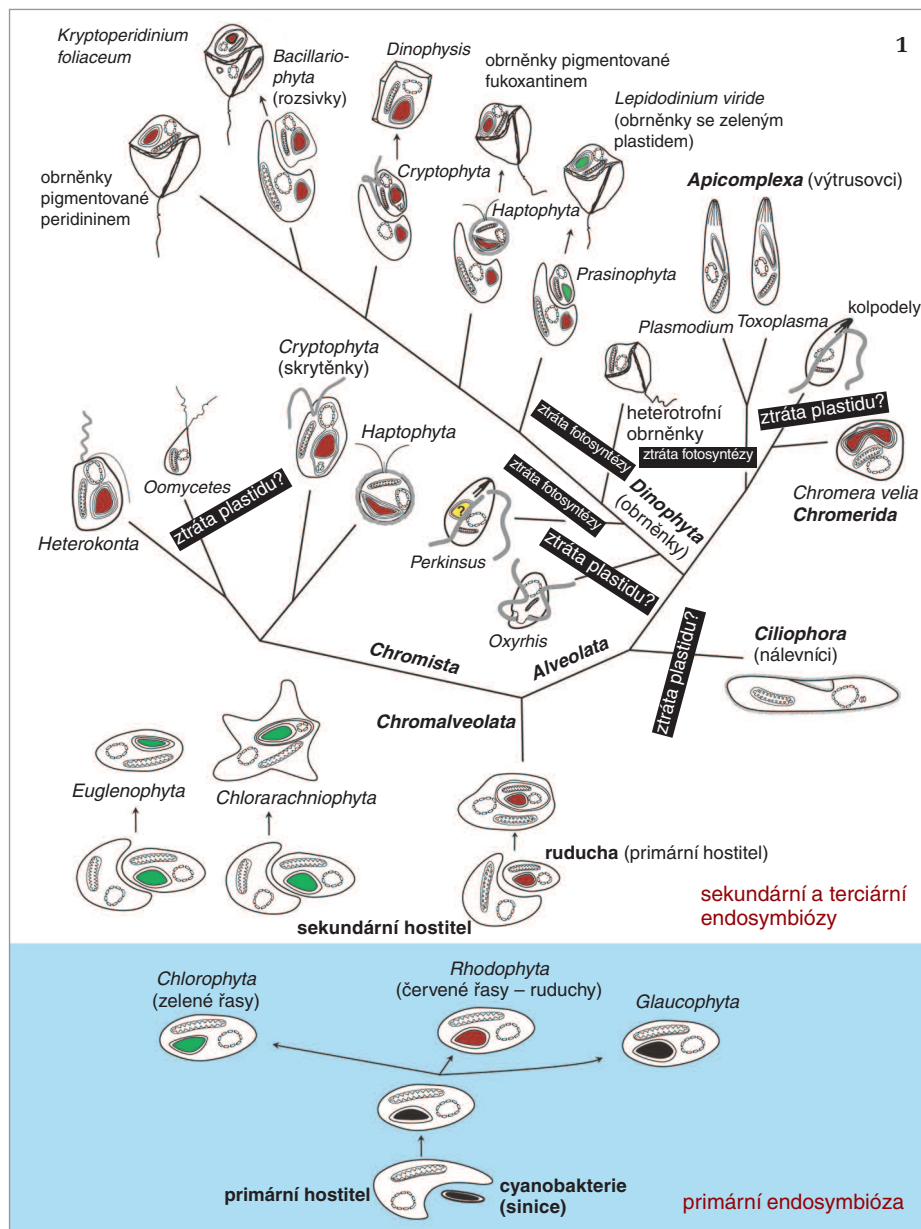


Endosymbióza jako akcelerátor evoluce

Evoluci eukaryotických organismů již od jejího počátku výrazně ovlivňovaly symbiotické vztahy (viz též Živa 2002, 3: 121–124). Tři typy endosymbiózy pak vedly k evoluci fotosyntetických semiautonomních organel eukaryot, tzv. plastidů. Evoluce primárních, sekundárních a terciárních plastidů umožnila nejen fotoautotrofii eukaryot, ale také vznik chimérických eukaryotických genomů, tedy genomů poskládaných z více zdrojů jak prokaryotických (mitochondrie a primární plastidy), tak eukaryotických (sekundární a terciární plastidy). U některých fotosyntetických eukaryot pak může být původní eukaryotický genom zejména eukaryotických fotoautotrofů představuje důležitý akcelerační aspekt jejich evoluce a tím i rozšíření života na Zemi.



