

# Organizacja aparatu importu białka do mitochondriów – perspektywa filogenetyczna

## STRESZCZENIE

**P**rawidłowe funkcjonowanie mitochondriów, i w konsekwencji komórek eukariotycznych, wymaga bezwzględnie importu większości białek mitochondrialnych. Proces ten może przebiegać różnymi drogami, a w ich powstaniu uczestniczą złożone kompleksy białkowe, nazywane kompleksami importowymi, zlokalizowane we wszystkich przedziałach mitochondrialnych, w tym w obu błonach mitochondrialnych. Niniejsze opracowanie służy podsumowaniu aktualnego stanu wiedzy dotyczącego organizacji kompleksów importowych u przedstawicieli wyróżnianych obecnie różnych linii rozwojowych organizmów eukariotycznych. Wylaniający się obraz, mimo braku wielu danych, wskazuje na zróżnicowanie organizacji tych kompleksów, szczególnie widoczne w przypadku kompleksu TOM, co może mieć istotne implikacje natury ewolucyjnej jak i aplikacyjnej.

## WPROWADZENIE

Import białka do mitochondriów to proces o fundamentalnym znaczeniu dla funkcjonowania tych organelli. Dotyczy on wszystkich białek błony zewnętrznej i przestrzeni międzybłonowej oraz większości białek zlokalizowanych w błonie wewnętrznej i macierzy mitochondrialnej [1]. Proces ten jest możliwy dzięki obecności w przedziałach mitochondrialnych kompleksów białkowych (nazywanych w niniejszym opracowaniu importowymi) zbudowanych z szeregu podjednostek i pełniących funkcje translokaz i/lub insertaz. Jak się szacuje, do tej pory opublikowano już kilka tysięcy prac poświęconych zagadnieniu importu białka do mitochondriów. Wskazują one na nadal rosnącą liczbę identyfikowanych podjednostek kompleksów importowych, jak i złożoność dróg importu białek do różnych przedziałów mitochondrialnych [2]. Równocześnie, dostępne dane przemawiają za organizacją modułową kompleksów importowych. Oznacza ona obecność podjednostek tworzonych przez białka obecne u przedstawicieli różnych linii rozwojowych, jak i podjednostek tworzonych przez białka charakterystyczne dla określonych linii rozwojowych [3-4]. Z drugiej strony, znane są przykłady redukcji składu podjednostkowego i złożoności analizowanych kompleksów importowych [5]. Nie można oczywiście wykluczyć, że stanowi to wynik ograniczeń metodycznych, uniemożliwiających wskazanie funkcjonalnych równoważników brakujących podjednostek. Niewątpliwie jednak wylaniający się obraz organizacji kompleksów importowych wskazuje na wyraźne zróżnicowanie u przedstawicieli różnych linii rozwojowych. Zatem, organizacja ta stanowi zazwyczaj pewien wariant schematu wypracowanego dla organizmów modelowych, określanego mianem kanonicznego.

## APARAT IMPORTU BIAŁKA DO MITOCHONDRIÓW – UJĘCIE KANONICZNE

W toku ewolucji komórki eukariotycznej, obejmującej także formowanie mitochondriów, tylko niewielka część materiału genetycznego prokariotycznego przodka została zachowana w postaci mitochondrialnego DNA, kodującego od 1-10% białek mitochondrialnych. Pozostała część białek mitochondrialnych kodowana jest przez geny jądrowe, co w konsekwencji wymusza ich import do mitochondriów [3,6]. Kluczowe znaczenie dla wyjaśnienia organizacji kompleksów importowych tworzących aparat importu białka do mitochondriów oraz ich funkcji i współdziałania miało wykorzystanie u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i grzyba *Neurospora crassa*, organizmów modelowych stosowanych początkowo, a następnie powszechnie, w badaniach tego zagadnienia. W konsekwencji, aparat importu białka do mitochondriów drożdży *S. cerevisiae* pełni w literaturze tematu rolę kanonu, stanowiąc punkt odniesienia w badaniach dotyczących mitochondriów innych organizmów eukariotycznych, w tym roślin i zwierząt [7-8].

