

VZNIK EUKARYOTICKÉ BUŇKY – EUKARYOGENEZE (PROTISTOLOGIE 2021) - VLADIMÍR HAMPL

Tento text obsahuje veškeré informace potřebné ke zvládnutí otázek týkajících se eukaryogeneze na zkoušce z protistologie. Při zkoušce nebude kladen důraz na znalost přesných hodnot – dat a počtů genů, velikostí genomů – ale na pochopení problematiky jako celku. Poznámky pod čarou a drobný text slouží k doplnění hlavního textu a nebudou u zkoušky vyžadovány.

Nevěřím, že by někdo byl tak naivní, aby si myslel, že kniha, jejíž název obsahuje sousoví „Vznik života“, podává vysvětlení, jak vznikl život – protože to není známo. Zabýváme-li se však tímto problémem, můžeme nahlédnout do toho, co je život zač.

Fenchel, 2003

Výše uvedeného motto se analogicky týká i studia eukaryogeneze – vzniku eukaryotické buňky. K této události došlo velmi dávno, podle různých hypotéz to bylo před 2,5-1,5 miliardou let. Fosilní záznam z této doby je velmi chudý. První fosílie považované za eukaryotické se našly ve vrstvě staré 3,2 miliardy let¹. Na jejich eukaryotický původ se usuzuje však jen díky tomu, že jsou poměrně veliké (200-300 μm) a mají strukturovaný povrch připomínající buněčnou stěnu. Nelze je přiřadit k žádné dnešní známé linii eukaryot. Mnoho vědců se domnívá, že se nejedná o eukaryotické fosílie. První zcela nezpochybnitelné fosílie eukaryot se objevily až ve vrstvách starých asi 2 miliardy let. Lecos je známo o tom, jak vypadalo prostředí na Zemi v této době. Až do doby před asi 2,3 miliardami let byla atmosféra anoxická. Poté vzrostla poměrně rychle koncentrace kyslíku činností fosyntézy sinic. Koncentrace kyslíku však dlouho nedosahovala výše, na kterou jsme zvyklí dnes, protože jeho produkce byla dlouho pufrována spotřebou při oxidaci hornin. Celý proterozoik se držela pravděpodobně na úrovni zhruba 3%. Nárůst kyslíku v oceánech byl oproti atmosféře ještě značně opožděn, protože vody ovládly síran redukující bakterie, které produkovaly sirovodík, jenž z moří s výjimkou povrchové vrstvy na dlouhou dobu učinil páchnoucí anoxické prostředí, Canfieldův oceán, který trval až přibližně do doby před 0,7 miliardou let. Těsně před jeho koncem došlo také ke globálnímu zalednění Země „Snowball Earth“, kdy celý povrch Země včetně oceánů zamrzl. Pozor! Nejedná se o dobu ledovou, které přišly až ve čtvrtohorách (před 3-0 mil. let). Další významnou geologickou událostí, která ovlivnila evoluci života byl Pan-Africká orogeneze, vulkanické a horotvorné procesy doprovázející rozpad velkého kontinentu. V jejich důsledku se dostalo do oceánů velké množství živin, zejména fosforu, které nastartovali primární produkci a možná vedli k navýšení koncentrace kyslíku na současnou úroveň.

Vzhledem k nepoužitelnosti fosilního záznamu je studium vzniku eukaryot a jejich buněčných struktur založeno výhradně na našich znalostech, jak tyto struktury vypadají dnes u co možná nejrůznorodějšího spektra organismů. Srovnáváním žijících organismů různých skupin se snažíme odhadnout, jak mohla eukaryotická buňka a její struktury vypadat u jejich společného předka. Takto a s přihlédnutím k dějům, ke kterým dochází i v dnešní době, se různí vědci snaží racionálními úvahami odvodit, jak eukaryogeneze mohla probíhat. Formulují hypotézy, které se potom jiní snaží vyvrátit. Proto bude tato přednáška do značné míry přehledkou vybraných hypotéz. Protistologie hraje při studiu eukaryogeneze významnou roli, protože prvoci představují nejširší evoluční diverzitu eukaryot a najdeme mezi nimi potomky linií, které se oddělily od hlavních evolučních větví eukaryot již velmi dávno

Mezi živými organizmy najdeme dva základní typy buněk. Eukaryotická buňka se od prokaryotické liší především existencí mnoha kompartmentů oddělených membránami a také

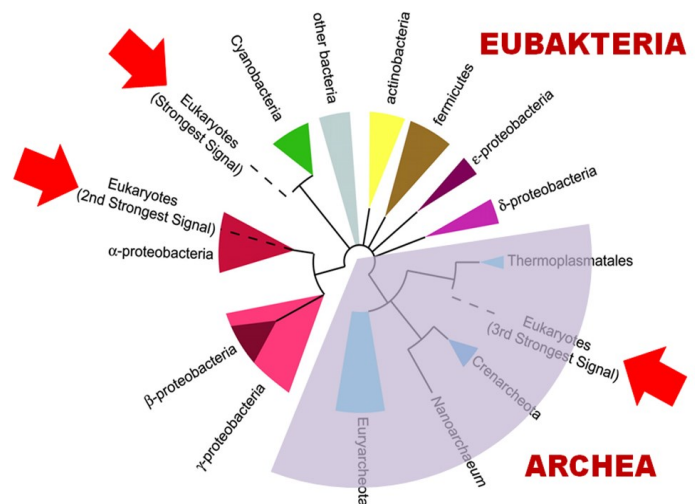
¹ Javaux a kol. 2010.

mnohem větší celkovou velikostí – průměrná eukaryotická buňka má 10^4 krát větší objem než průměrná buňka prokaryot. Analýzy příbuzenských vztahů mezi organizmy založené na porovnávání sekvencí genů přítomných u všech organismů odhalily existenci dvou typů prokaryot. Ukázalo se, že některé na první pohled obyčejné bakterie většinou z extrémních prostředí tvoří samostatnou skupinu - Archea, která je od ostatních bakterií fylogeneticky vzdálena přibližně stejně jako je vzdálena od eukaryot. Živé organismy tedy spadají do **tří domén**², z nichž dvě jsou prokaryotické:

(1) **Archea** (Archebakterie) jsou většinou extrémofilové žijící v horkých pramenech, hlubokomořských průduších a slaniskách nebo methanogenní obyvatelé rašelinišť a střev živočichů. Nezpůsobují žádná onemocnění. Enzymy metabolismu DNA a translačního aparátu archeí jsou bližší eukaryotům než eubakteriím. Od zbylých domén se odlišují také typem fosfolipidů v membráně.³

(2) **Bacteria** (Eubacteria) jsou klasické volně žijící, symbiotické i parazitické bakterie. Enzymy energetického metabolismu mají příbuznější eukaryotům než archeím. Podle povrchu se dělí na Gram pozitivní (1 membrána a stěna tvořená polysacharidem mureinem) a Gram negativní (dvě membrány).

Jak jsou si vzájemně příbuzné tři domény živých organismů? Jaký je příbuzenský vztah eukaryot k prokaryotickým doménám? Tyto otázky nejsou dosud zodpovězené a v současnosti spolu soupeří několik hypotéz. Podle jedné se eukaryota vyvinula ze sesterské linie archeí, tak jak ukazuje strom sestrojeny podle genu pro rRNA, podle druhé se vyvinula přímo z archeí – jsou jejich vnitřní větví.⁴ Tyto hypotézy vytváří různé předpoklady toho, jak předek eukaryot vypadal. Podle první hypotézy to byl potomek samostatné linie, podle druhé to byla *de facto* archebakterie. Obě hypotézy předpokládají bližší vztah mezi archeí a eukaryoty, ani to však není jisté. Když se podrobily všechny eukaryotické jaderné geny analýze jejich příbuzenských vazeb na prokaryota, došlo se k poměrně překvapivému výsledku. Z genů, u kterých se vůbec podařilo nalézt prokaryotické protějšky, vykazovala příbuznost k archebakteriím jen menšina. Podle výsledků analýz zobrazených na obrázku 1, je v eukaryotických genomech větší procento genů příbuzných α -



Obrázek 1

² Někteří biologové třídoménové rozdělení neuznávají

prokaryoty a eukaryoty ve struktuře buňky je mnohem důležitější než fylogenetický strom a, že organismy by se nadále měly členit na domény dvě.

³ Fosfolipidy archeí jsou tvořeny větvenými izoprenovými řetězci napojenými na L-fosfatidyl glycerol etherovou vazbou. Fosfolipidy eukaryot a eukakterií jsou tvořeny řetězci nevětvených mastných kyselin napojených na D-fosfatidyl glycerol esterovou vazbou. ⁴ Která z těchto hypotéz je pravděpodobnější, v případě druhé hypotézy, která skupina archeí mohla dát vznik eukaryotům, není možné v současnosti rozhodnout. Fylogenetické studie poskytují různé výsledky v závislosti na použité metodice.

⁴ Která z těchto hypotéz je pravděpodobnější, v případě druhé hypotézy, která skupina archeí mohla dát vznik eukaryotům, není možné v současnosti rozhodnout. Fylogenetické studie poskytují různé výsledky v závislosti na použité metodice.

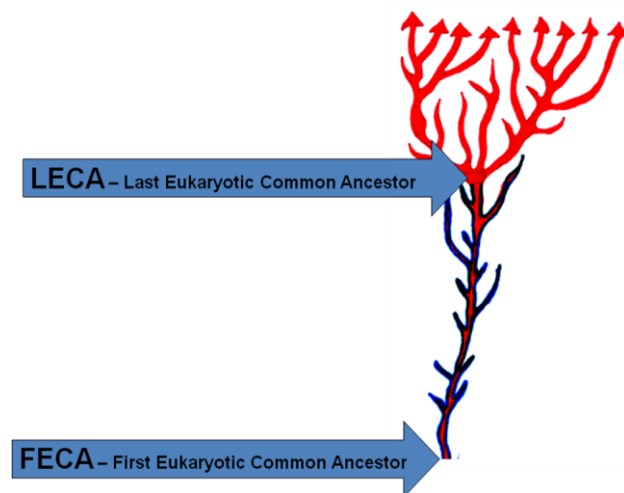
proteobakteriím než těch s archebakteriální kořeny.⁵ α -proteobakteriální geny pochází zřejmě z předka dnešní mitochondrie (viz. níže), jejich množství je však zarážející. Z uvedeného je zřejmé, že bez ohledu na to, kdo přesně byl předkem eukaryotické buňky jako takové, genom eukaryotické buňky je chimérou dvou prokaryotických genomů - archebaktérie a α -proteobaktérie.

