

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

ННЦ «Інститут біології та медицини»
Кафедра біофізики та біомедичної інформатики

Завідувач кафедри д.б.н., професор Жолос О. В.

Протокол № засідання кафедри

від « » 20 року

ФАКТОРИ, ЩО ОБУМОВЛЮЮТЬ ГЕОМЕТРІЮ
МІТОХОНДРІАЛЬНИХ КРИСТ

Реферат
студента 4 курсу
за спеціальністю 091 "Біологія"
Завадської Дарини Ігорівни

Робота виконана на кафедрі біофізики та біомедичної інформатики

Київ-2020р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ	3
ВСТУП	4
 РОЗДІЛ 1 Огляд літератури	 5
1.1 Морфологія та деякі особливості функціонування крист	5
1.2 Ключові фактори, що впливають на форму мітохондріальних крист	6
1.3 Еволюційне походження мітохондріальних крист: розмаїття форм, конвергенція та дивергенція	8
1.3.1 Класифікація крист за формою	9
1.3.2 Можливі джерела структурної варіації.....	10
1.3.3 Причини варіацій форми.....	10
1.4 Адаптивна функція форми крист	11
ВИСНОВКИ	13
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	14

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ЕТЛ – електронно-транспортний ланцюг

ICM – Intracellular membrane

MICOS – Mitochondrial contact site and cristae organizing system

OPA1 – optic atrophy1 protein

ВСТУП

Кристи - впинання внутрішньої мітохондріальної мембрани - характеризуються широким різноманіттям геометричних форм. Наприкінці минулого століття були навіть спроби застосування морфології крист для побудови філогеній еукаріотичних організмів та розподілу еукаріот на супергрупи[1]. Проте, при подальших дослідженнях з'ясувалося, що форма крист не є консервативною ознакою, а може навіть змінюватися в одній клітині протягом її існування[2]. Форма крист - не консервативна ознака, але які механізми стоять за визначенням геометрії крист? Роль мітохондріальних білків та ліпідів у формуванні крист наразі активно досліджується, так само як їх різноманіття та варіація. І хоча досі залишається багато відкритих запитань, деякі ключові фактори, що впливають на форму крист, уже з'ясовані.

РОЗДІЛ 1

Огляд літератури

1.1 Морфологія та деякі особливості функціонування крист

Мітохондріальні кристи є впинаннями внутрішньої мембрани мітохондрій, на яких зазвичай локалізуються білки Електронно-транспортного лацюга (надалі - ЕТЛ).

Кристи мають "основу"(cristae junction) - місце, в якому власне внутрішня мембрана починає "впинатися"вглиб мітохондріального матриксу[2]. При основі кристи білки, що формують основу, контактують із білками, що розташовані на зовнішній мітохондріальній мембрані. Тобто, основа кристи є також і місцем фізичного контакту внутрішньої та зовнішньої мембран мітохондрій[3].

Криста є напівзамкненою структурою, тож мембраною кристи обмежений простір, що зветься люменом кристи (люмен топологічно ідентичний міжмембранному простору мітохондрій, проте частково відмежований від нього білками при основі кристи, що формують дифузійний бар'єр між люменом та міжмембранним простором)[2]. Це означає, що білки ЕТЛ, локалізовані в люмені, не дифундуватимуть із люмену у власне міжмембранний простір[3]. Проте якщо білки із люмену не здатні дифундувати у міжмембранний простір, постає питання, в який спосіб білки потрапляють в люмен. Вони транспортуються в люмен білками, що знаходяться при основі крист - транспорт в люмен відбувається аналогічно до посттрансляційного транспорту білків чере зовнішню та внутрішню мембрану мітохондрій (проте, на відміну від комплексів ТОМ та ТІМ, залучених в транспорті крізь мембрани, комплекс при основі кристи зветься MICOS(його детальніший опис нижче))[4]. Мембрана, що обмежує люмен, та простягається від основи кристи до її кінчика зветься "stalk "ніжка"кристи. По суті, це і є площа, на якій розташовані I-IV комплекси ЕТЛ [5].