Jak pokazano na rycinie 1, w zewnętrznej błonie mitochondrialnej obecne są przynajmniej trzy kompleksy importowe: kompleks TOM, kompleks TOB/SAM i kompleks MIM. Kompleks TOM (ang. *translocase of the outer membrane*; trans-

Hanna Kmita

Małgorzata Wojtkowska ✉

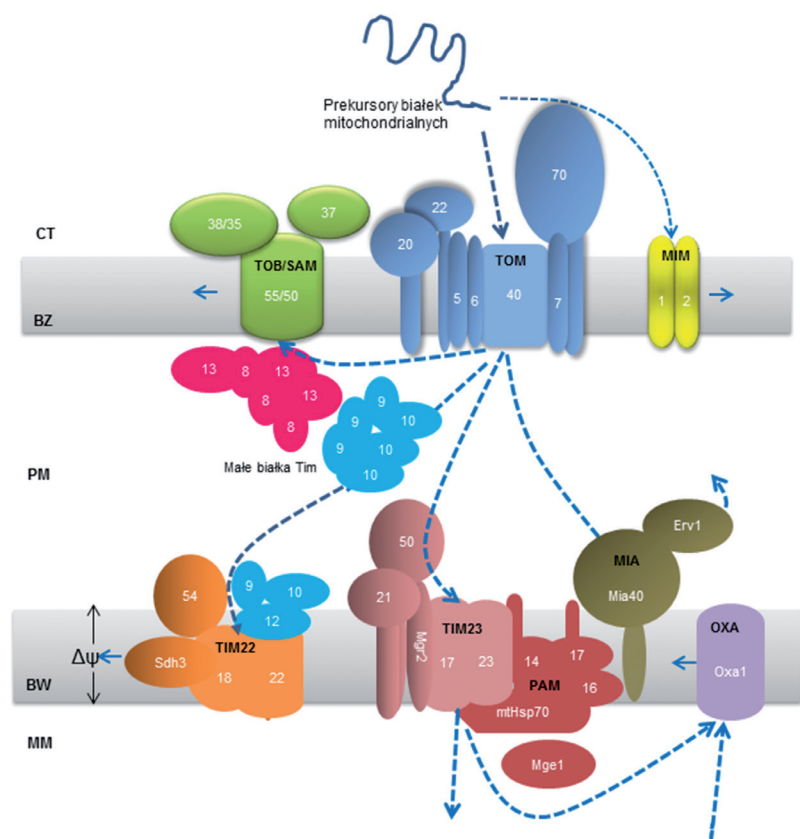
Zakład Bioenergetyki, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

✉ Zakład Bioenergetyki, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań; tel.: (61) 829 59 02, e-mail: woytek@amu.edu.pl

Artykuł otrzymano 9 maja 2016 r.  
Artykuł zaakceptowano 19 maja 2016 r.

**Słowa kluczowe:** import białka do mitochondriów, kompleksy importowe, linie rozwojowe organizmów eukariotycznych

**Wykaz skrótów:** TOM (ang. *translocase of the outer membrane*) – translokaza błony zewnętrznej; TOB/SAM (ang. *topogenesis of the mitochondrial outer membrane  $\beta$ -barrel proteins/sorting and assembly machinery*) – topogeneza białek zewnętrznej błony mitochondrialnej o strukturze beczułki  $\beta$ /maszyna sortowania i składania białek; MIM (ang. *mitochondrial import machinery*) – mitochondrialna maszyna importowa; TIM22 (ang. *translocase of the inner membrane 22*) – translokaza błony wewnętrznej 22; TIM23 (ang. *translocase of the inner membrane 23*) – translokaza błony wewnętrznej 23; PAM (ang. *presequence translocase – associated motor*) – motor sprzężony z translokacją presekwenjacji; MIA (ang. *mitochondrial intermembrane space assembly*) – składanie białek przestrzeni międzybłonowej; OXA – insertaza Oxa1



**Rycina 1.** Schemat kanonicznej organizacji aparatu importu białka do mitochondriów. CT – cytoplazma; BZ – błona zewnętrzna; PM: przestrzeń międzybłonowa; BW – błona wewnętrzna, M – macierz mitochondrialna. Strzałki oznaczają postulowane szlaki importu białka do mitochondriów. Na podstawie [2,8], zmodyfikowano.

