

Vznik fotosyntetizujících eukaryot ve světle srovnávací genomiky

K 200. výročí narození Charlese Darwina

Genomika, tedy získávání, analýza a interpretace sekvencí genomové DNA, je prudce se rozvíjející obor, který během jednoho desetiletí stačil natrvalo změnit podobu celé biologie. Z přirozených důvodů se hlavní zájem o genomiku odvíjí od možností, které slibuje pro medicínské či agronomické aplikace, nicméně pro mnoho biologů (včetně autora tohoto článku) tkví hlavní kouzlo v obrovském potenciálu osvětlit historii a evoluci života. Tento aspekt je doménou především srovnávací genomiky, která staví na porovnávání sekvencí a repertoárů genů, jejich uspořádání v genomech a dalších atributů genomů organismů od zástupců téhož druhu až po největší myslitelné evoluční vzdálenosti. V tomto článku bych rád seznámil čtenáře s některými novými poznatky, které srovnávací genomika vnesla do problému evolučního původu fotosyntetizujících eukaryot.

Fotosyntetizující eukaryota – rostliny a řasy – mají buňky obdařené zvláštní organelou – chloroplastem (obecně plastidem), a dnešní maturant již disponuje znalostí, že plastidy vznikly z endosymbioticky žijící sinice. Toto dříve revoluční vysvětlení bylo znovuoživeno koncem 60. let 20. stol. americkou bioložkou Lynn Margulisovou (kořeny tohoto směru uvažování však sahají až do 19. stol.) a dnes se jeví jako naprosto přirozené. Mnohé detaily vzniku a evoluce plastidu však zůstávají stále nejasné a často jsou i předmětem ostrých kontroverzí. Naštěstí platí, že postupná přeměna endosymbionta v organelu se nesmazatelně, i když zašifrovaně, zapsala do genomových sekvencí, takže srovnávací genomika představuje mocný nástroj pro rekonstrukci těchto dávných událostí. Dotkneme se alespoň některých zajímavých aspektů tohoto problému.

Sinice – skuteční předkové plastidů

Rehabilitace endosymbiotické teorie sice vyřešila konceptuální problém vzniku plastidů, nastolila však zároveň řadu dílčích otázek a mnohé zůstávají dodnes jen neúplně zodpovězeny. První z nich je povaha předpokládaného volně žijícího prokaryotického předka plastidů. Přirozeným kandidátem na tuto roli byly od počátku sinice, tedy gramnegativní bakterie obdařené, podobně jako plastidy eukaryot, schopností provádět oxygenní fotosyntézu. Podobnost plastidů se sinicemi je patrná zejména u červených řas – ruduch, např. v obdobném typu anténních světloběrných komplexů – fykobilisomů. U eukaryotických organismů, které dnes řadíme do zvláštní skupiny nazývané *Glaucophyta* (nemnoho vzácně nacházených sladkovodních druhů), se vyskytují vnitrobuněčné útvary natolik podobné

sinicím, že byly označovány jako cyanely (obecný název pro endosymbioticky žijící sinice u eukaryot) a jejich blízká příbuznost s plastidy jiných eukaryot byla potvrzena až pozdějšími molekulárními studii. Nicméně plastidy dalších eukaryot, např. zelených řas a rostlin, už na první pohled takovou podobnost se sinicemi nejeví, proto se také diskutovala možnost jejich polyfyletického původu, tedy že u různých eukaryotických skupin vznikly plastidy nezávisle z různých prokaryotických předků, kteří nemuseli být sinicemi. V této souvislosti vyvolal velký zájem objev zvláštních fotosyntetizujících prokaryot pojmenovaných *Prochlorophyta* (první známý zástupce *Prochloron didemni* byl popsán v 70. letech 20. stol.), jež vykazují složení fotosyntetických pigmentů podobné plastidům zeleného typu (např. přítomností chlorofylu b). Jelikož se možnost evoluční souvislosti plastidů zelených řas a rostlin s prochlorofyty stále objevuje v méně informované literatuře, je dobré zdůraznit, že podle molekulárně-fylogenetických analýz jsou *Prochlorophyta* ve skutečnosti polyfyletickou skupinou „deviantních“ sinic a s plastidy nemají evolučně nic společného.

