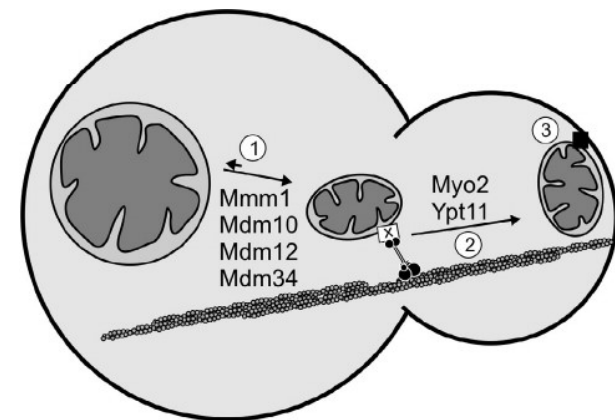
mitochondria targeted ERFP
červený signál

Abf2-GFP zelený signál

Mitochondrial Inheritance in Yeast



Ne-Mendelovská dědičnost

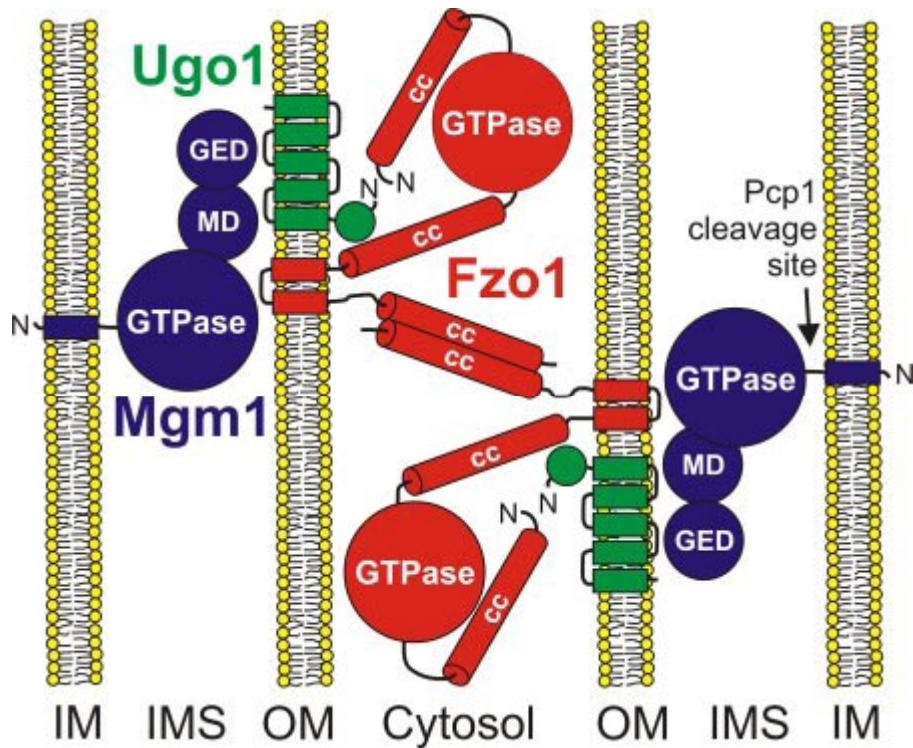


- 1) Udržování transportovatelných mitochondriálních jednotek
- 2) Transport mitochondrie do pupenu
- 3) Zachycení mitochondrie v špičce pupenu