lokaza błony zewnętrznej), nazywany jest główną bramą do mitochondriów, ponieważ przeprowadza translokację importowanych białek przez błonę zewnętrzną i w obszar tej błony oraz umożliwia odszyfrowanie sekwencji kierującej i następnie sortowanie do odpowiedniego przedziału [2,9-11]. Kompleks ten w wersji kanonicznej (masa cząsteczkowa 400-500 kD) zawiera siedem odrębnych podjednostek tworzących łącznie trzy kanały o modulowanej aktywności [12-13]. Kompleks TOB/SAM (ang. *topogenesis of the mitochondrial outer membrane  $\beta$ -barrel proteins/sorting and assembly machinery*; topogeneza białek zewnętrznej błony mitochondrialnej o strukturze beczulki  $\beta$ /maszyna sortowania i składania białek) przejmuje importowane białka z kompleksu TOM i wbudowuje je w błonę zewnętrzną, w tym białka o strukturze beczulki  $\beta$  i inne podjednostki kompleksu TOM [2,10,14-16]. W wersji kanonicznej kompleks TOB/SAM ma masę cząsteczkową ok. 150 kDa i zbudowany jest z trzech podjednostek, z których jedna podobnie jak w przypadku kompleksu TOM, ma zdolność tworzenia kanału, przy czym ich stechiometria oraz organizacja całego kompleksu, nie zostały do tej pory ustalone. Istotną rolę we współdziałaniu kompleksów TOM i TOB/SAM odgrywa zlokalizowany w przestrzeni międzybłonowej kompleks małych białek TIM (ang. *translocase of the inner membrane; translokaza błony wewnętrznej*), tworzony przez białka Tim8 i Tim13 [2]. Z kolei kompleks MIM (ang. *mitochondrial import machinery; mitochondrialna maszyna importowa*), nazywany także insertazą MIM, nie zawiera aktywności kanałowej, a jego rola polega na udziale we wbudowywaniu w błonę ze-

wnętrzną białek zawierających jeden lub więcej odcinków błonowych o strukturze helisy, w tym podjednostek kompleksu TOM [1-2,8,11,17-18]. W wersji kanonicznej, o masie ok. 150 kDa, kompleks ten zbudowany jest z dwóch podjednostek [2].

W wewnętrznej błonie mitochondrialnej zlokalizowane są przynajmniej cztery kompleksy importowe: kompleks TIM22, kompleks TIM23, kompleks OXA1 i kompleks MIA. Kompleks TIM22 (ang. *translocase of the inner membrane 22; translokaza błony wewnętrznej 22*) bierze udział w imporcie białek błony wewnętrznej, zawierających 4 lub 6 odcinków transbłonowych o strukturze helisy, w obrębie których znajdują się sygnały kierujące. Najbardziej znanym przedstawicielem tej grupy białek są nośniki błony wewnętrznej. Podobnie jak kompleks TOM i TOB/SAM, kompleks TIM22 zawiera podjednostkę o aktywności kanałowej [1-2,8]. W wersji kanonicznej, kompleks TIM22 zbudowany jest z czterech podjednostek, jednak jego funkcjonowanie wymaga obecności kompleksu małych białek TIM, zlokalizowanego w przestrzeni międzybłonowej i obejmującego białka Tim9, Tim10 i Tim12. Kompleks TIM23 uczestniczy w imporcie białek zawierających klasyczny sygnał kierujący w postaci presekweny na końcu aminowym i zlokalizowanych w macierzy mitochondrialnej, błonie wewnętrznej i przestrzeni międzybłonowej. Podobnie jak kompleks TIM22, kompleks TIM23 (ang. *translocase of the inner membrane 23; translokaza błony wewnętrznej 23*) pełni funkcję kanału zależnego pod potencjału i umożliwiającego uwolnienie transportowanego białka w obszar