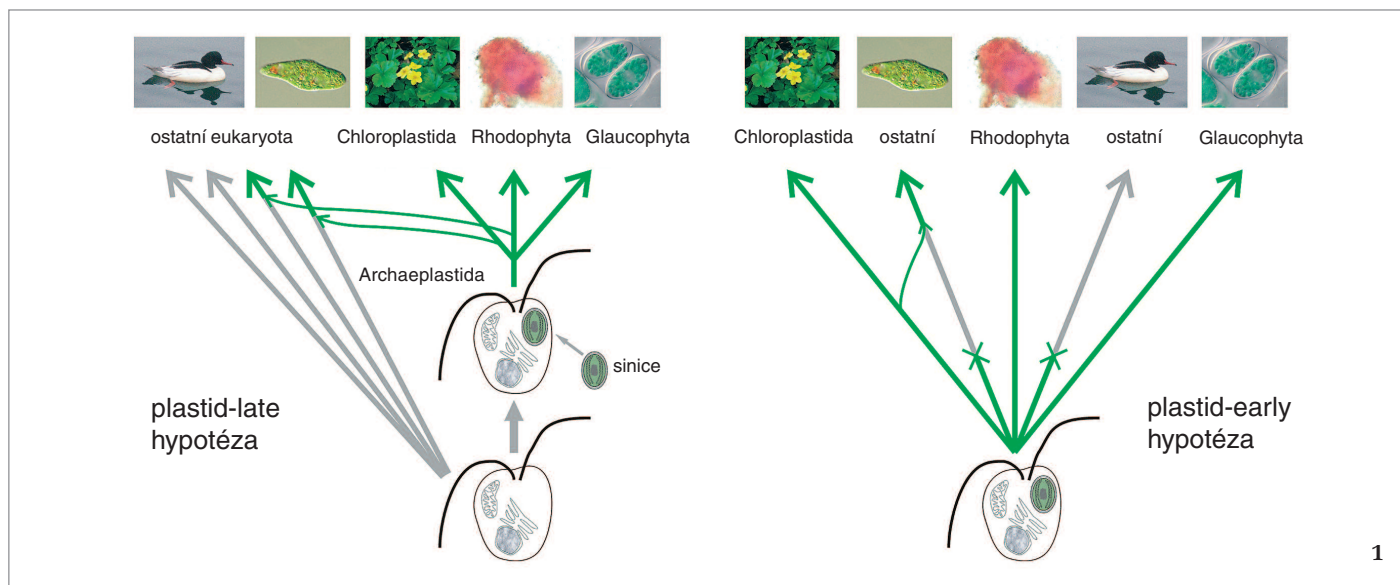
Jak tedy vypadá představa o prokaryotických předcích plastidů ve světle nejnovějších molekulárních a genomických studií? Především drtivá většina fotosyntetizujících organel eukaryot (s jednou známou výjimkou, viz níže) má společný původ v jedině endosymbiotické asociaci, kdy endosymbiontem byla dávná, ale zcela plnohodnotná sinice. Toto tvrzení se opírá především o fylogenetické analýzy sekvencí genů v plastidových genomech (redukováných pozůstatcích původně mnohem většího genomu sinicového předka), které jednoznačně ukazují plastidy,

včetně „cyanel“ glaukofyt, jako monofyletickou větev usazenou hluboko uvnitř fylogenetického stromu sinic. Je ovšem politováníhodné, že ani nejnovější analýzy dat z mnoha genů a nejcitlivější metody rekonstrukce fylogenetických stromů nejsou schopny přesně stanovit pozici plastidové větve vzhledem k ostatním sinicím, jinak řečeno, dosud není možné určit, které recentní skupiny sinic jsou nejbližší příbuzné plastidům. Tato znalost by velmi usnadnila rekonstrukci možného předka plastidů, ale vyžaduje lepší vzorek kompletních genomových sekvencí různých sinicových linií a ještě účinnější fylogenetické metody. Přesto některé nejnovější studie založené na srovnávání genomů dnešních sinic s repertoárem genů řas a rostlin, které byly do těchto eukaryot vneseny právě dávným sinicovým endosymbiontem, poukazují na možný původ plastidů v okruhu např. známých rodů *Anabaena* a *Nostoc*, což jsou sinice charakterizované tvorbou heterocyst – zvláštních buněk, v nichž probíhá fixace vzdušného dusíku (Deusch a kol. 2008). Je tedy docela dobře možné, že významným, ne-li rozhodujícím benefitem sinicového endosymbionta byla pro hostitelskou buňku původně právě asimilace anorganického dusíku. V této souvislosti se jeví jako nesmírně zajímavé zvláštní struktury v buňkách rozsivky *Rhopalodia gibba* – tzv. oválná tělíska (spheroid bodies), jež se nedávno ukázala být redukováným sinicovým endosymbiontem neschopným fotosyntézy, ale provádějícím právě fixaci dusíku (Kneip a kol. 2008).