На протилежному до основи боці знаходиться "ребро"кристи. Особливості

структурної організації основи кристи та ребра кристи і є ключовими для забезпечення конкретної геометричної форми даної структури.[2].

1.2 Ключові фактори, що впливають на форму мітохондріальних крист

Є три основні білкові комплекси, що впливають на форму крист - комплекси OPA1 та MICOS, розташовані при основі кристи, та димери АТФ-синтази, що часто локалізовано на ребрах крист[2][3].

OPA1 - динамін-подібний білок, локалізований на внутрішній мембрані мітохондрії. Як динамін-подібний білок, він має ГТФазну активність та здатність до олігомеризації. Формуючи олігомери, OPA1 "стягує" мембрану кристи при основі[3][6]. Подібно до того, як мотузка зав'язує краї торбинки, не даючи вмісту торбинки розсипатися, та звужуючи торбинку при основі (що робить торбинку краплевидною), OPA1 не дає мембрані при основі кристи розійтися в різні боки. Нокаут OPA1 в клітинах ссавців призводить до формування більш широких при основі, великих та плоских крист, у той час, як оверекспресія OPA1 робить кристи більш тонкими та вузькими - це підтверджує гіпотезу стовно впливу OPA1 на геометрію крист[3][6]. За деякими даними, OPA1 також на пряму взаємодіє із комплексом MICOS - другим ключовим гравцем у формуванні крист[3].

MICOS - Mitochondrial contact site and cristae organizing system - в еукаріот - мультибілковий комплекс, переважно із трансмембранних білків, локалізований на внутрішній мембрані мітохондрій, що формує основу кристи [2][3][4]. Білки комплексу MICOS ссавців розділяються на дві основні групи: субкомплексу MIC60, MIC19, MIC25 та субкомплексу MIC10, MIC13, MIC26, MIC27. MIC60 - білок, локалізований у внутрішній мембрані, вважається основним компонентом комплексу, оскільки саме він має велику кількість взаємодій із рештою компонентів комплексу. MIC60 виконує дві функції - стабілізація основи кристи та, що вельми цікаво, утворення розгалужень внутрішньої мембрани[3]. MIC10 забезпечує вигинання мембрани, цей процес якимся чином пов'язано із

олігомеризацією комплексу [2]. Решта білків комплексу взаємодіє із MIC3 та бере участь в зазначених вище процесах, проте конкретна функція кожного білка залишається слабо вивченою [3]. Для трипаносоми відомо, що деякі з них - трансмембранні та можуть впливати на структуру мембран, викликаючи викривлення біліпідного шару, інші ж зв'язуються із трансмембранними одиницями з боку міжмембранного простору. Останні беруть участь в транспорті білків всередину люмену кристи [4]. У випадку ссавців, трансмембранними є практично всі білки комплексу (функцію транспорту вони все-одно виконують) [2].

Димери/олігомери АТФ-синтаз - розташовані на ребрі крист молекулярні комплекси; F1 субодиниця виступає в матрикс мітохондрії, F0 проходить крізь мембрану. Субодиниці e, g і k комплексу F0 забезпечують формування димерів АТФ-синтазних комплексів. При цьому субодиниці e та g не взаємодіють на пряму одне з одним - натомість, вони індукують сильне викривлення мембрани в місці розташування комплексу. Кожен димер АТФ-синтази взаємодіє із іншими димерами - так утворюються цілі ланцюжки димерів, які проходять по ребрам мембран крист. Такі ряди димерів, зазвичай роблять мембрану більш пласкою [3].