Po archaebaktérii zdělila zejména mechanismy genové exprese, po α -proteobaktérii pak membrány a mnohé metabolické enzymy.⁶⁷ Eukaryota sdílí s archei především mechanismy genové exprese, jiné znaky – typ membrán a metabolické enzymy – sdílí spíše s eubakteriemi.

Eukaryota ovšem vykazují množství znaků, které jsou pro ně specifické a kterými se od obou prokaryotických domén výrazně odlišují. Tyto znaky tedy zřejmě vznikly až v linii vedoucí k eukaryotům, jsou to zejména:

1. Mitochondrie a plastidy (semiautonomní organely)
2. Cytoskelet, centrioly, bičíky a s nimi spojené molekulární motory
3. Obalené jádro
4. Endomembránový systém (ER, Golgiho komplex, lysozomy)
5. Organely typu mikrobodies (např. peroxizomy)
6. Schopností fagocytózy
7. Odlišná kontrola buněčného cyklu a mitóza
8. Pohlavní rozmnožování (meióza, splývání gamet a jader)
9. Genom ve formě lineárních chromozomů představujících samostatné replikony
10. Znaky na genomu (introny, repetitivní oblasti...)

Na tomto místě bych rád zavedl dva pojmy, k jejichž pochopení Vám pomůže obrázek 2. Poslední společný předek všech eukaryot – LECA (Last Eukaryotic Common Ancestor) je organismus, ke kterému se sbíhají genealogické linie všech dnes žijících eukaryot (označeny červeně). Každý pozdější eukaryot než LECA byl předkem ne všech, ale jen části dnešních eukaryot. LECA ovšem rozhodně nebyl prvním eukaryotem. Zakladatele eukaryotické linie si nazveme FECA



⁵ Ještě větší procento genů ukazuje na příbuznost se sinicemi. Protože do této analýzy byla zahrnuta také fotosyntetická eukaryota, je tento sinicový „signál“ pravděpodobně pozůstatkem po sinici, která byla předkem plastidu. Mnoho jejích genů, ať nyní funguje v plastidu či ne, bylo přeneseno do jádra eukaryot. Vzhledem k tomu, že ke vzniku plastidu došlo mnohem později, než vznikla eukaryota, a u heterotrofních eukaryot „sinicové“ geny (v takové míře) nenacházíme, je nepravděpodobné, že by sinice nějak přispěly ke vzniku první eukaryotické buňky. Proto tuto kategorii genů pomineme.

⁶ Podle některých hypotéz přispěla ke vzniku eukaryot ještě třetí eubakterie – δ -proteobakterie, spirochéta nebo klostridie (viz drobný text na straně 13 a 14).

⁷ Existují také názory, že příbuzenské vztahy mezi třemi doménami není možné určit ne kvůli chimérickému původu eukaryot, ale protože v době, kdy domény krystalizovaly, nebyly organizmy geneticky natolik odděleny, jako je tomu dnes, a probíhal mezi nimi čilý genetický přenos (obdoba dnešního LGT). Biosféra v té době představovala jakousi genetickou síť, ze které se postupně vydělily tři dnešní domény. Každá z nich si ze společného balíku genů odnesla jistou část a ty tři části se překrývaly.

(First Eukaryotic Common Ancestor). To byla první buňka jejíž potomky jsou výhradně eukaryota a žádná prokaryota. Tento FECA byl určitě starší a možná výrazně starší než LECA a pravděpodobně to byl ještě prokaryot. FECA a LECA od sebe odděluje stonek, ze kterého se odvětvují linie organismů, které se dnešního dne nedožily. Existují menšinové názory, že FECA, nebo jeho ne příliš vzdálený předek, byl zároveň i LUCA (Last Universal Common Ancestor), tedy předek všeho živého. To by znamenalo, že společný předek všeho živého nebyla prokaryotická buňka, ale buňka, která vykazovala mnoho eukaryotických znaků a možná bychom ji dokonce za eukaryotickou dnes považovali. Podle těchto hypotéz vznikly prokaryotické domény naopak zjednodušením původní složitější buňky, která byla řekněme na půl cesty mezi prokaryoty a eukaryoty. Já osobně se s tímto názorem neztotožňuji, i když neznám žádný argument, který by je mohl jednoznačně vyvrátit, a přidržím se proto většinové představy, že na počátku byl život prokaryotický a eukaryota se vyvinula později. Protože se eukaryotická buňka liší tak zásadně a v mnoha ohledech od prokaryotické, je pravděpodobné, že její evoluční formování trvalo delší dobu. Protože se nám nedochovali potomci mezistupňů, říkáme, že eukaryotická linie „sedí“ na dlouhém „stonku“ (anglicky “stem”), což je ta modrá část stromu mezi LECA a FECA.

O tom jak vypadal FECA víme velmi málo a jedná se vlastně jen o hypotézy, které si představíme později. Nejprve se totiž zaměříme na to, jak pravděpodobně vypadal LECA. Na vlastnosti LECA totiž můžeme usuzovat, pokud porovnáme vlastnosti eukaryot z co možná nejširšího spektra eukaryotických linií, tedy především protist. V našem uvažování se budeme řídit následující logikou: **Pokud se nějaký složitý znak (např. mitochondrie) nachází v tolika liniích, že jeho nepřítomnost u LECA by nutně znamenala jeho opakovaný vznik, a opakovaný vznik takového znaku se jeví jako velmi nepravděpodobný, pak lze předpokládat, že LECA tento znak skutečně měl.**

V následujícím textu si tedy probereme několik zásadních eukaryotických znaků. Zaměříme se jednak na hypotézy vysvětlující jejich vznik, ale také na rozšíření těchto znaků v eukaryotických liniích.

Vznik mitochondrie

Mitochondrie a plastidy jsou tzv. semiautonomní organely. Od ostatních organel se liší tím, že jsou obaleny více než jednou membránou (mitochondrie 2, plastid 2-4), mají vlastní genom a aparát genové exprese a nikdy v buňce nevznikají *de novo*, ale dělení již existujících organel. Dnes se bere jako fakt, že jak mitochondrie, tak plastid jsou pozůstatkem endosymbiotické bakterie. Tuto myšlenku jako první vyslovili někteří vědci na počátku 20. století (Mereškovskij, Wallin, Famicyn), později však upadla v zapomnění, odkud ji vyzdvihla, zpopularizovala a nakonec prosadila Lynn Margulisová v 60. a 70. letech minulého století. Ta formulovala teorii seriální endosymbiózy (SET). Podle této teorie vznikl nejprve amitochondriální eukaryot, který vstoupil do endosymbiotického vztahu s bakterií, jež dala vznik mitochondrii, a později ještě v liniích vedoucích k fotosyntetickým eukaryotům došlo podobně k zachycení plastidu. Přestože nikdo nepochybuje o **endosymbiotickém vzniku** mitochondrie a plastidu, s dalšími detaily SET, tak jak ji formulovala Margulisová, většina autorů nesouhlasí.

Podrobnosti vzniku plastidů budou tématem příští přednášky. V případě mitochondrií, se dnes snad všichni shodnou, že k jejich vzniku došlo jen jedenkrát a jejich předek byl blízkým příbuzným eubakteriím ze skupiny α -proteobakterií. Usuzuje se tak podle sekvenční podobnosti mitochondriálních genů s těmito bakteriemi. α -proteobakterie jsou převážně aerobové. Ze známých α -proteobakterií jsou mitochondriím nejbližší buď parazitické

rickettsie, volně žijící fotosyntetické *Rhodospirillum*⁸, nebo příbuzní některých v poslední době objevených volně žijících linií označovaných různě podivně jako SAR11 (zástupce je např. Pelagibacter) nebo OMAC. Rickettsie jsou nebezpeční vnitrobuněční paraziti energetického metabolismu („kradou“ hostiteli ATP⁹) a mají poměrně redukovaný genom. Jejich podobnost s mitochondriemi je tedy opravdu nápadná. Ale pozor!, rickettsie jsou určitě hodně pozměněny parazitickým způsobem života, a je dost pravděpodobné, že společný předek rickettsií a mitochondrie vypadal jinak. *Rhodospirillum* je bakterie žijící ve slaných vodách a bahnech, která je metabolicky velmi flexibilní. Za určitých podmínek je schopná provozovat aerobní, jindy zase anaerobní energetický metabolismus, fotosyntézu pomocí bakteriochlorofylů a také fixovat atmosférický dusík na amoniak. Z morfologického hlediska je na ní pozoruhodná přítomnost tubulárních chromatoforů – vchlípenin cytoplasmatické membrány, na nichž jsou umístěny respirační a fotosyntetické komplexy, které připomínají mitochondriální krysty. O biologii těch dalších skupin se toho příliš neví. Ukázalo se, že formování mitochondriálních krist a podobných vchlípenin u zmíněných prokaryot se účastní příbuzné proteiny, a proto se zřejmě jedná o homologické struktury a lze předpokládat, že předek mitochondrie opravdu krysty měl. Studie založená na sekvenaci environmentální DNA z mořských sedimentů (Martijn 2018 Nature) odhalila obrovskou dosud neznámou diverzitu alpha-proteobacterií. Na stromě obohaceném o tyto skupiny se mitochondrie větví daleko od rickettsií a rhodospiril až u kořene archebakteriálního stromu. Je tedy možné, že pochází z velmi hluboké linie, která dosud nebyla kultivována a popsána.