Plastid-early, anebo plastid-late?

Další okruh otázek spojených s původem fotosyntetizujících eukaryot se týká povahy druhého partnera počáteční endosymbiotické asociace – hostitelské buňky. Byl to již plně vyvinutý eukaryot se všemi typickými znaky (jádrum, mitochondrií, Golgiho aparátem atd.), nebo šlo o dávného předka eukaryot a endosymbióza se sinicí se tak přímo podílela na „eukaryogenezi“? Zde je nezbytné dotknout se problému nad rámec tohoto článku, a čtenáři nechť se obrátí na některé jiné recentní texty (např. Živa 2009, 2: 50–52). Jde o fenomén tzv. sekundárních (případně terciárních) plastidů u některých skupin řas (rozsivky, skrytěnky, krásnoočka atd.) a jim příbuzných nefotosyntetizujících parazitů (např. výtrusovců), které se nedají odvodit jednoduchou vertikální dědičností z generace na generaci od prvotní „prařasy“, nýbrž mají svůj původ v následných endosymbiózách, kdy endosymbiontem byla již samotná eukaryotická buňka s plastidem (zelená řasa nebo ruducha, podle typu sekundárního plastidu).

Tím se problém původu fotosyntetizujících eukaryot zjednodušuje na otázku původu eukaryot s primárním plastidem, jež dnes představují tři odlišné evoluční linie – zelené řasy a rostliny (*Chloroplastida* či *Viridiplantae*), ruduchy (*Rhodophyta*) a zmíněné glaukofyty (*Glaucophyta*). Pravidlo Occamovy břitvy, podle něhož bývá správné obvykle to nejjednodušší vysvětlení, velí, že primární plastid je výlučnou evoluční novinkou (synapomorfií) těchto tří skupin a ty tvoří monofyletickou



linii (*Archaeplastida*) s vyloučením všech ostatních eukaryotických skupin, které primární plastid nikdy neměly, nebo obsahují plastidy sekundární případně terciární. Podle této představy tedy „prařasa“ vznikla až v relativně pozdější fázi evoluce eukaryot (hypotéza plastid-late, obr. 1). Podpůrným argumentem je zde i fakt, že dodnes není znám jediný představitel archeplastidů, který by primární plastid zcela postrádal – ten je zachován i u zástupců druhotně neschopných fotosyntézy (různých parazitických rostlin a řas jako záraza – *Orobancha* nebo *Prototheca*). Zdá se tedy, že se primární plastid natolik funkčně začlenil do hostitelské buňky, že je pro ni nezbytný a k jeho druhotné ztrátě nedochází. (To není případ eukaryot se sekundárním plastidem, kde jsou druhotné ztráty plastidu doloženy, viz již citovaný článek M. Oborníka v *Živě* 2009, 2: 50–52.) Alternativní hypotézou je, že přinejmenším některé současné eukaryotické linie bez primárního plastidu, ne-li všechna eukaryota, pocházejí z předka, který měl více či méně těsně integrovaného sinicového endosymbionta nebo primární plastid jako takový (hypotéza plastid-early, obr. 1). Koneckonců lze předpokládat, že v raných fázích evoluce plastidu bylo jeho sepětí s hostitelskou buňkou volnější a přece jen mohlo docházet k sekundární ztrátě (ztráty komplexních buněčných struktur jsou v evoluci eukaryot ve skutečnosti překvapivě běžné). Je možné rozhodnout mezi scénáři plastid-late a plastid-early s využitím informací, které poskytují genomové sekvence?

Podle hypotézy plastid-late očekáváme, že zelená linie (*Chloroplastida*), rudouchy a glaukofyty tvoří ve fylogenetických stromech eukaryot monofyletickou skupinu (*Archaeplastida*). Rekonstrukce vývojových vztahů mezi jednotlivými eukaryotickými liniemi se ukázala jako tvrdý oříšek vzdorující i nejnovějším fylogenomickým přístupům. Nicméně výsledky analýz postavených na dostatečném datovém souboru (sekvence více než 100 genů) jsou s předpokladem monofyletických archeplastidů obvykle v souladu, i když bez dostatečné statistické podpory (Burki a kol. 2008). V některých analýzách je ovšem monofylie archeplastidů zpochybněna ji-