Внутрішня мембрана мітохондрій насичена кардіоліпіном, який може впливати на формування суперкомплексів мембранних білків, а також на вигини мембрани [3]. Внаслідок того, що молекули кардіоліпіна мають конічну форму, їх скупчення в одному місці на одному біці біліпідного шару викликає формування негативного вигину мембрани (тобто, мембрана вигинається в сторону того шару, де кардіоліпіну менше) [7]. Саме така асиметрія біліпідного шару внутрішньої мембрани призводить до формування вигинів при основі крист. Більше того, кардіоліпін також взаємодіє із мембранними білками, модулюючи їх локалізацію. Наприклад, білок MIC27 комплексу MICOS не взаємодіє із рештою білків суперкомплексу у збіднених на кардіоліпін мембранах, колокалізація комплексів ЕТЛ також є кардіоліпін-залежною і т.д. [5]

1.3 Еволюційне походження мітохондріальних крист: розмаїття форм, конвергенція та дивергенція

Наразі вважається, що найближчими родичами сучасних мітохондрій є альфапротеобактерії. Не дивно, що такі структури, як кристи можуть бути гомологами внутрішньоклітинних впинань мембрани(ICM), що трапляються у альфапротеобактерій. На відміну від мітохондрій, кількість білків, що залучена у формуванні основи кристи в альфапротеобактерій набагато менша за таку у мітохондрій. Тим не менш, білки, що беруть участь у формуванні основи кристи - MICOS-білки - гомологічні, хоч розмаїття MICOS і обмежується лише одним білком - MICOS60 у бактерій. На користь твердження про гомологію між кристами та ICM говорить також і сам процес формування цих структур. Він відбувається у кілька стадій. На першій стадії мембранні транспортери зовнішньої мембрани (ТОМ для мітохондрій та SAM для бактерій) взаємодіють із поодинокими субкомплексами MICOS - це дозволяє маркувати точки, що стануть основами кристи або впинання. Згодом всередині впинання формуються респіраторні (а для бактерій - не обов'язково респіраторні) суперкомплекси, а білки MICOS, зберігаючи взаємодію із трансмембранним транспортером, починають взаємодіяти одне із одним, в такий спосіб утворюючи основу кристи та, фактично, замкнений люмен всередині даної структури. [8].

Подальша варіація форм мітохондріальних серед еукаріот має ряд цікавих закономірностей. Ознака довго видавалася достатньо консервативною, тож її могли використовувати як діагностичну при визначенні приналежності того чи іншого еукаріотичного організму до тієї чи іншої таксономічної групи високого рангу (наприклад, як в [1]). Що ж спричиняє структурне різноманіття крист в мітохондріях еукаріот та які основні форми крист виділяють?

1.3.1 Класифікація крист за формою

Традиційно виділяли три основні морфологічні типи крист - тубулярні, дискоїдальні та плоскі. Проте із накопиченням даних, в т.ч. даних про 3д реконструкції за знімків електронної мікроскопії стало очевидно, що ситуація не зводиться до трьох традиційних типів, а є велика кількість перехідних форм. Остання спроба класифікувати кристи за параметрами форми була здійснена цього року, у праці Pánek et.al. 2020. Там кристи поділяють на два основних типи - "пласкі" та "тубчасті". В залежності від поєднання форм крист в продольному та поперечному перерізах, плоскі кристи пропонують розділити на ламелярні та дискоїдні, а трубчасті - на тубулярні, тубулярно-везикулярні та нерегулярні тубуло-везикулярні[2].

Який розподіл структурної варіації між таксономічними групами еукаріотт? Вважається, що в групі SAR переважають трубчасті кристи, тоді як в групі Amorphea - плоскі. Будь-які більш чіткі тренди виділити не можна, з огляду на сучасні дані по макросистематиці еукаріот та по структурній варіації крист, які підсумовано на Рис. 1.1.