błony, ale umożliwia także przeniesienie białka przez tę błonę [2,8,10-11,19-20]. W wersji kanonicznej, kompleks TIM23 może oddziaływać z kompleksami mitochondrialnego łańcucha oddechowego (III i IV) lub z kompleksem PAM (ang. *presequence translocase - associated motor; motor sprzężony z translokacją presekweny*), który w sumie tworzy 6 podjednostek. W konsekwencji istnieją dwie kanoniczne formy tego kompleksu; TIM23<sup>SORT</sup> (5 podjednostek) i TIM23<sup>PAM</sup> (3 podjednostki), zawierające te same trzy podjednostki, w tym podjednostkę tworzącą kanał. Z kolei kompleks OXA1, nazywany także insertazą OXA1, umożliwia wbudowanie w błonę wewnętrzną białek znajdujących się w macierzy mitochondrialnej, w tym białek syntetyzowanych w mitochondriach jak i wprowadzonych do macierzy przez kompleks TIM23 [21-22]. Kompleks OXA1 jest prawdopodobnie dimerem białka Oxa1 [23] jednak udział tego kompleksu, jak i współdziałających z nim białek w kierowaniu importowanych białek ku błonie i wbudowywaniu w błonę jest nadal w dużym stopniu nieznan. Natomiast kompleks MIA (ang. *mitochondrial intermembrane space assembly; składanie białek przestrzeni międzybłonowej*), nazywany także systemem sztafety dwusiarczku (ang. *disulfide relay system*), uczestniczy w imporcie do przestrzeni międzybłonowej białek zawierających reszty cysteiny, które w trakcie importu są utleniane i tworzą mostki dwusiarczkowe [2,8,24]. W wersji kanonicznej kompleks ten zbudowany jest z dwóch podjednostek, wykazujących aktywność oksydoreduktazy i oksydazy sulfhydrylowej [24].

**Tabela 1.** Zróżnicowanie organizacji kompleksów importowych zlokalizowanych w błonie zewnętrznej mitochondriów.

Supergrupa	Opisthokonta			Amoebozoa		Archeplastida		Excavata		Chromalveolata	
Linie rozwojowe/ Organizm	<i>S. cerevisiae</i>	<i>H. sapiens</i>	<i>M. brevicollis</i>	<i>A. castellanii</i>	<i>D. discoideum</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>C. merolae</i>	<i>T. brucei</i>	<i>N. grubei</i>	<i>E. siliculosus</i>	<i>P. falciparum</i>
<b>KOMPLEKS TOM</b>											
Tom5	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Tom6	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Tom7	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
Tom20	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Tom22 – roślinny	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Tom22 – drożdżowy	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Tom40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tom70	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
OM64	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
ATOM11	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
ATOM12	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
ATOM46	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
ATOM69	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>KOMPLEKS TOB/SAM</b>											
Tob55/Sam50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tob38/Sam35	+	MTX	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mas37/Sam37	+	MTX	+	MTX	MTX	MTX	-	+	-	-	-
<b>INSERTAZA MIM</b>											
Mim1	+	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Mim2	+	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?

Na podstawie [4,7-8,29,31,37-38,45,51,56]. (+) i (-) oznacza odpowiednio obecność i brak białka; ? - brak danych; MTX - metaksyna, inne objaśnienia w tekście.

Jak stwierdzono powyżej wymienione kompleksy odgrywają kluczową rolę w imporcie i składaniu białek kierowanych do jednego z czterech przedziałów mitochondrialnych. Co więcej, kompleksy te współdziałają w tworzeniu szlaków importu białek do mitochondriów (Ryc. 1). Dostępne obecnie dane pozwalają na wytyczenie następujących podstawowych i kanonicznych szlaków importu białka do mitochondriów, umożliwiających wprowadzenie importowanych białek do: (1) błony zewnętrznej (insertaza MIM, kompleks TOM i kompleks TOB/SAM); (2) przestrzeni międzybłonowej (kompleks TOM i kompleks MIA; kompleks TOM i kompleks TIM23; (3) błony wewnętrznej (insertaza OXA1; kompleks TOM i kompleks TIM23; kompleks TOM, kompleks TIM23 i insertaza OXA1; kompleks TOM i kompleks TIM22) i (4) macierzy mitochondrialnej (kompleks TOM i kompleks TIM23).

