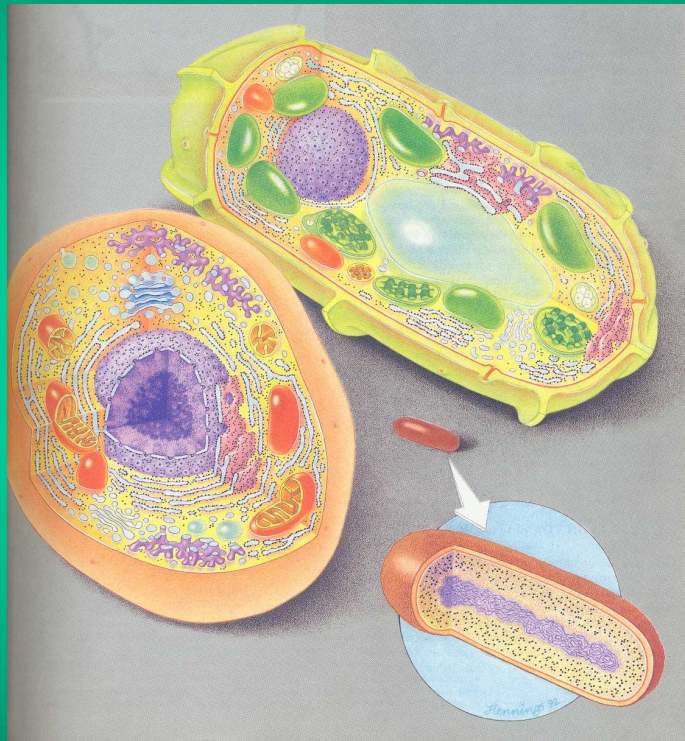


# Pôvod eukaryotických buniek OD PROKARYONTOV K EUKARYONTOM

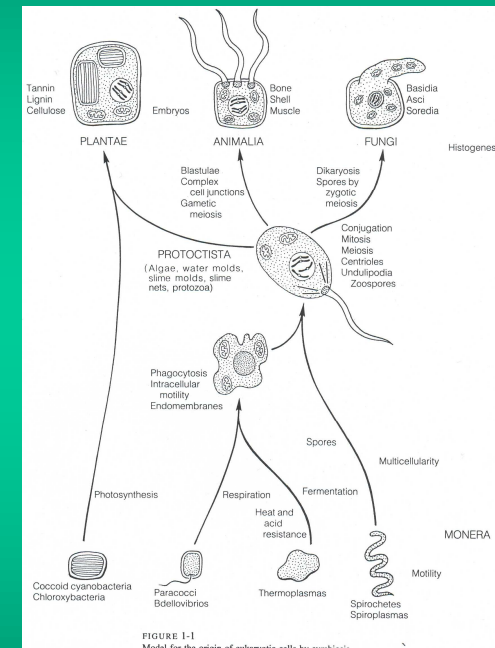


Prof. RNDr. Juraj Krajčovič, CSc.  
Ústav bunkovej biológie, PriF UK v Bratislave

# Eukaryotická bunka – nová biologická entita

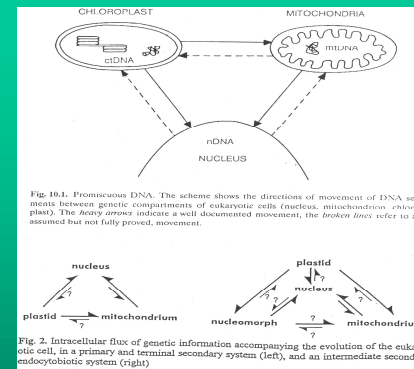
## Endosymbiotické spolužitie prokaryotických buniek (celulárna kohabitácia)?!

eukaryotizmus – zvečnenie polyfyletického princípu?!



**Eukaryotická bunka – integrovaný genetický systém**  
– informácia obsiahnutá vo všetkých genetických kompartmentoch (nukleocytosol, mitochondrie, plastidy) je nevyhnutná pre jej funkčnosť

- **integrácia dýchacieho a fotosyntetického aparátu** bola pravdepodobne vyvolaná zmenami okolitého prostredia
- **celulárna kohabitácia umožnila vývoj:**
  - \* **pokročilejšieho, pravého mnohobunkového života**
  - \* **v kombinácii s kyslík produkujúcou fotosyntézou taktiež život mimo vodného prostredia**
  - \* **obrovskej morfologickej a genetickej rozmanitosti**



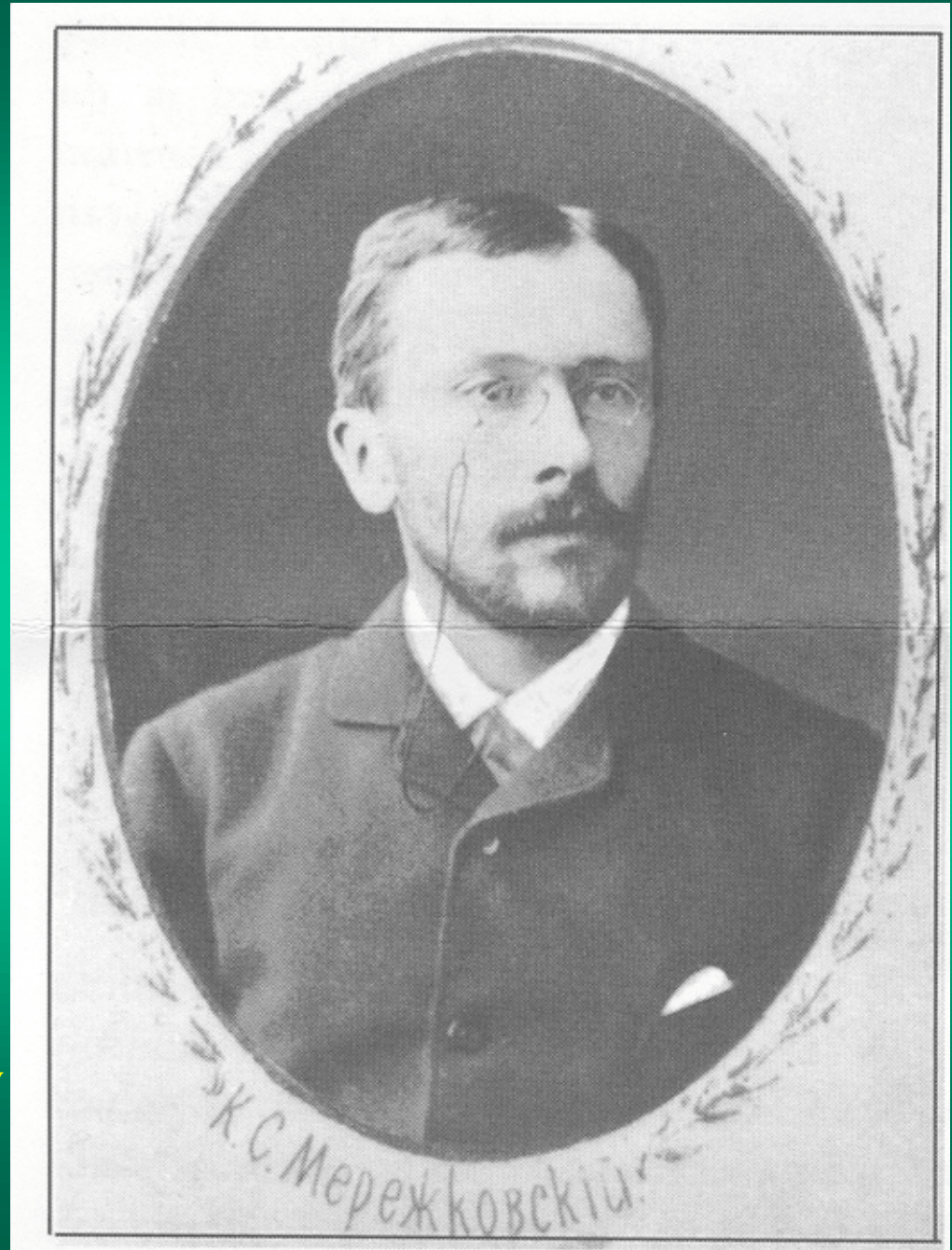
**podstatná črta eukaryotickej bunky – enormná kapacita preskupovať (reštrukturalizovať) genetický materiál v priebehu evolúcie – strata starých, nadobúdanie nových funkcií**

**Konštantín Sergejevič  
Merežkovskij:  
„chloroplasty sú  
potomkami cyanobaktérií  
(siníc), ktoré vnikli do  
eukaryotických  
(živočíšnych) buniek“**

**Konštantín Sergejevič  
Merežkovskij  
(1855-1921)**

**Svätý Petrohrad 1884**

**Fotografia zo súkromnej zbierky  
S.I. Fokina**



## Merežkovského úvahy vizionárske a revolučné:

\* vizionárske – neboli k dispozícii žiadne dôkazy, ktoré by potvrdzovali správnosť postulátu, že voľne žijúce cyanobaktérie (sinice) vstúpiac do heterotrofného hostiteľa sa postupne zmenili v chloroplasty;

\* revolučné – predpokladaný endosymbiotický pôvod chloroplastov nevyhnutne viedol k záveru, že riasy, resp. rastliny vo všeobecnosti sú chimérami pozostávajúcimi zo živočíchov a chloroplastov.

**Živočíchy + Chloroplasty = Rastliny (Rozsievky)**

– prvotná podoba dnes všeobecne uznávanej endosymbiotickej teórie.

# Biologisches Centralblatt.

Unter Mitwirkung von

Dr. K. Goebel und Dr. R. Hertwig

Professor der Botanik

Professor der Zoologie

in München,

herausgegeben von

**Dr. J. Rosenthal**

Prof. der Physiologie in Erlangen.

---

Vierundzwanzig Nummern bilden einen Band. Preis des Bandes 20 Mark.  
Zu beziehen durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.

Die Herren Mitarbeiter werden ersucht, alle Beiträge aus dem Gesamtgebiete der Botanik an Herrn Prof. Dr. Goebel, München, Luisenstr. 27, Beiträge aus dem Gebiete der Zoologie, vergl. Anatomie und Entwicklungsgeschichte an Herrn Prof. Dr. R. Hertwig, München, alte Akademie, alle übrigen an Herrn Prof. Dr. Rosenthal, Erlangen, Physiolog. Institut, einzusenden zu wollen.

---

XXV. Bd. 15. September 1905. *Abt.* 18.

---

Inhalt: Mereschkowsky, Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. — Boecker, Über das Vorkommen von *Liencostium* im Münchener botanischen Garten. — Huber, Über die Koloniegründung bei *Alta sordens*. — Frühwirth, Die Züchtung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. — Wasmann, Wissenschaftliche Beweisführung oder Intoleranz?

---

Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im  
Pflanzenreiche.

Von C. Mereschkowsky,  
Privatdozent an der Kais. Universität in Kasan.

## Merežkovského rovnice (II)

Merežkovskij anticipoval ďalej: “Organizmy, ktoré stratia chloroplasty, sa stanú sekundárnymi heterotrofmi, čiže opäť živočíchmi“.

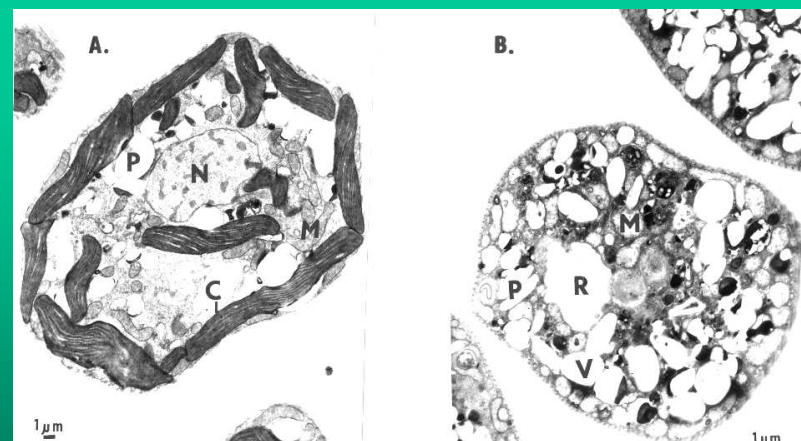
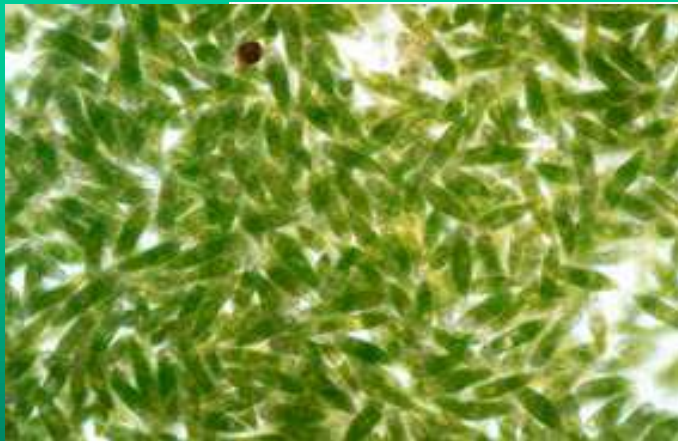
Merežkovského druhá, protichodná rovnica mala podobu:  
**Rastliny *minus* Chloroplasty = Živočíchy.**

Dlhé roky bola takmer bezobsažnou, len akousi logickou konštrukciou k syntetizujúcej prvej rovnici.

V posledných rokoch sa objavilo viacero zistení, ktoré dokumentujú strácanie organel v priebehu evolúcie a ontogenézy eukaryotických organizmov a posúvajú tým aj druhú Merežkovského rovnicu z polohy vízie do reality – akási **reverzia endosymbiózy**.

Rozklad vyššieho celku na časti, z ktorých celok synteticky vznikol, predstavuje istú formu skúšky správnosti, že syntéza sa naozaj uskutočnila.

- Eliminácia chloroplastov v procese vybielovania (bleaching)  
bičíkovca *Euglena gracilis* xenobiotikami je jednou z prvých, ktorá  
správnosť endosymbiotického pôvodu organel eukaryotickej bunky  
potvrďuje takpovediac z druhej strany  
– **experimentálne indukovaný prechod od autotrofie k heterotrofii**  
– endosymbióza zaradila spätný chod.





# Biologisches Centralblatt.

Unter Mitwirkung von

**Dr. K. Goebel** und **Dr. R. Hertwig**

Professor der Botanik                      Professor der Zoologie

in München,

herausgegeben von

**Dr. J. Rosenthal**

Prof. der Physiologie in Erlangen.

---

Der Abonnementspreis für 24 Hefte beträgt 20 Mark jährlich.

Zu beziehen durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.

Die Herren Mitarbeiter werden ersucht, alle Beiträge aus dem Gesamtgebiete der Botanik an Herrn Prof. Dr. Goebel, München, Luisenstr. 27, Beiträge aus dem Gebiete der Zoologie, vgl. Anatomie und Entwicklungsgeschichte an Herrn Prof. Dr. R. Hertwig, München, alte Akademie, alle übrigen an Herrn Prof. Dr. Rosenthal, Erlangen, Physiolog. Institut einsenden zu wollen.

---

**Bd. XXX.**

**15. Mai 1910.**

*N<sup>o</sup> 10.*

---

Inhalt: Mereschkowsky, Theorie der zwei Plasmaarten als Grundlage der Symbiogenesis, einer neuen Lehre von der Entstehung der Organismen (Fortsetzung). — Loeb, Über den autokatalytischen Charakter der Kernsynthese bei der Entwicklung. — Hornyold, Über die Funktion und Autotomie der gemmiformen (globiferen) Pedicellarien.

---

## Theorie der zwei Plasmaarten als Grundlage der Symbiogenesis, einer neuen Lehre von der Entstehung der Organismen.

Von Prof. Dr. C. Mereschkowsky.

(Schluss).

### Die Cyanophyceen.

Obgleich direkte Versuche über Assimilation des Kohlenstoffes durch die Cyanophyceen, soviel mir bekannt, nicht ausgeführt worden sind<sup>79)</sup>, aber die Anwesenheit von Chlorophyll in ihnen und die Fähigkeit, Sauerstoff am Lichte zu produzieren, welche leicht durch die Bakterienmethode zu bestimmen ist, beweist zur Genüge, dass auch diese Organismen sich als autotrophe in Beziehung zur Assimilation des Kohlenstoffes zeigen.

Sind die Cyanophyceen auch autotroph in bezug auf die Assimilation des Stickstoffes?

Man hat viel Grund, zu glauben, dass sie ohne fertiges Eiweiß leben können, ihr Eiweiß selbst aus anorganischen Stoffen aufbauend. Darauf weist z. B. der Umstand hin, dass sie sich häufig in unge-

---

<sup>79)</sup> Kohl, F., Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle. 1903.

Východiská, ktoré stáli pri zrode symbiotickej hypotézy o pôvode plastidov.

(i) **Princíp symbiôzy** – dva odlišné organizmy môžu stabilne koexistovať, čo môže byť základom pre vznik nového typu organizmu – spätosť s lišajníkmi popísanými S. Schwenderom ako konzorcium huby a fotosyntetizujúceho organizmu (študoval ich aj Famincyn/Famintzin);

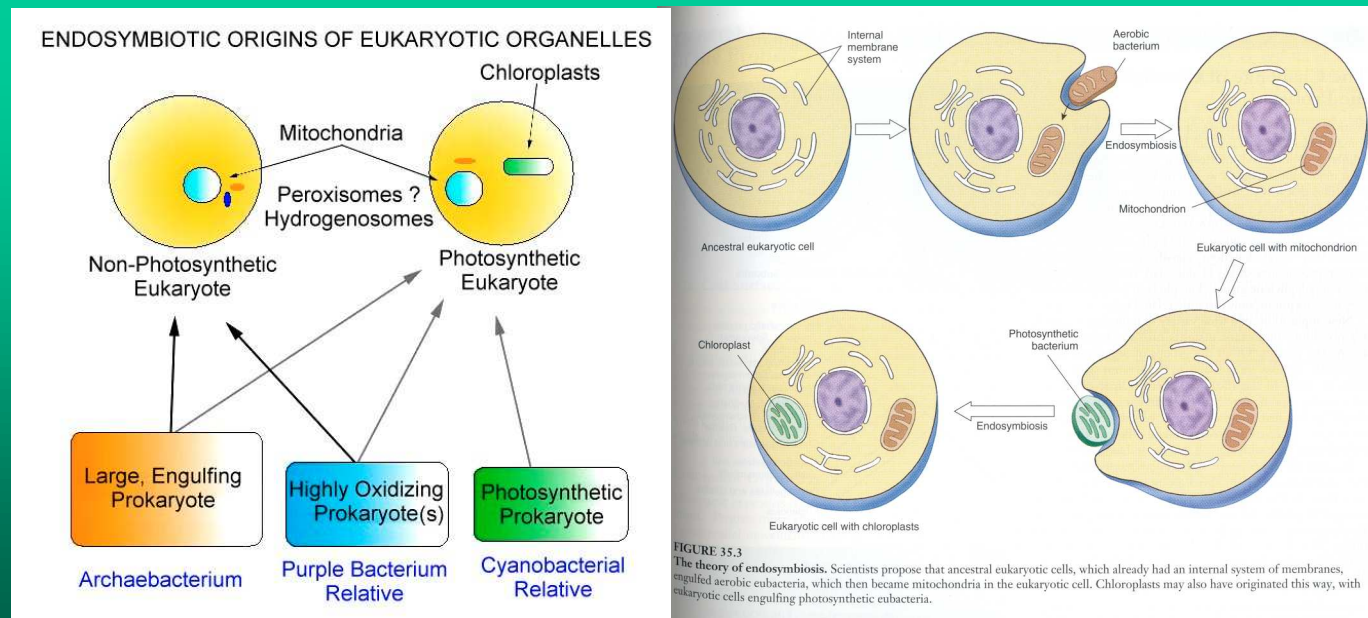
(ii) **Plastidy sa rozmnožujú delením** – pozorovanie viacerých, napr. C.W. Nägeli, L. Kny, F. Schmitz, najrozpracovanejšie azda A.F.W. Schimperom (1883) – pravdepodobne najdôležitejší argument;

(iii) **Porovnanie štruktúry a fyziológie plastidov** (Chromatophores) **a cyanobaktérií/siníc** (Cyanophyceae) – najnovší prameň dôkazov.

# Endosymbióza – polstoročie v nemilosti

Hypotézy pokúšajúce sa vysvetliť pôvod eukaryotickej bunky či už endosymbiózou (xenogénne, exogénne) alebo segregáciogenézou (autogénne, endogénne) koexistovali popri sebe celé storočie, no zďaleka nie v rovnocennom postavení.

V prvých dvoch desaťročiach dvadsiateho storočia bola hypotéza o **endosymbiotickom pôvode plastidov a mitochondrií** veľmi populárna medzi biológmi.



To sa však prudko zmenilo krátko po prvej svetovej vojne. Nasledujúcich 50 rokov patrilo hypotéze o autogénnom pôvode organel eukaryotickej bunky, ktorá bola až do 70. rokov dvadsiateho storočia všeobecne uznávaná, napriek tomu, že nebola doložená nijakým detailnejším vysvetlením.

Predpokladalo sa, že izolácia prvotných respiračných a fotosyntetických procesov do váčkov ohraničených dvojitou membránou prináša metabolické zvýhodnenie, hoci mechanizmus, iný ako selektívna permeabilita, nebol objasnený.

V ťažkých rokoch pre endosymbiózu sa za jej najvýznamnejšieho zástancu považuje Ivan E. Wallin (1927), ktorý si za to vyslúžil v podstate vylúčenie z radov "serióznych" biológov.

(i) Originálne rozpracoval hlavne myšlienku endosymbiotického pôvodu mitochondrií. Merežkovský totiž nikdy netvrdil, že mitochondrie začali existovať symbiózou. V čase, keď písal svoje práce totiž nik presne nevedel, čo vlastne mitochondrie sú. Pre drobné telieska v bunkách, ktoré boli neskôr rozpoznané ako mitochondrie, existovalo v tej dobe okolo dvadsať rôznych odborných označení.

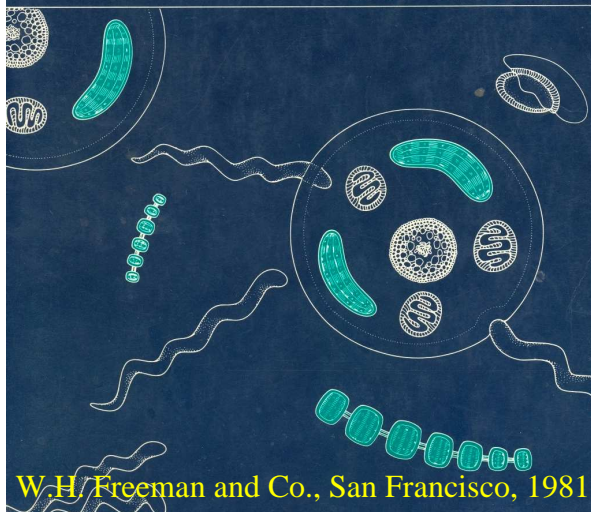
(ii) Ďalšia zásluha Wallina spočíva v tom, že hlavne anglofónnym biológom priblížil Merežkovského dielo.