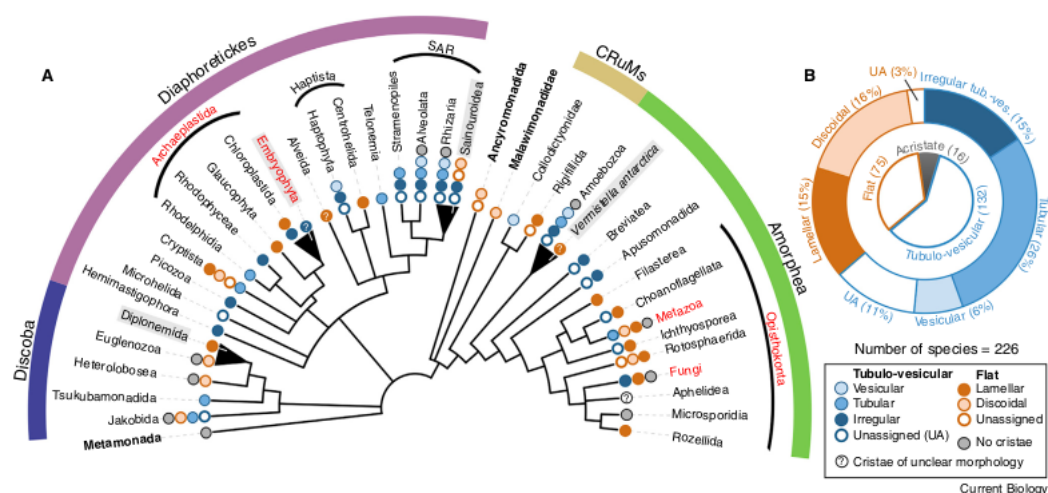


Рис. 1.1 . Різноманіття морфології крист (Pánek et.al., 2020)

1.3.2 Можливі джерела структурної варіації

1.3.3 Причини варіацій форми

Будь-яка варіація у будові та функціонуванні основних факторів, що моделюють геометрію кристи викликати варіацію форми. Тож розглянемо відомі варіації кожного з факторів та їх вплив на форму крист.

ORA1 - цей білок або подібні йому (як Mgm грибів) характерний лише для групи Задньоджгутикових (Opisthokonta). Наразі навіть достеменно невідомо, чи є ORA1 та Mgm гомологами, чи вони мають конвергентне походження, тож робити висновки стосовно взаємозв'язку між варіацією цих білків та варіацією форми крист зарано (окрім зазначеного вище встановленого факту про вплив оверекспресії ORA1 на форму, але ефект оверекспресії в ссавцях - напевно не несе інформацію про джерело структурної варіації між різними таксонами).

Комплекси АТФ-синтази, що формують димери, можуть бути розташовані під різним кутом одне до одного. в залежності від кута прилягання, кут вигину мембрани також мінятиметься, це змінить ширину ребра кристи. Є два принципових класи димерів АТФ-синтаз: U-тип та V-тип. U-тип характерний для деяких інфузорій, і в ньому кут між двома комплексами АТФ-синтази - 180 (фактично, білки розташовані паралельно та утворюють літеру "U"). V-тип має кілька субтипів, I (характерний для Задньоджгутикових та можливо для вищих рослин, кут - більше 80), II (відомий в зелених водоростей, кут біля 50) та IV (відомий у евглен, кут біля 50). Димери АТФ-синтаз різняться не лише кутами нахилу F₀ субодиниць одне до одного, але й здатністю утворювати ряди димерів та структурними особливостями таких рядів. Цікавим є той факт, що серед досліджених організмів комплекси V-типу зустрічаються серед тих, для яких характерна пласка форма крист, а U-тип комплексу - у організмів з трубчастими кристами. Останній тип якраз не викликає позитивного вигину мембрани

(оскільки комплекси розташовані паралельно), це цілком може бути вирішальним фактором при визначенні геометрії кристи - відсутність позитивного вигину на ребрі означає трубчасту структуру.