nými eukaryotickými liniemi (např. Hampel a kol. 2009), jmenovitě skrytčkami (*Cryptophyta*) a haptofyty (*Haptophyta*), které sice obě zahrnují fotosyntetizující organismy (řasové bičíkovce), ale se sekundárním plastidem z endosymbiotické rudouchy. V tuto chvíli není zřejmé, zda tendence skrytček a haptofyt jevit se ve fylogenomických stromech jako blízka nebo dokonce vnitřní linie archeplastidů naznačuje skutečné příbuzenské vztahy, anebo je to artefakt způsobený tím, že mnoho jaderných genů skrytček a haptofyt (genů používaných pro fylogenomické analýzy) bylo do jejich jaderného genomu přeneseno ze sekundárního endosymbionta a neodpovídá tak evoluční historii hostitelské buňky. Pro tuto chvíli se musíme spokojit s konstatováním, že výsledky fylogenomických analýz přinejmenším nejsou v příkrém rozporu s představou o jednotném původu archeplastidů, a tedy i hypotézou plastid-late.

Jak ještě blíže pojednáme v následujícím textu, proměna původního sinicového endosymbionta v plastid byla provázena masivním přesunem genů sinice do genomu hostitelské buňky. Je tudíž důvodné předpokládat, že v případě dávné přítomnosti sinicového endosymbionta a jeho druhotné ztrátě u některých eukaryotických linií (viz hypotéza plastid-early) by se v jaderných genomech hostitelské buňky měly stále nalézat geny pocházející právě z tohoto endosymbionta. Dosavadní analýzy genomů zástupců eukaryotických skupin bez plastidu, jako jsou např. živočichové nebo houby, sice geny sinicového původu odhalily (Maruyama a kol. 2009), ale jejich množství se nezdá být podstatně vyšší než množství genů pocházejících z jiných skupin bakterií. Nejpravděpodobnějším vysvětlením bude prostý horizontální přenos genů (blíže seriál P. Šímy a I. Trebichavského v *Živě* 2006, 1–6) ze sinic bez souvislosti s endosymbiózou. Jsme tedy opět spíše u hypotézy plastid-late, i když stále zbývá systematicky prozkoumat možnou přítomnost sinicových genů v některých dalších liniích eukaryot postrádajících plastid.

Přes tyto předběžné závěry se nakonec může ukázat, že ke vzniku plastidu došlo v hodně dávné minulosti, velice blízko

1 Alternativní hypotézy evoluce plastidů v eukaryotech. Vlevo hypotéza plastid-late: K ustavení endosymbiózy se sinicí došlo u předka dnešních eukaryot s primárním plastidem (*Archaeplastida*), zatímco ostatní eukaryota plastid nikdy neměla, nebo jej získala cestou sekundárních (případně terciárních) endosymbióz. Vpravo hypotéza plastid-early: Sinicový endosymbiont/plastid byl přítomen již u společného předka všech (nebo většiny) eukaryot, ale zchoval se jen u některých linií, zatímco u ostatních se druhotně ztratil (i když v některých případech byl později opět získán díky sekundární endosymbióze). Orig. M. Eliáš

společnému předku všech (současných) eukaryot. Jednou z nejobtížnějších otázek fylogeneze eukaryot je totiž pozice kořene – nehlubšího místa větvení fylogenetického stromu eukaryot. Vzhledem k rozsahu tohoto článku přejdeme rovnou k zajímavým závěrům zcela recentní práce špičkové americké skupiny vedené Eugeneem Kooninem (Rogozin a kol. 2009). Autoři na základě analýzy tzv. vzácných genomových změn (rare genomic changes) představovaných např. výjimečnými substitucemi (náhradami) nebo insercemi/delecemi (vložením/ztrátou) v sekvencích genů navrhli jako nejpravděpodobnější pozici kořene mezi archeplastidy a ostatními eukaryoty. Toto schéma by znamenalo, že k začlenění sinicového endosymbionta nejspíš došlo relativně záhy po první evoluční radiaci eukaryot. Je ovšem nezbytné zdůraznit, že tento scénář potřebuje ověření nezávislými metodami a na rozsáhlejší souboru dat (publikovaná analýza např. nezahrnuje žádného zástupce glaukofytů, jelikož stále čekáme na první genomovou sekvenci z této skupiny).

Od endosymbionta k organelle

Plastidy dnešních řas a rostlin sice nezapřou svůj původ v sinicích, přesto byl původní endosymbiont v průběhu utužování vztahů s hostitelskou buňkou dramaticky modifikován. Pojďme si stručně popsat alespoň některé nejzajímavější evoluční události, jež přetvořily endosymbionta v plně integrovanou organelu. Na první

pohled patrným procesem je redukce genomu endosymbionta, která je typická nejen pro evoluci primárních plastidů, ale i pro další endosymbiotické asociace (sekundární plastidy, mitochondrie, bakteriální endosymbionty hmyzu, zmiňovaná oválná tělíska atd.). Přesnou podobu volně žijícího sinicového předka plastidů asi nebudeme znát nikdy, když ale připustíme, že byl v zásadě podobný dnešním sinicím, jeho genom mohl obsahovat asi 2–8 milionů párů bází a 2–6 tisíc genů. Naproti tomu genomy dnešních plastidů bývají tvořeny do 200 tisíc párů bází a 200 genů a představují tak maximálně desetinu genomů sinic. Co se stalo se všemi chybějícími geny?