#### ORGANIZACJA KOMPLEKSÓW IMPORTOWYCH U PRZEDSTAWICIELI RÓŻNYCH LINII ROZWOJOWYCH - ODEJŚCIE OD KANONU

Biorąc pod uwagę kluczową rolę importu białka do mitochondriów w funkcjonowaniu tych organelli i w konsekwencji komórek eukariotycznych, oszacowanie stopnia konserwatywności ich organizacji może mieć istotne znaczenie dla wykorzystania organizmów modelowych w badaniu dysfunkcji mitochondriów człowieka. Z drugiej strony, istniejące różnice mogą dostarczyć interesujących danych pozwalających na

weryfikację związków ewolucyjnych między przedstawicielami różnych linii rozwojowych, jak i na wskazanie możliwych etapów transformacji mitochondriów w hydrogenosomy i mitosomy, co w konsekwencji może doprowadzić do ustaleń o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym, także w praktyce klinicznej. Obecnie obowiązujący pogląd zakłada zachowanie w pewnym stopniu w ewolucji organizacji kompleksów importowych, mimo istniejących różnic topologicznych i funkcjonalnych. Pogląd ten jest głównie oparty na dużym podobieństwie organizacji tych kompleksów u *S. cerevisiae*, ssaków (w tym ludzi) i roślin [2,7-8]. Mniejszą jednak uwagę poświęca się w opracowaniach porównawczych przedstawicielom innych linii rozwojowych. Należy zaznaczyć, że obecnie obowiązujący system klasyfikacji organizmów eukariotycznych obejmuje 6 supergrup. Są to Amoebozoa, Opisthokonta (zwierzęta i grzyby), Archaeplastida (rośliny), Chromalveolata, Excavata i Rhizaria [25-27]. System ten zastąpił stosowany do niedawna podział organizmów eukariotycznych na rośliny, zwierzęta, grzyby i protisty.

#### KOMPLEKS TOM

Kanoniczny kompleks TOM drożdży *S. cerevisiae* zbudowany jest z siedmiu podjednostek (Ryc. 1). Są to białka: (1) Tom40, odgrywające podstawową rolę w tworzeniu kanału importowego; (2) Tom22, pełniące funkcję wewnętrznego receptora dla importowanych białek, jak i odpowiedzialne za architekturę kompleksu; (3) Tom5, Tom6 i Tom7, uczest-



niczące w składaniu kompleksu i regulacji jego stabilności i (4) luźno związane z kompleksem Tom70 i Tom20, pełniące funkcje receptorów rozpoznających importowane białka dysponujące różnymi sekwencjami kierującymi [2,8,17]. Jak podsumowano w Tabeli 1, dostępne dane dotyczące organizacji kompleksu TOM u przedstawicieli różnych linii rozwojowych wskazują, iż jedyną powszechnie występującą podjednostką jest Tom40 [28-30]. Co ciekawe, ortologi Tom7 zidentyfikowano dotychczas u większości przedstawicieli Ophistokonta, Amoebozoa i u niektórych Archeplastida i Chromalveolata, ale nie u przedstawicieli Excavata [31].

Organizacja kompleksu TOM u zwierząt (zaliczanych podobnie jak *S. cerevisiae* do Ophistokonta) jest bardzo bliska kanonu reprezentowanego przez kompleks TOM *S. cerevisiae* [3,32-34]. Natomiast u przedstawicieli pozostałych supergrup, tj. Archaeplastida, Chromalveolata, Excavata, Rhizaria i Amoebozoa, kompleks TOM wykazuje duże zróżnicowanie i w konsekwencji zróżnicowane podobieństwo do kanonu. U roślin nie stwierdzono obecności ortologów drożdżowych Tom20 i Tom70, ortolog drożdżowego Tom22 ma istotnie mniejszą masę cząsteczkową (Tom9, nazywany także roślinnym Tom22) i odmienną lokalizację w błonie, a w przypadku zidentyfikowanych białek Tom5 i Tom6 dyskutuje się pokrewieństwo filogenetyczne z odpowiednimi białkami drożdżowymi [4,7,35-36].