Mitochondrie je obalena dvěma membránami, které zřejmě obě pochází z bakterie (jsou odvozeny od vnitřní a vnější membrány buňky Gram negativních bakterií).¹⁰ Na bakteriální původ vnější membrány soudíme z jejího proteinového složení.¹¹

Po endosymbióze prošel **mitochondriální genom** výraznou redukcí. Dnešní mitochondrie kódují jen desítky proteinů, ve většině případů je to 20 a méně (13 u člověka). Nejvíce protein kódujících genů (68) nalezneme v mitochondrii prvoka *Reclinomonas americana*, naopak nejméně (2) v mitochondrii *Chromera velia* nebo dokonce 0 v některých anaerobních derivátech mitochondrií jako jsou hydrogenozomy a mitozomy. Jen pro srovnání, genom *Rickettsia prowazekii* obsahuje 834 protein kódujících genů. Rickettsie je ovšem parazitizmem poměrně redukovaná bakterie a genom volně žijící (typičtější) α -proteobakterie *Rhodospirillum* kóduje už 4000 proteinů. Co se stalo s těmito geny? Velká část se jich jednoduše ztratila. Jednalo se o ty geny, které nebyly pro fungování organely dále potřebné. Ty byly nejprve zaplaveny mutacemi, staly se nefunkční a byly z genomu postupně odstraněny. Mnoho genů¹² bylo přeneseno do jádra eukaryotické buňky mechanismem laterálního (horizontálního) genového přenosu (LGT). K tomuto procesu stále jak v případě mitochondrie, tak u plastidu stále dochází.¹³ Takto došlo k tomu, že mnoho genů v eukaryotickém genomu vykazuje α -proteobakteriální původ.

⁸ Která skupina se jeví nejbližší, závisí na genech a metodě tvorby fylogenetických stromů, které při analýze použijeme.

⁹ Parazitické rickettsie mají také ATP transportér, kterým transportují ATP z cytoplasmy hostitele do své buňky. Není však příbuzný mitochondriálnímu, nedošlo tedy jen k jeho otočení.

¹⁰ Přitom vnější membrána by teoreticky mohla pocházet s membrány fagozomu, do kterého byla bakterie pohlčena.

¹¹ Obsahuje porinové proteiny, jako TOM40 a SAM 50, které jsou homologické s poriny vnější bakteriální membrány, „usher“ a OMP85. Totéž platí i o membránách primárního plastidu.

¹² U kvasinky se jejich množství odhaduje na více než 600.

¹³ Na laboratorním kmeni kvasinek bylo naměřeno, že dojde k přenosu průměrně 1 mitochondriálního genu za 10⁵ generací. U rostliny tabáku dojde v průměru u 1 semena z 16 000 k přenosu plastidového genu do jádra. V roce 2003 ukázali lékaři ve Washingtonu, že spontánní přenos mitochondriálního genu do jádra způsobil u pacienta vzácnou genetickou chorobu Pallister-Hallův syndrom.

Také **mitochondriální proteom** (sada proteinů obsažených v mitochondrii) prošel výraznou proměnou. Např. v mitochondriální proteomu kvasinky bylo nalezeno zhruba 400 proteinů.¹⁴ Překvapivě jen asi 50 proteinů má zřetelně α -proteobakteriální původ. Jedná se zejména proteiny zapojené do energetického metabolismu a proteosyntézy.¹⁵ Naopak, asi 200 proteinů má evidentně eukaryotický původ. Jedná se hlavně o membránové, regulační a transportní proteiny.¹⁶ Zbylých 150 proteinů pochází z třetího zdroje¹⁷ nebo nelze jejich původ s jistotou určit. Původní proteom protomitochondrie¹⁸ tedy prošel do dnešní doby výraznou transformací. Část proteinů se zcela ztratilo, velká část (~ 70%) byla přeměrována a funguje v jiných kompartmentech (například glykolytické enzymy). Naopak, mnoho nových specificky eukaryotických proteinů bylo nasměrováno do mitochondrie, takže proteiny pocházející z endosymbionta tvoří dnes v mitochondriích menšinu (< 20%). Díky redukci mitochondriálního genomu a „ovládnutí“ mitochondriálního proteomu získala eukaryotická buňka definitivní kontrolu nad mitochondrií. Přitom však musela vyřešit nejméně dva technické problémy.

Tím prvním problémem byl **transport substrátů** a produktů metabolismu dovnitř a ven z mitochondrie. K tomu to účelu má eukaryotická buňka celou rodinu (skupinu několika desítek příbuzných proteinů) membránových transportérů schopných specificky přenášet nejrůznější molekuly včetně ATP a ADP. Tyto přenašeče jsou umístěny na vnitřní mitochondriální membráně (vnější membrána je pro tyto molekuly volně propustná), jsou eukaryotického původu a vznikly pravděpodobně až po endosymbióze mitochondrie.¹⁹

Druhým problémem je **transport proteinů** kódovaných v jádře do mitochondriální matrix a membrán. Za tímto účelem si eukaryotická buňka vytvořila transportní systém sestávající s dvou hlavních proteinových komplexů TOM („Transporter of Outer Membrane“) a TIM („Transporter of Inner Membrane“). Ty rozpoznávají protein určený k transportu nejčastěji podle N-koncového presekvenční (targetovacího) peptidu) a protáhnou jej do mitochondrie, kde dojde k jeho opětovnému složení do nativní konformace. Tato transportní mašinerie má smíšený evoluční původ. To znamená, že některé proteiny, ze kterých sestává, jsou původem z α -proteobakterie. Většina proteinů je ovšem eukaryotického původu a transportní systém jako celek je jasně eukaryotický vynález.

Je zřejmé, že endosymbiotické získání mitochondrie byl složitý proces, který musel probíhat pod nějakým selekčním tlakem. Musel buňce přinášet **okamžité výhody**, jinak by se endosymbiont po několika generacích z hostitelské buňky vytratil. Jaké výhody to mohly být? Nabízí se výhoda efektivnějšího získávání energie pomocí oxidativní fosforylace. Výtěžek ATP při zapojení mitochondrie do metabolismu glukózy vzrostl z 2 ATP (pouze glykolýza) na téměř 36 ATP s mitochondrií, ve které probíhá Krebsův cyklus a funguje dýchací řetězec. Jenže k zapojení mitochondrie do energetického metabolismu mohlo s těžší dojít okamžitě. Nejprve musela evoluce vyvinout mechanismy transportu molekul a proteinů. Jaká tedy mohla být okamžitá výhoda endosymbionta?

¹⁴ 332-526 podle použité metody detekce proteinů. Zde bych chtěl upozornit, že jen 9 proteinů je kódováno mitochondriálním genomem, zbylý asi 400 je kódováno v jádře.

¹⁵ Např. většina proteinů komplexů dýchacího řetězce, ATP syntázy, ribozomální proteiny, chaperony HSP70, HSP60.

¹⁶ Např. proteiny transportu proteinů do mitochondrie, proteinové komplexy regulující genovou expresi - sestřih, stabilita RNA - a ATP transportér.

¹⁷ Např. RNA polymeráza z fága T4

¹⁸ Minimální velikost proteomu protomitochondrie byla odhadnuta na 630 genů. Tolik genů z genomu kvasinky vykazuje α -proteobakteriální původ.

¹⁹ Parazitické rickettsie mají také ATP transportér, kterým transportují ATP opačným směrem z cytoplazmy hostitele do své buňky. Není však příbuzný mitochondriálnímu, nedošlo tedy jen k jeho otočení.

Ox-Tox model předpokládá, že předek mitochondrie díky aerobnímu metabolismu snižoval koncentraci kyslíku v okolí. To mohlo být výhodné pro anaerobního hostitele, pro něhož byla vysoká koncentrace kyslíku toxická. To stimulovalo fyzický kontakt obou organismů a vedlo nakonec k pohlcení a uchování endosymbionta. **Parazitární model** předpokládá, že předek mitochondrie pronikl do eukaryota jako parazit, který nepřinášel hostiteli žádnou výhodu (tak jako dnešní *Rickettsie*). Eukaryot však jeho invazi přežil a dokonce si ho zotročil za vzniku mitochondrie. **Syntrofické modely** předpokládají navání metabolické spolupráce mezi dvěma partnery založené na oboustranně výhodné výměně metabolitů.²⁰ Některé tyto modely si představíme později (vodíková a syntrofická hypotéza).

V minulosti se předpokládalo, že některé skupiny prvoků nemají mitochondrii a jsou to potomci eukaryot, která žila v době před vznikem mitochondrie. Pro tyto domněle primárně mitochondriální eukaryota byla vytvořena dokonce samostatná eukaryotická podříše Archezoa. Řadily se tam skupiny jako diplomonády, parabasalidi, oxymonády, mikrosporidie, pelobionti a archamoéby. Ovšem po důkladnějším studiu těchto organismů se ukázalo, že většina z nich, mitochondrii v určité pozměněné formě obsahují. V jejich buňkách se totiž nacházejí organely, jako jsou hydrogenozomy, které jsou zapojeny do anaerobního energetického metabolismu, nebo mitozomy, jejichž funkce zatím není příliš objasněna. Oba tyto typy organel jsou dnes podle proteinového složení matrix i membrán jednoznačně považovány za deriváty mitochondrie. Jedinou výjimkou v tomto směru jsou oxymonády. V naší laboratoři se totiž podařilo ukázat, že tito bičíkovci mitochondrii velmi pravděpodobně nemají. Jejich blízcí příbuzní ovšem organelu příbuznou mitochondrii mají (jedná se pravděpodobně o typ hydrogenosomu), a proto je téměř jisté, že v případě oxymonád se jedná o ztrátu mitochondrie a ne o její původní nepřítomnost. Z výše uvedeného plyne, že poslední společný předek všech dnešních studovaných eukaryot (LECA) mitochondrii v nějaké formě měl. Je však možné, že eukaryota primitivně bez mitochondrie existují (ale zatím jsme je nenalezli).