# Renesancia endosymbiózy

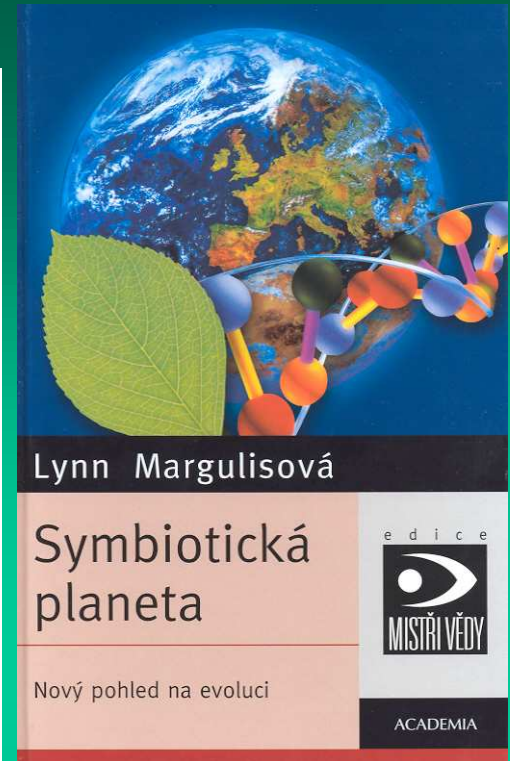
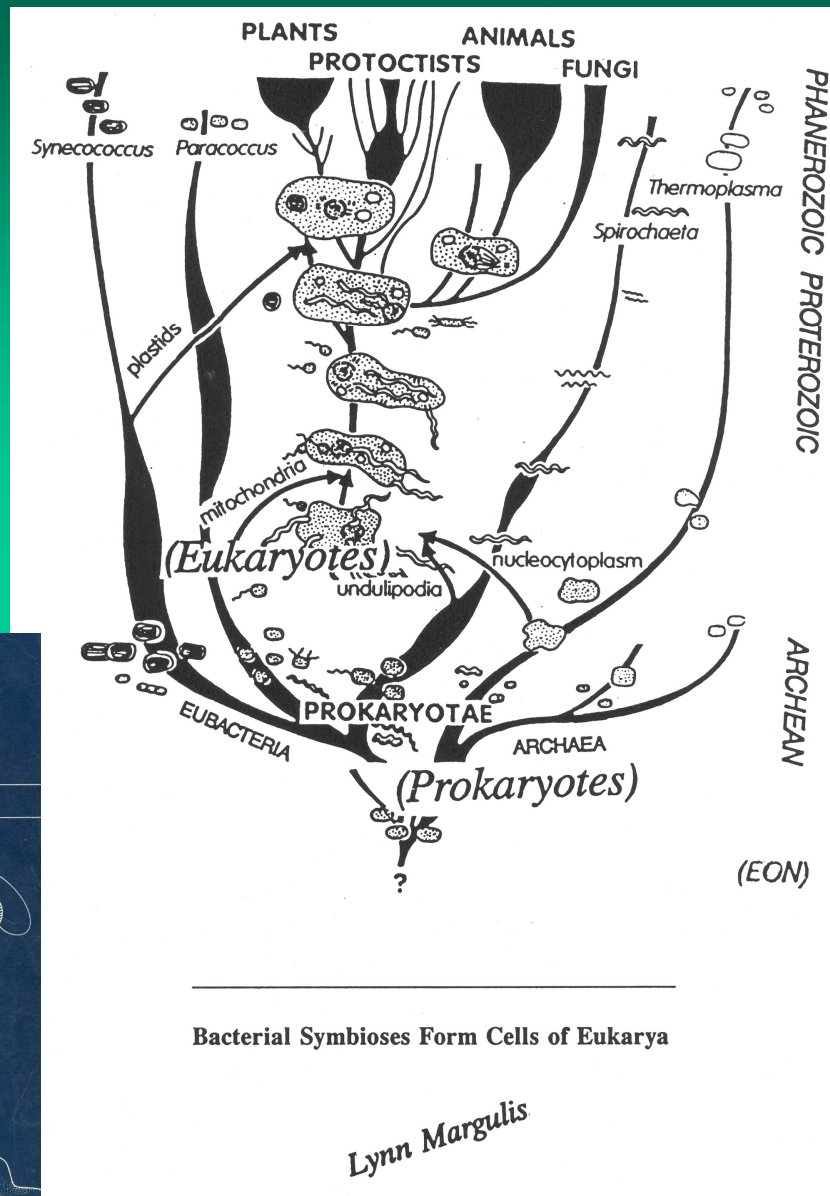
60. roky XX. storočia  
 – v chloroplastoch a v mitochondriách  
 vlastná DNA (Ris a Plaut 1962, Nass a Nass 1963) a ribozómy (Lyttleton 1962), odlišné od ribozómov cytosolu

Symbiosis in Cell Evolution

LYNN MARGULIS



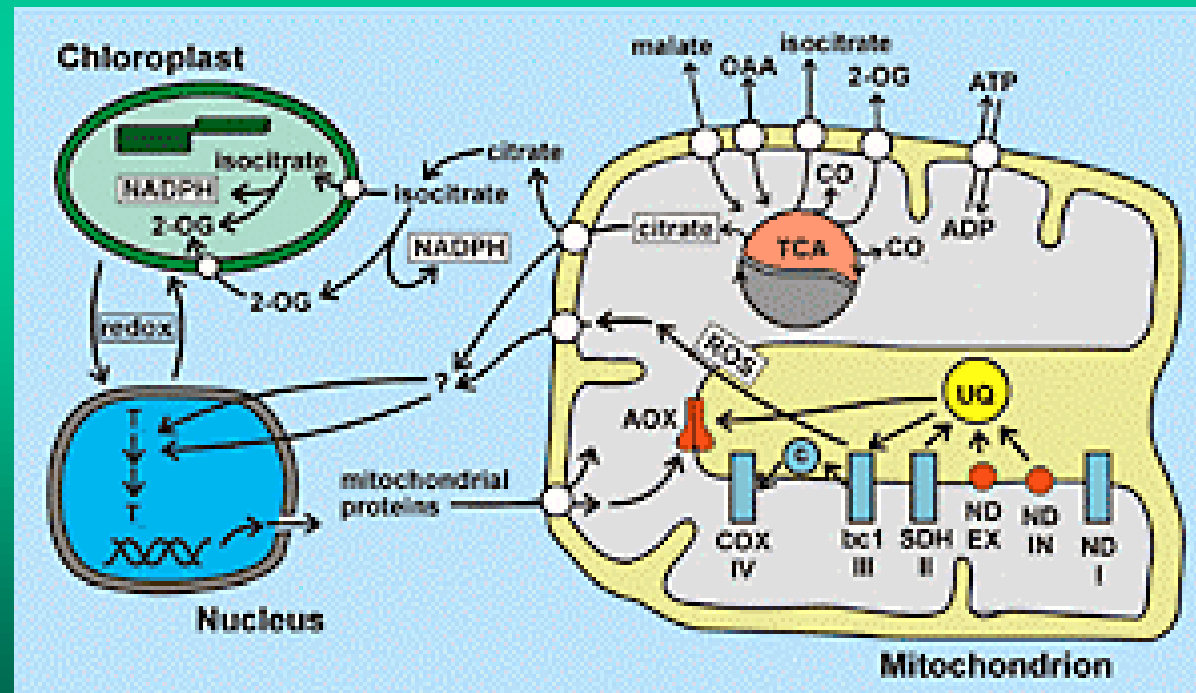
W.H. Freeman and Co., San Francisco, 1981



Margulisová L.:  
 Symbiotická planeta – Nový pohled na evoluci,  
 Academia, Praha, 2004, 150 s.

\* **vývoj spoločného metabolizmu a dedičnosti;**

\* **koevolúcia genetických kompartmentov a ich harmonická vnútrobunková vyváženosť predstavujú neodlučiteľné, podstatné faktory v speciácii eukaryotických organizmov**



## Prečo si organely zachovávajú svoje genómy?

Prečo si plastidy a mitochondrie zachovávajú zbytky genómov zo svojich baktériových predkov?

Na realizáciu toho nevelikého množstva genetickej informácie, ktorá je v súčasnosti kódovaná genómami organel, je potrebné udržiavať ešte aj špecifický transkripčný a translačný aparát priamo v týchto organelách.

**Ak prevažná väčšina génov z predkov organel bola v priebehu evolúcie presunutá do jadra, prečo nie všetky?**

**Aký selekčný tlak udržiava genómy v organelách?**

Až donedávna sa vysvetlenie hľadalo v **hydrofóbnosti** niektorých **organelových proteínov** alebo v ich **možnej toxicite pre bunku**, ak by boli syntetizované v cytosole.



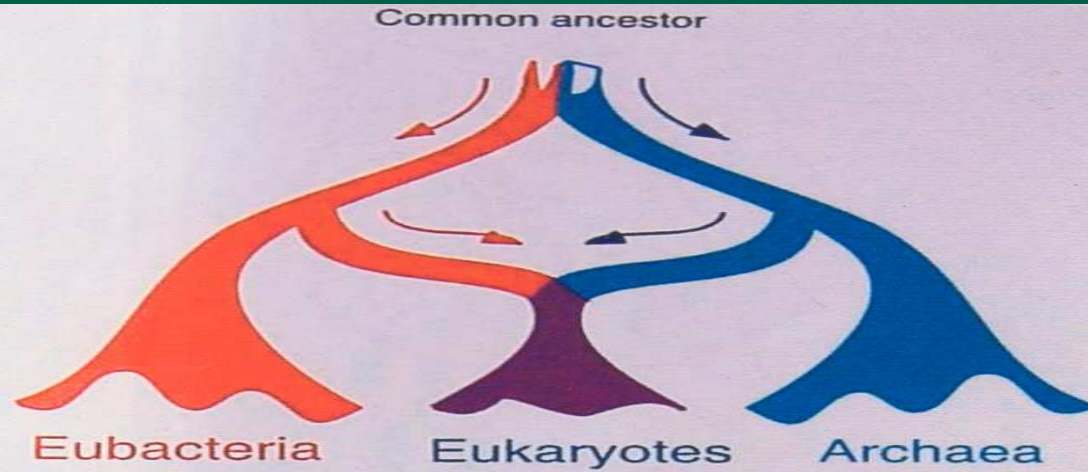
V súčasnosti sa za **rozhodujúci faktor** považuje udržiavanie vybalansovaného redox potenciálu na bioenergetických membránach.

Transport elektrónov cez fotosyntetické a respiračné membrány je mocným (ale nebezpečným) zdrojom energie.

Ukazuje sa, že organelové genómy zostávajú zachované, pretože štrukturálne proteíny, ktoré udržiavajú redox rovnováhu v rámci bioenergetických membrán, musia byť syntetizované vtedy a tam, kde sú potrebné, aby paralyzovali potenciálne smrtiaci vedľajší účinok ATP-generujúceho transportu elektrónov.

Z hľadiska bezpečného a efektívneho prenosu energie, gény v organelách sú na správnom mieste v správnom čase.

(a)



(b)

Fusion



Zillig<sup>3</sup>

An archaeon and a bacterium amalgamate to generate the eukaryotic cell

(c)

Engulfment



Lake and Rivera<sup>37</sup>

A bacterium engulfs an eocyte (kingdom Crenarchaeota)



Gupta and Golding<sup>38</sup>

A wall-less Gram-negative bacterium engulfs an eocyte



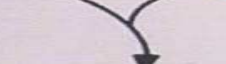
Sogin<sup>38</sup>

An RNA-based proto-eukaryote phagocytoses an archaeon

(d)

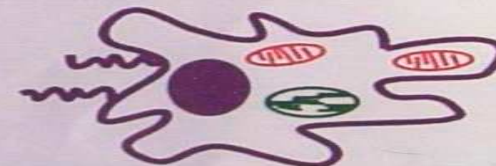
Symbiosis

Spirochetes Wall-less archaeon



Cyanobacteria

$\alpha$ -Proteobacteria



Margulis<sup>7</sup>

Serial endosymbiosis theory

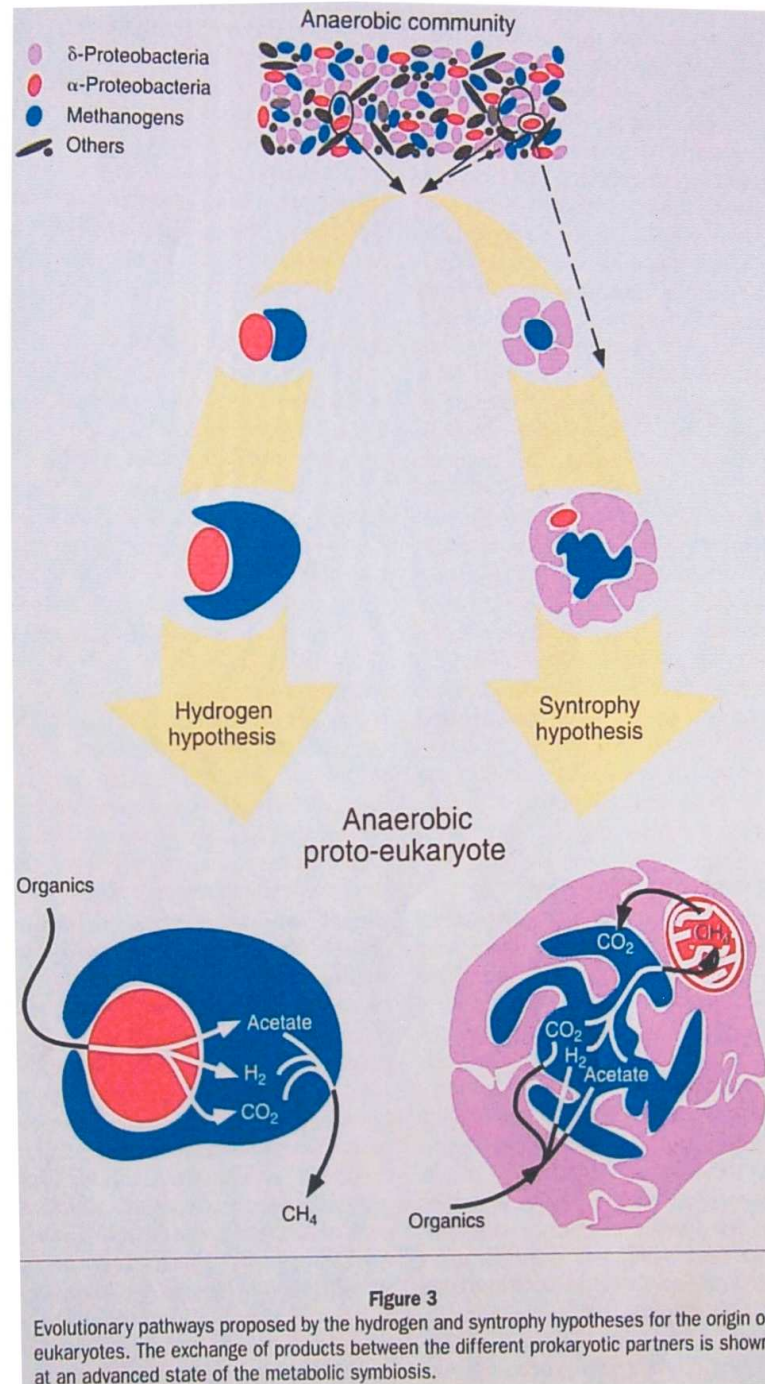
Figure 1

(a) A schematic view of the evolution of Eubacteria, eukaryotes and Archaea. (b-d) Previous chimeric models for the origin of eukaryotes [colour coded as in (a)]<sup>3,7,37-39</sup>.

## Vodíková hypotéza

symbiotická asociácia  
medzi autotrofným,  
anaeróbnym, striktne na  
vodíku závislým  
**metanoarcheónom**  
(hostiteľ) a  
**α- proteobaktériou**  
(symbiont)  
produkujúcou vodík  
(len potenciálna  
schopnosť respirácie)

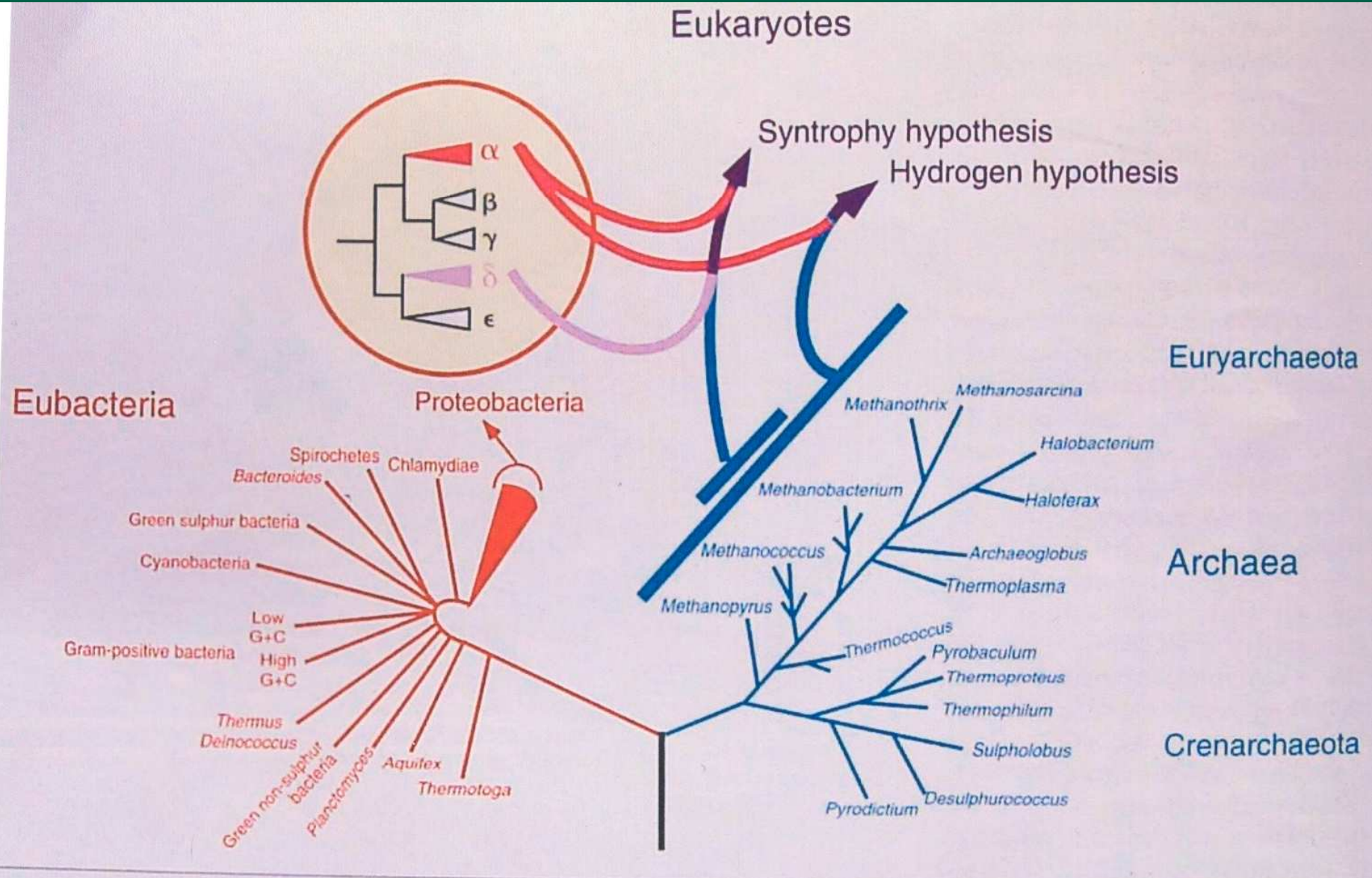
Martin W., Müller M.:  
**The hydrogen  
hypothesis for the  
first eukaryote.**  
Nature 392, 37-41,  
1998.



## Hypotéza syntrofiie

**δ-proteobaktéria**  
(sulfát redukujúca  
myxobaktéria) +  
**metanoarcheón**  
(syntrofické konzorcium)  
± súčasne alebo neskôr  
**α- proteobaktéria**  
(metanotrof)

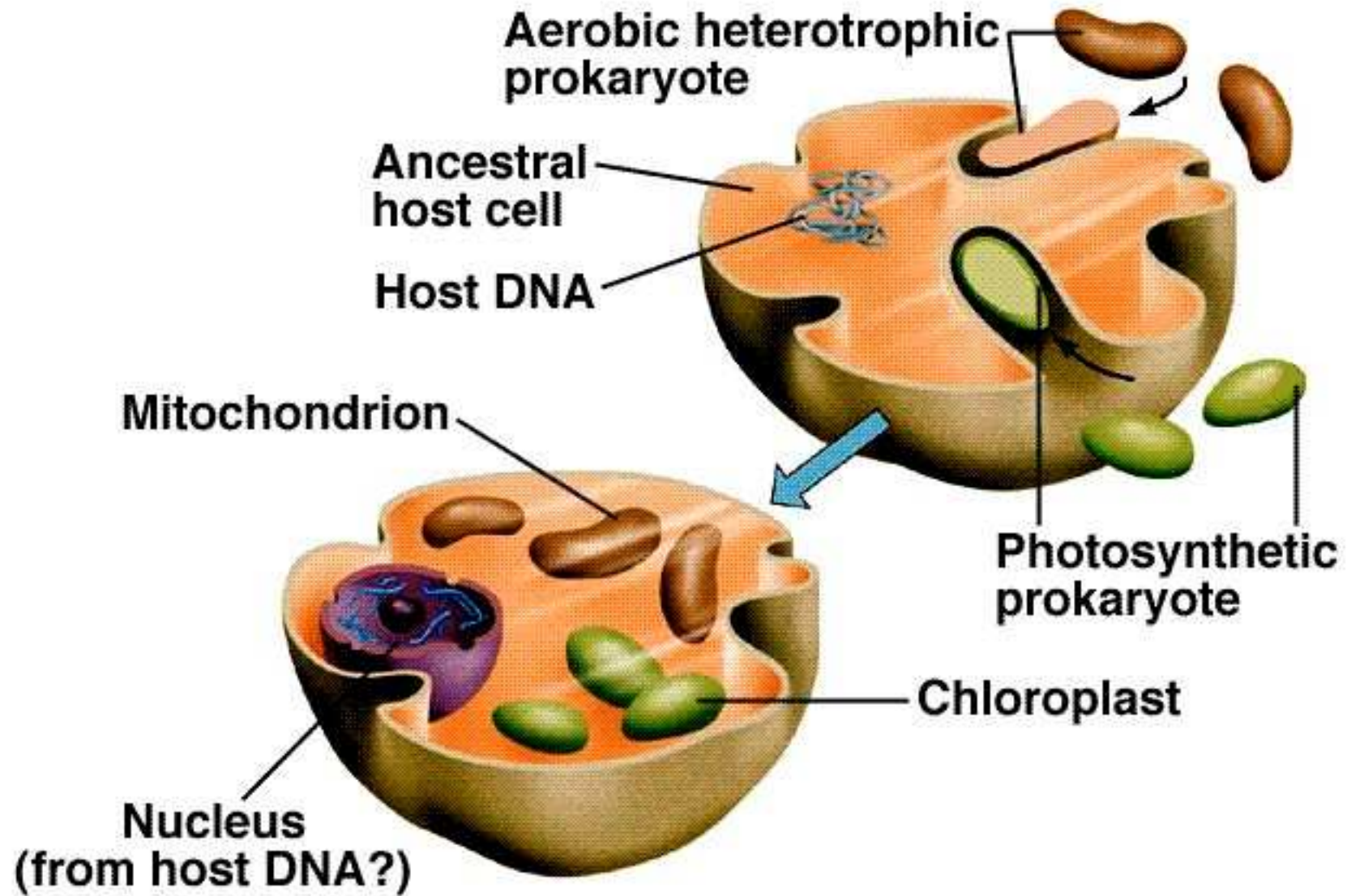
Moreira D., López-  
García P.:  
**Symbiosis between  
methanogenic  
archaea and δ-  
proteobacteria as the  
origin of eukaryotes:  
the syntrophic  
hypothesis.**  
J. Mol. Evol. 47, 517-  
530, 1998.

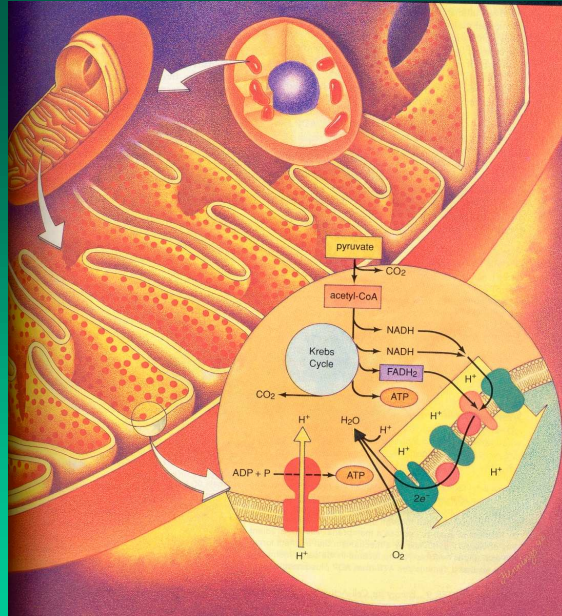


**Figure 2**

An rRNA-based phylogenetic tree showing the locations of the prokaryotic partners that are at the origin of eukaryotes in the two novel symbiosis hypotheses. Myxobacteria and most sulphate reducers belong to the  $\delta$ -Proteobacteria.