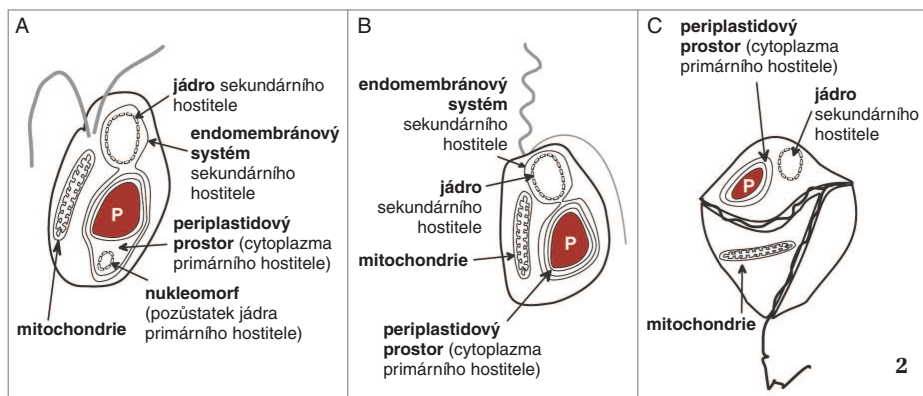
Endosymbiotický původ plastidů

Hypotéza vysvětlující vznik plastidů, fotosyntetických organel rostlin a řas, endosymbiózou nefotosyntetického eukaryota s fotosyntetickou bakterií je více než 100 let stará. Poprvé s ní přišel ruský biolog Konstantin Merežkovskij již v r. 1905. Později však byla tato hypotéza zapomenuta, snad i proto, že tehdejší společnost nebyla schopna přijmout myšlenku, že si v přírodě jeden organismus může zotročit druhý a nakonec jej i přetvořit v organelu neschopnou samostatného života. Nový dech chytila endosymbiotická teorie až více než 20 let po 2. světové válce. Její reinkarnaci umožnila práce Lynn Margulisové On the origin of mitosing cells (O původu buněk dělících se mitózou) z r. 1967 publikovaná v Journal of Theoretical Biology. Nutno podotknout, že ač tato studie prakticky změnila evoluční biologii, byla před otištěním ve zmíněném časopise odmítnuta v 15 vědeckých periodikách. I další práce prof. Margulisové se zabývaly endosymbiotickou teorií, ty se však již nesetkaly s tak pozitivním ohlasem u vědecké komunity. Důvodem byl fakt, že Lynn Margulisová aplikovala svoji hypotézu do krajnosti téměř na všechny buněčné struktury.

Primární endosymbióza je proces, při kterém dojde k pohlcení prokaryotické buňky, v našem případě fotosyntetické bakterie, heterotrofním eukaryotem a její postupně přeměně do formy semiautonomní fotosyntetické organely, dnes známé obecně jako plastid či chloroplast u rostlin. Takový plastid je obalen dvěma membránami (podobně jako cyanobakterie) a obsahuje svou vlastní DNA. Pohlcení prokaryotického endosymbionta však celý proces nekončí, právě naopak! Porovnáme-li velikosti genomů původní volně žijící bakterie (cca 3 500 kbp, kbp = tisíc párů bází) a běžného plastidu (150–190 kbp), výrazná redukce genomu plastidu je zcela zřejmá. Oproti volně žijící buňce totiž plastid potřebuje méně genů; velká část genů endosymbionta je pak v průběhu evoluce přenesena do jádra hostitelské buňky (primární hostitel, obr. 1), jejich proteinové produkty jsou vyráběny v cytoplazmě a posttranslačně cíleny do plastidu. Odhaduje se, že např. velmi používaná modelová rostlina huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*) obsahuje ve svém jádře až kolem 2 000 genů, které pocházejí z cyanobakteriálního endosymbionta. Právě toto sdílení genetické výbavy dělá z endosymbionta organelu, integrální součást hostitelské buňky a jejího metabolismu.