Різноманітність комплексу MICOS досліджено погано - комплекс охарактеризовано лише для чотирьох організмів - повністю для пекарських дріжджів, людини та трипаносоми, і частково для різущки таля. Субдиниці MIC10 та MIC60 є характерними для усіх досліджених організмів, при цьому MIC60 еволюційно давніший. Не зважаючи на це, MIC60 - порівняно низькоконсервативний. Так, різний вміст гліцину у трансмембранному домені MIC60 дріжджів та людини пов'язують із різницею у формі крист. У трипаносоми існує два паралогі MIC10. Як це впливає на форму дискоїдальної кристи не до кінця зрозуміло, але чи не може така кількість паралогів бути пов'язана із особливостями фізіології трипаносом та переходом від однієї форми крист до іншої протягом життєвого циклу?..

Кардіоліпін - для різних груп еукаріот характерні різні форми кардіоліпіну, які відрізняються кількістю та позиціями ненасичених зв'язків у гідрофобних залишках жирних кислот, що і може бути джерелом варіації форми крист (за оглядом[2]).

1.4 Адаптивна функція форми крист

Форма крист мітохондрій впливає на збірку комплексів ЕТЛ та на загальну ефективність аеробного дихання. Комплекси ЕТЛ можуть збиратися в групи, утворюючи суперкомплекси. Зазвичай такі суперкомплекси мають визначену кількість різних комплексів ЕТЛ і така колокізація дозволяє пришвидшити транспорт електронів, а отже й підвищити загальну ефективність процесу. Проте утворення суперкомплексів є можливим лише за умов формування замкнутого простору крист. Показано, що при нокауті генів білків, що забезпечують формування основи кристи (зокрема, білків OPA1) швидкість росту клітин істот-

но знижується, так само - змінюється й форма крист[6]. Оверекспресія OPA1 не лише робить кристи тонше та вужче, але й збільшує їх сумарну кількість у мітохондрії. Зазвичай, таке відбувається за умови посилення клітинного дихання. Тобто, змінюючи форми кристи можна також змінити їх кількість та вплинути на ефективність роботи мітохондрій[9].

Чи залежить форма крист від способу існування організму? Так, в багатьох випадках форма крист змінюється із переходом від одного способу життя до іншого. Найвідоміший приклад - зміна форми крист в мітохондрії одноклітинного паразита *Trypanosoma brucei* із зміною хазяїна. Коли паразит потрапляє із крові ссавця - збагаченого на поживні речовини, анаеробного середовища - до ШКТ мухи це-це, форма крист змінюється із трубчатих на дискоїдальні [10]. Не дивно, адже збільшення площі поверхні в дискоїдальних крист дозволяє розмістити більш кількість комплексів ЕТЛ. Подібним способом змінюється морфологія крист у малярійного плазмодія зі зміною хазяїв, у токсоплазми форма крист є химерною - варіації геометрії крист в анаеробних паразитів є додатковим доказом того, що функціонування ЕТЛ та форма крист - тісно взаємопов'язані [11].

Цікаво, що бактерійні ICM, так само як і кристи - можуть набувати цілком різних форм та різних функцій в залежності від еконіші, яку займає альфапротеобактерія. Наприклад, анаеробна бактерія *Rhodoblastus sphagnicola* має т.зв. "везикулярну форму" ICM. Везикулярна форма крист також часто зустрічається в анаеробних еукаріот. Отже, взаємозв'язок між формою крист та особливостями та інтенсивністю функціонування ЕТЛ неодмінно існує, про що й свідчить подібна конвергенція в еволюції наведених гомологічних структур[8].