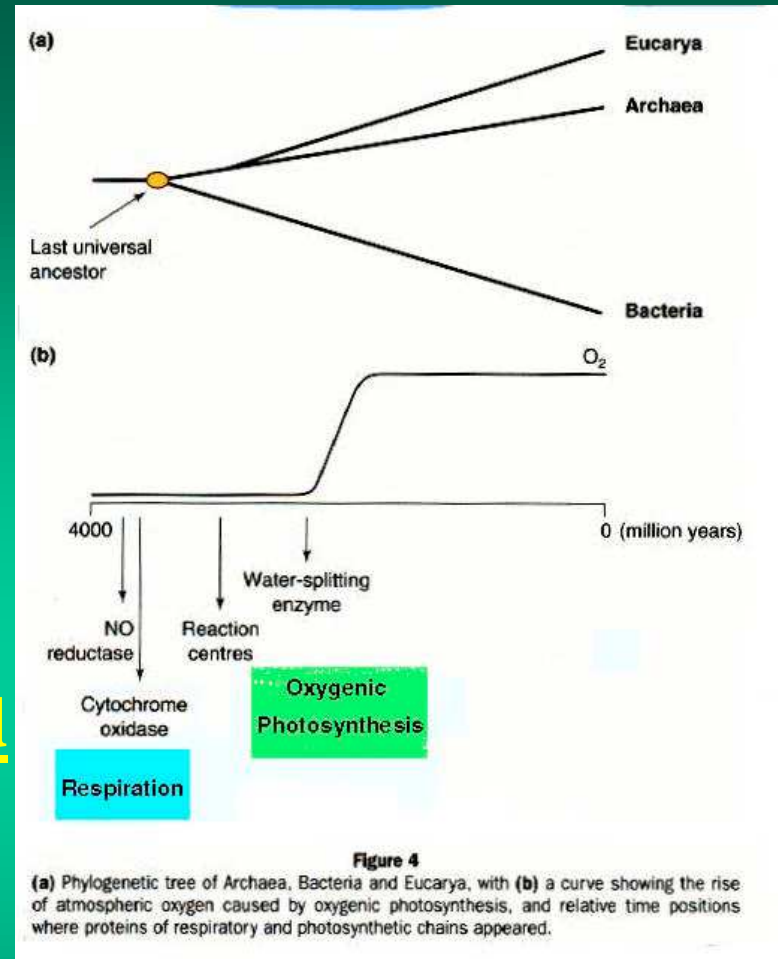
# Model of Cellular Invasion

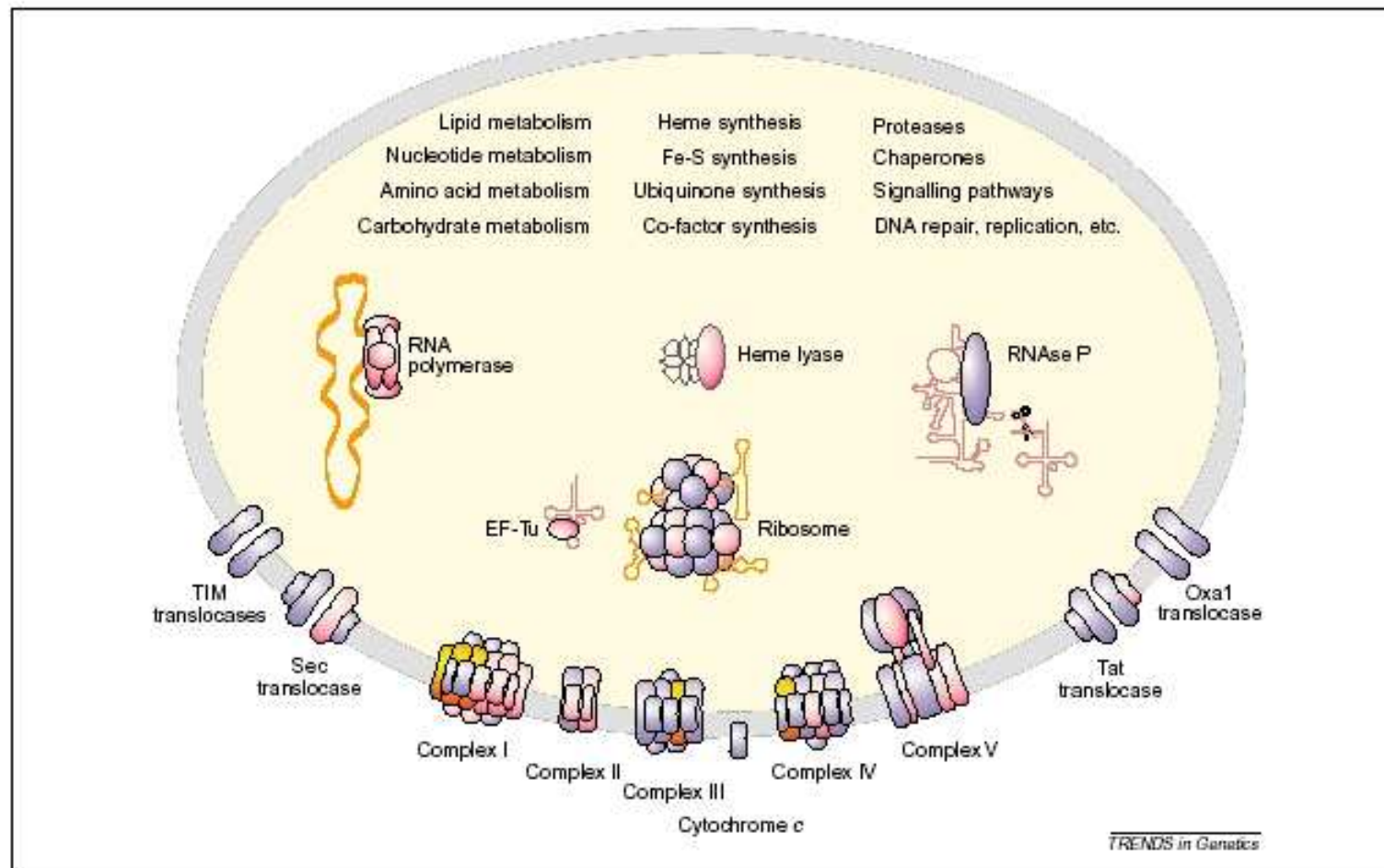




Počiatky aeróbnej respirácie a pôvod a evolúcia mitochondrií – aeróbná respirácia symbiontom v úlohe vychytávača toxického kyslíka.

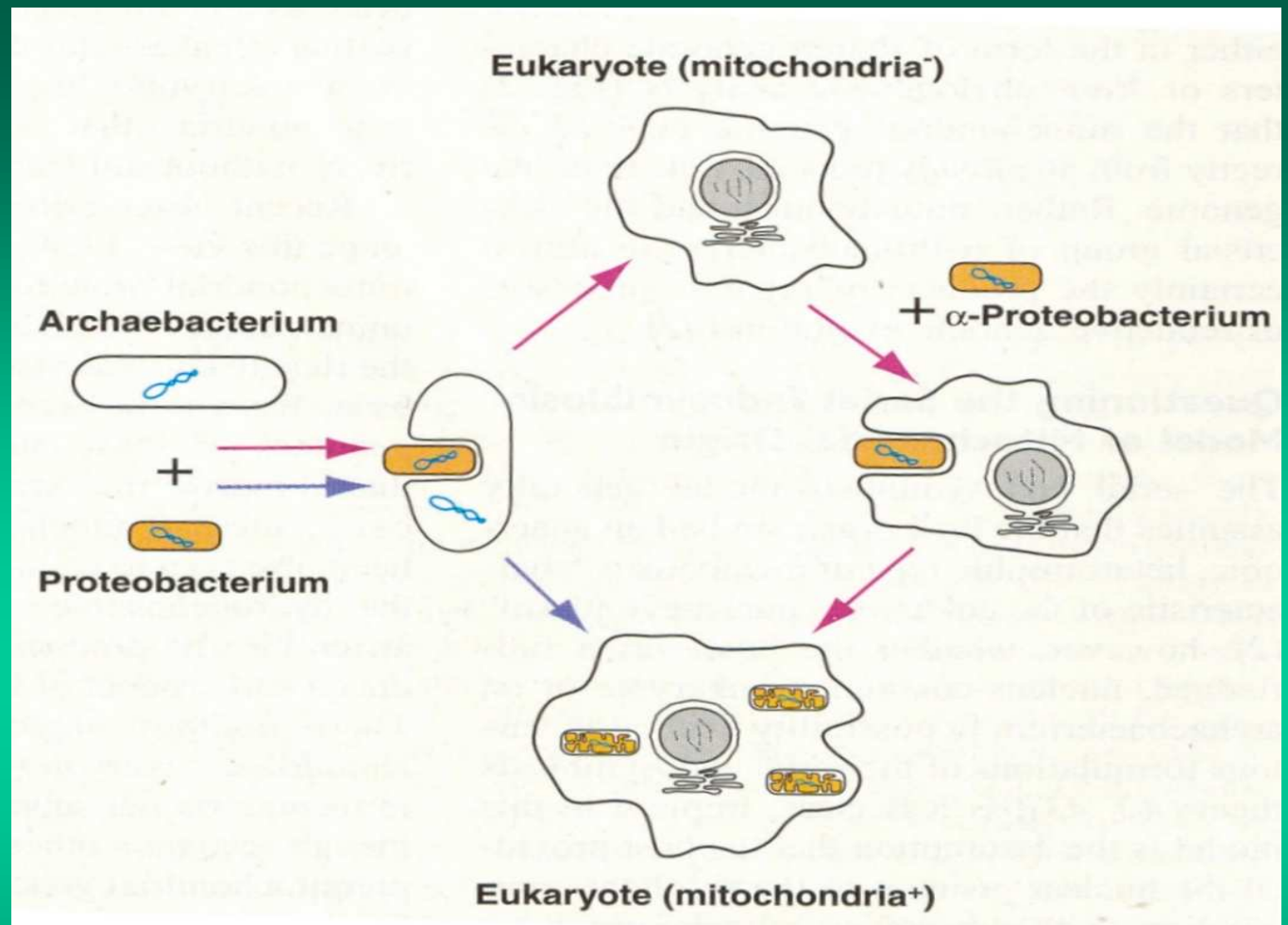
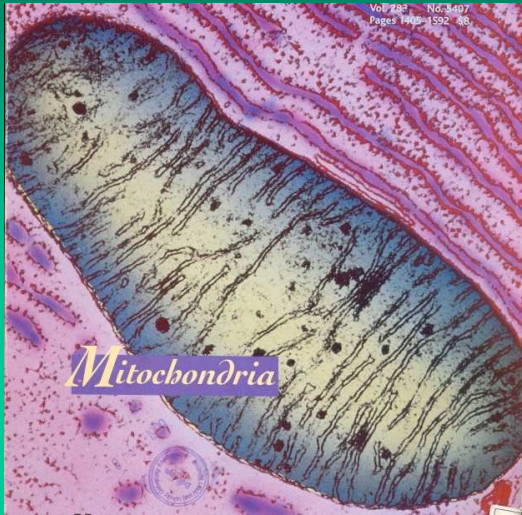
Premena na mitochondrie schopné aktívneho exportu ATP do hostiteľskej bunky vyžadovala osvojenie si ATP transportných proteínov z nukleocytosolu.





**Figure 1.** Biological processes in mitochondria. The majority of mitochondrial functions is shown; only the mitochondrial matrix and inner membrane are depicted. (For more details on mitochondrial metabolism and transport see [79].) Most mitochondrial components are encoded by the nucleus (blue); those highlighted in pink are encoded by mtDNA in some eukaryotes but by the nuclear genome in other eukaryotes, whereas a small portion is invariably specified by mtDNA (orange). Processes that have exclusively nucleus-encoded constituents are listed. Complexes I–V are involved in electron-transport and oxidative phosphorylation. TIM translocases are involved in protein import and insertion into the inner membrane. Tat, Sec and Oxa1 translocases are involved in protein export from matrix and insertion into the inner membrane (for a review see [2]). RNase P is a ribozyme that processes the 5'-end of rRNAs (for recent results on fungal RNase P RNAs see [42]). It should be noted that the majority of eukaryotes has a multi-subunit, rotenone-sensitive NADH dehydrogenase as depicted, with *nad1*, *nad4* and *nad5* invariably encoded by mtDNA. However, in a few organisms (yeast, *Schizosaccharomyces* and *Plasmodium*), this complex is replaced by a nucleus-encoded, single-polypeptide enzyme [90]. Abbreviation: EF-Tu, elongation factor Tu.

**Burger G., Gray M.W., Lang B.F.: Mitochondrial genomes: anything goes. TIGS 2003**



Alternative hypotheses describing the origin of eukaryotic cell. Lavender arrows, simultaneous creation of the eukaryotic nucleus (gray) and mitochondrion (orange) by fusion of a hydrogen-requiring, methanogenic Archaeobacterium (host) with a hydrogen-producing  $\alpha$ -Proteobacterium (symbiont). Magenta arrows, two step scenario, initially involving formation of an amictochondriate eukaryote by fusion of an Archaeobacterium and Proteobacterium followed by acquisition of the mitochondrion through endosymbiosis with an  $\alpha$ -Proteobacterium. Bacterial and mitochondrial genomes are blue.

(Gray M.W., Burger G., Lang B.F.: Mitochondrial evolution, Science 289, 1476-1481, 1999)



## ANIMALS

Vertebrates



Invertebrates



## PROTISTS

*Chlamydomonas reinhardtii*



*Trypanosoma brucei*



*Plasmodium lophurae*



*Acanthamoeba castellanii*



*Paramecium aurelia*



*Tetrahymena pyriformis*



## FUNGI

*Torulopsis glabrata*



*Hansenula wingei*



*Kloeckera africana*



*Aspergillus nidulans*



*Saccharomyces lipolytica*



*Hansenula mrakii*



*Neurospora crassa*



*Saccharomyces cerevisiae*



*Podospora anserina*



## PLANTS

*Brassica oleracea*



*Citrullus vulgaris*



*Pisum sativum*



*Zea mays*



*Cucurbita pepo*



*Cucumis sativa*



*Cucumis melo*

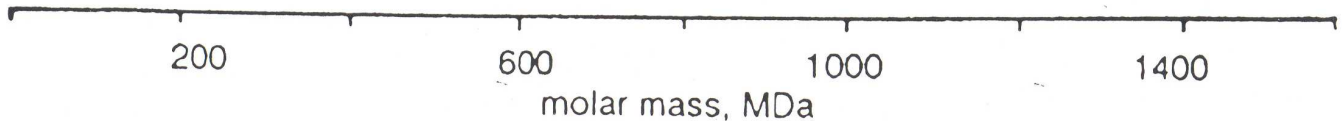


Fig. 4.1. Schematic representation of the range over which the size of mitochondrial DNA varies for selected groups of organisms. (According to GRAY 1988.)

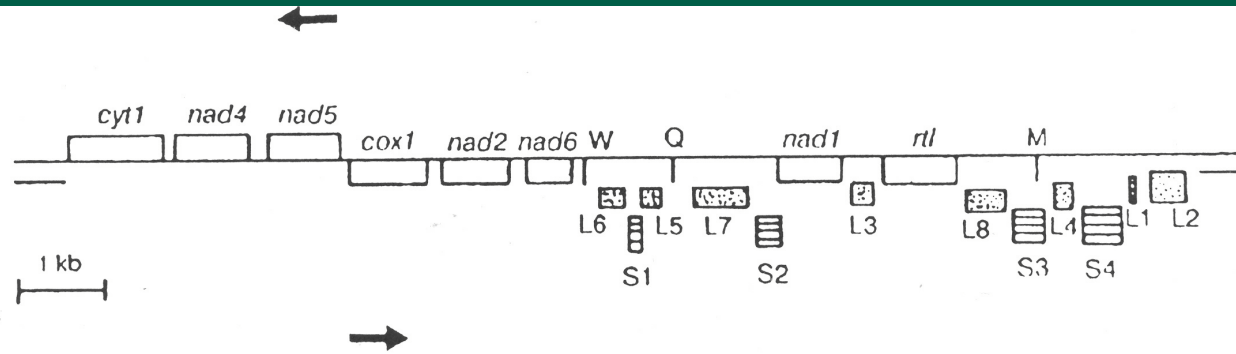
**Veľkosť, organizácia, obsah a forma mitochondriových genómov** varujú v pomerne širokom rozsahu medzi taxonomickými skupinami organizmov, zďaleka najviac medzi prvokmi.

**Najmenšie mitochondriové genómy**, pokiaľ ide o veľkosť i celkový počet génov, majú parazitické prvoky zo skupiny Apicomplexa (6 kbp, resp. 5 génov).

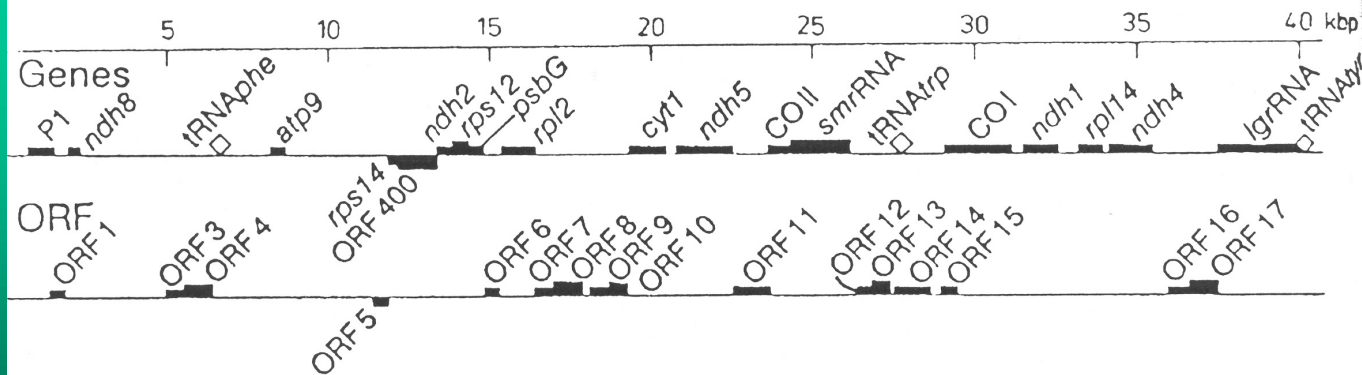
**Najrozmernejšie genómy** sa nachádzajú v mitochondriách vyšších rastlín (viac ako 200 kbp kóduje 50-70 odlišných génov).

**Najväčší počet odlišných génov** (91) sa však nachádza v mitochondriách prvoka *Reclinomonas americana* (pri dĺžke 100 kbp).

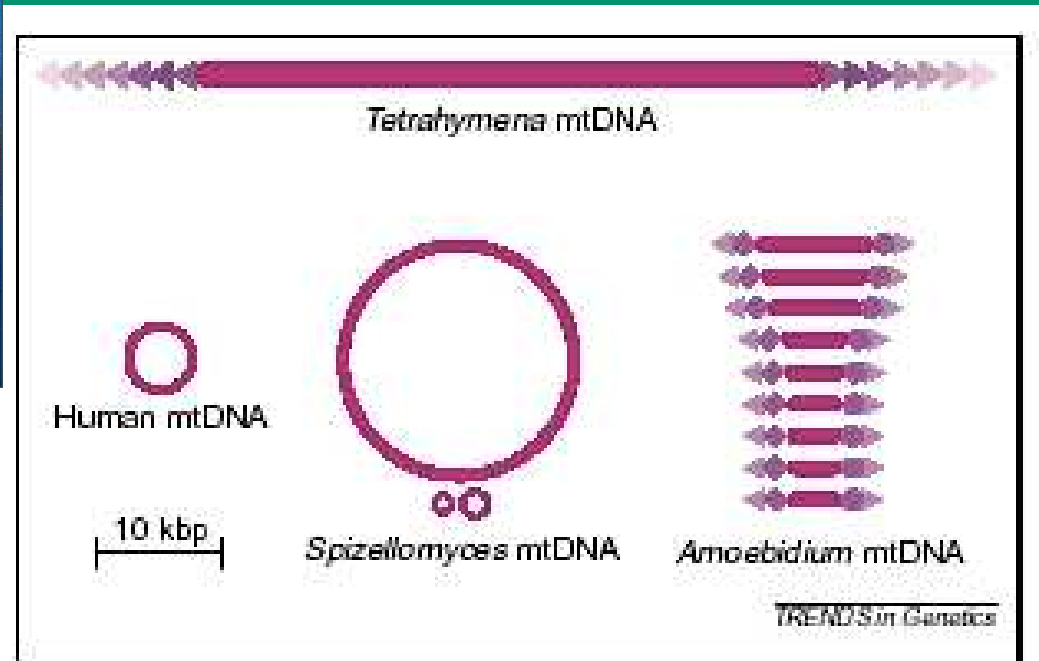
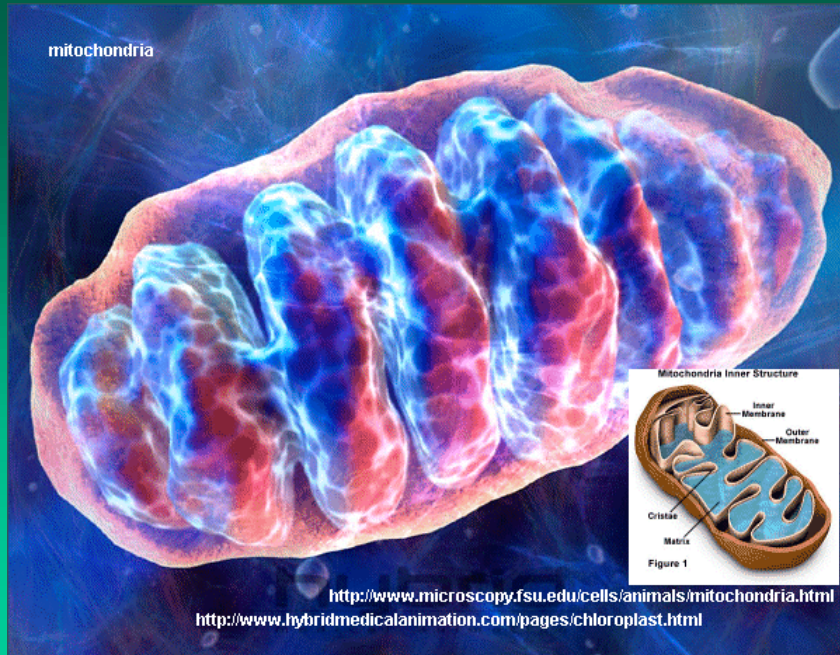




**Fig. 4.5.** Genetic map of the linear mitochondrial genome of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (15.8 kbp). *Open rectangles* show the position and extent of genes for proteins (*nad* = subunits of NADH dehydrogenase; *cyt1* = apocytochrome *b*; *cox1* = subunit 1 of cytochrome-*c* oxidase; *rtl* = a protein related to reverse transcriptase). Genetic information for both rRNAs is recorded discontinuously in the form of modules. L1–8 (*dotted rectangles*) = rRNA of the large ribosomal subunit; S1–4 (*hatched rectangles*) = rRNA of the small subunit. The large letters stand for genes for tRNA. W = tryptophan, Q = glutamine, M = methionine (elongation). Inverted repeats at both ends of the linear genome are emphasized by a *double line*. The direction of transcription is shown by *arrows* and by the position of rectangles (*above and below the central line*). (According to MICHAELIS *et al.* 1990.)