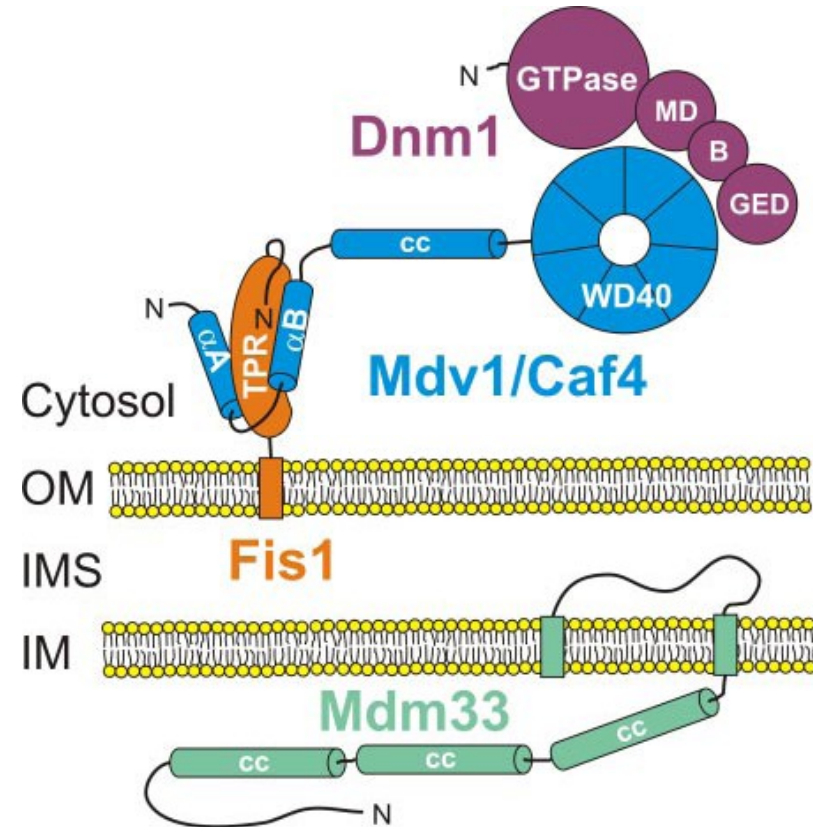
Fúze mitochondrií (fusion)

Rozdělení mitochondrií (fission)