Vznik cytoskeletu

Uspořádání cytoskeletu a proteiny, které jej tvoří, jsou unikátní pro eukaryota a zároveň jim všem společná – neexistují eukaryota bez cytoskeletu. Je tedy zřejmé, že k vzniku cytoskeletu muselo dojít velmi brzy v eukaryogenezi a že poslední předek dnes známých eukaryot již tuto formu cytoskeletu měl. Dlouho se myslelo, že prokaryota vůbec žádný cytoskeleton nemají. Dnes však víme, že u prokaryot se běžně vyskytují vzdálené homology základních cytoskeletálních proteinů a plní i tam podobné funkce. Eukaryotickému tubulinu jsou homologický protein FtsZ, který se účastní tvorby Z prstence, pomocí kterého se bakteriální buňka dělí, a dále pak proteiny TubZ a RepX. Velmi vzdálené homology eukaryotického aktinu jsou proteiny MreB a ParM²¹. Ty tvoří filameny pod membránou, udržují tvar prokaryotické buňky a účastní se také segregace bakteriálního chromozomu před buněčným dělením. Eukaryotickému myosinu je pravděpodobně vzdáleně příbuzný bakteriální protein

²⁰ Jedna z hypotéz, kterou můžeme řadit do této kategorie, předpokládá, že předek mitochondrie byl schopný fotosyntézy, tak jako dnešní *Rhodospirillum*. Endosymbiont mohl fotosynteticky fixovat CO₂ produkované v dýchacím řetězci hostitele a naopak hostitel mohl využívat část organických látek vzniklých při fotosyntéze endosymbionta.

²¹ Jejich homologie je tak obtížně rozeznatelná, že ji nelze vůbec poznat ze sekvencí proteinů a přišlo se na ni až podle nápadné podobnosti v jejich terciálních strukturách. Terciární struktury proteinů jsou totiž v některých případech evolučně ještě konzervativnější, než jejich aminokyselinová sekvence.

MukB, který u bakterií také slouží jako molekulární motor.²² Je zajímavé, že eukaryotické homology cytoskeletálních proteinů si prohodily vzhledem ke svým bakteriálním protějškům funkce. Zatímco FtsZ se účastní dělení buňky prokaryot, tubulin se účastní eukaryotické mitózy, a naopak aktin s myosinem se účastní dělení buňky eukaryot, zatímco MreB a ParM se pomáhají při dělení bakteriální DNA.

U některých skupin prokaryot se vyskytují dokonce velmi blízké homology cytoskeletálních proteinů eukaryot. U bakterií ze skupiny *Verrucomicrobia* byly nalezeny geny BtubA a BtubB blízce příbuzné eukaryotickým α - a β -tubulinům. V buňce dokonce vytváří něco podobného mikrotubulům. Vzhledem k výskytu jen u této jediné skupiny bakterií se uvažuje, že může jít o výsledek laterálně přenesených genů z eukaryot a ne o předky eukaryotických tubulinů. Na základě tohoto nálezu byla formulována hypotéza o symbiotickém vzniku bičíku. V genomu archebakterie ze skupiny *Nitrosoarcheum* z kmene *Thaumarcheota* byly také nalezeny geny velmi blízce příbuzné eukaryotickým tubulinům. V tomto případě se zřejmě nejedná o pozdější laterální přenos, ale opravdu původní geny.

Několik skupin archeí (*Korarcheota* a některé *Crenarcheota*) obsahuje velmi blízký homolog eukaryotického aktinu. V tomto případě většinový názor tvrdí, že nejde o pozdější laterální přenos z eukaryot, ale o původní přítomnost aktinu pravděpodobně už u společného předka jedné části archeí, která se podle počátečních písmen archeálních kmenů, ze kterých sestává, nazývá TACK. Eukaryota tedy mohla podědit aktin z této části prokaryotického stromu.

Vznik bičíku

Eukaryotický a prokaryotický bičík jsou zcela nepodobné struktury, které se liší proteinovým složením i mechanismem pohybu a je tedy jasné, že mají odlišný evoluční původ. Prokaryotický bičík sestává ze dvou částí – stator a rotor, které jsou vsazeny do membrány. Protonový gradient na membráně prokaryot roztáčí rotor, který na kterém je připevněn filament.²³ Uspořádání eukaryotického bičíku je evolučně velmi konzervované a prakticky stejné u všech eukaryot. Vzniklo pravděpodobně již velmi dávno. Axonema eukaryotického bičíku je tvořena 9 páry mikrotubulů uspořádanými do kruhu a dvěma středovými mikrotubuly. Axonema je na straně směrem do buňky přechází do bazálního tělíska, kterým je bičík ukotven v buňce. Bičík je po celém povrchu pokryt cytoplasmatickou membránou, která je souvislá s membránou buňky. Mechanismus pohybu je založený na vzájemném klouzání sousedních vnějších párů mikrotubulů, které je poháněno dyneinovými raménky.

Vznik bičíku lze vysvětlit endogenně (vytvořila si jej eukaryotická buňka) a nebo endosymbioticky (vznikl z endosymbionta). Hypotéza endogenního vzniku argumentuje tím, že bazálnímu tělísku bičíku je homologická centriola a obě struktury se zapojují do utváření dělicího vřeténka. Jelikož mitóza je pro buňku důležitější než bičík, dá se předpokládat, že vznikla dříve a s ní i centriola. Bičík mohl vzniknout protažením centrioly směrem ven z buňky. Pro endogenní vznik bičíku hovoří také fakt, že bičíkové „motory“ dyneiny jsou odvozeny od cytoplasmatických. Prvotní funkce bičíku nemusela spočívat v pohybu. Krátký bičík na počátku svého vzniku mohl sloužit třeba jako „mucholapka“ pro lov bakterií nebo mít senzorickou funkci.

²² Také intermediární filameny mají svůj homolog u prokaryot. Je jím protein crescentin, který byl nalezen u bakterie *Caulobacter crescentus*. Vyskytuje se však pouze u této bakterie a jedná se pravděpodobně o protein získaný laterálním genovým transferem z eukaryot.

²³ Uvedené platí jak pro bakteriální tak pro archeální bičík, přestože se ukázalo, že i ani tyto dva typy bičíku jsou tvořeny nepříbuznými proteiny. Jedná se pravděpodobně o případ konvergence, kdy nezávisle na sobě vznikly z různých proteinů na první pohled podobné struktury.

Endosymbiotické teorie vzniku bičíku předpokládají, že mohl vzniknout z ektosymbiotických eubakterií. Modifikovaná SET Lynn Margulisové předpokládá, že předkem bičíku byly spirochéty. Poukazuje na existenci organismu *Mixotricha paradoxa*²⁴, který má sice vlastní 4 bičíky, pohybuje se ovšem pomocí spirochét připevněných na jeho povrch, které se synchronizovaně vlní. V neprospěch této teorie hovoří skutečnost, že u spirochét nebyly nalezeny žádné proteiny přítomné v bičíku (tubuliny, dyneiny). Jiná teorie hledá původ bičíku ve verucomikrobiích. To je skupina bakterií, která žije na povrchu některých nálevníků a slouží k jejich obraně. U verucomikrobií byly nalezeny geny pro tubulin a dokonce byla v jejich buňce zjištěna přítomnost jakýchsi tubulů.

Na přednášce v roce 2009 padl dotaz, v jakém příbuzenském vztahu jsou tubuliny verucomikrobií a eukaryot. Na fylogenetických stromech sedí verucomikrobiální tubuliny na bázi eukaryot. Je tedy skutečně možné, že to mohly být předkem eukaryotických tubulinů. Je však také možné, že fylogeneze je určena špatně a verucomikrobia získala tubuliny horizontálním přenosem z eukaryot. Verucomikrobiální tubuliny totiž tvoří dlouhé větve, které mohou být uměle přitahovány ke kořeni (přitahování dlouhých větví). V novější analýze se dokonce jasně větví uvnitř rodiny eukaryotických tubulinů, takže se zdá, že se skutečně jedná o laterální přenos těchto genů z eukaryot do verucomikrobií. Více na:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC139267/?tool=pubmed>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3349469/figure/F2/>

Jen málo skupin eukaryot nemá bičík v žádném životním stádiu (většina hub, některé améby), a proto předpokládáme, že již společný předek všech současných eukaryot (LECA) měl bičík a některé skupiny jej druhotně ztratily. Uspořádání bičíků na buňce je často typickým znakem pro celé eukaryotické skupiny. Některé typy uspořádání jsou vyjmenovány níže:

- Jeden zadní bičík – opisthokontní unikont (typické pro opisthokonta)
- Dva stejné bičíky – izokontní bikont (typické pro zelené řasy)
- Bikont s jedním bičíkem předním a jedním zpětným (typické pro bikonta)
- Tetrakont, tři přední bičíky a zpětný tvoří undulující membránu (typické pro Parabasala)
- Dinokont (obrněnky) dva bičíky – příčný a podélný (typické pro dinoflageláty)
- Heterokont – dva různé bičíky, přední má mastigonemy (typické pro stramenopila)
- Mnoho bičíků (řasinky) - (typické pro nálevníky)

Vznik endomembránového systému

Biologické membrány nevznikají *de novo*. Molekuly fosfolipidů jsou vkládány jen do již existujících membrán, čímž membrána roste, a nové membránové struktury vznikají výhradně odškracením od existujících membrán.²⁵ Kontinuita membrán se zachovává i při jejich přenosu z rodičů na potomstvo. Membrány potomků vznikají opět výhradně z membrán rodičů (u mnohobuněčných organismů jsou membrány přenášeny skrze vajíčko). Základní typy membrán zachovávají svou kontinuitu nezávisle na tobě, tzn. cytoplasmatická membrána pochází vždy z cytoplasmatické membrány, membrána endoplazmatické retikula a jaderného obalu (které do sebe volně přechází), zase jen z membrány endoplazmatického retikula a jaderného obalu, mitochondrie vznikají jen z mitochondrií a plastidy zase jen z plastidů. Hovoříme v této souvislosti o membránové dědičnosti, která je nezávislá na dědičnosti genetické. Tyto skutečnosti je potřeba mít na paměti, uvažujeme-li o vzniku endomembránového systému. V následujícím textu si nastíníme jednu velmi podrobně propracovanou hypotézu o vzniku eukaryotických endomembrán. Jejím autorem je Cavalier-Smith. Mějte však na paměti, že se jedná stále jen o hypotézu.