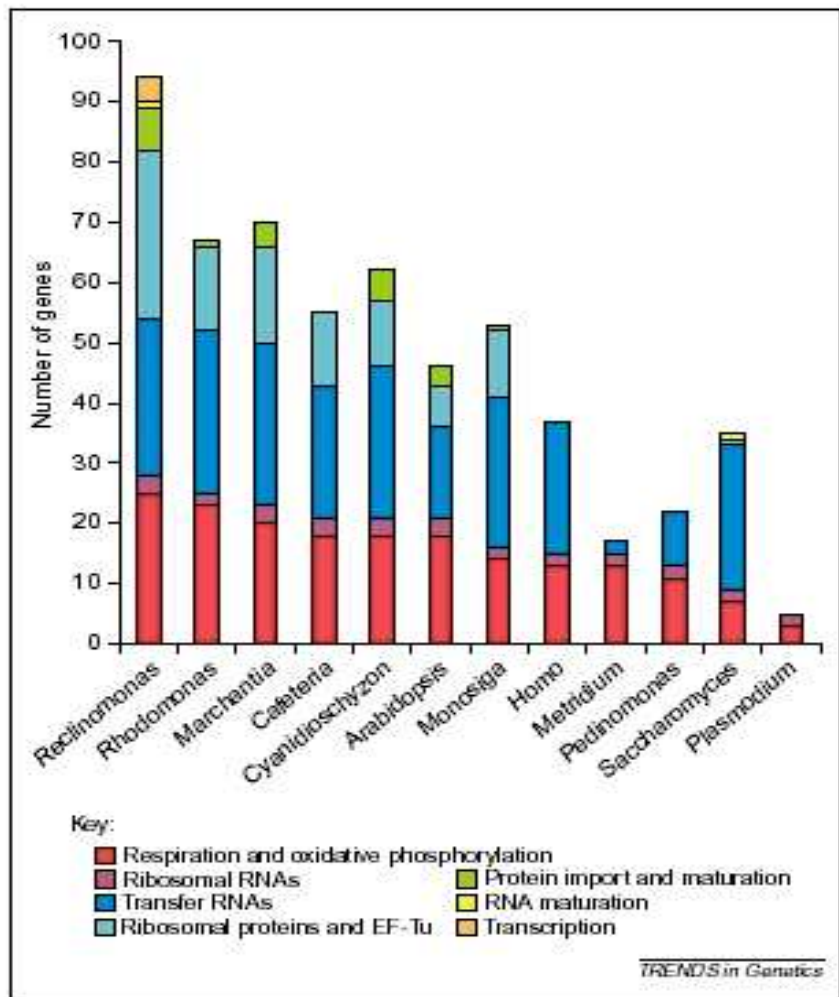


**Fig. 4.6.** Organization of the mitochondrial genome of *Paramecium aurelia* (40 469 bp). The position of known genes is shown by *rectangles* in the *upper line*, the location of the open reading frames (ORF) in the *lower line*. If the rectangle is situated *above* the line it indicates the direction of transcription from left to right in the given strand of mtDNA; if it is located *below* the line it indicates the opposite direction of transcription (from *right to left*) on the opposite strand of mtDNA. (According to PRITCHARD *et al.* 1990.)

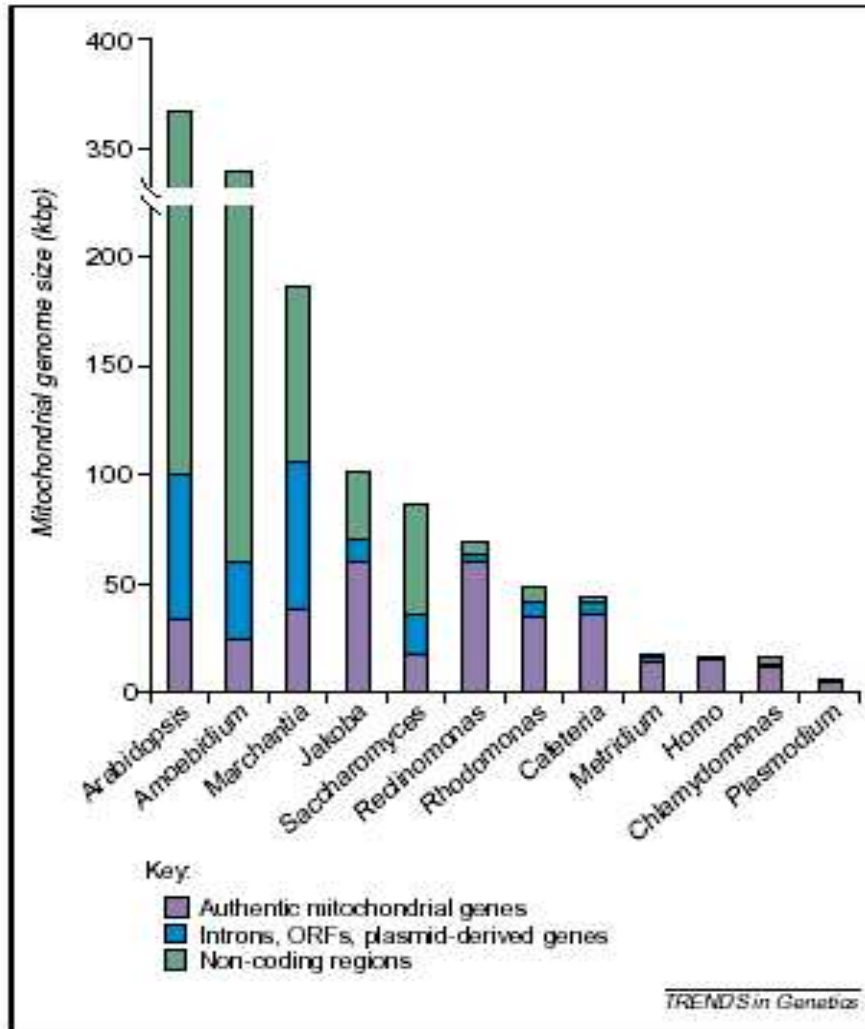


**Figure 3.** Mitochondrial genome architectures. DNA molecules are mostly circular-supercoiled in humans, and linear-monomeric in the ciliate *Tetrahymena pyriformis* (reviewed in [10]). In the fungus *Spizellomyces punctatus*, mtDNA consists of three types of circular-mapping molecules [8], whereas several hundred types of linear-monomeric molecules comprise the mitochondrial genome in the ichthyosporan protist *Amoebidium parasiticum* [15]. Triangles represent terminal repeat motifs of 32 bp in *T. pyriformis* mtDNA and 40 bp in *A. parasiticum* mtDNA. Filled circles and diamonds represent sub-terminal repeats, which are ~100 bp and ~65 bp long, respectively, in *A. parasiticum* mtDNA.

**Burger G., Gray M.W., Lang B.F.: Mitochondrial genomes: anything goes. TIGS 2003**

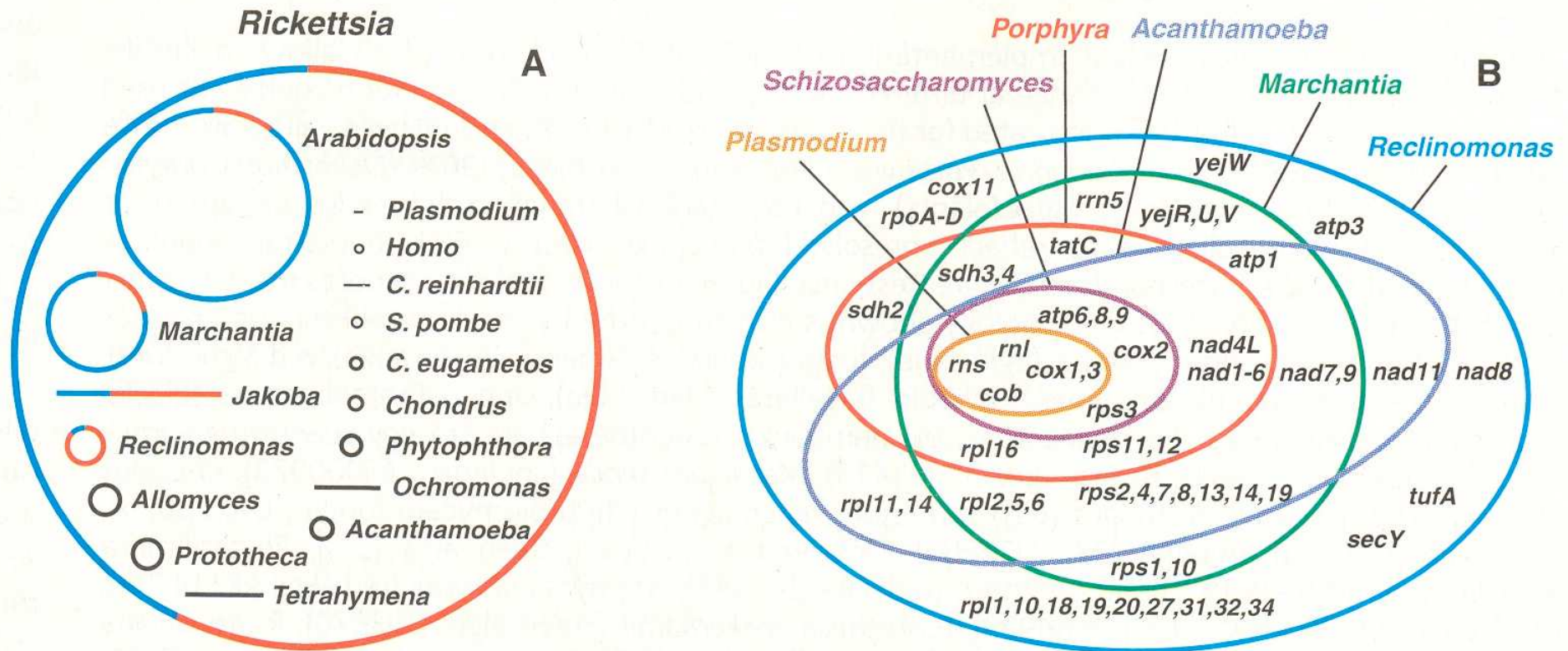


**Figure 4.** Mitochondrial gene classes and their representation across eukaryotes. Genes included in the functional classes are as follows. Respiration and oxidative phosphorylation: *atp1*, *atp3*, *atp4*, *atp6*, *atp8*, *atp9*; *cob*; *cox1-3*; *nad1-4*, *nad4L*, *nad6-11*, *sdh2-4*. rRNAs: *r1*, *r2*, *r5*. tRNAs: *trnA-Y* (among others). Ribosomal proteins and EF-Tu: *rps1-4*, *rps7*, *rps8*, *rps10-14*, *rps19*; *rpl1*, *rpl5*, *rpl6*, *rpl10*, *rpl11*, *rpl14*, *rpl16*, *rpl18-20*, *rpl27*, *rpl31*, *rpl32*, *rpl34*, *rpl36*; *tufA*. RNA maturation: *mpb*. Protein import and maturation: *secY*, *tarC*, *yejR* (*ccmF*), *yejU* (*ccmC*), *yejV* (*ccmB*), *yejW* (*ccmA*); *cox11*. Transcription: *rpoA-D*. Species names are: *Reclinomonas americana* (jakobid flagellate); *Rhodomonas salina* (cryptophyte alga); *Marchantia polymorpha* (liverwort, bryophyte); *Cafeteria roenbergensis* (stramenopile flagellate); *Cyanidioschyzon merolae* (red alga); *Arabidopsis thaliana* (flowering plant, angiosperm); *Monosiga brevicollis* (choanozoan flagellate); *Homo sapiens* (vertebrate animal); *Metridium senile* (cnidarian animal); *Pedinomonas minor* (green alga, chlorophyte); *Saccharomyces cerevisiae* (ascomycete fungus); and *Plasmodium falciparum* (apicomplexan protist). Data taken from the Organella Genome Database GOBASE (<http://megasun.bch.umontreal.ca/gobase/>).

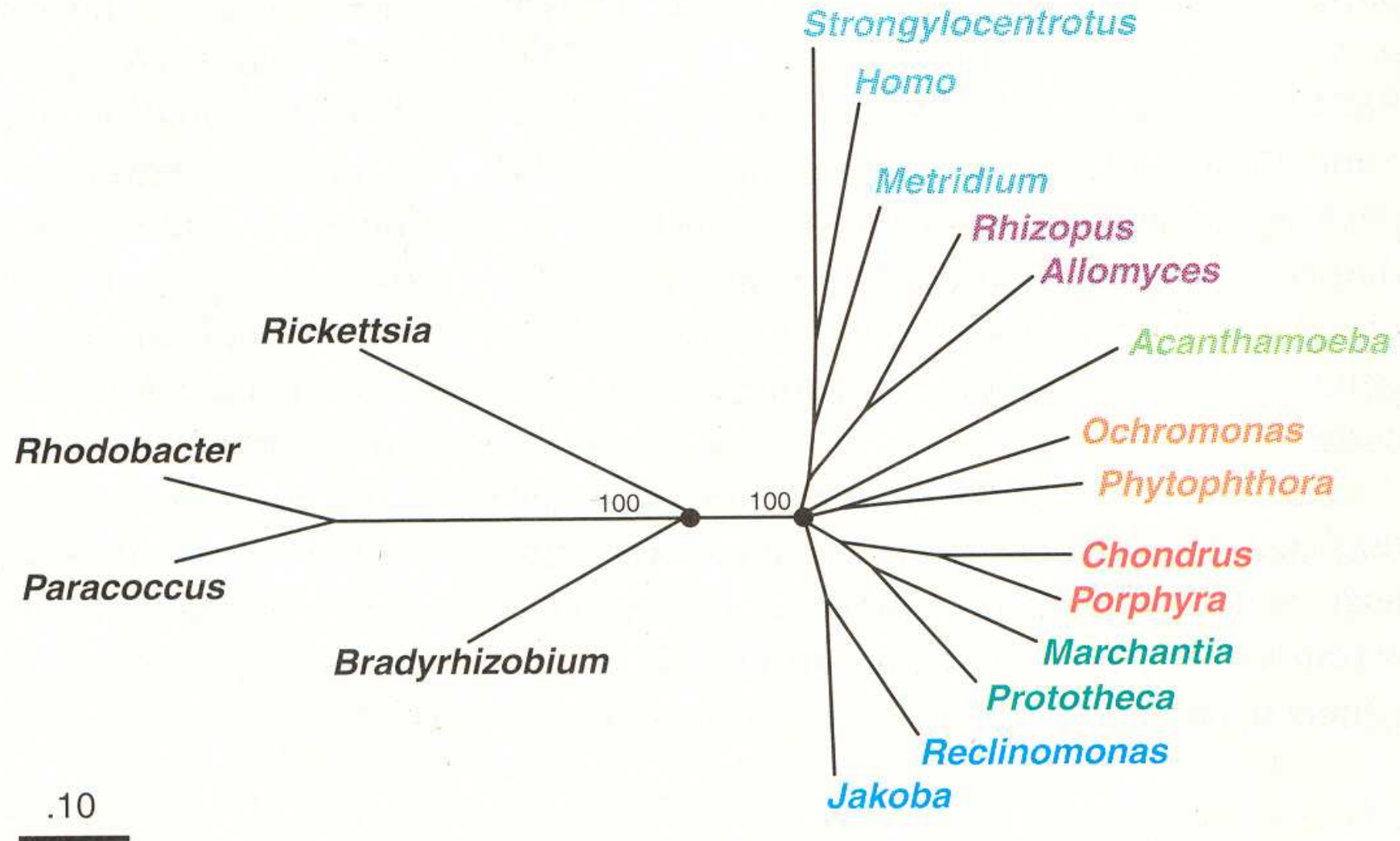


**Figure 5.** Mitochondrial genome size and coding content across eukaryotes. Length of coding regions of authentic mitochondrial genes (purple), introns, intronic ORFs, phage-like reverse transcriptases and DNA polymerases (blue), and intergenic regions (green). Species as in Figure 4, plus *Amoebidium parasiticum* (ichthyosporian protist); *Jakobia libera* (jakobid flagellate); and *Chlamydomonas reinhardtii* (green alga, chlorophyte).

**Burger G., Gray M.W., Lang B.F.:  
Mitochondrial genomes: anything goes.  
TIGS 2003**



**Size and gene content of mitochondrial genomes compared with an  $\alpha$ -Proteobacterial (*Rickettsia*) genome. (A) Circles and lines represent circular and linear genome shapes, respectively. For genomes >60 kbp, the DNA coding for genes with known function (red) is distinguished from that coding for unidentified ORFs and intergenic sequences (blue). (B) Gene complement of mitochondrial genomes. Each oval corresponds to one organism; genes included within an oval are present in the mtDNA of that organism. Only rRNA genes (*rnl*, *rns*, *rrn5*) and protein coding genes are shown here. (C. – *Chlamydomonas*; S. – *Schizosaccharomyces*).**

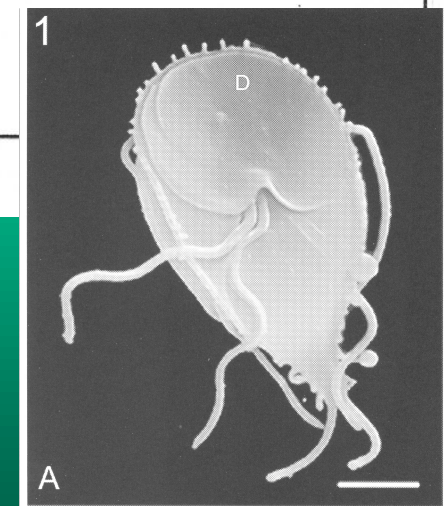
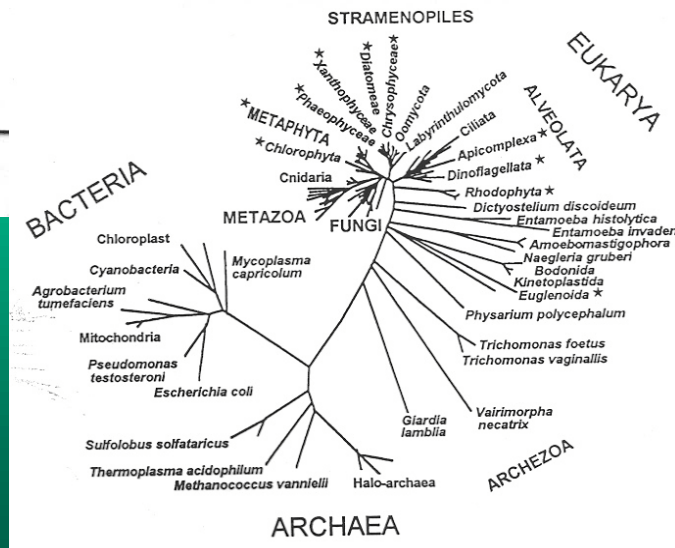


Phylogenetic relationships among mitochondria and  $\alpha$ -Proteobacteria. A concatenated, aligned data set of amino acid sequences corresponding to respiratory chain proteins apocytochrome b (Cob) and cytochrome oxidase subunits 1 to 3 (Cox 1-3) was used in the analysis. (Gray M.W., Burger G., Lang B.F.: Mitochondrial evolution, Science 289, 1476-1481, 1999)

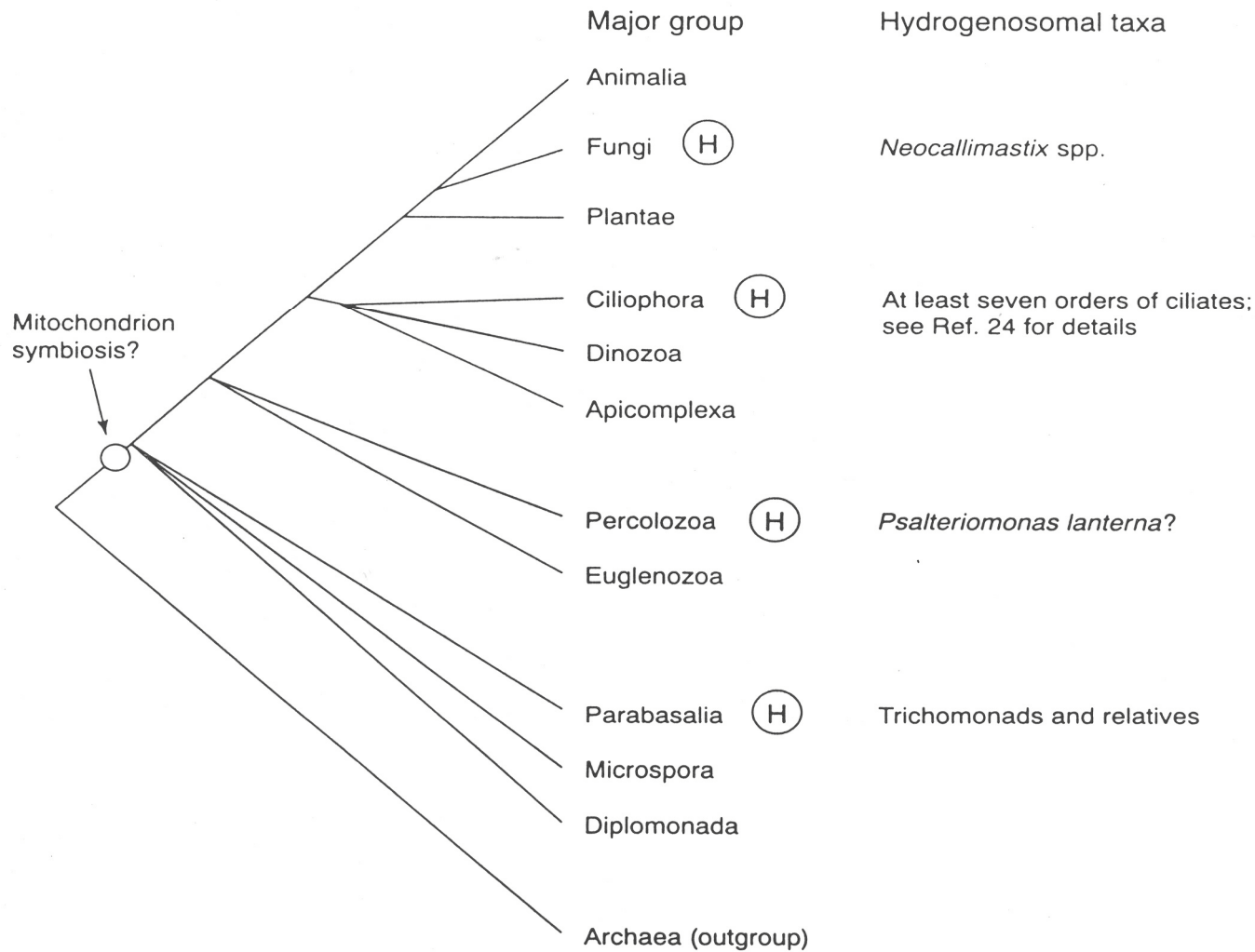


**TABLE 1.** Some Common Names and Characteristics of Archezoan Groups

Group	Some common genera	Mitochondria	Peroxisomes	Golgi	Flagella
Metamonads	<i>Giardia</i> <i>Hexamita</i> <i>Trepomonas</i> <i>Retortamonas</i> <i>Pyronympha</i>	Not recognized	Not recognized	Not recognized	Yes
Microsporidia	<i>Encephalitozoon</i> <i>Nosema</i> <i>Spraguea</i> <i>Vairimorpha</i>	Not recognized	Not recognized	Not recognized	No
Parabasalla	<i>Trichomonas</i> <i>Tritrichomonas</i> <i>Monocercomonas</i> <i>Trichonympha</i>	Hydrogenosome?	Not recognized	Yes	Yes
Archamoebae	<i>Entamoeba</i> <i>Pelomyxa</i> <i>Mastigamoeba</i> <i>Phreatamoeba</i>	Not recognized	Not recognized	In some	In some



**Giardia lamblia**



**Fig. 2.** Schematic phylogenetic tree for selected eukaryotes based on SSU rDNA sequence data showing the phylogenetic distribution of hydrogenosomal taxa. Taxon names are taken from a recent classification published by Corliss<sup>41</sup>. The position of *Psalteriomonas lanterna*<sup>39</sup> within Percolozoa is based upon morphology since its SSU rDNA sequence has not yet been published. The presence of hydrogenosomes in *Psalteriomonas lanterna* was initially inferred from the close juxtaposition of intracellular methanogens, which are presumed to depend on host hydrogen, to host organelles<sup>39</sup>. The relative timing of the mitochondrion endosymbiosis is discussed in the text, as is the possible misplacement of Microspora (microsporidia) in trees based upon SSU rDNA sequences.