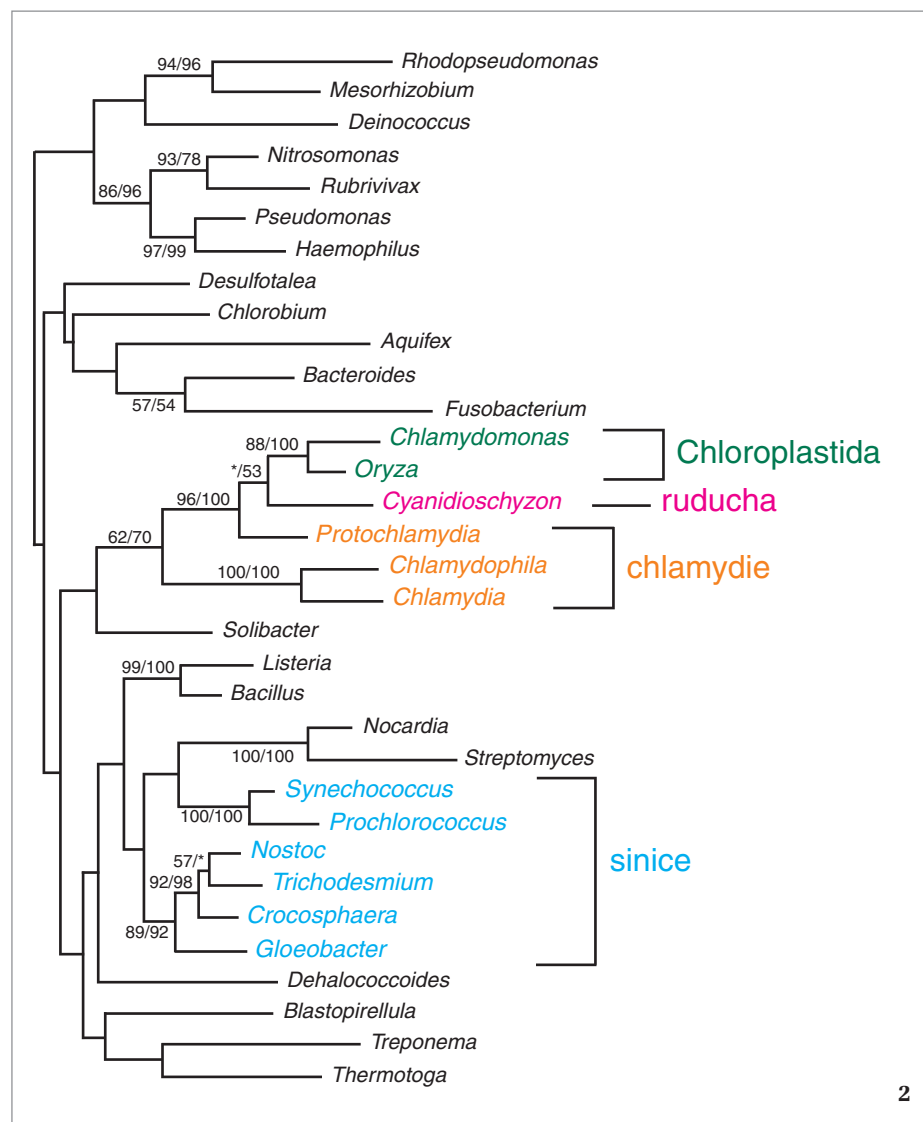
Mnoho z nich se nepochybně ztratilo beze stopy, jiné však prošly procesem označovaným jako endosymbiotický genový přenos (– transfer, EGT), při němž se kopie genů endosymbionta integrují do jaderného genomu hostitelské buňky a původní předlohy se následně ztratí. K tomu dochází i u dnešních plastidů či mitochondrií. Sekvenování genomů odhalilo běžnou přítomnost úplných nebo částečných nefunkčních kopií genomů organel vložených do jaderného genu a jsou zdokumentovány poměrně nedávné (ve smyslu evolučního času) případy úspěšného EGT u některých organismů (např.: T. Kleine, U. G. Maier, D. Leister 2009). Fylogenetické analýzy ukazují, že jaderné genomy řas a rostlin mohou obsahovat sta až tisíce genů získaných EGT ze sinicového endosymbionta (přesné číslo je obtížné získat kvůli metodologickým omezením). Proteiny kódované těmito geny je možné rozdělit do dvou skupin. Část byla hostitelskou buňkou nově využita nezávisle na plastidu, např. v cytoplasmě nebo dokonce v mitochondrii. Podstatná část těchto proteinů však nadále funguje na svém původním místě, tedy v plastidu. To je možné díky patrně nejdůležitější evoluční novince u vznikajícího plastidu, a to aparátu pro import proteinů z cytoplazmy hostitelské buňky do endosymbionta.