²⁴ parabasalida žijícího ve střevě termita *Mastotermes darwiniensis*

²⁵ O vzniku měchýřků *de novo* se uvažuje pouze v souvislosti s autofágií a vznikem virových partikulí, ale i v těchto případech to není jasně potvrzeno.

Jaderný obal a endoplazmatické retikulum (ER), jejichž membrány v sebe plynule přechází, vznikly odškrcením cytoplasmatické membrány v místě, kde byla navázána DNA.²⁶ Membránový váček DNA postupně obalil a našasil se v ER. Cytoplasmatická membrána na jedné straně a jaderný obal s ER na straně druhé se ovšem v současné eukaryotické buňce funkčně liší. Asi nejnápadnějším odlišností je, že na ER a jaderný obal nasedají ribozomy (na snímcích vyznačené jako malé sněhuláčky) a právě se syntetizující protein je poté transportován skrze membránu do lumen (tzv. kotranslační transport). K tomu na cytoplasmatické membráně eukaryot nikdy nedochází. Nasedání ribozomů je zprostředkováváno dvěma molekulami – „signal recognition particle“ (SRP) a „docking protein“ (DP). SRP rozpoznává signální sekvenci na proteinu, který se právě souká ven z ribozómu a naváže se na ni. SRP navázanou na vznikající peptid a ribozom se poté specificky váže na receptor v membráně, kterým je DP. DP se u eukaryotických buněk vyskytuje pouze na membránách ER a jaderného obalu, a proto se ribozomy váží jenom tam. Protože DP se do membrány může dostat také jen kotranslačně z nasednutého ribozómu, nemůže se nový DP nikdy dostat na jinou membránu, než na které už je přítomen alespoň v jedné kopii. Jak mohlo dojít k takovému funkčnímu vyčlenění ER a jaderného obalu?

Prokaryota používají homologický systém ke kotranslačnímu exportu proteinů skrze cytoplasmatickou membránu. DP byl tedy na počátku přítomen jak na cytoplasmatické membráně, tak na membránách ER a jaderného obalu, které z cytoplasmatické membrány vznikly a alespoň jednu kopii DP si odnesly. Obě membrány (cytoplasmatická a jaderná+ER) spolu komunikovaly měchýřky. Na těchto měchýřkách se mimo jiné přenášel také DP. Lze si představit, že ke vzniku funkčně specializovaného ER a jaderného obalu mohlo dojít díky poměrně jednoduché mutaci. Stačilo, aby vznikl mechanismus, který zabraňuje vstupu DP na měchýřky odškrcované z ER (takový mechanismus funguje na membráně ER stále). DP se od té chvíle pohyboval v buňce jen jedním směrem (z cytoplasmatické membrány na ER). DP na membráně ER byly uvězněny a nemohly se dostat nikam jinam. Bylo jen otázkou času, kdy u nějaké buňky došlo k tomu, že se všechny DP ocitly na membránách ER. Všichni potomci této buňky (všechna dnešní eukaryota) mají DP přítomen výhradně na ER a jaderném obalu, což této membráně propůjčuje schopnost vázat ribozomy, naopak cytoplasmatická membrána tuto schopnost jednou provždy ztratila.

Později došlo k tomu, že měchýřky vznikající na ER nemohly fúzovat s cytoplasmatickou membránou a obráceně.²⁷ V této chvíli musel nevyhnutelně vzniknout nový kompartment nazývaný proto-Golgi-fago-lysozom (předchůdce Golgi), kde se měchýřky z ER a cytoplasmatické membrány „přebalovaly“ do nového obalu, který byla ta druhá membrána ochotna přijmout. Obdobným mechanismem se mohl proto-Golgi-fago-lysozom diferencovat na jednotlivé části Golgi, jak je známe dnes, a také mohly obdobně vzniknout kompartmenty lysozom a endozom. Tyto základní součásti endomembránového systému (ER, Golgi, lysozom a endozom) se vyskytují u všech eukaryot, byť u některých jsou některé z nich špatně patrné. Proto se domníváme, že jako v případě mitochondrie, bičíku a cytoskeletu byly základní součásti endomembránového systému přítomny již u posledního společného předka všech dnešních zkoumaných eukaryot (LECA).

Jádro a uspořádání genomu

Obalení DNA mohlo být pro buňku výhodné z mnoha důvodů. Obalená DNA byla více chráněna před poškozením radikály vznikajícími jednak činností molekulární motorů – myosin, kinesin, dynein – a také působením UV záření na atmosférický kyslík²⁸. Jaderná membrána mohla také zajistit výstupní kontrolu pro mRNA nebo alespoň zajistit, aby nezralá RNA nebyla okamžitě přístupná pro translaci. Hned na počátku evoluce eukaryot se totiž objevili spliceosomální introny²⁹ a bylo potřeba zabránit tomu, aby docházelo k translaci nesestříhané mRNA.³⁰ Hnacím motorem nového uspořádání chromatinu a vzniku chromozomů s centromerami a telomerami byl patrně vznik mitózy a meiózy, která využívá pro fyzické rozdělení DNA mikrotubuly a na ně vázané molekulární motory.

²⁶ Prokaryotická DNA se váže na cytoplasmatickou membránu. Růst membrány je jednou ze sil působících při rozchodu dceřiných bakteriálních chromozomů po replikaci.

²⁷ Zda membrány mohou splynout nebo ne určuje přítomnost proteinů označovaný SNARE. Pokud je typ SNARE na membráně měchýřky kompatibilní s cílovou membránou, mohou membrány splynout.

²⁸ Zejména v období, kdy rostla koncentrace kyslíku v atmosféře, ale ještě se nezformovala ozónová vrstva.

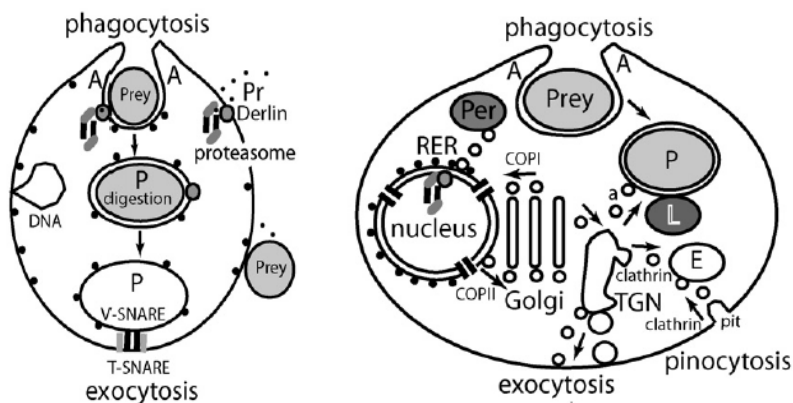
²⁹ Vyvinuly se pravděpodobně ze samosestřížných Group II intronů, které do eukaryotické buňky zřejmě přinesl předek mitochondrie.

³⁰ Jaderné póry byly nejprve zřejmě volněji prostupné, později se vyvinul aktivní a selektivní transport. Některé histony byly převzaty od prokaryot H1 (Gram pozitivní eubakterie), H3 a H4 (archebakterie), H2a, H2b vznikly nově.

Fagocytóza

Fagocytóza, tedy schopnost pohlcovat potravu po soustech a trávit ji ve váčcích (potravních vakuolách=fagozomech) uvnitř buňky, je také schopnost typická pro eukaryota. Fagocytózy se kromě specifických proteinů (receptory pro molekuly na povrchu kořisti, trávicí enzymy) účastní také cytoskeleton (zejména aktin a myosin, pomocí kterých buňka vytváří panožky) a endomembránový systém a jeho mechanismy (fagocytované váčky splývají s váčky obsahující trávicí enzymy, jejich membrána je recyklována při endocytóze). Proto je jasné, že schopnost fagocytózy vznikla až po vzniku nebo paralelně se vznikem cytoskeletonu a endomembránového systému. Níže si nastíním podrobně propracovanou hypotézu vzniku fagocytózy, se kterou přišel opět Cavalier-Smith. Tato hypotéza předpokládá, že schopnost fagocytózy se vyvinula už u posledního společného předka dnešních eukaryot společně s endomembránovým systémem (opět si buďte vědomi toho, že jde jen o hypotézu). Ke zkoušce její znalost nebudeme vyžadovat.

V první fázi buňka trávila potravu extracelulárně pomocí enzymů, které byly sekretovány kotranslačně pomocí na membránu navázaných ribozomů. Ve druhém kroku došlo k vylepšení transportu látek (zejména proteinů) uvolněných rozkladem kořisti do buňky predátora. Buňka mohla využít membránový kanál Derlin (obrázek vlevo), který dodnes funguje na membráně ER³¹, a dále primitivní proteazom k okamžité proteolýze nasátých proteinů. Jak Derlin tak proteazom jsou specificky eukaryotické vynálezy. Ve třetím kroku si buňka začala vytvářet panožky a částečně uzavírala místo extracelulárního trávení, aby zabránila difuzi živin do okolí. Ve čtvrtém kroku došlo k úplnému pohlcení kořisti a vznikl první fagozom. Do tohoto fagozomu se trávicí enzymy stále transportovaly skrze nasadělé ribozomy a živiny se vstřebávaly pomocí Derlinu a proteazomu. Z jednoho podobného fagozomu, na jehož membránu byla navázána DNA, mohl vzniknout jaderný obal a ER mechanismem, který jsem popisoval v kapitole o endomembránovém systému. DP zůstal uvězněn na ER, stejně jako Derlin a proteazomy. Cytoplazmatická membrána ztratila schopnost kotranslačního přenosu proteinů stejně jako fagozomy, které se z ní se odškrcovaly. O té chvíli musely být do fagozomu dopravovány trávicí enzymy pomocí váčků z ER přes Golgi, jak tomu je dnes (obrázek vpravo).