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

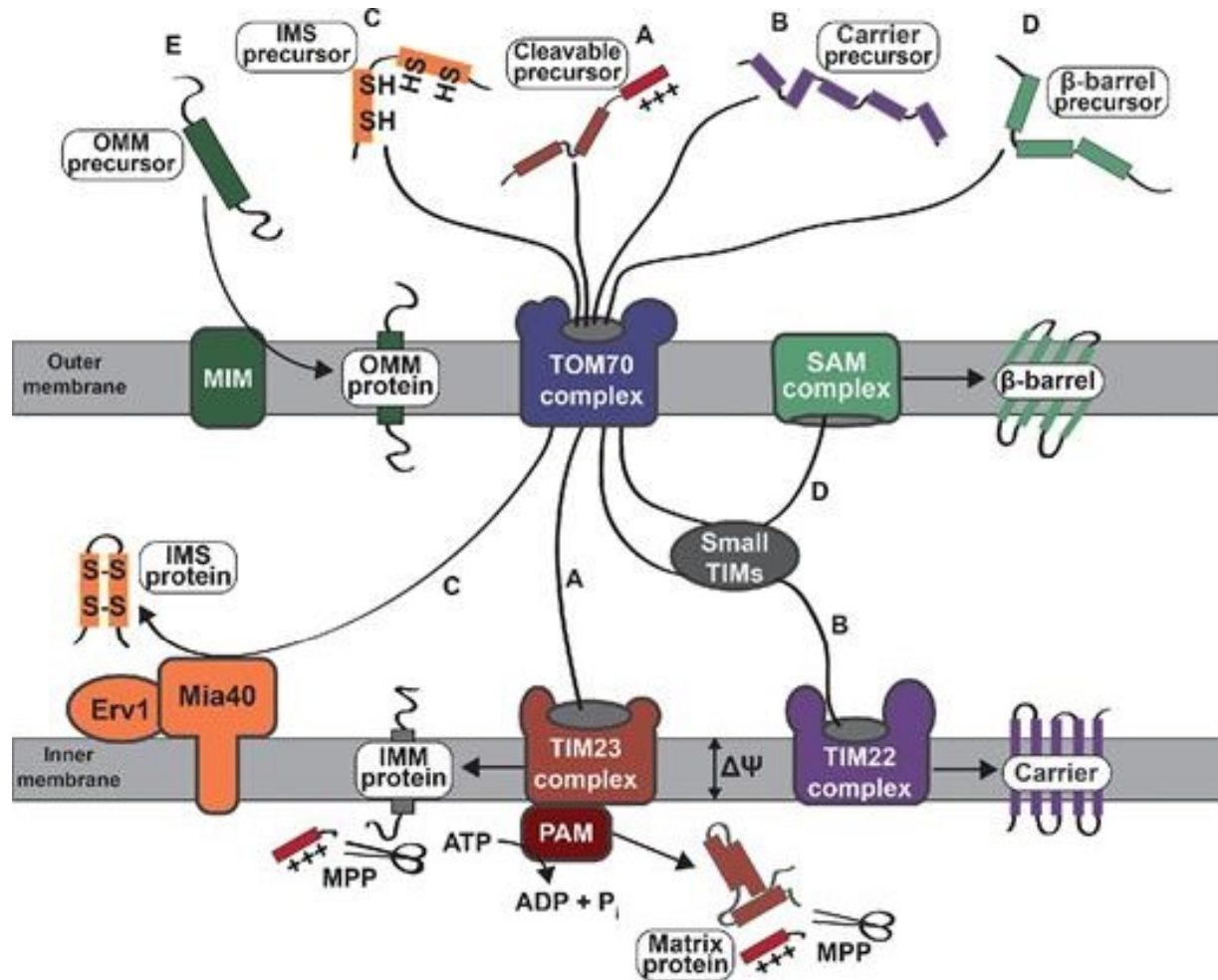


Ugo1 interaguje s Fzo1 a Mgm1 proteinem
Štěpení Mgm1 pomocí Pcp1 vede k fúzi
a je regulováno hladinou ATP



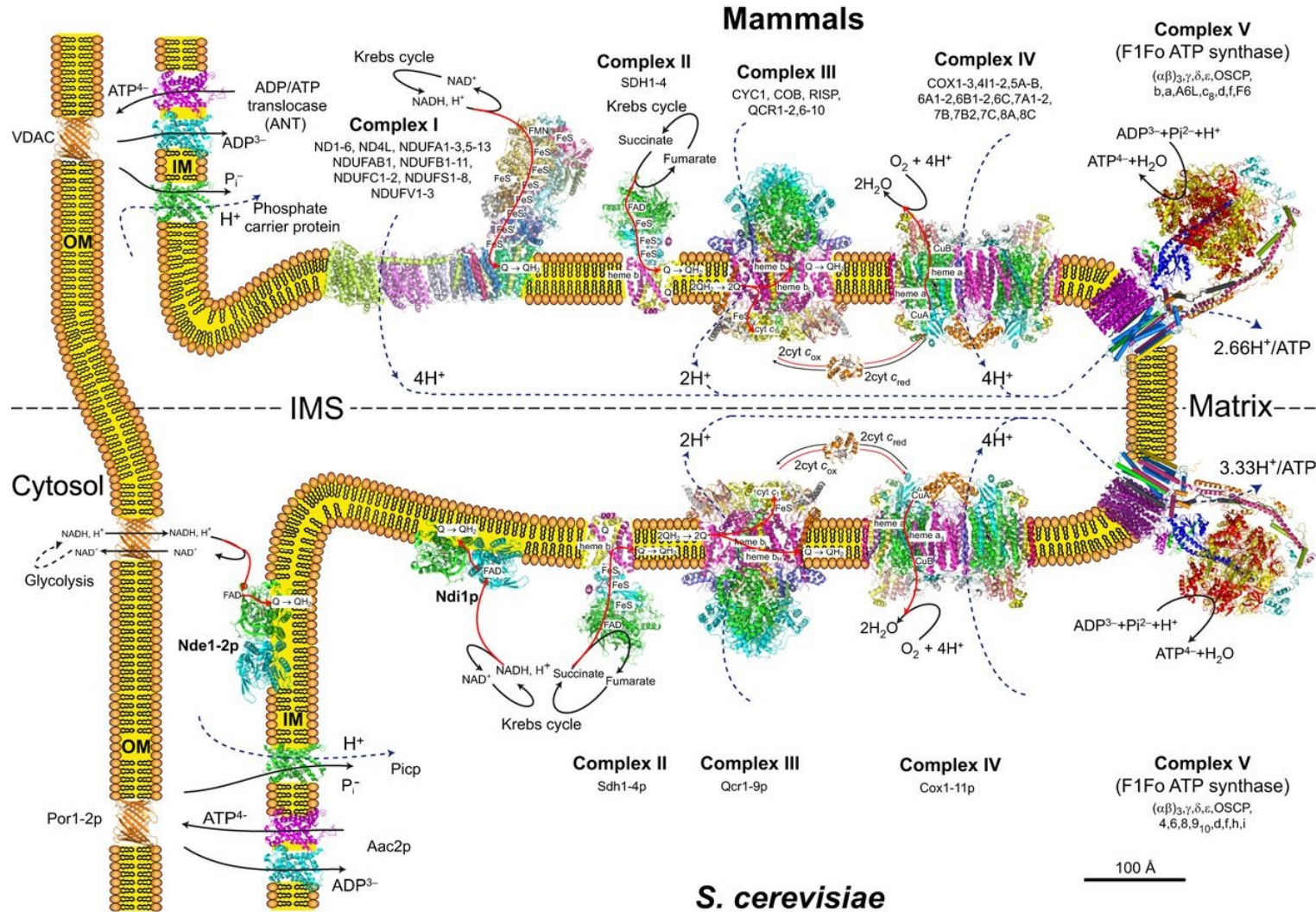
Mdv1 (anebo Caf4) slouží jako adaptor
spojující Dnm1 a Fis1, Dnm1 tvoří dynamické
oligomery obepínající mitochondrii což vede
k rozdělení, funkce Mdm33 není známa