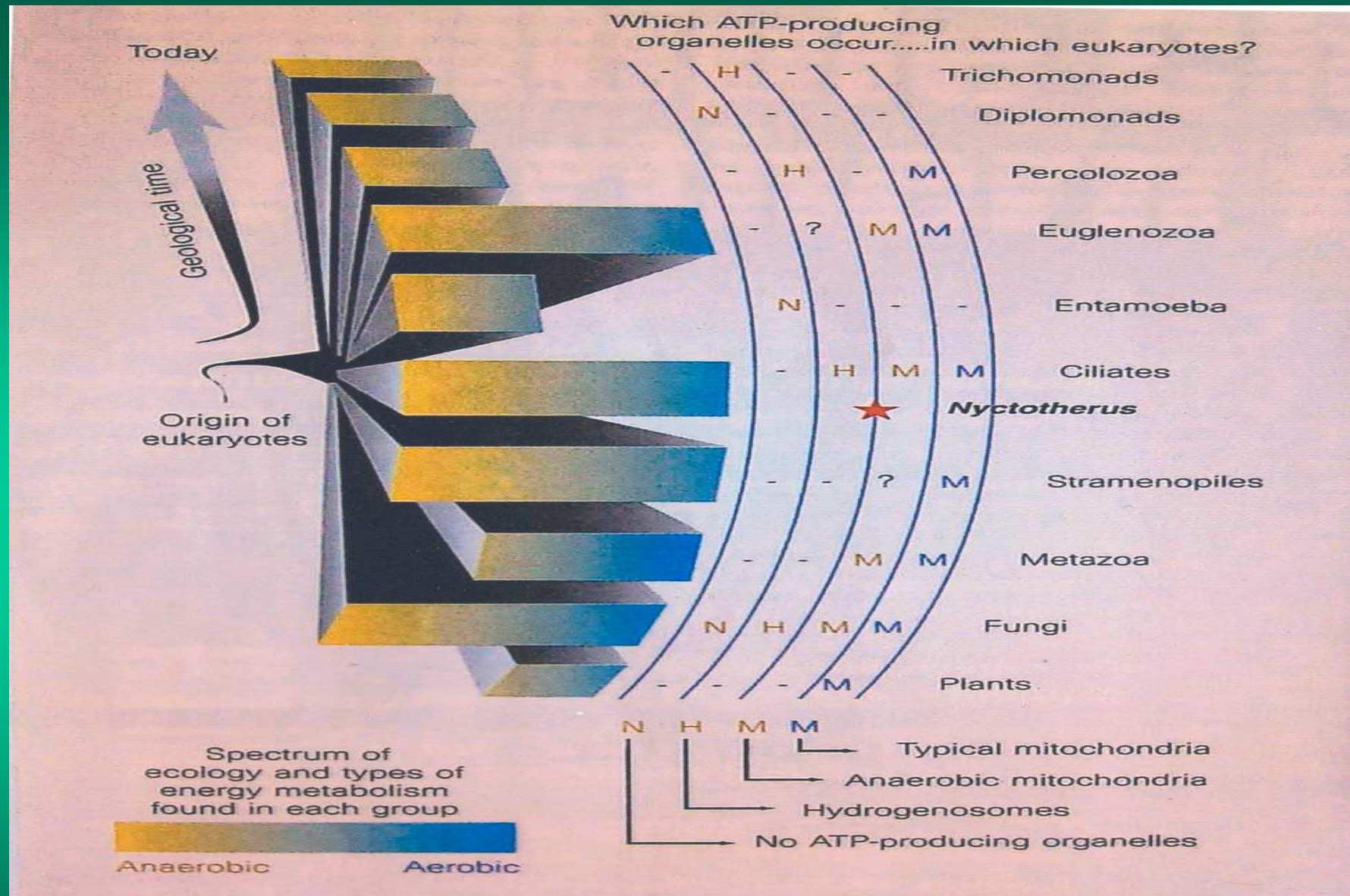
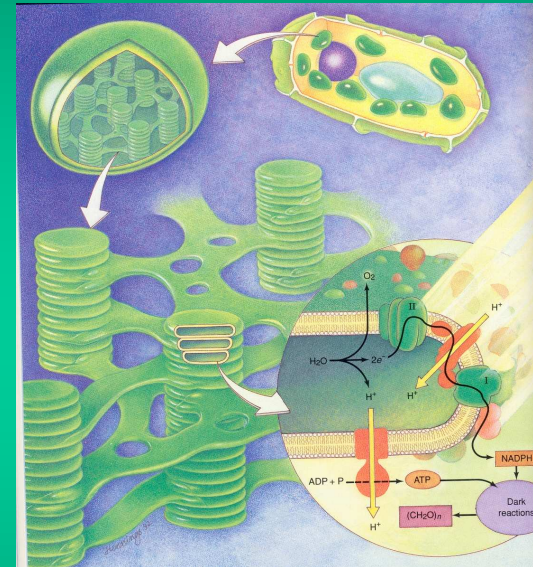
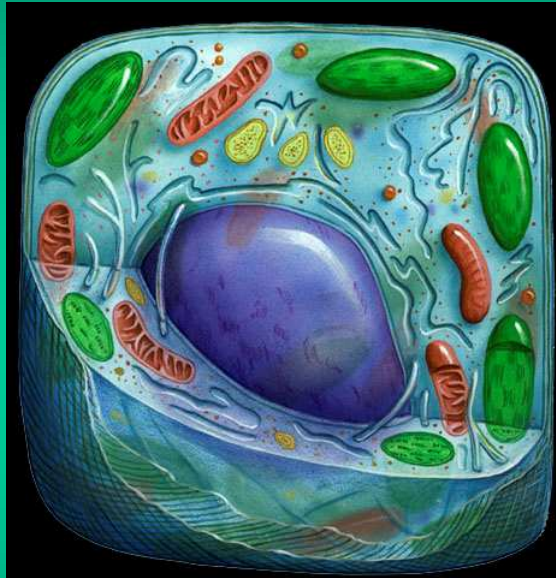


Figure 1 Summary of ATP-producing organelles across a very limited, and arbitrarily chosen, spectrum of eukaryotic taxa. The ciliate *Nyctotherus ovalis* (red star) contains hydrogenosomes, which Akhmanova *et al.*<sup>1</sup> now show contain their own genome. A peculiar group of eukaryotes called microsporidia are related to fungi<sup>6</sup>, whence the 'N' for that group. Antarctic euglenids contain organelles that may be hydrogenosomes<sup>10</sup>. Some groups designated 'N' may have organelles, but their role, if any, in energy metabolism is unclear. (Data taken from refs 4, 5 and references therein, and also refs 2, 3, 6–10.)

# Plastidy

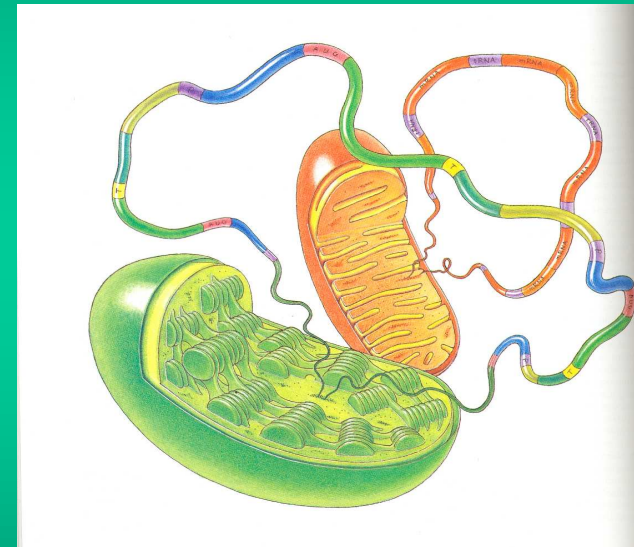
bunkové organely s vlastnou genetickou informáciou  
(50-200 génov) a proteosyntetickým aparátom  
– nie len fotosyntéza (zelené rastliny, chloroplasty)



úloha plastidov v kľúčových metabolických procesoch:

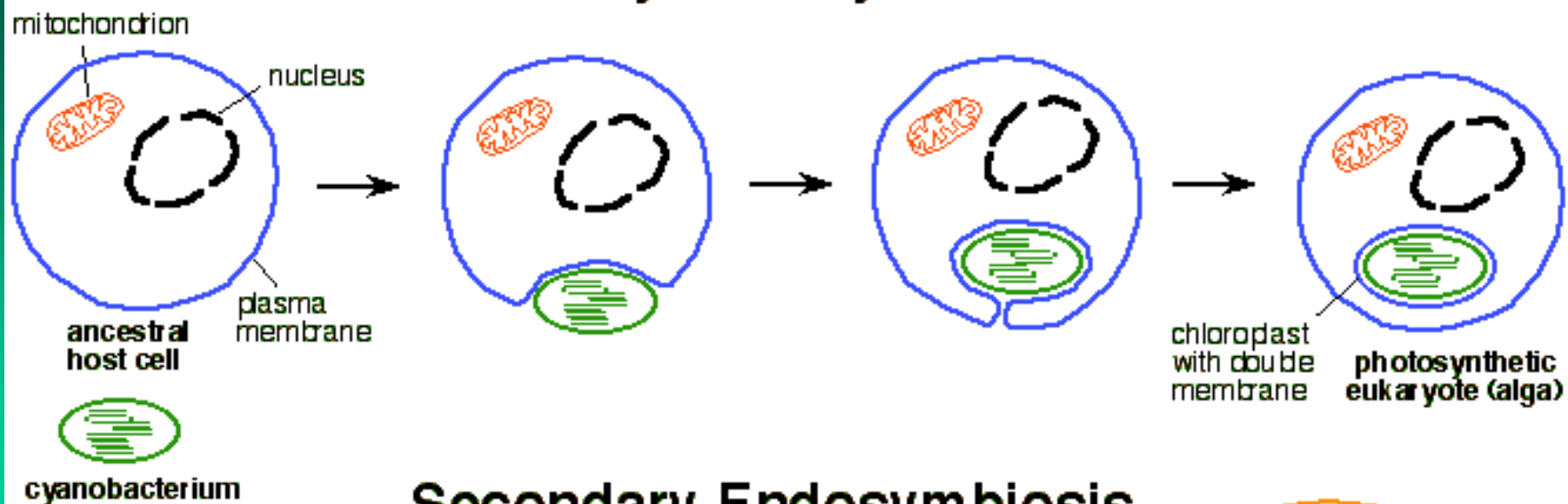
- \* biosyntéza aminokyselín, mastných kyselín, hému; depozit zásobných látok
- \* funkcie zostávajú lokalizované v plastidoch aj u takých taxónov, ktoré stratili schopnosť fotosyntézy

**Plastidy** sa vyvinuli z pôvodne samostatne žijúcich fotosyntetizujúcich baktérií – **cyanobaktérií** (siníc), endosymbiontov v hostiteľských eukaryotických bunkách.

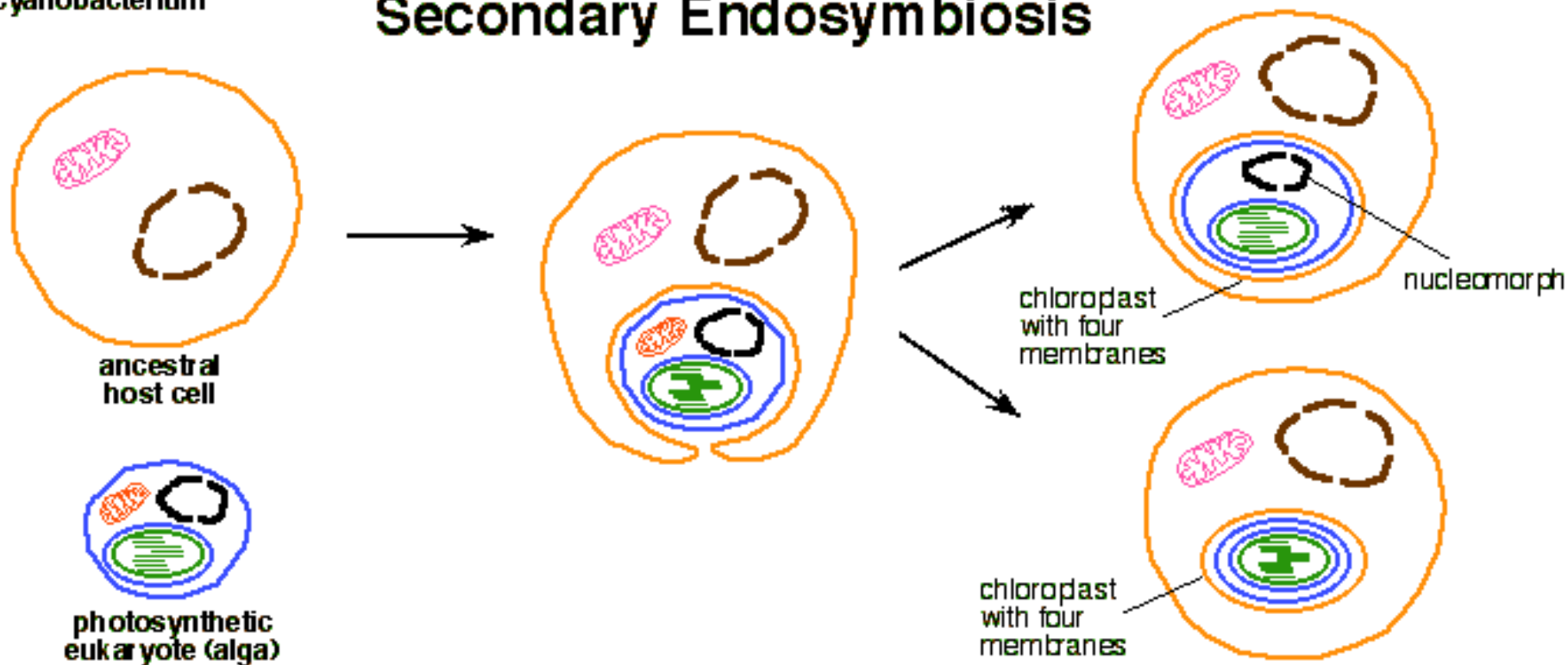


Evolúcia **endosymbionta** v **plastid** je spätá so stratou viacerých funkcií hostiteľskej bunky – výsledkom je jej závislosť na funkčných plastidoch.

# Primary Endosymbiosis

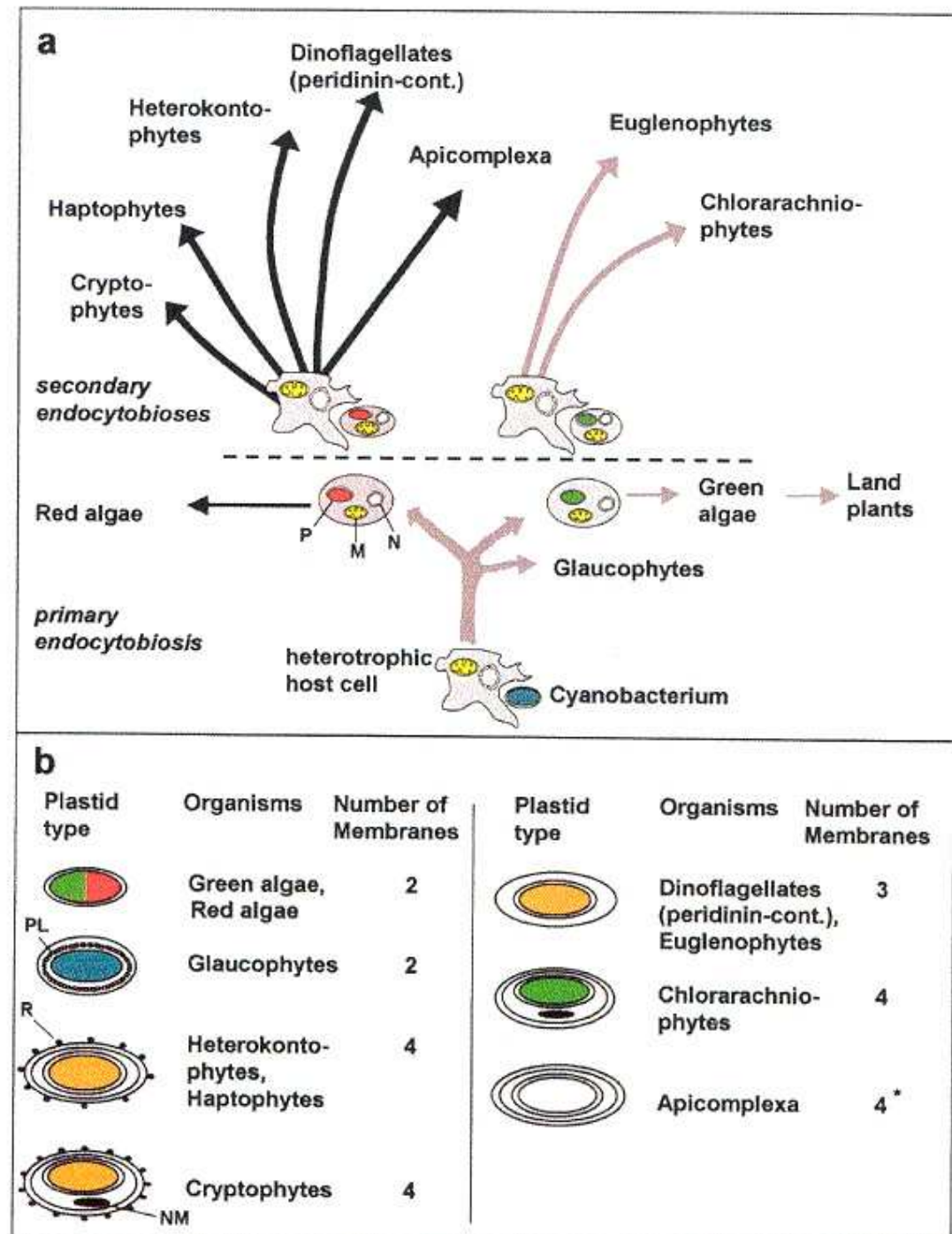


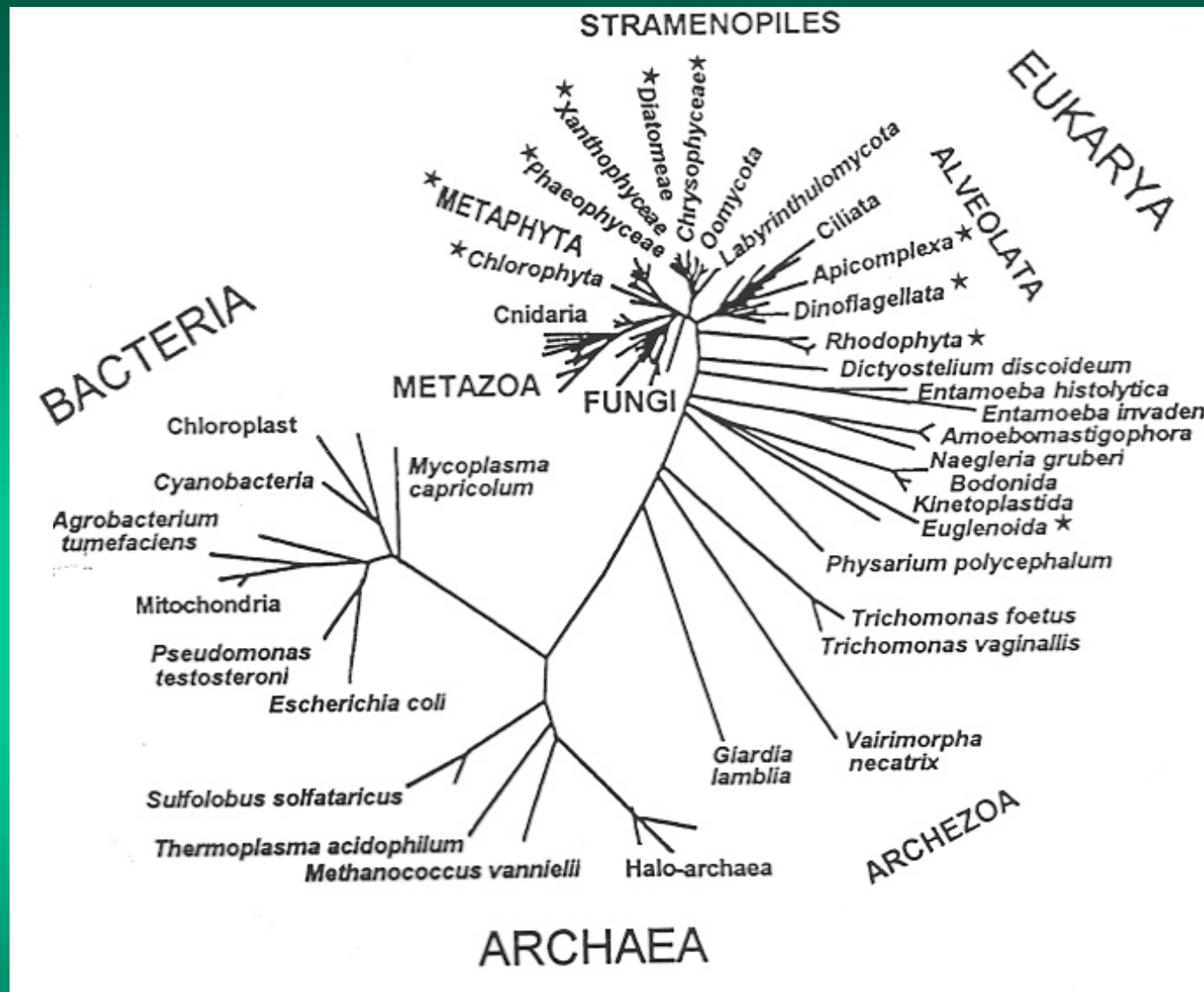
# Secondary Endosymbiosis



**Scheme showing the putative evolution of algal groups and their plastids by primary and secondary endocytobioses together with the putative structure of individual lineages**

P – plastid,  
M – mitochondria,  
N – nucleus,  
PL – peptidoglycan layer,  
R – ribosomes,  
NM – nucleomorph  
(according to Kroth 2002)

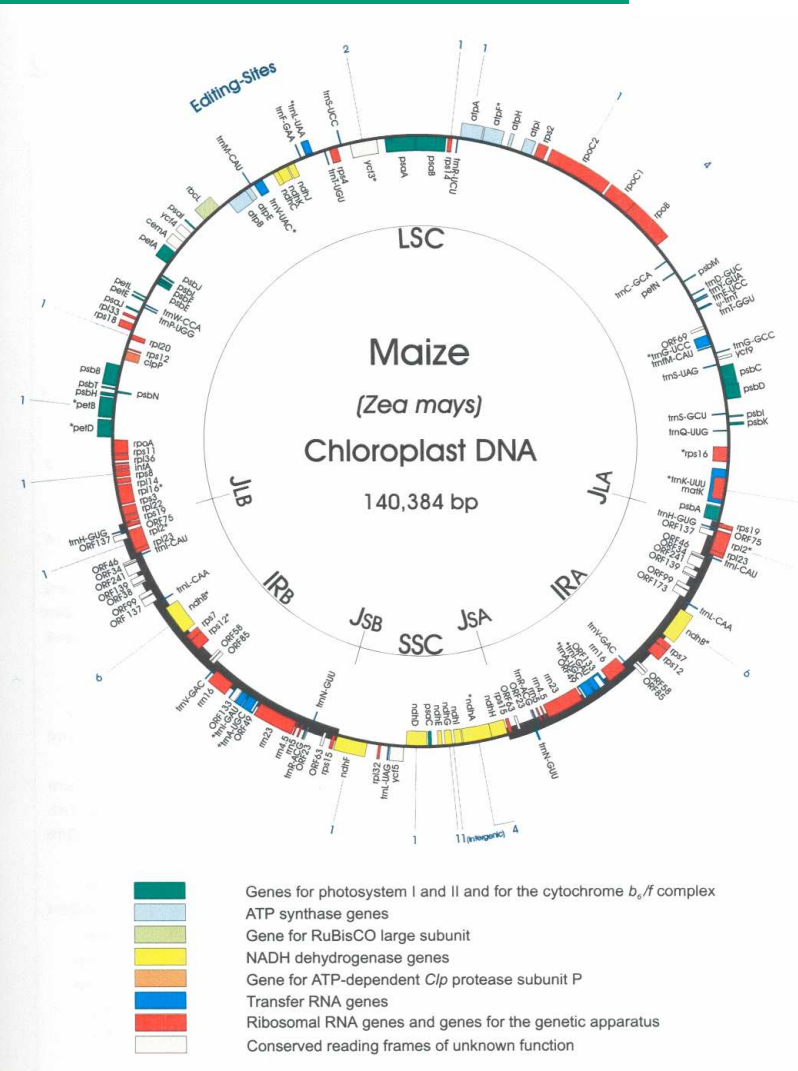




**Univerzálny fylogenetický strom** (založený na porovnávaní sekvencií nukleotidov v ribozómových RNA z malých ribozómových podjednotiek) – tri domény života - baktérie (*Bacteria*), archeóny (*Archaea*) a eukaryotické organizmy (*Eukarya*) (Patterson a Sogin 1992, Van de Peer et al. 1996 – upravené). **Taxóny, ktorých zástupcovia obsahujú plastidy, sú označené hviezdíčkou\***



Cyanobacteria	<i>rps20</i>	5'- <i>rpoBC1C2</i> -3'	5'- <i>rps2</i> - <i>tsf</i> -3'	5'- <i>atpIHGFDAC</i> -3'
<i>P. purpurea</i>	5'- <i>rps20-rpoB-rpoC1-rpoC2-rps2</i> - <i>tsf-atpI-atpH-atpG-atpF-atpD-atpA</i> -3'			
<i>C. paradoxa</i>	5'- <i>rpoB-rpoC1-rpoC2-rps2-atpH-atpG-atpF-atpD-atpA</i> -3'			
Higher plants	<i>rps20</i>	<i>tsf,atpI</i>		<i>atpC</i>
	5'- <i>rpoB-rpoC1-rpoC2-rps2-atpI-atpH-atpF-atpA</i> -3'			
	<i>rps20</i>	<i>tsf</i>	<i>atpG atpD</i>	<i>atpC</i>



**Monofyletický pôvod plastidov - diagnostické zoskupenia génov. Gény zapísané tučne pod plastidovými operónmi boli premiestnené do jadra**

**Aj genómy plastidov môžu mať lineárnu formu (Bendich 2004)**

***Chlamydomonas reinhardtii* - genóm plastidov v podobe populácie kruhových aj lineárnych molekúl (Maul et al. 2002)**

Veľkosť, organizácia, obsah a forma plastidových genómov varíujú v pomerne širokom rozsahu medzi taxonomickými skupinami organizmov, zd'aleka najviac medzi riasami.