Vznik peroxizomu

Peroxisom je kompartment obalený jednou membránou, který je přítomný u většiny eukaryot. Tato organela plní řadu podstatných funkcí v buňce. Název mu dala reakce, při které je rozkládán peroxid vodíku, ale v peroxizomech dochází také např. k β -oxidaci mastných kyselin. U některých organismů se peroxizomy specializovaly ještě na další funkce a vznikly z nich např. glykozomy (kinetoplastida) nebo glyoxizomy (rostliny).

Existují dvě hypotézy na vznik peroxizomu. Podle první vznikl endosymbiózou z Gram pozitivní bakterie. Podle druhé hypotézy vzniká peroxizom odškrcením z ER.

³¹ V transportním komplexu ERAD přenášejícím vadné proteiny ven z ER.

Ukazuje se, že hypotéza o endogenním vzniku je blíže pravdě. Jednak bylo pozorováno, že buňky, které peroxizom díky mutaci ztratily, si jej poté, co byla mutace opravena, dokázaly opět vytvořit. Navíc bylo přímo pozorováno odškrcení peroxizomu z ER. Opakovaný vznik peroxisomu si lze tedy na rozdíl od ostatních probíraných struktur poměrně snadno představit, takže není možné rozhodnout, zda byl přítomen u LECA či nikoli.

Z předchozího textu plyne, že LECA byl velmi pokročilý eukaryot, který vykazoval většinu typicky eukaryotických znaků snad s výjimkou peroxisomu: mitochondrii, bičík a cytoskelet, endomembránový systém, linearizované chromosomy, mitózu, sex, introny. Pravděpodobně měl také bakteriální typ fosfolipidů v membránách.

Nyní se zaměříme na otázku, jak vypadal FECA. Tedy zakladatel eukaryotické linie. Na povahu FECA můžeme usuzovat snad jen z toho, jak je vzájemně příbuzná doména eukaryot k doménám prokaryotickým. A v tomto ohledu máme zatím mnoho nejasností. Pokud by se eukaryota vyčlenila zevnitř archeí, byl FECA zřejmě archeonem. Pokud by eukaryota představovala třetí samostatnou linii života sesterskou archeím nebo oběma prokaryotickým doménám, nelze o povaze FECA říci mnoho. Je také možné, že FECA byla chiméra vzniklá fúzí archebakterie a eubakterie, viz vodíková hypotéza níže. V tomto ohledu je pozoruhodné, že některé eukaryotické skupiny vykazují některé znaky, které jsme dosud vydávali, za specificky eukaryotické.

Některá prokaryota jako by měla k eukaryotům blíže

Tři příbuzné bakteriálních skupiny Planctomycetes, Verrucomicrobia a Chlamydiae, dohromady označované jako PVC, se vyznačují tím, že někteří jejich zástupci vykazují znaky a schopnosti, které jsou jinak typické pro eukaryota. Planktomycéty (jako je *Gemmata obscuriglobus* na snímku) mají vnitřní membránové struktury oddělující kompartmenty, ve kterých probíhá specifický metabolismus. U *Gemmata obscuriglobus* byla dokonce pozorovaná endocytóza s váčky obalenými proteinovým pláštěm připomínající proteinový plášť eukaryotických váček. Některé planktomycéty mají obalenou i DNA a ta je někdy kondenzovaná a připomíná chromatin eukaryot. Na „jaderné obálce“ byly nalezeny póry podobné jaderným pórům eukaryot, jedná se však zřejmě o konvergenci. U chlamydií byly nalezeny geny pro histon H1. Planktomycéty jsou schopny se množit pučením, některé mají podivné druhy lipidů na vnitřních membránách připomínající archální lipidy a některé umí syntetizovat steroly. Verrucomikrobie, jak jsem již psal výše, obsahují geny pro tubuliny (možná laterálně přenesené) a vytváří něco na způsob mikrotubulů. V roce 2019 byl publikován objev poměrně velké planktomycéty *Candidatus Uab amorphum*³², u které bylo pozorováno pohlcování jiných bakterií. Jedná se o první případ fagocytózy u prokaryot. V buňce byly rovněž nalezeny fibrily pravděpodobně tvořené aktin-like proteiny, které byly nalezeny v genomu této bakterie. Faktem je, že zmíněné „eukaryotické“ znaky jsou ve skupině PVC rozptýleny a nenajdeme je společně u jednoho organismu. Pokud bychom si ovšem představili, že všechny tyto schopnosti měl jejich společný předek, což je rozhodně věrohodná hypotéza, tak tento předek byl rozhodně složitá buňka, která měla slibně nakročeno k eukaryotické buňce.³³

³² <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31827088/>

³³ Poslední review na toto téma naleznete zde

<http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/early/2011/09/09/rspb.2011.1581.full>

Také mezi archei nalezneme zástupce s některými eukaryotickými znaky. Je podezřelé, že se koncentrují do superskupiny označované jak TACK (Thaumarchaeota, Crenarchaeota, Korarchaeota, Aigarchaeota). Tato skupina ovšem pokrývá dobrou polovinu všech archeí, takže nelze mluvit o jedné obskurní větévce. Nicméně právě zde nalezneme archea obsahující crenactin (blízký homolog eukaryotického aktinu), který vytváří síť pod membránou a pomáhá jim držet tyčovitý tvar. Jinak většina ostatních archeí jsou spíše kulovité buňky. U jednoho zástupce této superskupiny (*Nitrosoarchaeum* z kmene Thaumarchaeota) byl v genomu nalezen tubulin. U *Caldiararchaeum terraneum* byl zase nalezený ubiquitinový modifikační systém, tj. způsob značení proteinů určených k degradaci ubiquitinem, což je jinak eukaryotický znak. Nechci zacházet do podrobností, ale několik enzymů a proteinů účastnících se transkripce, translace a oprav DNA u této nadskupiny archeí vykazuje velké podobnosti s obdobnými enzymy u eukaryot. I v případě TACK platilo, že byly tyto znaky rozptýleny u různých zástupců.³⁴ Situace se však podstatně změnila v letech 2015-2017, kdy byly publikovány neúplné genomy nové skupiny hlubokomořských archeobakterií, které dostaly název Asgard³⁵. Název skupiny i jejích členů odkazuje na postavy z norské mytologie. DNA těchto organismů byla získána z mořského dna na místě zvaném Loki Castle, asi 3 km hluboko na dně oceánu poblíž Svalbardu. V genomech této skupiny archeí se nachází dosud u prokaryot nejkompletnější sada genů pro typicky eukaryotické buněčné systémy: actin a gelsolin, geny pro ubiquitinilací systém, některé histony, geny systému ESCRT uplatňující se v tvorbě a vývoji měchýřků, široký repertoár malých GTPáz opět hrajících roli v endomembránovém systému. Také fylogenetické analýzy ukázaly specifickou příbuznost této linie archeí k eukaryotům. Jedná se tedy rozhodně o prokaryota, která mají, z těch co známe, nejvíce nakročeno k eukaryotičnosti. Japonské skupině (Imachi a kol. 2019)³⁶ se podařilo jednoho zástupce s Asgaard archea vykultivovat. Pojmenovali jej *Prometheoarchaeum syntrophicum* a jeví se nejpříbuznější Lokiarchaeota. Vypadá to se, že nevytváří endomembrány ale naopak membránové vnější výběžky. Roste v symbióze s dvěma dalšími prokaryoty. V roce 2021 je již známo téměř 200 genomů ze skupiny Asgard.

Jak tedy vznik First Eukaryotic Common Ancestor (FECA)?

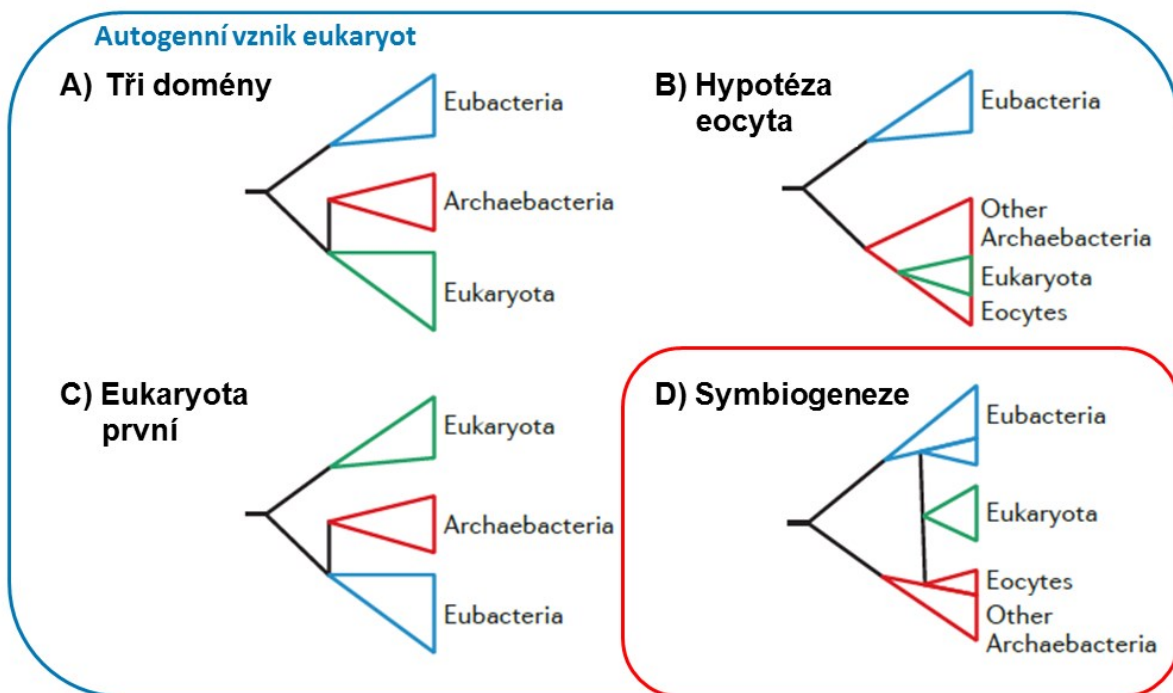
Na obrázku níže naleznete různé možnosti příbuzenských vztahů mezi eukaryoty a prokaryotickými doménami, které jsou v současnosti zvažovány. Tři z nich, které společně nazývám autogenní vznik eukaryot, předpokládají, že eukaryotická větev byla relativně hlubokou linií sesterskou archeobakteriím nebo z archeobakterií vycházející. V případě varianty C dokonce představovala nejhlubší větev života. Zcela odlišná je symbiogenetická varianta D, která předpokládá, že ke zrodu eukaryotické linie došlo při fúzi mezi eukakerií a archeobakterií. Většina hypotéz spadajících do této kategorie spojuje tuto endosymbiotickou událost se vznikem mitochondrie, která vznikla eubakteriálního partnera.