W przypadku przedstawicieli pozostałych supergrup, tj. Chromalveolata, Excavata, Rhizaria i Amoebozoa, jak i innych niż rośliny oraz zwierzęta i grzyby przedstawicieli Archeplastida oraz Opisthokonta, dostępne dane są niezbyt liczne i nie zawsze spójne. Wskazują one jednak na znaczne odstępstwa od kanonu (Tab. 1). Co ciekawe, większość zidentyfikowanych do tej pory białek Tom22 odpowiada wersji roślinnej. Obecność roślinnego Tom22 stwierdzono nie tylko u przedstawicieli Archeplastida, ale również u przedstawicieli Excavata i przedstawicieli Chromalveolata [4,31]. Z kolei ortologi drożdżowych Tom70 i Tom20 zidentyfikowano u przedstawicieli Chromalveolata i Rhizaria, ale nie u przedstawicieli Excavata i niektórych innych niż rośliny przedstawicieli Archeplastida, jak np. czerwone glony [37]. Co więcej, podobnie jak w przypadku kompleksu TOM roślin, w kompleksie tym u niektórych przedstawicieli Excavata posiadających mitosomy, stwierdzono obecność nowych białek nie będących ortologami Tom70 i Tom20. Są to ATOM46 i ATOM69 [4]. U przedstawicieli Excavata (*Trypanosoma brucei*) zidentyfikowano także białka ATOM11 i ATOM12, będące analogami drożdżowych i roślinnych białek Tom5 i Tom6 [4]. Zatem organizacja kompleksu TOM u przedstawicieli różnych linii rozwojowych wykazuje dużą zmienność. Co więcej, w przypadku przedstawicieli tej samej linii rozwojowej kompleks TOM może mieć skład unikatowy. Na przykład, u przedstawicieli Amoebozoa dostępne dane wskazują na obecność pięciu, czterech, trzech lub tylko jednej podjednostki kompleksu TOM [38].

#### KOMPLEKS TOB/SAM

Jak pokazano w tabeli 1 i na rycinie 1, kanoniczna organizacja kompleksu TOB/SAM obejmuje trzy białka: Tob55/Sam50, Tob38/Sam35 i Mas37/Sam37 [2,8-9,20,39-40]. Białko Tob55/Sam50 tworzy kanał importowy i współdziała z białka-

mi Tob38/Sam35 i Mas37/Sam37, co zapewnia rozpoznanie, transport i integrację w błonę białek o strukturze beczulki  $\beta$ . Kompleks TOB/SAM oddziałuje również z białkiem Mdm10, wchodzącym w skład kompleksu ERMES [41-42]. Oddziaływanie to uznaje się za kluczowe dla złożenia funkcjonalnego kompleksu TOM z tworzących go podjednostek [42].

Białko Tob55/Sam50 jest homologiem białka Bama (Omp85) bakterii Gram-ujemnych [14,19,43-44] i jego obecność u organizmów eukariotycznych uznaje się za powszechną [5,28]. Jedynym wyjątkiem od tej reguły wydaje się być *Giardia intestinalis* (Excavata), charakteryzująca się obecnością mitosomów [5], przy czym analiza genomów innych przedstawicieli Excavata [4] oraz innych organizmów zawierających mitosomy, a także hydrogenosomy [45] wskazuje na obecność białka Tob55/Sam50. Odpowiednikami drożdżowych białek Mas37/Sam37 i Tob38/Sam35 u innych organizmów są metaksyny (MTX), które zidentyfikowano u zwierząt i roślin [7-8] oraz u przedstawicieli Amoebozoa [38]. Jednakże u innych organizmów białka te nie zostały dotąd poznane.

#### INSERTAZA MIM

Drożdżowa insertaza MIM zbudowana jest z dwu podjednostek; Mim1 i Mim2 [2,17,46-47]. Jednak u innych organizmów nie zidentyfikowano dotychczas białek mogących być homologami lub analogami Mim1 i Mim2 (Tab. 1). Może to wskazywać na brak ewolucyjnego zakonserwowania tego kompleksu.