Najmenšie plastidové genómy, pokiaľ ide o veľkosť majú parazitické prvoky zo skupiny Apicomplexa (35 kbp kóduje 57 génov).

Doposiaľ najmenší počet odlišných génov (42) bolo lokalizovaných v plastóme saprofytickej rastliny *Epifagus virginiana*.

Do týchto kalkulácií sa nezapočítavajú unikátne organizované, fragmentované plastómy dinoflagelát – jednotlivé gény na samostatných plazmidoch.

Najrozmernejšie genómy sa nachádzajú v chloroplastoch červených rias (200 kbp, 250 odlišných génov).

Table 1. Size, gene content, and intron content of sequenced plastid genomes<sup>1</sup>.

Group	Organism	Genome size (bp)	Number of genes <sup>2</sup>					Number of introns
			Total	Genetic	Photo-synthetic	Misc-ellaneous	ORF	
Glaucocestophyte	<i>Cyanophora paradoxa</i>	135599	191	87	48	20	36	1
Rhodophyte	<i>Porphyra purpurea</i>	191028	251	103	53	30	65	0
Heterokont	<i>Odontella sinensis</i>	119704	165	77	41	10	37	0
Euglenophyte	<i>Euglena gracilis</i>	143170	97	56	27	1	13	>149
Land plant	<i>Marchantia polymorpha</i>	121024	120	62	42	7	9	19
Land plant	<i>Pinus thunbergii</i>	119707	108	62	30	5	11	16
Land plant	<i>Oryza sativa</i>	134525	110	61	41	1	7	18
Land plant	<i>Zea mays</i>	140386	110	61	41	1	7	18
Land plant	<i>Nicotiana tabacum</i>	155884	113	61	41	2	9	21
Land plant	<i>Epifagus virginiana</i> <sup>3</sup>	70028	42	38	0	2	2	6
Apicomplexan	<i>Plasmodium falciparum</i> <sup>3</sup>	34682	57	48	0	2	7	1

<sup>1</sup> References for the complete sequences are: *Cyanophora*, STIREWALT & al. (1995); *Porphyra*, REITH & MUNHOLLAND (1995); *Odontella*, KOWALLIK & al. (1995); *Euglena*, HALLICK & al. (1993); *Marchantia*, OHYAMA & al. (1986); *Pinus*, WAKASUGI & al. (1994); *Oryza*, HIRATSUKA & al. (1989); *Zea*, MAIER & al. (1995); *Nicotiana*, SHINOZAKI & al. (1986); *Epifagus*, WOLFE & al. (1992); *Plasmodium*, WILSON & al. (1996).

<sup>2</sup> Duplicated genes are counted only once. "Genetic" genes are involved in translation, transcription, RNA processing, and DNA replication. "Photosynthetic" genes includes standard photosynthetic genes and the chlororespiratory NADH dehydrogenase genes. "Miscellaneous" genes are involved in the biosynthesis of chlorophyll, carotenoids, phycobilins, amino acids, fatty acids, NAD<sup>+</sup>, pyrimidines, thiamine, and the peptidoglycan wall of the *Cyanophora* plastid; the assimilation of nitrogen and sulfur; protein transport, processing, and assembly/chaperoning; and the specification of thioredoxin and pyruvate dehydrogenase. "ORF" indicates highly conserved open reading frames of unknown function, but which are almost certainly functional genes.

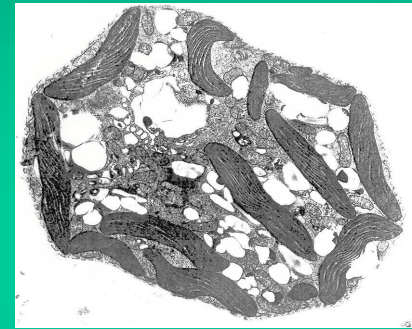
<sup>3</sup> Nonphotosynthetic organisms.

# PLASTIDY AKO CHEMOTERAPEUTICKÉ CIELE

## Plastidy z endosymbiotických baktérií

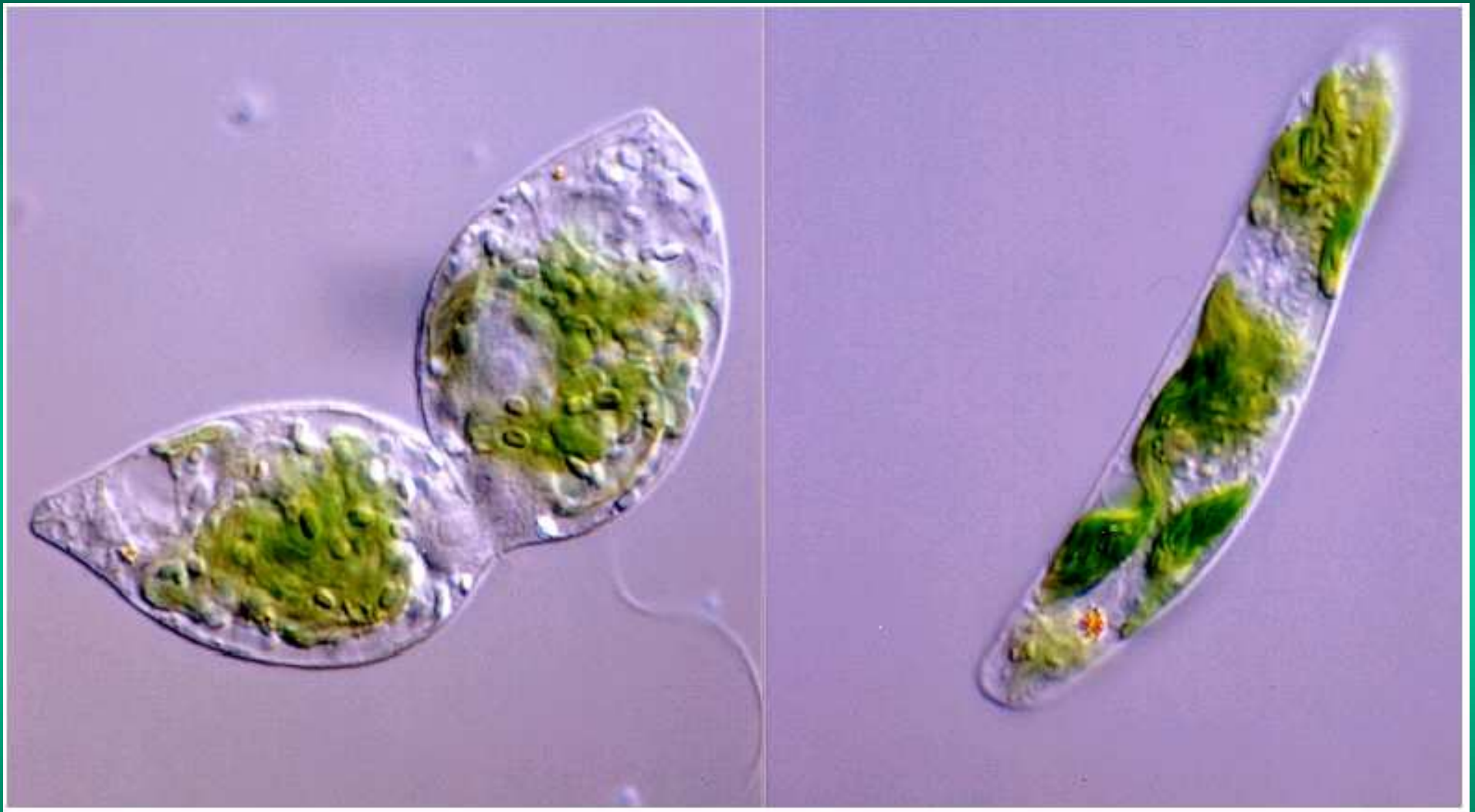
– korelácii medzi účinkom **antibiotík** na baktérie a chloroplasty bičíkovca *Euglena gracilis*

[prof. Libor Ebringer]

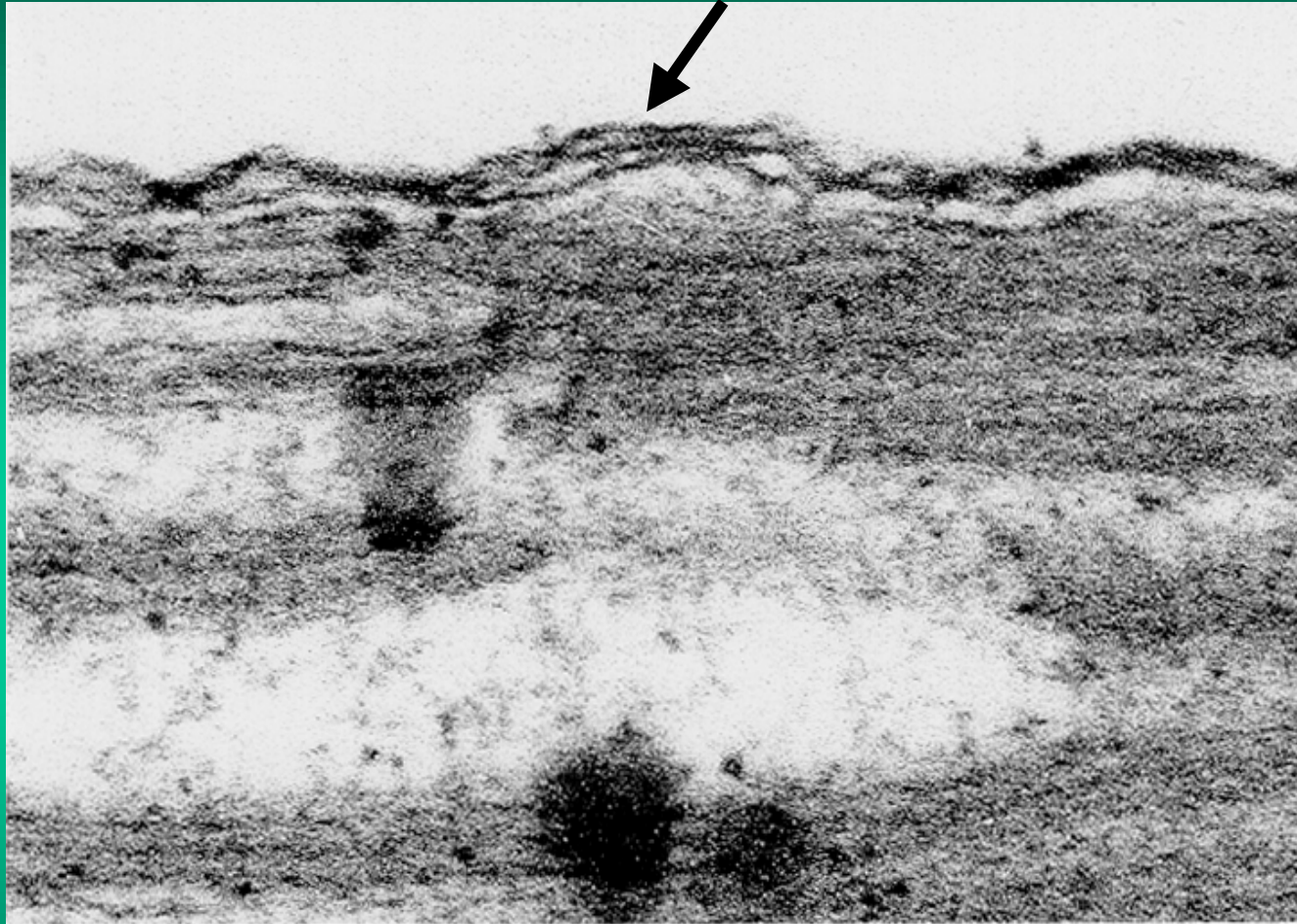


– argument v prospech endosymbiotickej hypotézy o pôvode organel eukaryotickej bunky

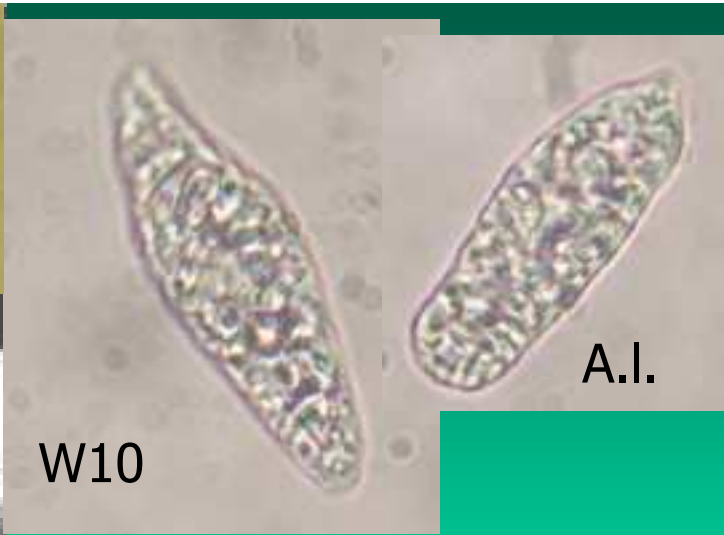
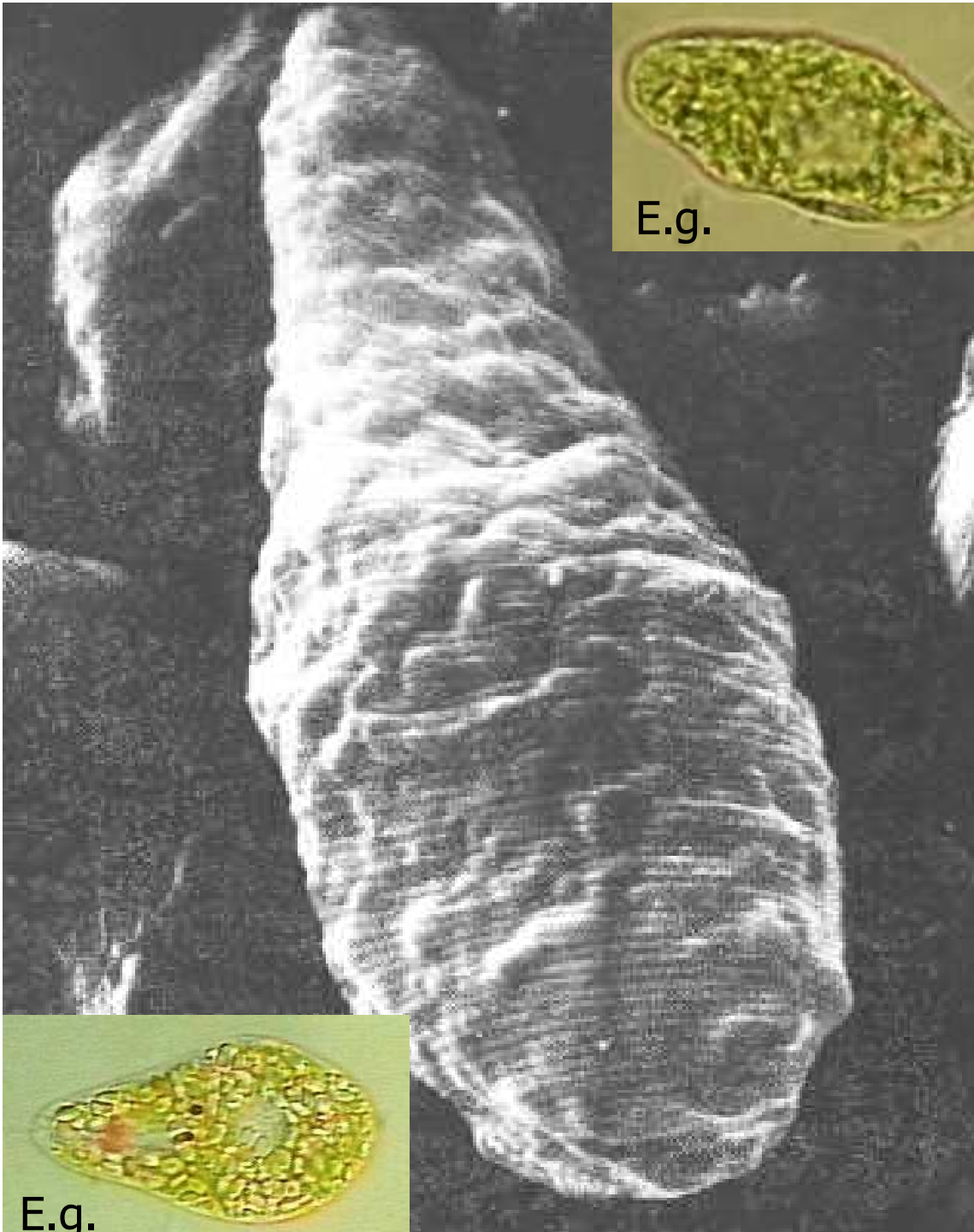
Prakticky všetky inhibítory syntézy DNA a proteínov v baktériách ireverzibilne eliminujú chloroplasty z *Euglena gracilis* – vybielovanie pôvodne zelených buniek bez straty ich viability – **bleaching**.

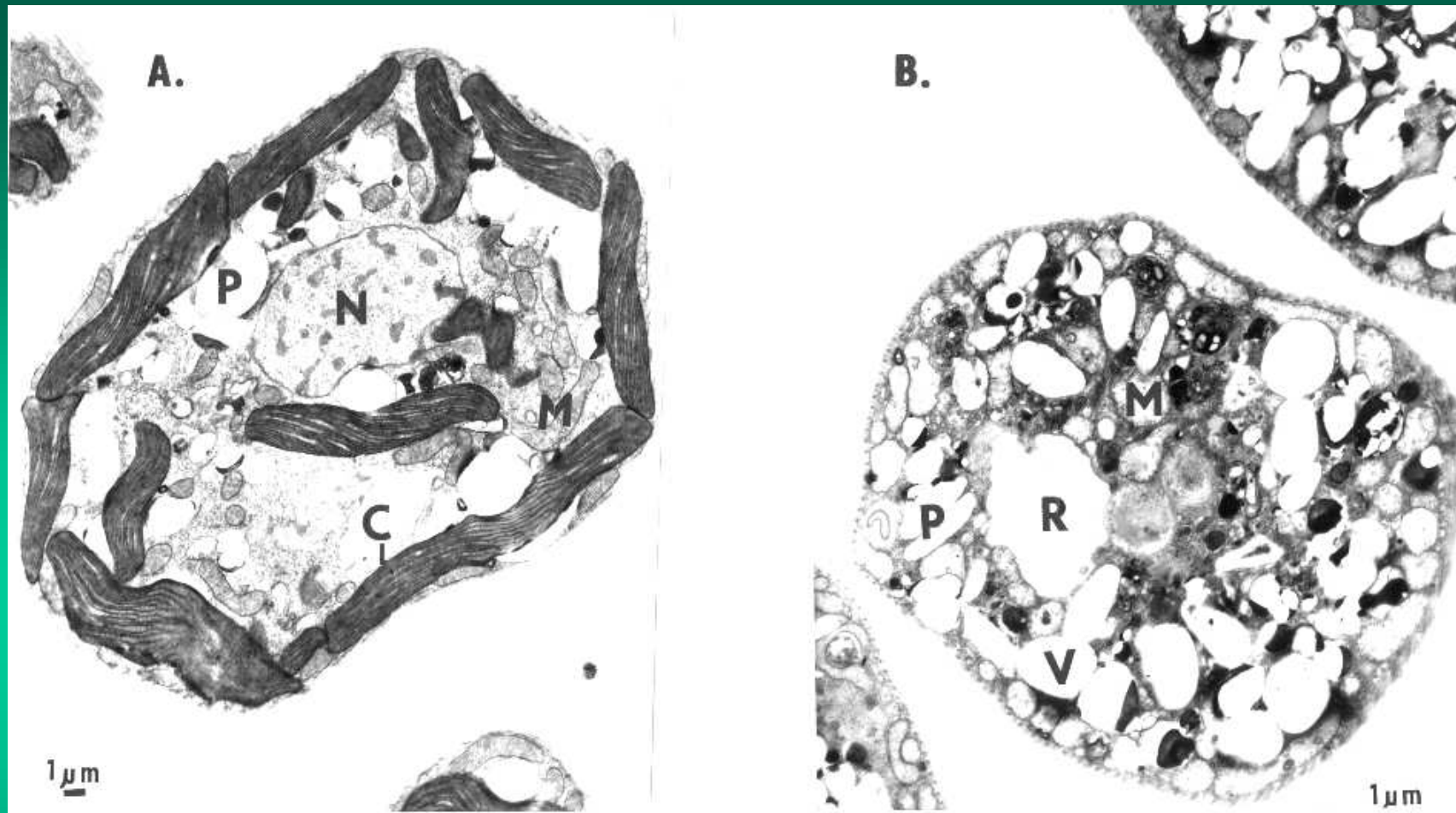


bičíkovec *Euglena gracilis*



***Euglena gracilis* has complex chloroplasts with three envelope membranes (Photo S.D. Schwartzbach)**





**Electron micrographs illustrating elimination of chloroplasts from *E. gracilis* after treatment with bleaching agents. (A) Control: green *E. gracilis* cells with chloroplasts (C). N – nucleus; M – mitochondria; P – paramylon grains. (B) Ultrastructure of *E. gracilis* after treatment with oxolinic acid (200 μg/ml) as a representative example of a drug-bleached cell. The chloroplasts are replaced with small vacuolar structures (V) or paramylon grains (P). Reservoir (R). Magnification, x4,000. Bar = 1,0 μm.**

**Krajčovič J., Ebringer L., Polónyi J.: Quinolones and coumarins eliminate chloroplasts from *Euglena gracilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:1883-1889, 1989.**



TABLE I

Effect of different DNA topoisomerase II inhibitors on chloroplasts of *Euglena gracilis*

Substance	Concentration ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) inducing 100% chloroplast-free cells after 24 hours treatment
A. Inhibitors of prokaryotic DNA topoisomerase II (DNA gyrase)	
1. Inhibitors of subunit <i>gyrA</i> (Quinolones)	
Ofloxacin	60
Oxolinic acid	80
Ciprofloxacin	100
Enoxacin	250
Norfloxacin	500
Nalidixic acid	900
Cinoxacin	1 200
2. Inhibitors of subunit <i>gyrB</i> (Coumarins)	
Coumermycin A <sub>1</sub>	120
Chlorobiocin	(150) <sup>a</sup>
Novobiocin	(900) <sup>a</sup>
B. Inhibitors of eukaryotic DNA topoisomerase II	
Adriamycin (doxorubicin)	_b
Etoposide (VP-16-213)	_b
Teniposide (VM-26)	_b
Mitoxantrone (novantrone)	_b

<sup>a</sup> Chloroplast-free cells are produced only after several (4–6) days treatment.