1 Evoluce primárních, sekundárních a terciárních plastidů. Primární endosymbióza, pohlcení cyanobakterie nefotosyntetickým eukaryotem, vedla k evoluci primárních plastidů. Dvě z linií primárních plastidů – zelené a červené plastidy – pak následně prošly sekundární endosymbiózou, pohlcením zelené, resp. červené řasy nefotosyntetickým eukaryotem. K tomuto jevu došlo pravděpodobně dvakrát v zelené linii a jednou v linii červené. U obrněnek pak proběhla řada terciárních endosymbióz. Předpokládá se i několik nezávislých ztrát fotosyntézy, popř. celého plastidu. Orig. M. Oborník

2 Míra redukce sekundárního endosymbionta. Sekundární plastidy jsou v různých skupinách řas redukovány v různé míře. Některé z nich mají zachovaný pozůstatek jádra endosymbionta – nukleomorf, jako je tomu u skrytěnek (*Cryptophyta*, A) a chlorarachniofyt (*Chlorarachniophyta*). U tohoto typu plastidů je vnější membrána součástí endomembránového systému buňky (A) a jasně rozpoznatelný je periplastidový prostor – pozůstatek cytoplazmy endosymbionta. U skupiny *Heterokonta* (B) již nukleomorf není přítomen, vnější membrána plastidu je stále součástí endomembránového systému hostitelské buňky. Plastidy obrněnek (*Dinophyta*) pigmentované peridininem (C) jsou obaleny pouze třemi membránami; vnější membrána plastidu není součástí endomembránového systému hostitelské buňky. Kromě snížení počtu obalových membrán mají peridininové plastidy výrazně redukovaný a fragmentovaný genom. Blíže v textu.
Orig. M. Oborník



Sekundární a terciární endosymbióza

Při bližším zkoumání a zejména díky vynálezu elektronového mikroskopu algologové zjistili, že skupina „řasy“, původně chápaná jako jedna skupina sestávající ze zelených řas (*Chlorophyta*), červených řas (*Rhodophyta*, ruduchy), hnědých řas (*Chromophyta*), krásnooček (*Euglenophyta*) a chlorarachniofyt (*Chlorarachniophyta*) je nepřírozená, protože obsahuje organismy různého původu. Molekulární fylogeneze eukaryot pak ukázala, že hnědé řasy patří do jiné eukaryotické říše (*Chromalveolata*) než řasy zelené a červené (říše *Archaeplastida*, dříve rostliny). Totéž pak platí pro krásnoočka (říše *Excavata*) či *Chlorarachniophyta* (říše *Rhizaria*). Navíc jsou plastidy hnědých řas (např. rozsivky, obrněnky, *Haptophyta* ad.), krásnooček a chlorarachniofyt obaleny 3–4 membránami, čímž se významně liší od dvoumembránových primárních plastidů zelených a červených řas. Dnes převládá názor, že tyto řasy hostí vícemembránový či tzv. komplexní nebo sekundární plastid jej získaly sekundární endosymbiózou, při níž heterotrofní eukaryot pohltil fotosyntetickou eukaryotickou řasu, která již obsahovala primární plastid (obr. 1). Tato eukaryotická řasa se pak vyvinula v plastid obalený více membránami.