2 Příklad plastidové komponenty pocházející z chlamydií (*Chlamydiae*). Fylogenetická analýza proteinových sekvencí enzymu 4-difosfocytidyl-2-C-metyl-D-erythritol kinázy (IspE), jednoho z enzymů biosyntézy izoprenoidů (funkčně významné skupiny látek, mezi něž patří např. terpenoidy a steroidy). Dráha závislá na IspE je typická pro bakterie a u eukaryot probíhá v plastidech. Fylogenetický strom byl zkonstruován pomocí metody maximum likelihood (ML; hodnoty uvedené u některých větví vyjadřují jejich statistickou podporu podle bootstrapových analýz provedených metodami ML/neighbour joining). Sekvence pocházející ze sinic, chlamydií a archeplastidů jsou zvýrazněny barevně, ostatní sekvence pocházejí z různých eubakterií. Z analýzy je jasně patrná statisticky dobře průkazná příbuznost IspE sekvencí archeplastidů (chloroplastidů a ruduchy *Cyanidioschyzon*) se sekvencemi z chlamydií, zatímco sekvence ze sinic se nalézají ve vzdálenější oblasti fylogenetického stromu. Schéma upraveno podle: J. Huang a J. P. Gogarten (2007)

Podle některých autorů je právě tento aparát kritériem definujícím organelu oproti „pouhému“ endosymbiontu (jakkoli se takové kritérium může zdát arbitrární). U všech dnešních primárních plastidů tvoří aparát dva hlavní proteinové komplexy – Toc (zahrnující kanál přes vnější plastidovou membránu) a Tic (vytvářející kanál přes vnitřní plastidovou membránu). Proteiny určené pro import do plastidu jsou obdařeny tranzitním peptidem – zvláštním úsekem na N-konci, který se váže na určité podjednotky komplexu Toc. Následně je celý protein vtažen přes kanály komplexů Toc a Tic do stromatu plastidu (zde jsem si dovilil mírně zjednodušit popis celého děje, pro naše účely postačuje). Fylogenetické analýzy sekvencí podjednotek aparátu Toc/Tic odhalily, že některé představují novým způsobem využití původní proteiny sinicového endosymbionta, zatímco jiné jsou „vynálezem“ hostitelské buňky. Vzhledem k jeho konzervovanosti u všech tří hlavních linií archeplastidů se musel aparát Toc/Tic nutně vyvinout již u společného předka dnešních plastidů.

Vznikem Toc/Tic aparátu se tedy sinicový endosymbiont otevřel importu proteinů z cytoplazmy hostitelské buňky, nejen těch, které jsou kódovány původně sinicovými geny přenesenými procesem EGT do jaderného genomu, ale i takových, které v něm dříve vůbec nebyly, přede-

vším variant proteinů původně fungujících v hostitelské buňce, či dokonce zcela nově vzniklých proteinů. Hostitelská buňka tak získala možnost kontroly nad endosymbiontem, umožňující např. regulaci metabolických procesů probíhajících v plastidu podle jejích potřeb nebo koordinaci dělení plastidu s jejím buněčným cyklem. Dnešní plastidy tedy jsou chimérickými strukturami sestávajícími z komponent z různých zdrojů. Dobrou ilustrací je např. Calvinův cyklus, metabolická dráha zajišťující fotosyntetickou fixaci oxidu uhličitého v sinicích i plastidech. Fylogenetické analýzy ukázaly, že jen část enzymů této dráhy v plastidech pochází ze sinicového předka, zatímco jiné byly nahrazeny variantami kódovanými v jádře a odvozenými od enzymů původem z hostitelské buňky (původně činnými mimo Calvinův cyklus, např. v glykolýze). Některé tyto záměny jsou velmi starého data, neboť se vyskytují u všech plastidů, zatímco k jiným došlo jen v některých liniích archeplastidů a zbylé si ponechaly původní sinicovou variantu příslušného enzymu. Pro všechny jaderné geny kódující plastidové proteiny, ať už byly získány EGT, nebo se vyvinuly z původních genů hostitelské buňky, platí, že muselo dojít ke změně oblasti kódující N-konec proteinu tak, aby vznikl potřebný tranzitní peptid. Jakým způsobem k této modifikaci dochází, je do dnes záhadou. Týká se totiž obrovského



množství genů, takže se nezdá pravděpodobné, že by každý gen kódoval tranzitní peptid *de novo*, ale spíše jej nějak „zkopíruje“ od již kódujících genů.