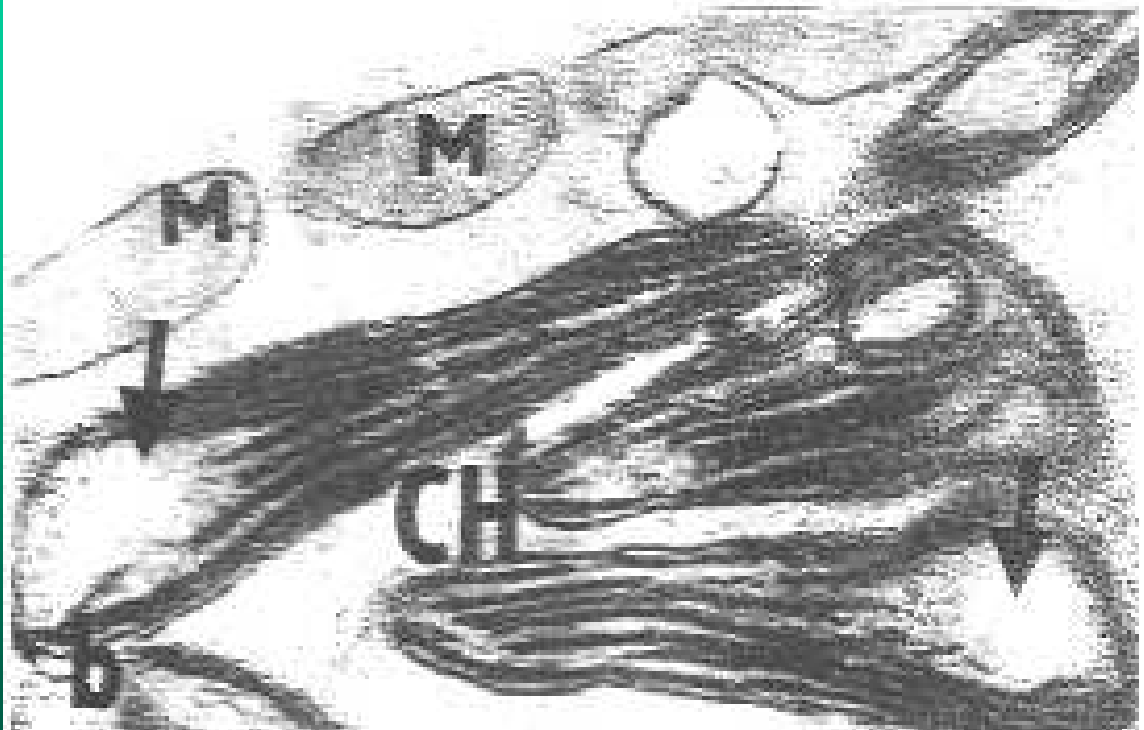
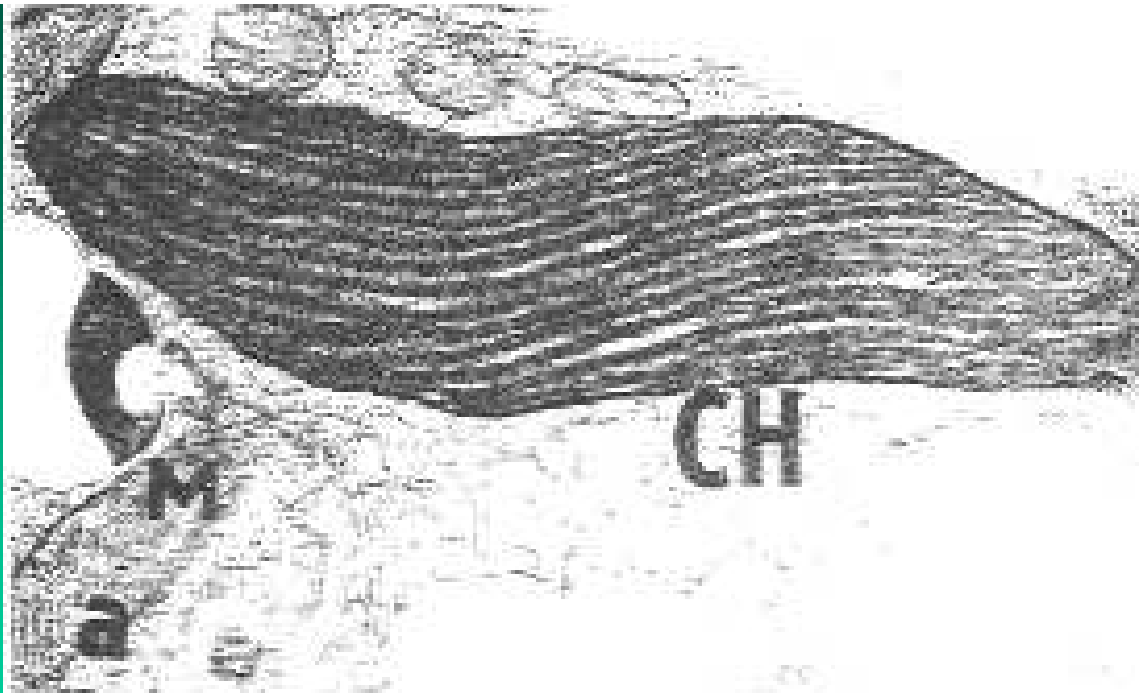
<sup>b</sup> Chloroplasts are eliminated from cells neither by near toxic concentrations (Ad 800; Et 1000; Te 400; Mi 400  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), nor after 8 days treatment.

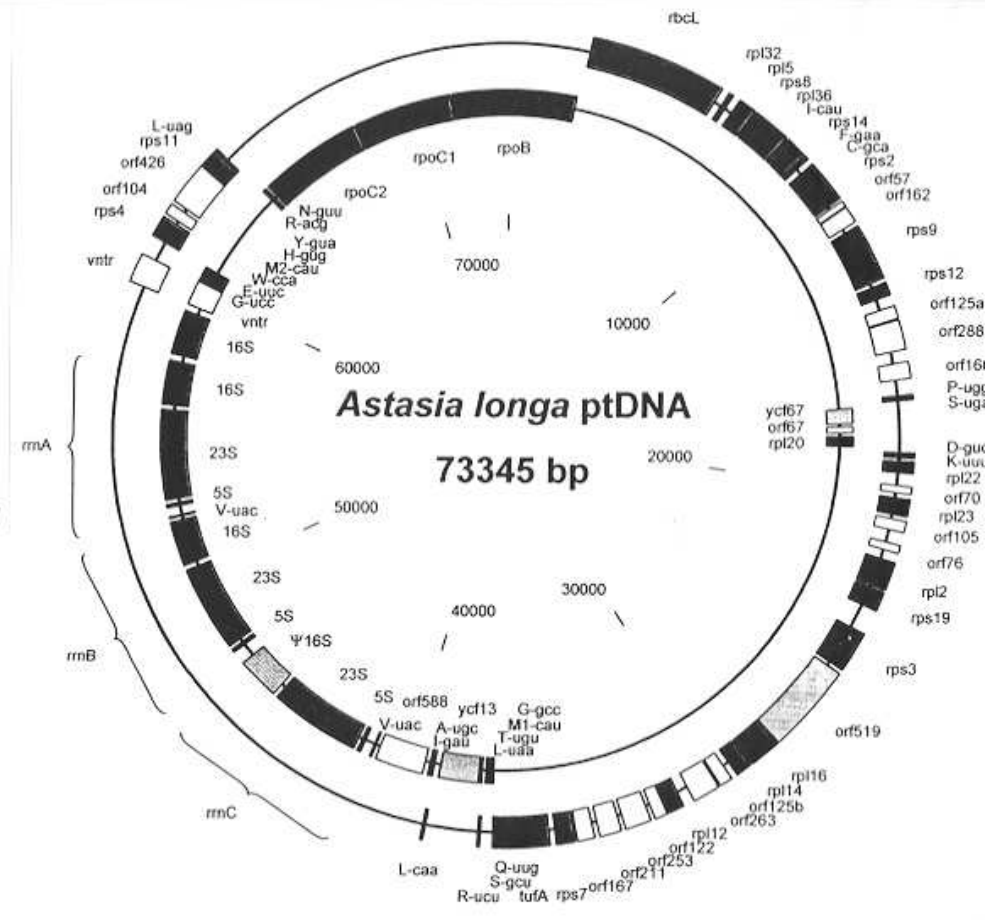
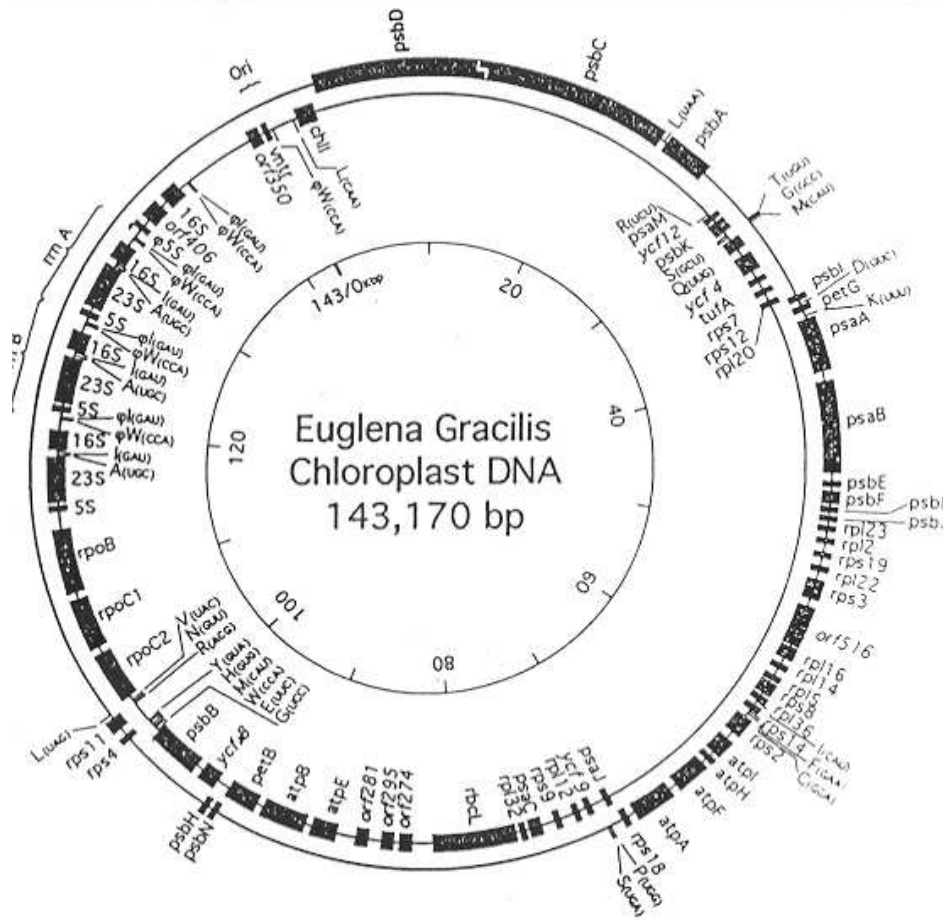
Krajčovič J., Ebringer L.: Different effect of eubacterial and eukaryotic DNA topoisomerase II inhibitors on chloroplasts of *Euglena gracilis*. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* 20:177-180, 1990.

**Ultrathin section through  
a „normal“ chloroplast  
(CH) in *Euglena gracilis*.  
M - mitochondrion  
20000x**

Ebringer L., Polónyi J., Krajčovič J.:  
Influence of ofloxacin on  
chloroplasts and mitochondria in  
*Euglena gracilis*. Drug Research  
43:777-781, 1993.

**A section through  
damaged chloroplast (CH)  
in *E. gracilis* treated 48 h  
by antibacterial drug  
ofloxacin. See local  
dilatations in chloroplasts  
(arrows). 20000x  
M - mitochondrion**

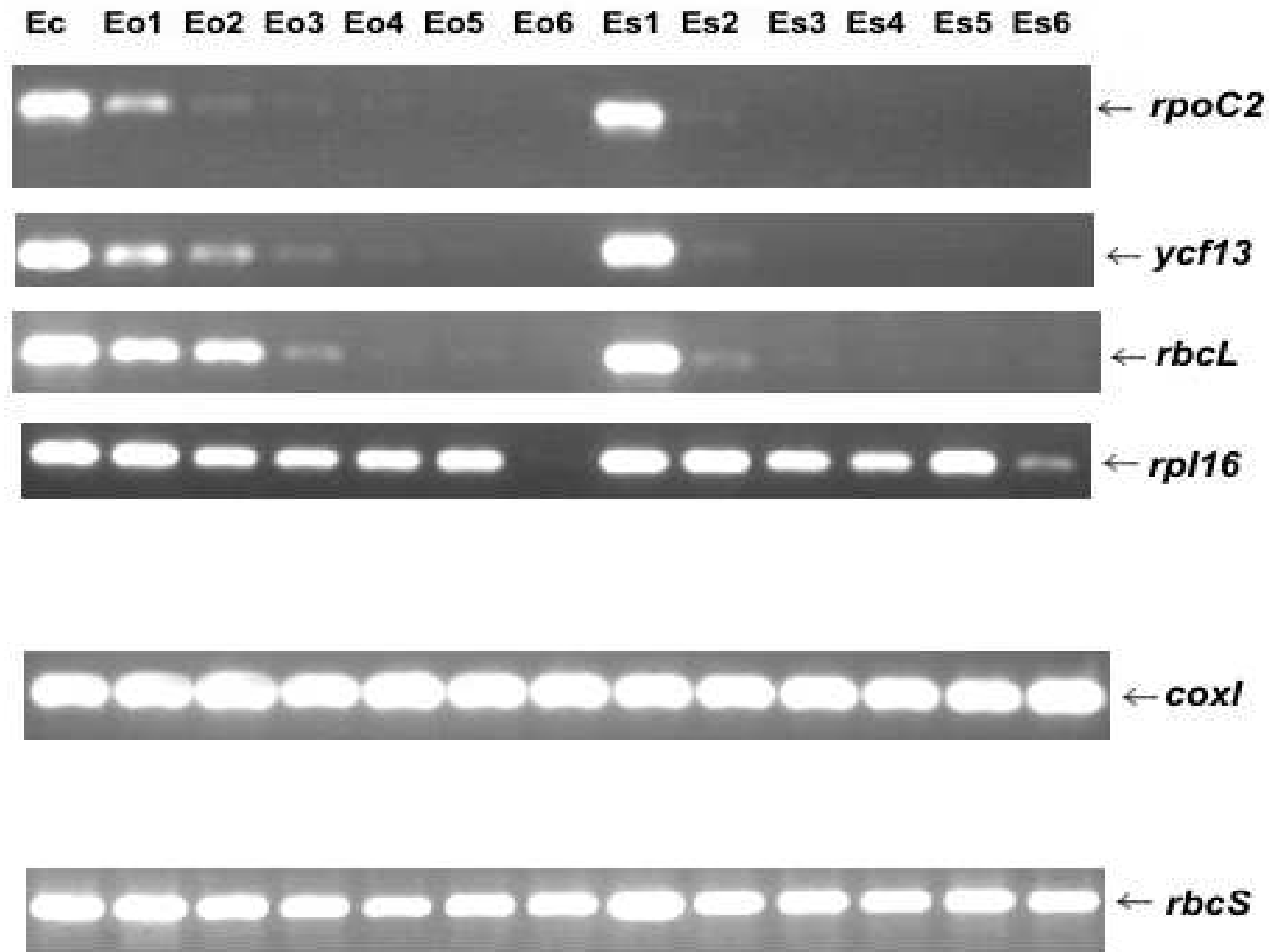




A.

B.

**A. Circular map of *Euglena gracilis* chloroplast DNA (Hallick R.B. *et al.* 1993).**  
**B. Gene map of the plastid DNA of *Astasia longa* (Gockel G. and Hachtel W., 2000).**  
**Genes on the outer circle are transcribed clockwise, genes on the inner circle are transcribed counter-clockwise. Transfer RNA genes are identified by the single-letter code for the cognate amino acid followed by the anticodon.**



Growth of *Euglena gracilis* in the presence of Streptomycin and Ofloxacin leads to a loss of chloroplast genes while nuclear and mitochondrial gene levels are unaffected by the bleaching agents.

Štúdium atakovania plastidov v *Euglena gracilis* nadobúda nový rozmer v súvislosti s objavom reziduálnych **plastidových genómov** v parazitických prvokoch z kmeňa **Apicomplexa** (predtým Sporozoa).

Záujem o plastidy ako špecifické chemoterapeutické ciele.

významné parazity – humánne i veterinárne

– nárast rezistencie *Plasmodium falciparum* a *P. vivax* proti celému spektru doteraz účinných antimalarických látok;

– kokcidiózy hydiny a dobytka spôsobené rezistentnými eimériami – obrovský ekonomický dopad ...

**Rudimentárne plastidové genómy ( $\approx 35$  kbp) v  
parazitických prvokoch z kmeňa **Apicomplexa**  
(predtým Sporozoa) – plastómy sú transkribované**

významné parazity:

humánne – rody *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Cyclospora*,  
*Cryptosporidium*

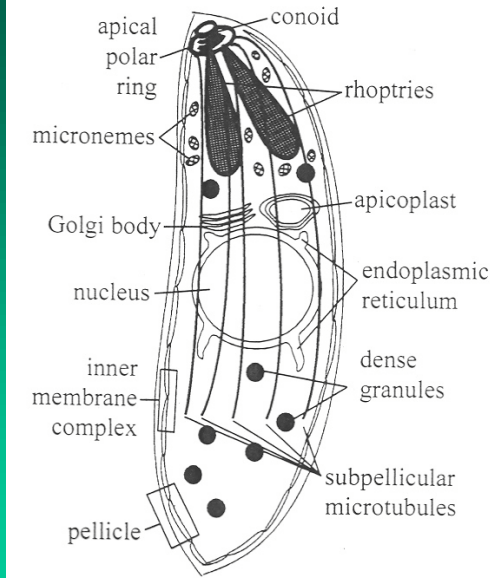
veterinárne – rody *Eimeria*, *Theileria*, *Neospora*, *Babesia*, *Sarcocystis*

redukcia rozsahu plastómu – asi 30% priemernej veľkosti  
plastómu vyšších rastlín; chýbajú tzv. fotosyntetické gény

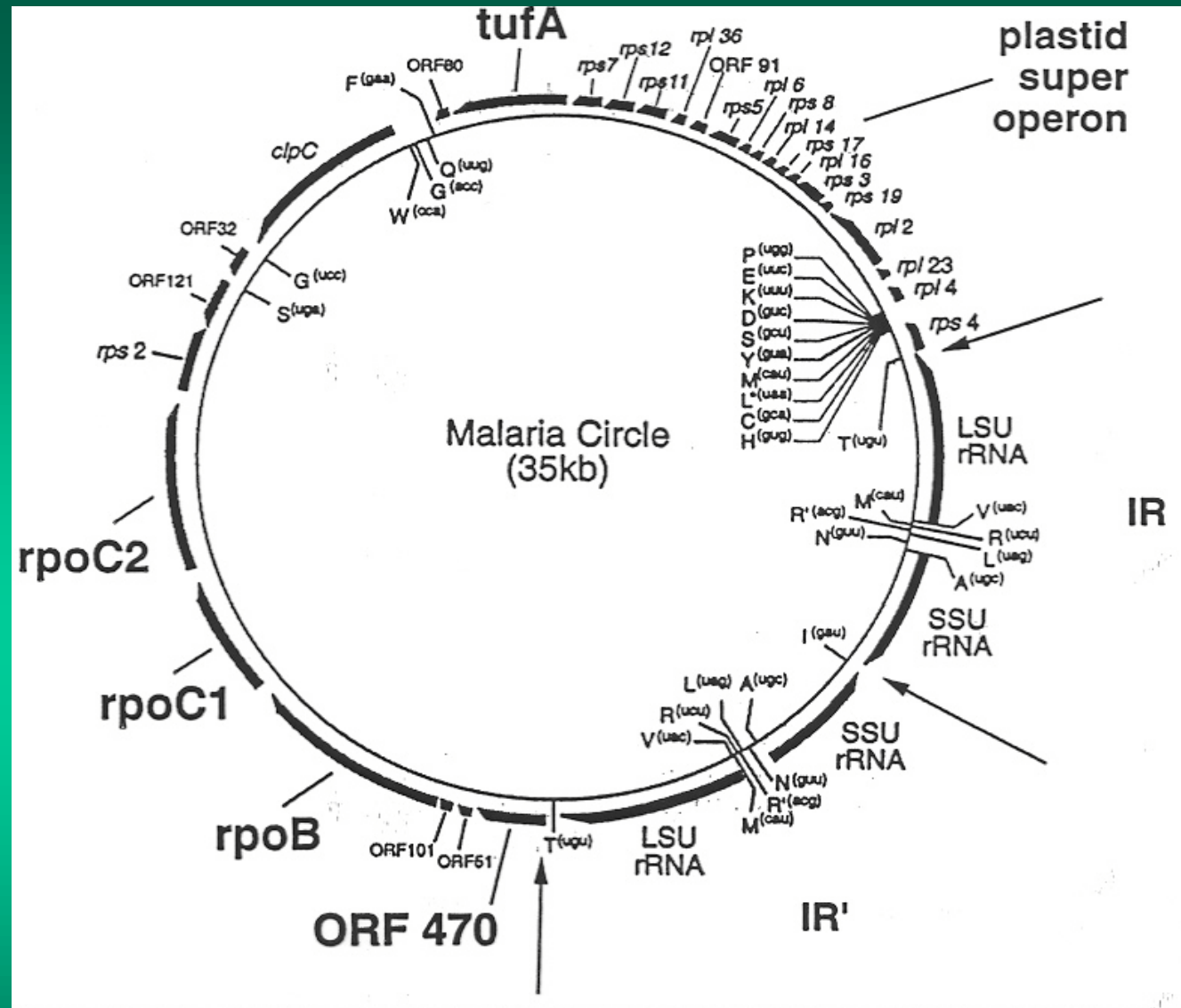
**kompletná sekvencia plastómov** *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma*  
*gondii*, *Eimeria tenella* a *Theileria parva*

Záujem o plastidy ako špecifické chemoterapeutické ciele.