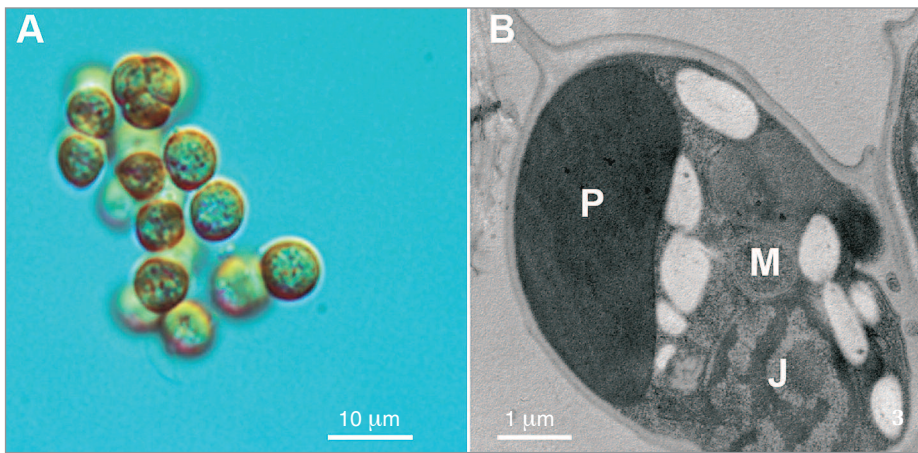
Sekundární endosymbiózy se zúčastnily zelené i červené řasy. V zelené linii došlo k sekundární endosymbióze patrně dvakrát (*Euglenophyta* a *Chlorarachniophyta*), v červené pak pravděpodobně pouze jednou (*Chromalveolata*, obr. 1), i když v tomto případě zůstává počet sekundárních endosymbióz předmětem mnoha vzrušených debat a diskusí. Je třeba poznamenat, že ještě endosymbiózy vedoucí k evoluci zelených plastidů obrněnek *Lepidodinium viride* a *L. chlorophorum* lze označit jako sekundární (obr. 1). V tomto případě však sekundární hostitel již hostil červený plastid a jeho výměna není podle definice typickou sekundární endosymbiózou. Míra redukce pohlčeného sekundárního endosymbionta je však u různých skupin řas různá. Některé takto vzniklé organismy obsahují kromě plastidu i nukleomorf, pozůstatek jádra pohlčené eukaryotické řasy, který je umístěn v periplastidovém prostoru, tj. mezi membránami původního primárního plastidu a plazmatickou membránou pohlčené řasy, v místě, kde byla původně cytoplazma eukaryotického endosymbionta (obr. 2). Jde jmenovitě o skrytěnk (*Chromalveolata*; *Cryptophyta*) a zelená améboidní *Chlorarachniophyta* (*Rhizaria*). Genomy nukleomorfů obou jmeno-

vaných skupin již byly osekvenovány, následná fylogenetická analýza prokázala jejich blízkou příbuznost k danému typu řas s primárním plastidem. Sekundární endosymbióza s ruduchou se pravděpodobně odehrála před 1–1,3 miliardou let.

Ne všechny vícemembránové plastidy pocházejí z procesu sekundární endosymbiózy. Řada obrněnek obsahuje čtyřmembránové plastidy, které jsou zjevně odvozeny od jiných členů skupiny *Chromalveolata*, jako jsou např. rozsivky, *Haptophyta* či skrytěnk, tedy organismů již obsahujících sekundární plastid. V takovém případě pak hovoříme o terciární endosymbióze. Obrněnky jsou v tomto ohledu skuteční mistři; terciární plastidy obsahují obrněnky pigmentované fukoxantinem (endosymbiont ze skupiny *Haptophyta*), či obrněnky rodu *Dinophys* (endosymbiont ze skupiny *Cryptophyta*). U obrněnky *Kryptoperidinium foliaceum* (obr. 1) je dokonce v buňce přítomna téměř kompletní rozsivka včetně jádra, plastidu a mitochondrie! Skupina obrněnek druhů *Lepidodinium viride* a *L. chlorophorum* zase obsahuje sekundární zelený plastid, který vznikl pohlčením zelené řasy ze skupiny *Prasinophyta*. Vzhledem ke zvýšenému výskytu terciárních plastidů u obrněnek je možné, že sekundární endosymbióza, která dala pravděpodobně vzniknout celé říši *Chromalveolata*, predisponovala obrněnky k následným endosymbiózám.

Důsledky sekundárních a následných endosymbióz nejsou však pouze ve fototrofii „postižených“ organismů, přestože i ta sama o sobě znamená naprostý obrat především ve způsobu výživy. Tyto organismy totiž byly, před získáním sekundárního či terciárního plastidu, dravci živičí se řasami a ostatními mikroorganismy. Dnes představují jednu z nejdůležitějších primárních producentů na Zemi. Vždyť jen rozsivky (*Chromalveolata*; *Bacillariophyta*) jsou odpovědné za 20 % celkové primární produkce – vyprodukují tolik organicky vázaného uhlíku jako všechny suchozemské deštné lesy dohromady. Větší změnu životní strategie si snad ani nelze představit.