Mitochondriální importní mašinerie



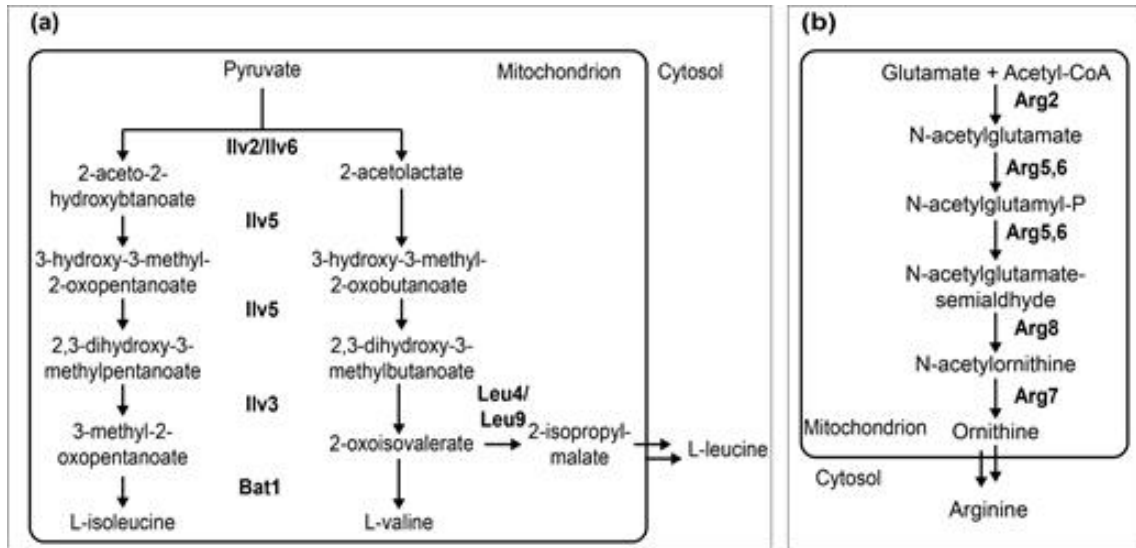
(A) Cesta využívající odštěpitelnou presekvenční pro import prekurzorového proteinu do vnitřní membrány a matrixu (B) Importní cesta pro hydrofobní přenašeče metabolitů (C) Import prekurzoru bohatých na cystein do mezimembránového prostoru pomocí MIA mašinerie (D) Proteiny obsahující β -barely jsou translokovány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

Oxidační fosforylace OXPHOS



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

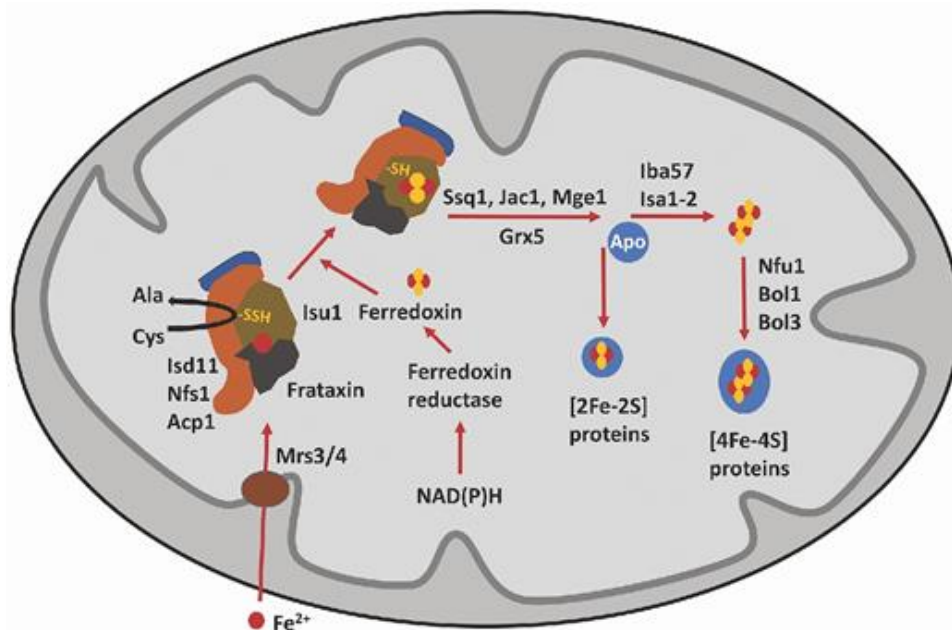
Kvasinkový mitochondriální metabolismus aminokyselin