Komponenty vytvářející dnešní plastidy nemusí být výhradně výsledkem evoluční hry mezi endosymbiontem a hostitelskou buňkou, nýbrž mohou díky procesu horizontálního přenosu genů pocházet z cizích zdrojů. Jako příklad může opět posloužit Calvinův cyklus, přesněji řečeno klíčový enzym RuBisCO (ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza) katalyzující vlastní fixaci oxidu uhličitého. Zelená linie a glaukofyty si zachovaly původní sinicový gen pro RuBisCO, ale u ruduch došlo k jeho ztrátě a nahrazení genem pocházejícím ze zcela jiné skupiny autotrofních bakterií – proteobakterií. Vedle obdobného „náhodného“ získání genů z té či oné skupiny bakterií byl nedávnými systematickými fylogenetickými analýzami genů fotosyntetizujících eukaryot odhalen zcela nový a překvapivý aspekt rané evoluce plastidu (Huang a Gogarten 2007, Moustafa a kol. 2008, Becker a kol. 2008). Ukázalo se, že nečekaně velké množství těchto genů (více než 50), z nichž většina kóduje proteiny s funkcí v plastidu, vykazuje fylogenetický původ mezi chlamydiemi (bakterie, vnitrobuněční parazité živočichů a některých prvoků, obr. 2). Nejlepší vysvětlením je, že předek dnešních archeplastidů vedle více či méně integrovaného sinicového endosymbionta ještě poskytoval útočiště i chlamydii, z níž se endosymbiotickým přenosem genů dostaly mnohé její geny do jádra hostitelské buňky a část jimi kódovaných proteinů byla poté využita v plastidu. Navíc vzhledem k funkci některých těchto proteinů to vypadá, že chlamydie přímo posílila integraci sinicového symbionta s hostitelskou buňkou, neboť jeden z přenesených genů chlamydie např. kóduje enzym ATP/ADP translokázu – protein zabezpečující transport ATP (zdroje energie v buňce produkovaného fotosyntézou) z plastidu do cytoplazmy spolu s transportem vznikajícího ADP zpět do plastidu k další recyklaci na ATP. Chlamydie používají tento protein k týmž transportním procesům, ale v opačném směru, ATP je transportován z cytoplazmy hostitele do buňky parazita.

Paulinella chromatophora – plastid ve stavu zrodu

Při rozjímání o počátcích fotosyntetických eukaryot se vracíme zpět do doby před mnoha sty miliony let (hlubší rozbor obtížné otázky přesnějšího datování je bohužel mimo rámec dnešního pojednání). Takto dlouhý časový odstup nesmírně komplikuje rekonstrukci dílčích detailů této evoluční události. Naštěstí se zdá, že nám příroda nabízí určité okénko do historie v podobě jedinečného organismu, u něhož s velkým zpožděním a nezávisle na většině ostatních fotosyntetizujících eukaryot dochází k procesům vedoucím ke vzniku nového typu fotosyntetizujících organel ze sinicového endosymbionta. Tímto fascinujícím modelem je sladkovodní filózní krytenka *Paulinella chromatophora*, amébovitý jednobuněčný eukaryot s tenkými panožkami (filopodiemi) a kře-

mičitou schránkou (obr. 3) fylogeneticky spadající do velké nesourodé eukaryotické skupiny *Rhizaria* (směs amébovitých a bičíkatých „prvoků“, jako jsou dírkonožci, mřížovci, cercomonády, chlorarachniofyty atd.).

Druh *Paulinella chromatophora* popsal již koncem 19. stol. německý biolog Robert Lauterborn. Je výjimečný tím, že na rozdíl od ostatních, heterotrofně se živících krytenek rodu *Paulinella* obsahuje dva protáhlé modrozelené útvary – chromatofory – zabezpečující buňce fotoautotrofní výživu (nedávno bylo zjištěno, že paulinely s chromatoforem ve skutečnosti vytvářejí dva odlišné příbuzné druhy). Od počátku bylo zřejmé, že chromatofory představují endosymbioticky žijící sinice, jež už ovšem nelze kultivovat mimo hostitelskou buňku (chromatofory se dělí v koordinaci s buněčným cyklem hostitelské buňky a jsou děděny dceřinými buňkami).