ВИСНОВКИ

- 1) Кристи мають основу, ніжку та ребро. Простір, обмежений мембраною кристи, зветься ребром. Два основних морфологічних типи крист(за останньою класифікацією) - трубчатий та плаский. Всередині типів існує розподіл на субтипи.
- 2) Ключові гравці у формуванні крист та визначенні їх геометрії - білки комплексу MICOS та OPA1 (останній відомий лиш для Задньоджгутикових) при основі крист, димери АТФ-синтази на ребрі та кардіоліпін, що, завдяки своїй конічній формі, впливає на вигинання мембран, якщо накопичується з одного боку біліпідного шару.
- 3) Форма крист та функціонування ЕТЛ тісно пов'язано. Часто, пласкі кристи означають активне функціонування ЕТЛ та навпаки.
- 4) Кристи є гомологами до ICM альфапротеобактерій. Різноманіття форм крист серед еукаріот не є консервативною ознакою. Різноманіття може бути обумовлене різноманіттям у структурі молекул кардіоліпіну, а також різноманіттям у будові вищеперелічених білкових комплексів.
- 5) Дослідження різноманіття форм крист, особливостей їх функціонування та зв'язку форма-функція-еволюційна історія лише розпочинається. Більша кількість охарактеризованих структур крист із представників різноманітних супергруп еукаріот та розуміння молекулярно-біофізичних основ формування певної геометрії структури відкриє чудову нагоду для перегляду еволюції морфології крист з огляду на нові дані.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cavalier-Smith T. Eukaryote kingdoms: Seven or nine? // Biosystems. — 1981. — Vol. 14, no. 3. — P. 461 – 481. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0303264781900502>.
2. Returning to the fold for lessons in mitochondrial crista diversity and evolution / Tomáš Pánek, Marek Eliáš, Marie Vancová et al. // Current Biology. — 2020. — Vol. 30, no. 10. — P. R575 – R588. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982220302608>.
3. Who and how in the regulation of mitochondrial cristae shape and function / R. Quintana-Cabrera, A. Mehrotra, G. Rigoni, M.E. Soriano // Biochemical and Biophysical Research Communications. — 2018. — Vol. 500, no. 1. — P. 94 – 101. — Mitochondrial Dynamics. Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X17307635>.
4. The diverged trypanosome micos complex as a hub for mitochondrial cristae shaping and protein import / Iosif Kaurov, Marie Vancová, Bernd Schimanski et al. // Current Biology. — 2018. — Vol. 28, no. 21. — P. 3393 – 3407.e5. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096098221831203X>.
5. Ikon N., Ryan R. O. Cardiolipin and mitochondrial cristae organization // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. — 2017. — Vol. 1859, no. 6. — P. 1156 – 1163. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273617300950>.
6. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency / Sara Cogliati, Christian Frezza, Maria Eugenia Soriano et al. // Cell. — 2013. — Vol. 155, no. 1. — P. 160 – 171. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286741301026X>.
7. Curvature sensing by cardiolipin in simulated buckled membranes / Federico Elías-Wolff, Martin Lindén, Alexander P. Lyubartsev, Erik G. Brandt //

- Soft Matter. — 2019. — Vol. 15. — P. 792–802. — Access mode: <http://dx.doi.org/10.1039/C8SM02133C>.
8. The Origin of Mitochondrial Cristae from Alphaproteobacteria / Sergio A. Muñoz-Gómez, Jeremy G. Wideman, Andrew J. Roger, Claudio H. Slamovits // Molecular Biology and Evolution. — 2017. — 01. — Vol. 34, no. 4. — P. 943–956. — <https://academic.oup.com/mbe/article-pdf/34/4/943/11037647/msw298.pdf>.
 9. Baker N., Patel J., Khacho M. Linking mitochondrial dynamics, cristae remodeling and supercomplex formation: How mitochondrial structure can regulate bioenergetics // Mitochondrion. — 2019. — Vol. 49. — P. 259 – 268. — Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724919300248>.
 10. Perturbation of phosphatidylethanolamine synthesis affects mitochondrial morphology and cell-cycle progression in procyclic-form trypanosoma brucei / Aita Signorell, Eva Gluenz, Jochen Rettig et al. // Molecular Microbiology. — 2009. — Vol. 72, no. 4. — P. 1068–1079. — <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2958.2009.06713.x>.
 11. de Souza W., Attias M., Rodrigues J. C. Particularities of mitochondrial structure in parasitic protists (apicomplexa and kinetoplastida) // The International Journal of Biochemistry Cell Biology. — 2009. — Vol. 41, no. 10. — P. 2069 – 2080. — Mitochondrial Dynamics and Function in Biology and Medicine. Access mode: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272509001290>.