(a) Syntéza leucinu, izoleucinu a valinu

(b) Syntéza ornitinu, meziproductu při biosyntéze argininu

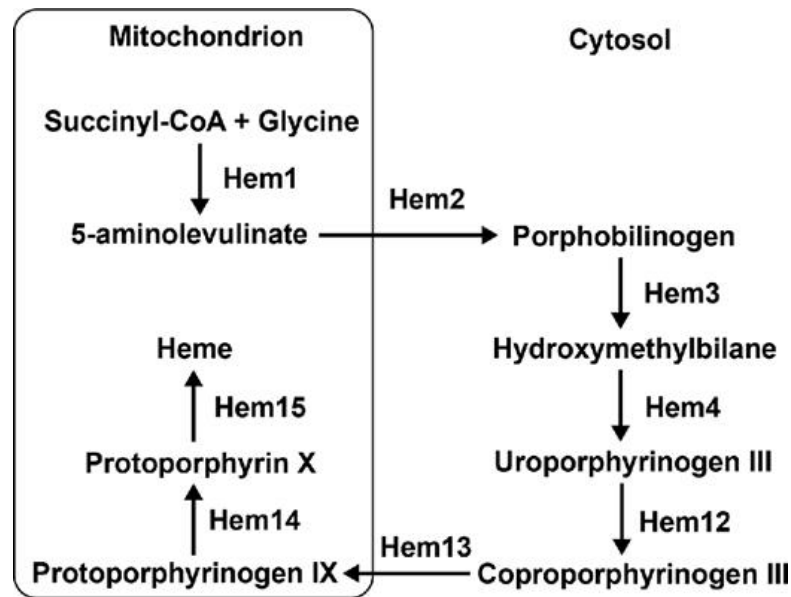
Biogeneze Fe/S železo-sulfidových klastrů u kvasinek



Fe²⁺ jony jsou importované přes membránu skrze Mrs3/4, syntéza Fe/S klastrů na Isu1 proteine, použitím síry z cysteinu desulfurázového komplexu Nfs1-Isd11-Acp1 a elektronů z řetězce sestávajícího z NAD(P)H, ferredoxin reduktázy a ferredoxinu.

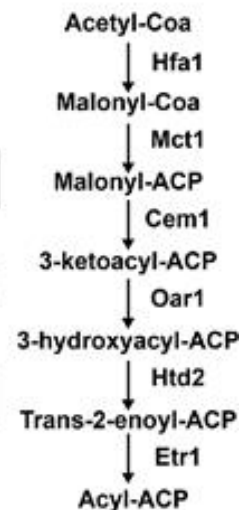
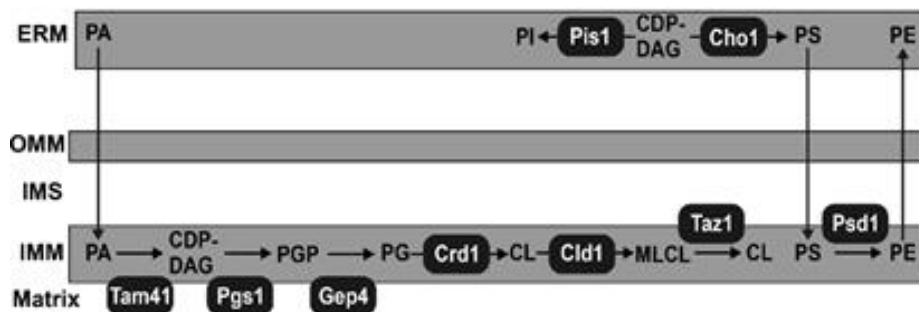
Klastry jsou pak přenášeny dále pomocí dalších faktorů na cílové proteiny