³⁴ Review o TACK naleznete zde

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X11001740>

³⁵ <http://www.nature.com/nature/journal/v521/n7551/full/nature14447.html>

³⁶ <https://dx.doi.org/10.1101/726976>



Podle McInerney a kol. 2014

V tuto chvíli se jako nejpravděpodobnější jeví varianta B nebo C totiž, že eukaryota vznikla z některé archebakteriální linie (příbuzné Lokiarcheotům) nebo symbiogenetickou událostí, kde jako jeden z partnerů vystupoval archeon příbuzný Lokiarcheotům.

Nyní si představíme dvě hypotézy, které navrhují postup, jak k transformaci prokaryot na eukaryota mohlo dojít, zejména pak v jakém časovém sledu a z jakých příčin vznikaly některé eukaryotické charakteristiky, které jsme si samostatně probrali výše – mitochondrie, cytoskeleton, endomembrány a fagocytóza. **Fagotrofická hypotéza** je v současnosti asi nejuznávanější zástupcem autogenních hypotéz, které předpokládají, že eukaryogeneze probíhala postupně a že FECA byla archebakterie. Naopak **Vodíková hypotéza** je nevlivnějším zástupcem symbiogenetických hypotéz, které předpokládají, že eukaryogeneze byla zažehnuta vzácnou a málo pravděpodobnou endosymbiotickou událostí (spojením dvou prokaryot) a FECA byl v podstatě životaschopnou chimérou těchto dvou partnerů.

Fagotrofická hypotéza Cavaliera-Smithe a její obdoby prezentované jinými autory navrhuje, že klíčovým milníkem v eukaryogenezi byl vznik fagocytózy, který byl umožněn radikální změnou povrchu z buněčné stěny na „nahou“ membránu a taky vznikem eukaryotického cytoskeletu a endomembránového systému. Schopnost fagocytózy vedla k pohlcení předka mitochondrie. Fagocytóza je schopnost typická pro eukaryota, umožnila vznik predátorského způsobu života – požívání organismů v okolí – a posléze také umožnila pohlcení endosymbionta, ze kterého vznikla mitochondrie. Fagotrofická hypotéza elegantně vysvětluje chimerický původ eukaryotického genomu (archeální geny zděděné po předcích, eubakteriální z endosymbiózy) a nemusí postulovat málo pravděpodobné události (splývání prokaryotických buněk), jako hypotéza, která bude následovat. Kritici této hypotézy upozorňují na to, že evoluce fagocytózy je těžko představitelná u buňky bez mitochondrie. Fagocytóza je proces vyžadující hodně energie (ATP). Dobrý fagocytující predátor by také měl být velký, aby mohl snadno pohlcovat jiné buňky. Eukaryot bez mitochondrie prý nemohl mít dostatek ATP. Navíc pravděpodobně vytvářel většinu svého ATP z protonového gradientu

na cytoplasmatické membráně, tak jako to činí prokaryota. Bylo by dost problematické, kdyby tou samou membránou začal fagocytovat, protože by si membránové potenciály rušil. Zvětšování velikosti u buňky, která používá cytoplasmatickou membránu pro vytváření energie, je také problematické. U zvětšující se buňky roste povrch pomaleji než objem (povrch roste s 2hou mocninou, objem se 3tí) a cytoplasmatická membrána by velkou a hladovější buňku brzy neuživila (možná proto jsou všechna prokaryota mnohem menší než eukaryota). Na obranu fagotrofické hypotézy je třeba dodat, že velké eukaryotické buňky, které nemají mitochondrie s dýchacím řetězcem existují (mnozí nálevníci, trichomonády, diplomonády a pod.), takže není důvod si myslet, že buňka vyrábějící ATP jinak než dýchacím řetězcem na membránách se neuživí.

Vodíková hypotéza Martina a Müllera předpokládá, že hlavním stimulem eukaryogeneze byl vznik mitochondrie. Eukaryotická buňka podle ní vznikla fúzí dvou prokaryot, z nichž jeden byl předkem mitochondrie a druhý cytosolu a jaderného kompartmentu. Podle Vodíkové hypotézy žily vedle sebe v anaerobním prostředí dva organizmy: H_2 produkující α -proteobakterie (schopná aerobního i anaerobního metabolismu) a anaerobní methanogenní archebakterie. Nevyskytuje se zde tedy žádný hypotetický fagocytující eukaryot bez mitochondrie jako v předchozí hypotéze. Methanogen se stal závislý na vodíku, který produkovala α -proteobakterie. Plynný vodík je totiž ve vnějším prostředí velmi vzácný. Došlo k těsnému fyzickému kontaktu až postupně methanogen α -proteobakterii pohltil. Genom α -proteobakterie byl z větší části přenesen do jádra a zbytek dal vznik mitochondrii. Vodíková hypotéza přichází s věrohodným selekčním tlakem, který na počátku udržoval spojení dvou organizmů. Podobnou metabolickou symbiózu můžeme v přírodě najít i dnes mezi methanogenními archebakteriemi a hydrogenozomy – vodík produkujícími pozměněnými mitochondriemi některých nálevníků. Vodíková hypotéza vysvětluje nápadné podobnosti energetického metabolismu anaerobů. Na rozdíl od předchozí hypotézy předpokládá, že k vzniku mitochondrie došlo v anaerobním prostředí a předek mitochondrie byl vybaven enzymatickou výbavou jak pro aerobní, tak pro anaerobní metabolismus. Enzymatická výbava dnešních eukaryotických anaerobů by tedy mohla pocházet od tohoto společného předka, a proto si je velmi podobná. Trhlinu v tomto argumentu působí skutečnost, že u těchto anaerobních enzymů nebylo prokázáno, že pochází z α -proteobakterie (tedy mitochondriálního endosymbionta). Hlavní nevýhodou vodíkové hypotézy a vůbec všech symbiotických hypotéz je, že předpokládají nepravděpodobnou událost, kterou je splývání prokaryotických buňek. Nezapomínejme ovšem, že první případ fagocytózy u bakterií byl pozorován, takže tato událost nemusí být tak nepravděpodobná, jak se zdálo ještě před rokem 2019. Silným argumentem speciálně proti vodíkové hypotéze je skutečnost, že v eukaryotickém genomu nepozorujeme výrazný signál pocházející od methanogenů. Nevypadá to, že by methanogeny v minulosti přispěly svými geny ke vzniku eukaryot, a proto není důvod předpokládat, že jedním z partnerů při vzniku eukaryot byl právě methanogen. Z genomových dat Asgaar archea nevyplývá, že by měla metanogenní metabolismus, naopak jsou pravděpodobně schopna produkovat plynný vodík, a proto byla navržena syntrofická hypotéza („reverse flow“), která je v podstatě opakem vodíkové. Předpokládá, že asgardí předek eukaryot produkoval vodík a malé organické molekuly (acetát, formát, pyruvát), které předek mitochondrie využíval, čímž snižoval jejich koncentraci a pomáhal tak zvyšovat metabolickou rychlost argarda³⁷.

Pro zajímavost uvádím níže několik dalších hypotéz vzniku eukaryot, které se více či méně liší od předchozích. Jejich znalost nebude u zkoušky vyžadována.

³⁷ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30936488/>

Hypotéza fagocytujícího archeóna Yutinové a kol. (2009) si všímá toho, že u některých skupin archeí se vyskytuje velmi blízký homolog eukaryotického aktinu. Hypotetizují, že tento protein mohl vytvářet primitivní aktinová vlákna a takový archeon mohl docílit primitivní formy fagocytózy. Pohlcoval drobné bakterie, ze kterých se do jeho genomu dostávalo mnoho genů mechanismem laterálního genového přenosu. Nakonec pohltil také bakterii, která se stala předkem mitochondrie. Tato hypotéza řeší obtížně představitelné splývání dvou prokaryot, jak je tomu u vodíkové hypotézy, ale má obdobný problém s cytoplasmatickou membránou, která by opět měla být nahrazena eubakteriálním typem. Hypotéza je v souladu s multigenovými analýzami, které naznačují, že archeální frakce eukaryotického genomu má svůj původ ve skupině crenarcheota a tam je tedy třeba hledat archeálního předka eukaryot. Je zajímavé, že právě mezi crenarcheoty se nachází archea s primitivním aktinem.