Patrně to ale nebyl jen zisk autofototrofie, co způsobilo tak masivní rozšíření řas s komplexním plastidem. Troufám si tvrdit, že hlavní devizou sekundární endosymbiózy je především možnost kombinovat geny, genomy a metabolické dráhy, které se běžně u fototrofů nevyskytují. Tak např. rozsivky jsou na rozdíl od rostlin schopny beta oxidace mastných kyselin v mitochondrii po celý životní cyklus,



3 *Chromera velia*, nejbližší fotosyntetický příbuzný prvoků kmene výtrusovců (*Apicomplexa*), ve světelném (A) a transmisním elektronovém mikroskopu (B). Tato plně fotosyntetická řasa izolovaná z korálů obsahuje jeden plastid (P), jednu mitochondrii (M) a typické eukaryotické jádro (J). Foto M. Oborník

podobně jako živočichové. V důsledku to znamená, že mohou využívat tukové zásoby a jsou tak schopny vydržet delší dobu bez zdroje světla. Taková schopnost je u organismů vláčených stoupajícími a klesajícími proudy mořské vody k nezaplacení. Podíváme-li se do jejich jádra, pak je podle některých názorů genom původního eukaryota dokonce v menšině. Každopádně je v něm obsažena celá řada genů přenesených endosymbiotickým genomovým transferem, přičemž počet donorů těchto genů se u řas se sekundárním plastidem vyšplhá až na čtyři. Jmenovitě jde o mitochondrii sekundárního hostitele, mitochondrii primárního hostitele (pohlčené eukaryotické řasy), plastid a eukaryotické jádro primárního hostitele. Vezmeme-li v úvahu ještě geny z jiných zdrojů získané prostřednictvím horizontálního přenosu genů (viz seriál v Živě 2006), je výsledný genom skutečnou mozaikou, která nemá mezi živými organismy obdoby. Je třeba poznamenat, že horizontální přenos genů je u mořských jednobuněčných eukaryot poměrně častým jevem; např. rozsivky obsahují ve svém genomu více než 300 bakteriálních genů!

Nejen zisk, ale i ztráty

Evoluce řas s komplexním plastidem nezahrnuje pouze získání nové fotosyntetické organely, ale také relativně frekvencované ztráty různých funkcí plastidu či celého plastidu, popř. výměnu sekundárního plastidu za jiný sekundární či terciární plastid (obr. 1). Z tohoto pohledu jsou zjevně „nejpromiskuitnější“ obrněnky (*Chromalveolata*; *Dinophyta*), které obsahují řadu různých sekundárních a především terciárních plastidů; asi polovina všech obrněnek pak zcela ztratila schopnost fotosyntézy či celý plastid a žijí jako čistí heterotrofové (obr. 1). Je přitom zřejmé, že každý organismus může obsahovat pouze jediný typ funkčního plastidu.

Ztráty fotosyntézy či kompletní ztráty plastidů předpokládá zejména tzv. chromalveolátová teorie navržená oxfordským

profesorem zoologie Thomasem Cavalier-Smithem, kontroverzním guru evoluční protistologie (nauky o jednobuněčných eukaryotických organismech). Právě tato hypotéza předpokládá jednu akvizici červeného sekundárního plastidu, která pak dala vzniknout celé skupině *Chromalveolata*, zahrnující jak již zmíněné hnědé řasy, tak většinou heterotrofní *Alveolata* (obr. 1). Skupina *Alveolata* obsahuje kromě výše uvedených obrněnek také kmeny nálevníci (*Ciliophora*) a výtrusovci (*Apicomplexa*). Nálevníci v této sestavě představují evolučně nejstarší skupinu, výtrusovci a obrněnky pak sesterské odvozené skupiny. Zatímco asi polovina obrněnek je fotoautotrofních, výtrusovci i nálevníci jsou čistí heterotrofové.

Výtrusovci jsou téměř výhradně obligátními parazity živočichů včetně člověka a zahrnují původce malárie *Plasmodium falciparum* a toxoplazmu *Toxoplasma gondii* způsobující u lidí poškození plodu, abortus a údajně též změny chování. Je zajímavé, že na rozdíl od nálevníků, paraziti kmene *Apicomplexa* obsahují nefotosyntetický plastid. Tuto zbytkovou organelu, nazývanou též apikoplast, obalují čtyři membrány a pro hostitelskou buňku je nepostradatelná. Logicky tak představuje ideální cíl pro léčbu nemocí způsobených výtrusovci, protože živočišný hostitel neobsahuje žádné plastidové metabolické dráhy a jejich případný blokátor by neměl být pro něj toxický. Kandidáti na takovéto dráhy jsou např. nemevalonátová dráha pro syntézu izoprenoidů, syntéza mastných kyselin v plastidu, syntéza hemu a další.