Biosyntéza hemu v kvasinkách



Metabolizmus lipidů v kvasinkové mitochondrii

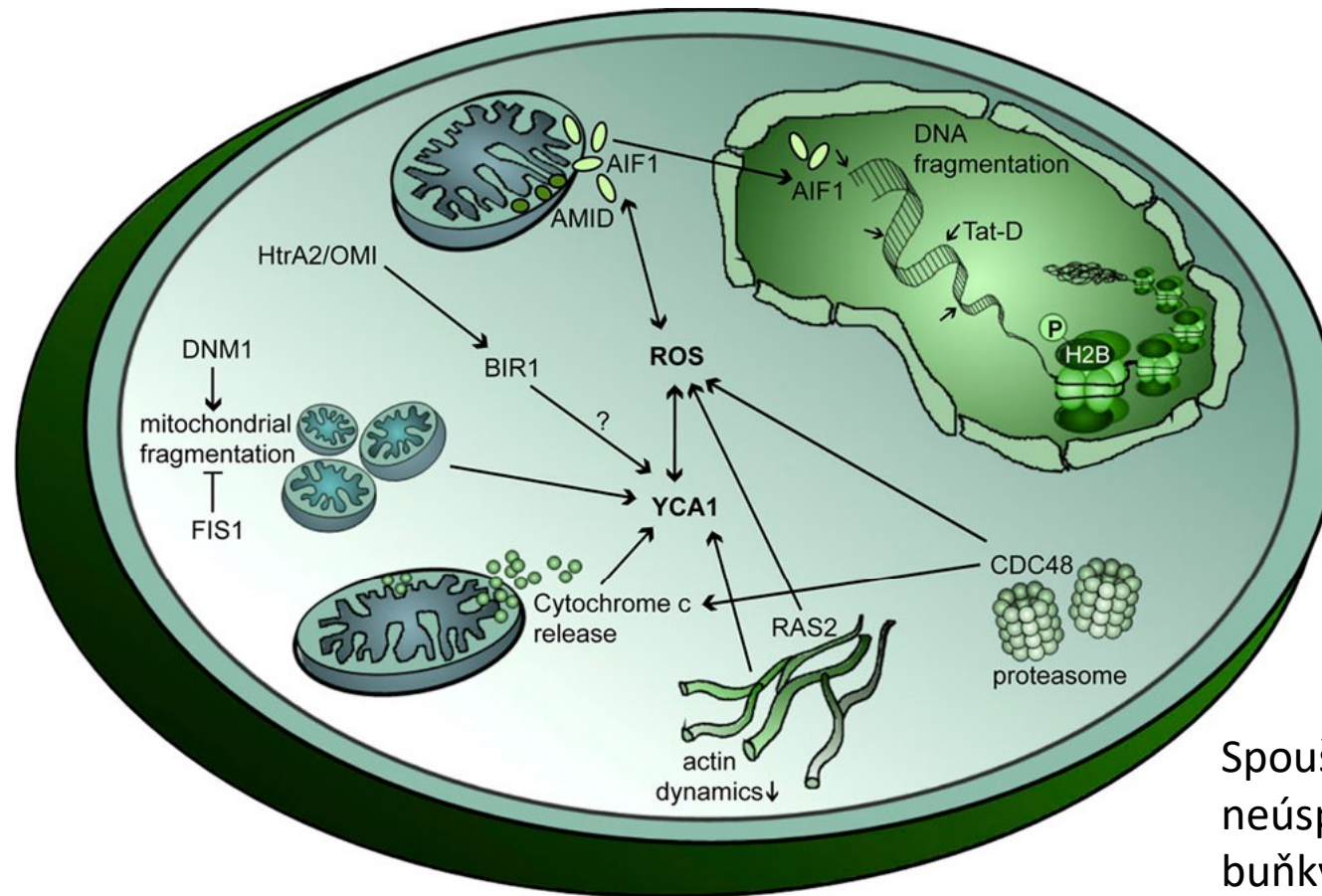
PA: phosphatidic acid; **CDP-DAG:** CDP-diacylglycerol;
PGP: phosphatidylglycerolphosphate;
PG: phosphatidylglycerol; **MLCL:** monolysocardiolipin;
PS: phosphatidylserine; **PI:** phosphatidylinositol



a) Biosyntéza fosfatidyletanolaminu (**PE**) a cardiolipinu (**CL**) ERM- membrána endoplazmatického retikulu