Podobně smýšlí Forterre (2010), který předpokládá, že eukaryta mohla vzniknout **fúzí thaumarcheona a bakterie ze skupiny PVC** (planktomycety, verrucomikrobie, chlamydie). Tyto prokaryotické skupiny mohly totiž poskytnout nekompletnější výbavu genů pro eukaryota. Thaumarchea dala do vlnku eukaryotům aparát genové exprese a aktin, PVC membrány včetně jaderného obalu a membránových „coat“ proteinů a tubulin. Tento mitochondriální FECA poté pochytil některé geny pro genovou expresi od velkých DNA virů. Později po vzniku fagocytózy pohltil α -proteobakterii a vznikla mitochondrie.

Hypotéza – „**Tři viry tři domény**“ – patří do skupiny virových hypotéz, kterých bylo publikováno hned několik. Tato předpokládá, že LUCA („last universal common ancestor“ – předek všech organizmů) byl RNA organizmus. DNA se objevila u virů. Tři skupiny virů napadly tři linie RNA organizmů a daly tak vznik eukaryotickému jádru nebo nukleoidu u prokaryot. Protože viry, které napadly archebakteriální a eukaryotickou linii, si byly příbuznější, mají archebakterie a eukaryota příbuznější enzymy metabolismu DNA. Hypotéza podle mého názoru předpokládá málo pravděpodobné události a vůbec se nenamáhá vysvětlit transformaci virové partikule na jádro, RNA genomu hostitele na DNA genom atd. Jedinou oporou je skutečnost, že některé enzymy jsou virového původu – DNA polymeráza α je možná původem z poxviru. To se však dá vysvětlit také horizontálním genovým transferem.

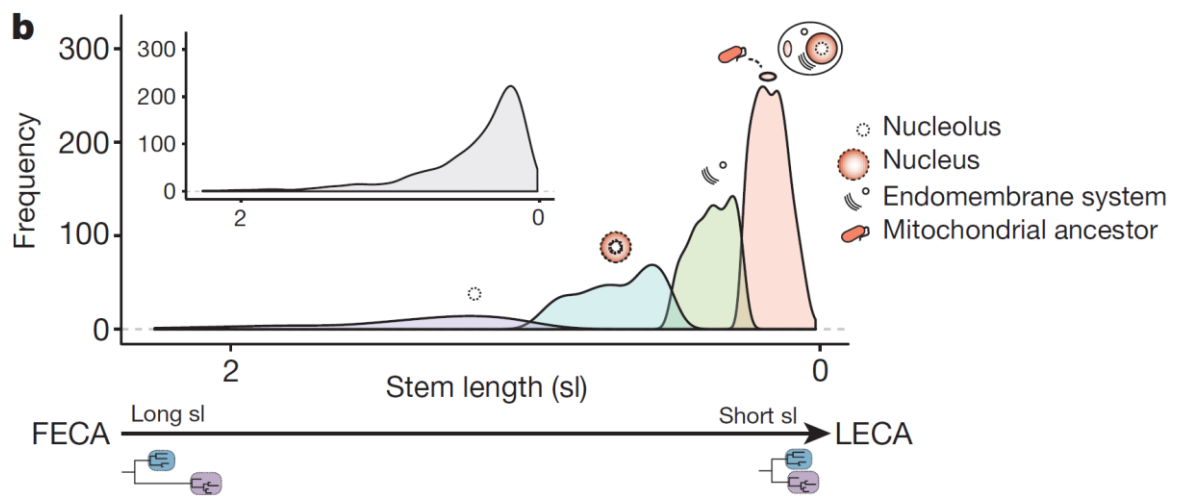
Vodíkové hypotéze se trochu podobá **syntrofická hypotéza**, která předpokládá, že nejprve vzniklo syntrofické konsorcium methanogenní archebakterie a δ -proteobakterií - zprostředkovatelem byl opět H_2 . Podobná konsorcia jsou známa i dnes – „*Methanobacillus omelianskii*“. Splýváním δ -proteobakterií vznikla cytoplasmatická membrána a membrána ER, z archebakterie vzniklo jádro. Mitochondrie vznikla až později pohlčením α -proteobakterie. Hypotéza vysvětluje některé podobnosti v biochemii eukaryot a δ -proteobakterií – složité životní cykly a „sociální“ chování zděděné po δ -proteobakteriích mohly být předpokladem vzniku mnohobuněčnosti u eukaryot. Klady syntrofické hypotézy jsou obdobné jako u vodíkové hypotézy. Hlavním záporem je její přílišná složitost a také to, že genom eukaryot podle všeho nenese stopy po tom, že by do něj významnou měrou přispěly δ -proteobakterie. Syntrofická hypotéza řeší vznik těchto membrán fúzí membrán δ -proteobakterií již při samotném vzniku eukaryotické buňky. Všimněte si, že všechny dosud zmiňované hypotézy předpokládají příbuzenský vztah mezi membránami jaderného obalu + ER a cytoplasmatickou membránou.

Lynn Margulisová přišla před několika lety s **modernější SET**, která počítá s metabolickou symbiózou založenou na síře. Archebakterie podobná dnešnímu rodu *Thermoplasma* uměla redukovat atomární síru na H_2S . Přítomnost H_2S vytvářela anaerobní prostředí (redukovala stopové množství kyslíku na vodu), což vyhovovalo striktně anaerobní eubakterii podobné dnešním spirochétám. Oba organizmy žily pospolu a později splynuly za vzniku amitochondriálního eukaryota. Spirochéta dala vznik eukaryotickému bičíku. Mitochondrie jako v předchozím případě měla vzniknout později v nezávislé endosymbióze. Pozitiva této teorie spočívají v tom, že konsorcia organizmů založená na sdíleném metabolismu síry se vyskytují v přírodě. Hypotéze je možné přičíst k dobru také to, že se snaží vysvětlit původ eukaryotického bičíku. Tuto přednost ovšem kazí skutečnost, že pro vznik bičíku ze spirochét se zatím nenašly žádné další důkazy. U spirochét nebyly nalezeny ani geny pro tubuliny ani geny pro molekulární motor dynein.

Jak vidno z předchozího textu, v současné době existuje vedle sebe několik navzájem se vylučujících, ale přibližně stejně dobrých hypotéz o vzniku eukaryotické buňky a (zatím) záleží na nás, ke které se přikloníme. Na výběr rozhodně máme. Podstatné je, že tyto hypotézy vytvářejí odlišné předpoklady o tom, jak může vypadat diverzita eukaryot kolem nás. Tyto předpoklady lze ověřovat a hypotézy takto testovat. Vodíková hypotéza například předpokládá, že vznik mitochondrie a eukaryot se nedá oddělit. Vylučuje tedy existenci

primárně amitochondriálních eukaryot, tedy eukaryot, které mitochondrii nemají a nikdy neměly. Existence takových organismů by vodíkovou hypotézu vyvrátila.

Pitis a Gabaldon³⁸ přišli se zajímavým přístupem, jak zodpovědět otázku, v jakém pořadí vznikaly eukaryotické znaky, jmenovitě jádro, endomembránový systém a mitochondrie. Ve své studii „měřili“ evoluční vzdálenosti různých eukaryotických genů k jejich prokaryotickým protějškům vyjádřené jako délka větve na fylogenetických stromech a seřadili si tyto geny sestupně podle těchto vzdáleností. Ukázalo se (obrázek níže), že geny s nejvzdálenějšími prokaryotickými předky fungují v jádře a v genové expresi (často jsou příbuzné archeím), o něco bližší příbuzné mají geny fungující v endomembránovém systému. Geny spojené s mitochondrií a příbuzné alfaproteobakteriím mají tuto vzdálenost nejmenší. Usuzují z toho, že ke vzniku těchto struktur docházelo právě v takovém pořadí: jádro, endomembránový systém a mitochondrie.



Časování událostí

K odhadu doby vzniku eukaryot se používají buďto zkameněliny (zkameněliny z této doby se nazývají acritarchy), biochemické stopy po eukaryotech nebo molekulární hodiny – tj. odhad doby oddělení dvou linií na základě odlišnosti sekvencí jejich genů. Všechny přístupy mají své nevýhody – zkamenělin a biochemických stop je velmi málo a jejich interpretace je sporná, mutační rychlost sekvencí se může zase nepředvídatelně měnit. Proto berte následující data jen jako velmi orientační. Pochopitelně, že různí lidé mají na tuto věc různé názory. Data ani jména se ke zkoušce rozhodně učit nemusíte. Více se časování vzniku eukaryot budeme věnovat na 11. přednášce.

-3800 mil. let	První stopy života
-3200 mil let	První fosilie považované některými autory za eukaryota
-2700 mil. let	Nejranější datum vzniku eukaryot podle molekulárních hodin.
-2300 mil. let	Nárůst množství kyslíku v atmosféře činností sinic
-2000 mil. let	Nezpochybnitelné fosilie eukaryotického původu
-2000 mil. let	Vznik mitochondrie podle molekulárních hodin

³⁸ <http://www.nature.com/nature/journal/v531/n7592/full/nature16941.html>

-1500 mil. let	Vznik plastidu podle molekulárních hodin
-1500 mil. let	
-1000 mil. let	První eukaryota zařaditelná do moderních skupin – ruducha <i>Bangiomorpha pubescens</i> , zelená řasa <i>Proterocladus sp.</i>
-750 mil. let	Schránky améb.
-700 mil. let	Globální zalednění Země „Snowball Earth“. Celý povrch Země, včetně oceánů, na dlouhou dobu zamrzl. Pozor! Nejedná se o dobu ledovou, které přišly až ve čtvrtohorách (před 3-0 mil. let).
-600 mil. let	Pan-Africká orogeneze
-600 mil. let	Nárůst koncentrace kyslíku v oceánech. To se opozdilo po nárůstu kyslíku v atmosféře o 1700 miliónů let vinnou činností sulfát redukujících bakterií, které z oceánu na dlouho dobu učinili anoxické sulfidické prostředí (tzv. Canfieldův oceán).
-600 mil. let	První bilaterálie
-540 mil. let	Kambrijská exploze.