Identitu chromatoforu dokonale osvětlily nedávné molekulárně-fylogenetické studie, které ukázaly blízkou příbuznost se sinicemi rodu *Synechococcus* a *Prochlorococcus*. Jak paulinela, tak i její chromatofory tedy nemají fylogeneticky nic společného s tradičními řasami a rostlinami, či jejich plastidy. Odlišný charakter pravých plastidů a chromatoforu přesvědčivým způsobem dokládá i jeho nedávno stanovená kompletní genomová sekvence (Nowack a kol. 2008). Co do velikosti (kolem 1 milionu párů bází) i počtu genů (necelých 900) je sice genom chromatoforu výrazně menší než genomy volně žijících sinic (viz výše), avšak zmenšení velikosti genomu a ztráta genů nedosáhly ani zdaleka míry charakteristické pro plastidové genomy. Navíc u genomu chromatoforu je stále patrné konzervované uspořádání genů (syntenie) s genomy nejbližší příbuzných sinic, což značí relativně nedávného společného předka (uspořádání genů u prokaryot se v evoluci mění poměrně rychle).

Redukce genomu chromatoforu jde patrně na vrub především úplných ztrát genů, zejména takových, které tato endosymbiotická sinice v prostředí uvnitř krytenky nepotřebuje. Nicméně analýza repertoáru genů obsažených v chromatoforu ukázala absenci řady funkčně důležitých a vysoce konzervovaných genů, bez nichž (lépe řečeno bez jimi kódovaných proteinů) se chromatofor pravděpodobně neobejde. Ve světle toho, co víme o plastidech, je očekávatelné, že příslušné chybějící geny se přesunuly do jaderného genomu hostitelské buňky. První takový kandidát, gen *psaE* kódující podjednotku fotosystému I, byl objeven zcela nedávno (Nakayama a Ishida 2009). Je zajímavé, že předpokládaná sekvence proteinu PsaE postrádá jakýkoli specifický koncový úsek, jenž by mohl sloužit jako značka pro transport z cytoplazmy hostitelské buňky do chromatoforu (jako u jaderně kódovaných plastidových proteinů), takže importující aparát chromatoforu bude pravděpodobně zcela jiný, než je Toc/Tic plastidu. Podle míry redukce genomu chromatoforu se stáří této endosymbiotické asociace odhaduje přinejmenším na 60 milionů let, v každém případě je to však jen zlomek času, který



3 Sladkovodní krytenka *Paulinella chromatophora* ze skupiny *Euglyphida* (*Rhizaria*) obsahující dva modrozelené útvary – chromatofory, které představují endosymbioticky žijící redukované sinice (bližší v textu). Na obrázku je dobře viditelná křemičitá schránka krytenky. Foto T. Hauer

4 *Cyanophora paradoxa*, sladkovodní bičíkovec ze skupiny *Glaucophyta*. V buňce je patrný plastid připomínající endosymbiotickou sinici (cyanelu). V současnosti probíhá sekvenování jaderného genomu tohoto „modelového“ glaukofytu. Foto P. Škaloud

uplynul od vzniku pravých plastidů. Studium paulinely má proto velkou šanci poodhalit zákonitosti, kterými se řídí vznik organel endosymbiotickou cestou. V současné době se pracuje na stanovení kompletní sekvence jejího jaderného genomu, z níž jistě bude možno vytěžit mnoho dalších poznatků, jakým způsobem jsou chromatofory a hostitelská buňka evolučně a funkčně propojeny.

Závěr

Vznik fotosyntetizujících eukaryot byl bezesporu jedním z klíčových momentů historie života, který natrvalo změnil tvář Země. Endosymbiotická teorie poskytl obecný vysvětlující rámec pro pochopení této události, ale teprve rozvoj srovnávací genomiky a fylogenetiky v poslední době dává možnost detailněji rekonstruovat počáteční fáze endosymbiózy a jednotlivé kroky přeměny sinicového endosymbionta ve fotosyntetizující organelu. V nejbližších letech můžeme díky genomice očekávat doplnění mnoha bílých míst ve znalostech o původu plastidů. Osobně se nemohu dočkat zveřejnění výsledků probíhajícího sekvenování genomu řasy *Cyanophora paradoxa* (obr. 4), prvního zástupce glaukofytů. Zkrátka, je na co se těšit.