**Apikoplasty** = špecializované plastidy – esenciálne



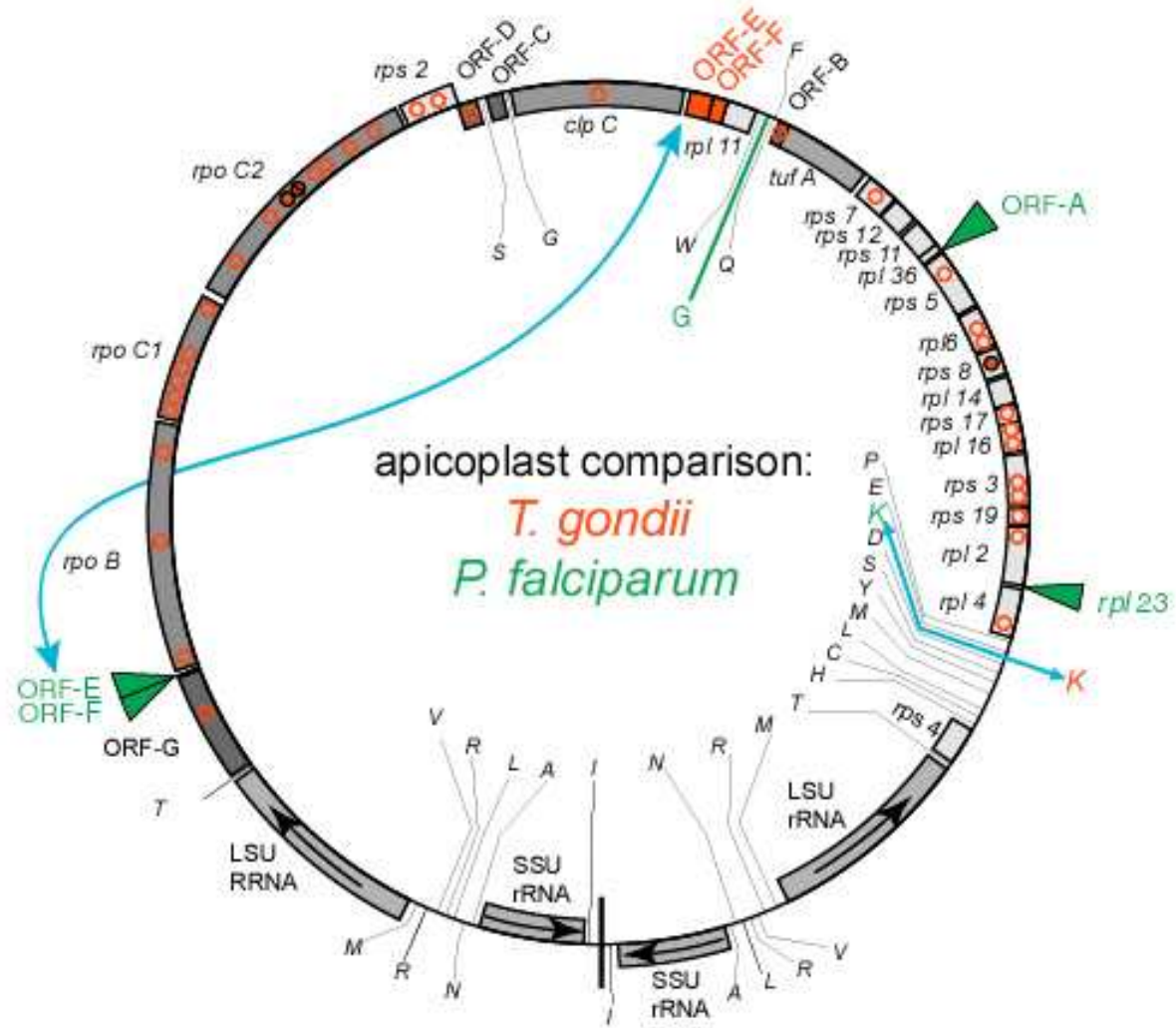
## The morphology of apicomplexan parasites



Map of the *Plasmodium falciparum* 35 kb genome showing features characteristic of plastid genomes in bold type.

Wilson R.J.M., et al.: Complete gene map of the plastid-like DNA of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J. Mol. Biol.* 261:155-172, 1996.

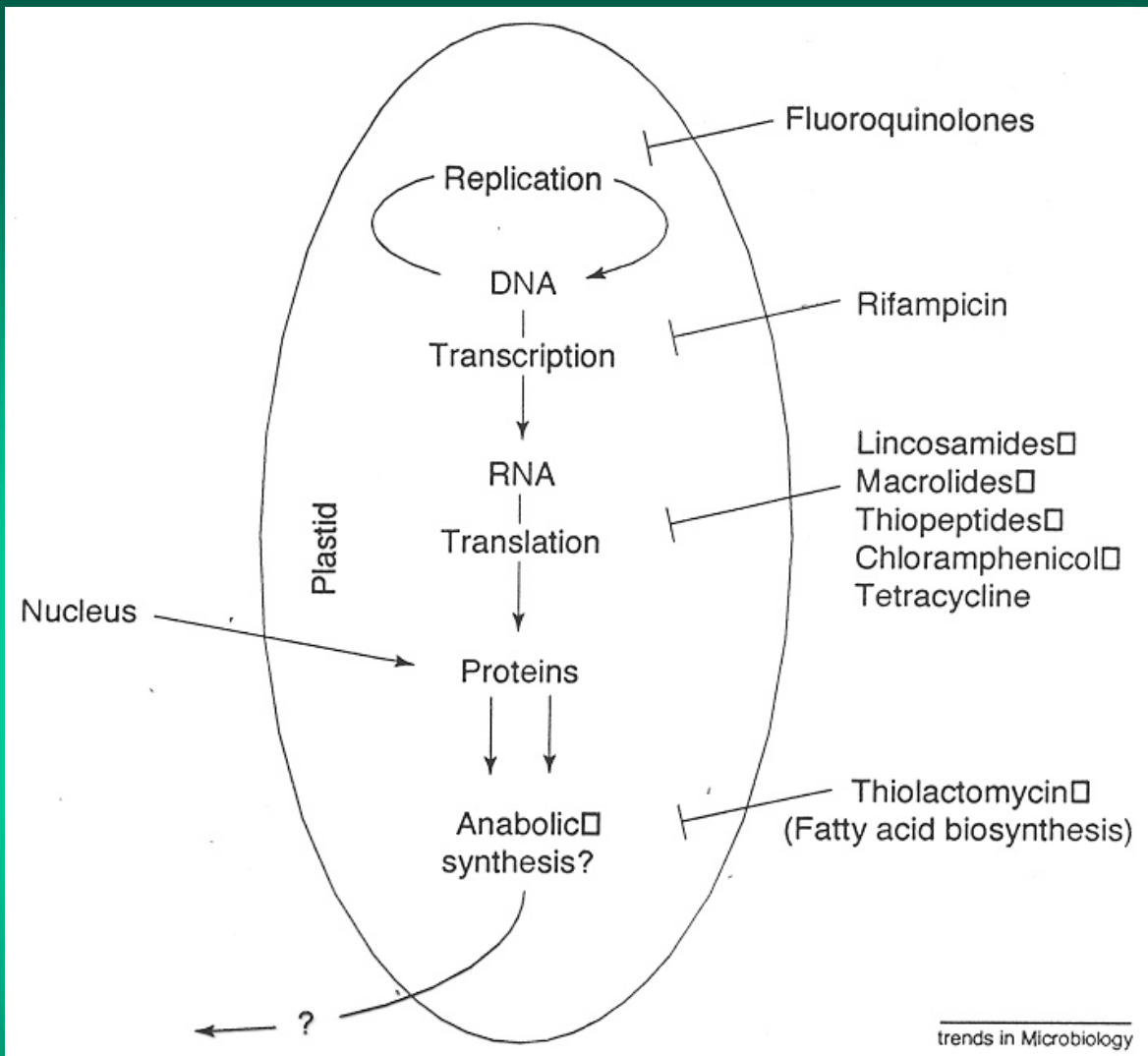
*Toxoplasma gondii*  
tachyzoite, see  
apicoplast (arrow)



Red indicates features present in *Toxoplasma gondii* plastome that are absent in *Plasmodium falciparum*; green – present in *P. falciparum* and absent in *T. gondii*.

The red open circles represent in-frame UGA codons that are predicted to encode tryptophan. Filled circles represent in-frame stop codons (UAA & UAG).





Metabolické dráhy v plastidoch a hlavné skupiny parazit-cídných antibiotík, ktoré atakujú tieto dráhy (pretože majú baktériový pôvod, sú citlivé k antibakteriovým látkam). Funkcia rudimentárnych plastidov spočíva pravdepodobne v syntéze niektorých pre bunku esenciálnych zlúčenín, napr. mastných kyselín. (podľa McFadden G.I., Ross D.S.: Apicomplexan plastids as drug targets, Trends Microbiol. 7, 328-333, 1999).

# Znefunkčnenie apikoplastov – nová stratégia boja proti apikomplexným parazitom

## Plastidy

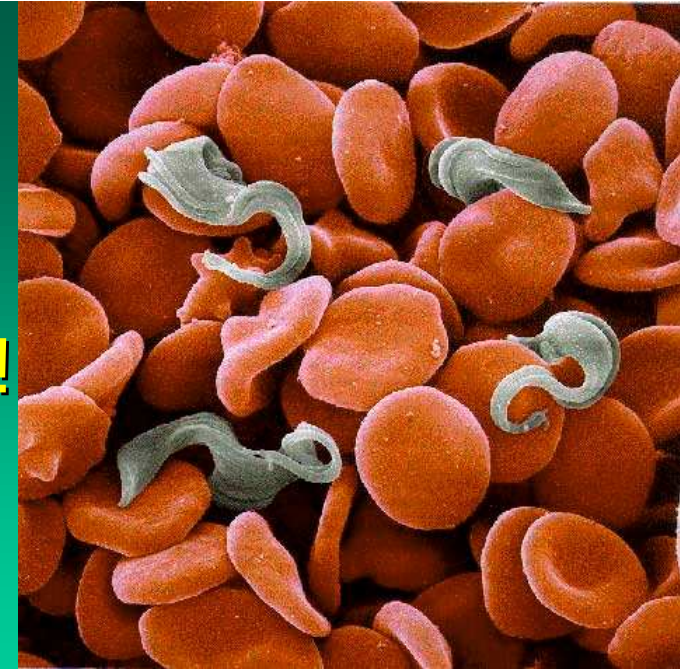
– nové **chemoterapeutické ciele** pre inovované lieky, ktoré účinkujú ako herbicídy bez toho, aby poškodzovali hostiteľské bunky cicavcov či vtákov

minimálny vedľajší efekt na liečené organizmy (plastidy sa v nich nenachádzajú)

– špecifická **inhibícia** procesov **replikácie, transkripcie a translácie** genetickej informácie lokalizovanej v apikoplastoch

– atakovanie **syntézy lipidov, aminokyselín, hému**

## Trypanozómy – riasy v prevlečení?!



Enzýmy podobné rastlinným – pravdepodobne cyanobaktériového (siničného) pôvodu – sú späté s metabolizmom parazitov z rodov ***Trypanosoma* a *Leishmania* (Kinetoplastida)**

(Hannaert V. *et al.*: Plant-like traits associated with metabolism of *Trypanosoma* parasites. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 1067-1071, 2003)

napr. sedoheptulóza-1,7-bisfosfatáza (SPBase) – enzým špecifický pre Calvinov cyklus fixácie  $\text{CO}_2$  v chloroplastoch vyšších rastlín (nachádza sa v glykozómoch trypanozóm)

**Sekundárna strata plastidov pri trypanozómach?**

**Kinetoplastida spolu s Euglenida – Euglenozoa**

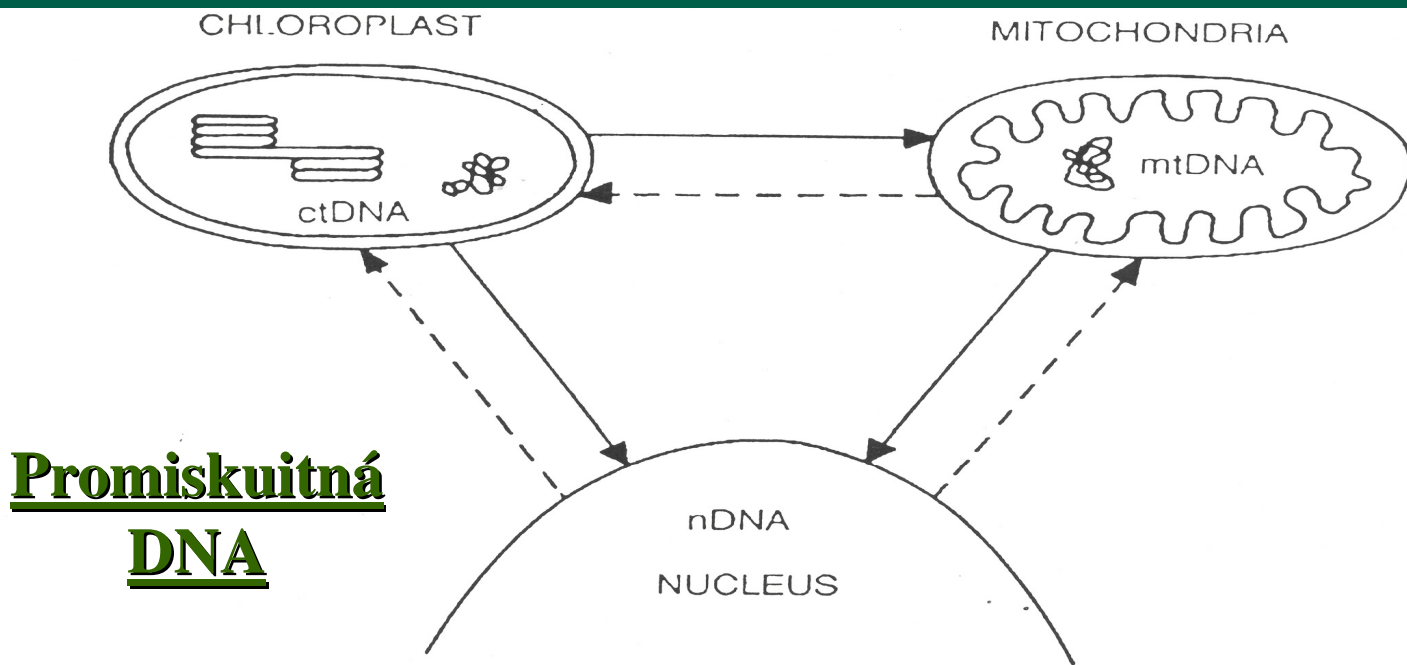
Plastidy bičíkovca *Euglena gracilis* – citlivé k rôznym xenobiotikám, hlavne k antibakteriovo účinným látkam

**Plastidy** – nové **chemoterapeutické ciele** pre inovované lieky vo viacerých medicínsky a veterinárne významných parazitických prvokoch

### model *Euglena*:

- \* detekcia biohazardných látok
- \* vyhľadávanie antimutagénov a antikarcinogénov
- \* perspektívne – skrining nových terapeutických látok voči parazitom s plastidmi, resp. metabolickými dráhami rastlinného (cyanobaktériového) pôvodu





**Promiskuitná**  
**DNA**

Fig. 10.1. Promiscuous DNA. The scheme shows the directions of movement of DNA segments between genetic compartments of eukaryotic cells (nucleus, mitochondrion, chloroplast). The *heavy arrows* indicate a well documented movement, the *broken lines* refer to an assumed but not fully proved, movement.

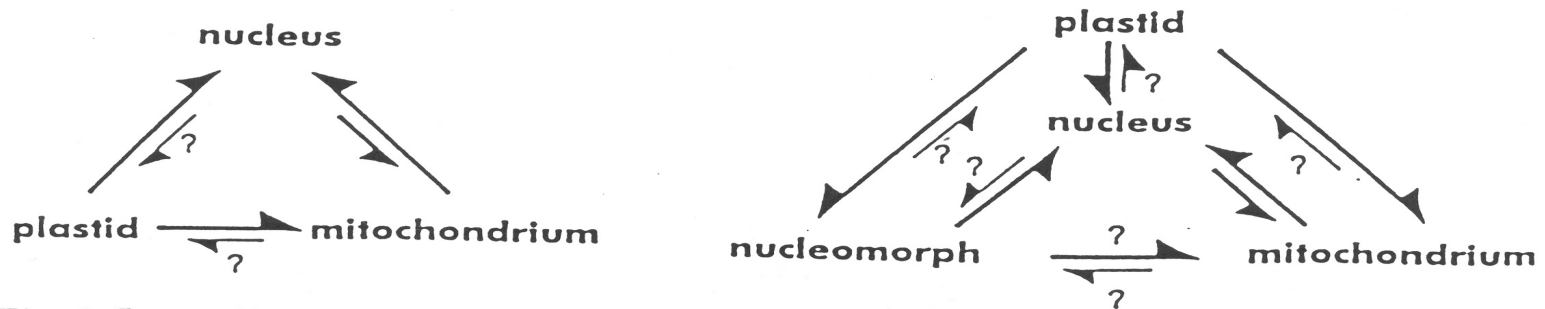
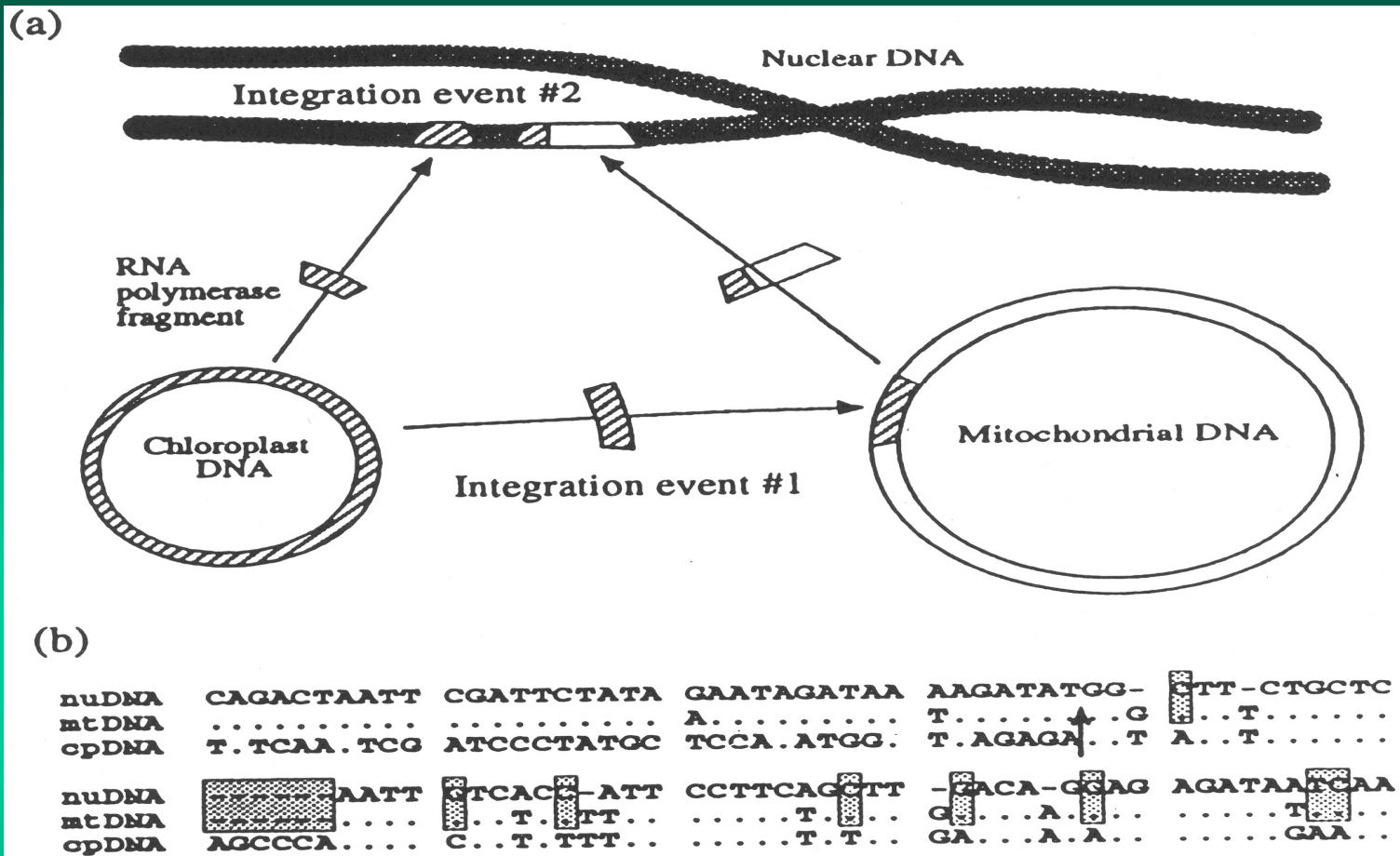


Fig. 2. Intracellular flux of genetic information accompanying the evolution of the eukaryotic cell, in a primary and terminal secondary system (left), and an intermediate secondary endocytobiotic system (right)



**Fig. 5.** Sequential movement of a region of chloroplast DNA to mitochondria and then to the nucleus. **a** Diagram of the inferred sequence of events. The chloroplast sequence first moved to the mitochondrial genome (integration event #1) and then moved to the nuclear genome along with a portion of the mitochondrial genome (integration event #2). *Striped* regions represent chloroplast DNA and *clear* regions represent mitochondrial DNA. **b** Alignment of a portion of the nuclear sequence (nuDNA) 5' of RNA polymerase pseudogene (RICRPBSP) with rice chloroplast (*cp*) DNA (X15901) and mitochondrial (*mt*) DNA (D13112). The *shaded boxes* indicate characters shared between the mitochondrial and nuclear sequences. The *arrow* indicates the boundary of the chloroplast insertion into the mitochondrial genome.

**Table 2. Genome sizes of bacteria associated with animals<sup>a</sup>**

Species	Genome size (Mb) <sup>c</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>b</sup>	4.22
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0.75
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0.58
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0.81
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	3.70
<i>Rickettsia prowazekii</i>	1.10
<i>Erichia risticii</i>	1.40
<i>Escherichia coli</i> <sup>b</sup>	4.64
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.83
<i>Buchnera aphidicola</i>	0.630–0.645
<i>Coxiella burnetti</i>	1.60
<i>Treponema pallidum</i>	1.14
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1.45
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.04

<sup>a</sup>Data taken from Refs 24, 30 and from <http://wit.integratedgenomics.com/GOLD/prokaryagenomes.html>

<sup>b</sup>*Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* are free-living bacteria included for comparison.

<sup>c</sup>Abbreviation: Mb, Megabase.

**Table 1. Size comparison of sequenced chloroplast genomes, three large mitochondrial genomes, and a cyanobacterial genome**

Due to length limitations in this forum, accession numbers (in parentheses) rather than references are given for plastids.

Genome	Length in Base Pairs	No. of Protein-Coding Genes	No. of rRNA Clusters
ct <i>Porphyra</i> (U38804)	191,028	200	2
ct <i>Cyanophora</i> (U30821)	135,599	136	2
ct <i>Odontella</i> (Z67753)	119,704	124	2
ct <i>Marchantia</i> (X04465)	121,024	84	2
ct <i>Chlorella</i> (AB001684)	150,613	78	1
ct <i>Nicotiana</i> (S54304)	155,844	76	2
ct <i>Oryza</i> (X15901)	134,525	76	2
ct <i>Zea</i> (X86563)	140,387	76	2
ct <i>Pinus</i> (D17510)	119,707	69	1
ct <i>Euglena</i> (Z11874)	143,170	58	3
ct <i>Plasmodium</i> (X95275-6)	29,422	23	2
ct <i>Epifagus</i> (M81884)	70,028	21	2
mt <i>Reclinomonas</i> <sup>a</sup>	69,034	63	1
mt <i>Marchantia</i> <sup>b</sup>	186,608	41	1
mt <i>Arabidopsis</i> <sup>c</sup>	366,924	31	1
<i>Synechocystis</i> sp. <sup>d</sup>	3,573,470	3168	2

<sup>a</sup> Lang et al. (1997). <sup>b</sup> Oda et al. (1992). <sup>c</sup> Unseld et al. (1997). <sup>d</sup> Kaneko et al. (1996).

# Súčasný stav endosymbiotickej teórie o pôvode eukaryotickej bunky – aktuálne problémy

Endosymbióza ako východisko eukaryotického stavu

Charakter hostiteľskej bunky (archeón, baktéria), syntrofia

## **Mitochondrie:**

- predkovia  $\alpha$ -proteobaktérie – monofyletický pôvod
- spätosť s pôvodom eukaryotickej bunky ako takej
- **bezmitochondriové eukaryota** – sekundárna strata
- hydrogenozómy – modifikované mitochondrie bez genómu
- kryptické mitochondrie (crypton, mitosome)
- anaeróbne mitochondrie
- funkčná genomika mitochondrií, *Rickettsia prowazekii*



## Plastidy:

- predkovia **cyanobaktérie** (sinice)
- monofyletický pôvod primárnych plastidov (2 membrány) – cyanobaktéria v eukaryotovi
- komplexné plastidy (3, 4 membrány) **sekundárna endosymbióza** – fotosyntetizujúci eukaryot v eukaryotovi
- nukleomorfa
- funkčná genomika plastidov a cyanobaktérií
- plastidy za hranicami rastlinnej ríše
- plastidy ako chemoterapeutické ciele (*Plasmodium, Eimeria, Toxoplasma, Theileria; ± Trypanosoma*)

Redukcia organelových genómov – príčiny, pravidlá, limity,  
paralely s vnútrobunkovými parazitmi

Horizontálny transfer génov