(b) Syntéza mastných kyselin v mitochondriích

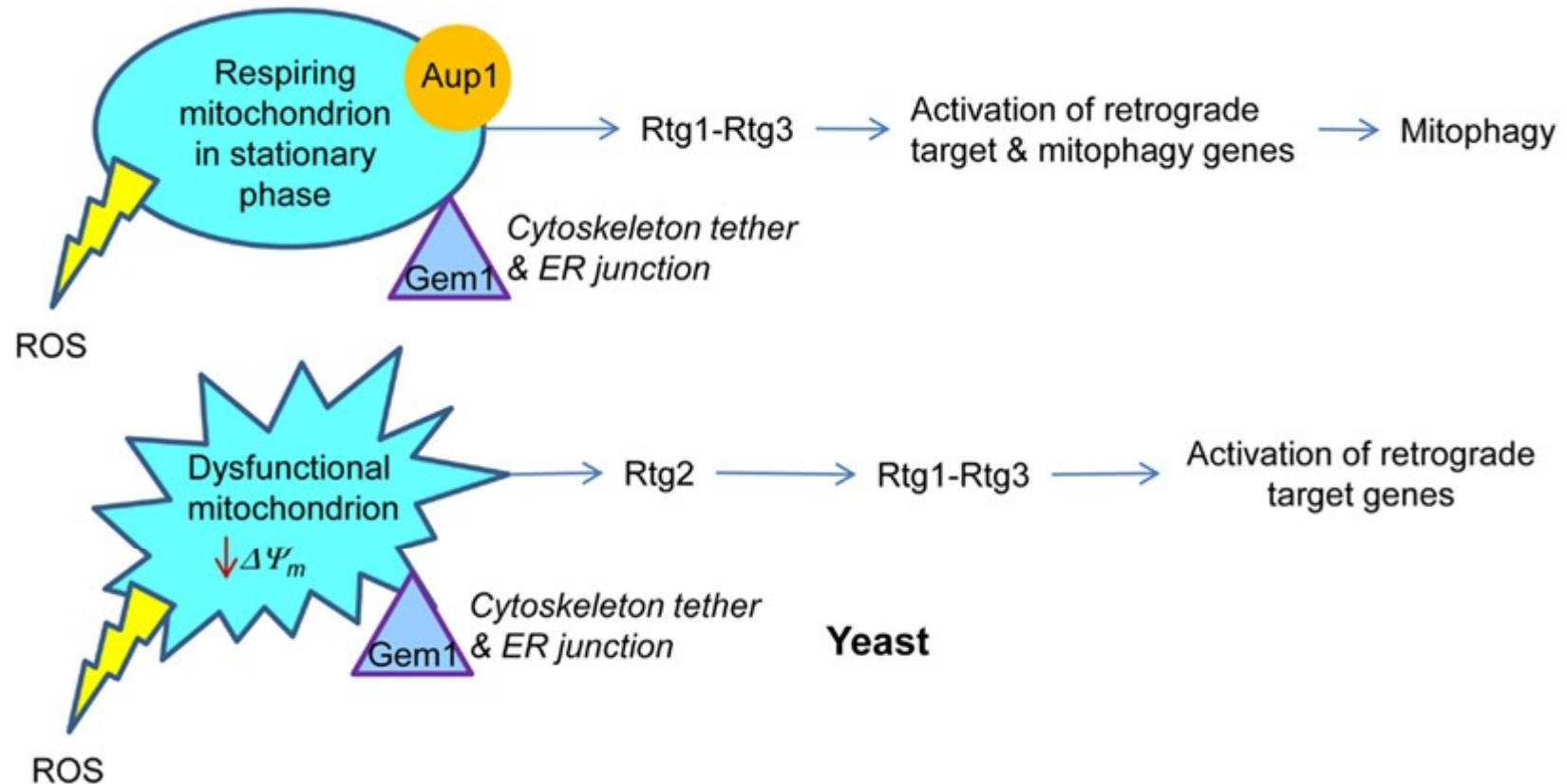
Základní molekulární mašinerie kvasinkové apoptózy



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

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

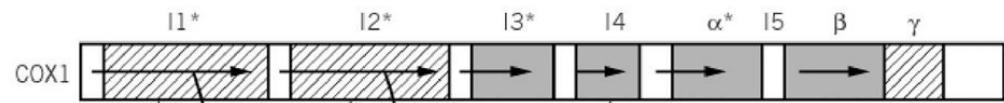
Retrográdní signalizace v kvasinkách



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

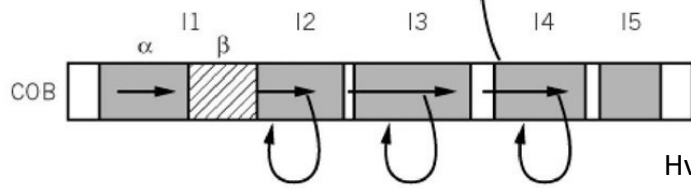
Dysfunkční mitochondrie v rostoucích mitochondriích spouštějí klasickou RTG dráhu, kde RTG2 hraje esenciální úlohu.