Je nutno poznamenat, že i přes chybění plastidů v buňce nálevníků se podařilo v jejich jaderných genomech najít 16 genů pocházejících z plastidu. I tyto heterotrofové patrně měli ve své evoluční historii plastid (obr. 1). Redukce genomu plastidu výtrusovců až na malý kruh o 35 kbp, spolu s výrazným posunutím nukleotidového složení ve prospěch adeninu a thyminu, ukazuje na jeho degeneraci. Vždyť obsah adeninu a thyminu dosahuje u některých genů až 97 %!

Vysoký stupeň degenerace lze pozorovat též u některých plastidů obrněnek. Předpokládá se, že původní plastid obrněnek je třímembránový, pigmentovaný peridininem. Genomy těchto plastidů jsou však na rozdíl od všech ostatních plastidových genomů, organizovaných na cca 150–190 kbp velké kruhové molekule DNA, rozděleny na sadu minikroužků

o velikosti kolem 1–10 kbp. Peridininové plastidy tak obsahují pouhých 16 genů (!), zatímco ostatní sekundární plastidy obsahují od 110 do 200 genů. Naprostá většina genetické informace je u peridininových obrněnek přenesena do jádra. Je docela možné, že právě tato degradace genomu vedla ke snížení efektivity plastidu a k jeho výměně, tak časté u této skupiny alveolát.

Chromera velia – fotoautotrofní pradědeček malárie

Počátkem r. 2008 jsem se zúčastnil popisu zcela nového kmene alveolát – *Chromerida*. Jediným známým zástupcem této skupiny je řasa *Chromera velia* izolovaná v r. 2001 z tvrdého korálu *Plesiastrea purpurea* z přístavu v Sydney. Izolované stadium tvoří volně žijící kulovité buňky s jedním obřím plastidem (zabírá kolem 60 % buněčného obsahu), centrálně umístěnou, morfologicky nezvyklou mitochondrií a typickým eukaryotickým jádrem (obr. 3). *Chromera* je plně fotosyntetická, její pigmentace je ale poněkud zvláštní. Na rozdíl od naproste většiny fotosyntetických chromalveolát s červeným plastidem totiž neobsahuje chlorofyl c, ale pouze chlorofyl a a zcela novou formu světloběrného karotenoidu izofukoxantinu. Fylogenetická analýza na základě jaderných a plastidových genů prokázala, že tato nová řasa je nejbližší fotosyntetický příbuzný výtrusovců, ještě bližší než dosavadní sesterská skupina obrněnky, a že její plastid pravděpodobně sdílí společný původ s apikoplastem, nefotosyntetickým plastidem výtrusovců.

Skutečnost, že *Chromera velia* je velmi pravděpodobně symbiontem korálů, naznačuje vysoce pravděpodobnou cestu vzniku parazitismu výtrusovců ztrátou fotosyntetické schopnosti a přepnutím na parazitický způsob výživy. Když hovoříme o nejbližším fotosyntetickým příbuzném parazitických prvoků kmene *Apicomplexa*, je třeba si uvědomit, že se tato živá fosilie od společné vývojové větve oddělila přibližně před 750 miliony let, tedy asi o 300 milionů let dříve, než se objevily první suchozemské rostliny. Přesto lze očekávat, že studium genomu tohoto fotosyntetického prvoka přinese výrazný pokrok v pochopení vzniku parazitismu výtrusovců. Je zajímavé, že dosavadní odhady velikosti genomu této řasy pomocí průtokové cytometrie se pohybují kolem 10 MB (miliony párů bází). Genom tohoto fotosyntetického prvoka by tak byl výrazně menší než genomy výtrusovců rodů *Plasmodium* a *Toxoplasma*, kde se jejich velikost pohybuje mezi 23–60 MB. Zároveň bude pravděpodobně větší než genomy parazitických kryptosporidií či theilerií a babesií. Je tak možné, že na rozdíl od jiných parazitů, jako jsou např. mikrosporidie (*Microsporidia*; *Opisthokonta*), adaptaci výtrusovců na parazitický způsob života nedoprovází redukce jaderného genomu. Každopádně lze očekávat, že sekvenace genomu řasy *Chromera velia* přinese ještě řadu překvapení.