Mitochondriální introny



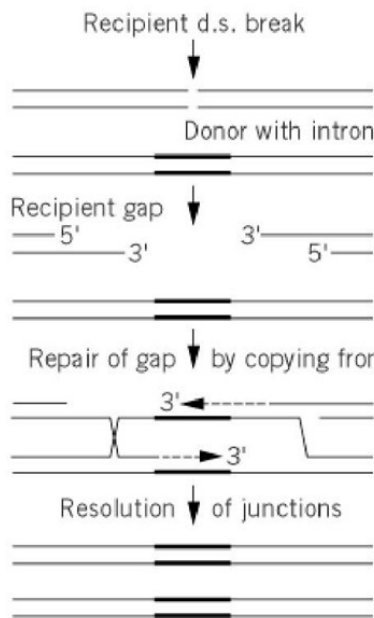
Prázdné pole-exon
šrafované pole - Intron I skupiny,
plné pole Intron II skupiny

Šipky představují ORF
Produkty stimulují splicing
- maturázy

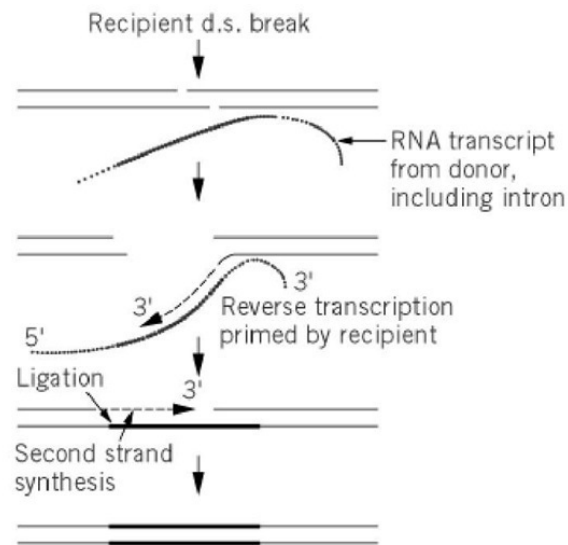


Hvězdička – introny
přeskakující do bezintronové
mtDNA „Homing“

Homing

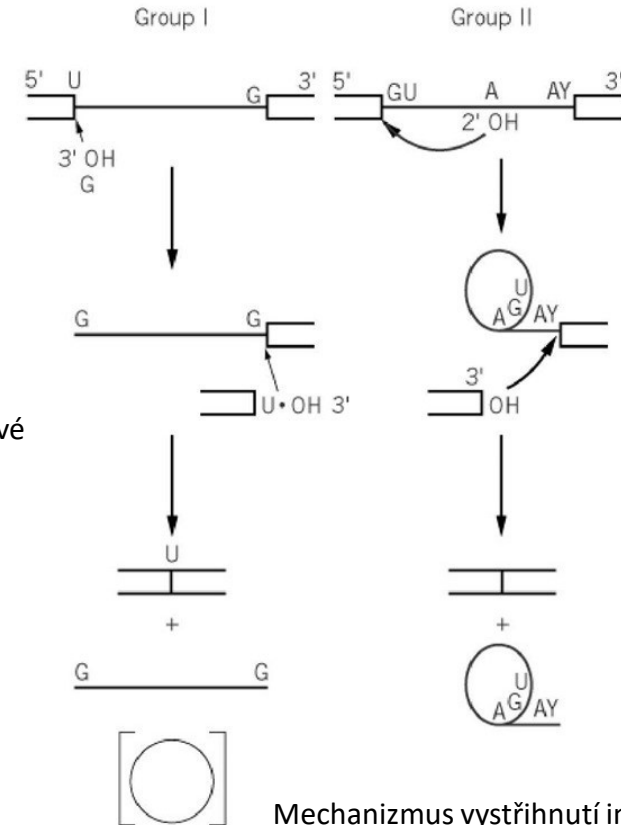


(a) Skupina I introny



(b) Skupina II introny

Splicing



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

Nukleární faktory potřebné pro splicing mtDNA
intronu

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