#### KOMPLEKS TIM22

Kompleks TIM22 w ujęciu kanonicznym zbudowany jest z czterech podjednostek: Tim18, Tim22, Tim54 i Sdh3 (Ryc. 1 i Tab. 2). Białko Tim22 tworzy kanał importowy, podczas gdy białka Tim18 i Tim54 pełnią funkcję stabilizującą. Z kolei, zaliczane od niedawna w skład kompleksu, białko Sdh3 jest podjednostką kompleksu II łańcucha oddechowego, niezbędną dla prawidłowej aktywności kompleksu TIM22 [8,48].

Jak podsumowano w tabeli 2, dostępne dane wskazują na niewielkie zróżnicowanie organizacji kompleksu TIM22, przy czym obecność białek Tim18 i Tim54 wydaje się być charakterystyczna tylko dla *S. cerevisiae*. W skład kompleksu TIM22 człowieka wchodzi Tim22 i Sdh3, choć oddziaływania pomiędzy tymi białkami wymagają nadal potwierdzenia [8,49]. Co ciekawe, obecności Tim18 i Tim54 nie stwierdzono także w składzie kompleksu TIM22 roślin i glonów zaliczanych do Archeplastida oraz u przedstawicieli Chromalveolata [28-29]. W przypadku przedstawicieli Excavata i Rhizaria brak jest danych umożliwiających wnioskowanie o składzie kompleksu TIM22.

#### KOMPLEKSY TIM9-TIM10-TIM12 I TIM8-TIM13

W przypadku drożdży *S. cerevisiae* (Ryc. 1 i Tab. 2), białka Tim9, Tim10 i Tim12 oraz Tim8 i Tim13 pełnią w przestrzeni międzybłonowej rolę białek pomocniczych, zabezpieczających hydrofobowe białka przed nieprawidłowym fałdowaniem, przy czym tylko Tim9, Tim10 i Tim12 są kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania komórki [2].

**Tabela 2.** Zróżnicowanie organizacji kompleksów importowych zlokalizowanych w przestrzeni międzybłonowej i błonie wewnętrznej mitochondriów.

Supergrupa	Ophistokonta	Amoebozoa	Archeplastida	Excavata	Chromalveolata					
Linie rozwojowe/ Organizm	<i>S. cerevisiae</i>	<i>H. sapiens</i>	<i>A. castellanii</i>	<i>D. discoideum</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>C. merolae</i>	<i>T. brucei</i>	<i>L. major</i>	<i>E. siliculosus</i>	<i>P. falciparum</i>
<b>KOMPLEKS TIM22</b>										
Tim18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tim22	+	+	+	+	+	+	-	?	+	+
Tim54	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sdh3	+	?	+	+	+	+	-	?	+	?
<b>KOMPLEKSY Tim9-Tim10-Tim12 i Tim8-Tim13</b>										
Tim9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tim10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tim12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tim8	+	+	?	-	+	-	-	-	-	+
Tim13	+	+	?	-	+	-	+	+	-	+
<b>KOMPLEKS TIM23</b>										
Tim17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tim21	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Tim23	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Tim50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mgr2	+	ROMO	+	+	ROMO	ROMO	-	?	?	?
TbTim47	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
TbTim54	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
TbTim62	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>KOMPLEKS PAM</b>										
Pam16/Tim16	+	Magma	+	+	+	+	?	?	+	?
Pam17	+	+	-	-	-	-	?	?	?	?
Pam18/Tim14	+	MCJ/ DNAJC19	+	+	+	+	?	?	+	?
Tim44	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
mtHsp70/Ssc1	+	Mortalin	+	+	+	+	+	-	+	-
Mge1	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
<b>KOMPLEKS MIA</b>										
Mia40/Tim40	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
Erv1	+	Alr	+	+	+	+	-	+	+	+
<b>INSERTAZA OXA</b>										
Oxa1	+	+	?	?	+	+	?	?	?	?
Oxa2	+	-	?	?	+	+	?	?	?	?

Na podstawie [4,8,28-30,34, 38, 49,51,53,55-57,65-66]. (+) i (-) oznacza odpowiednio obecność i brak białka; ? - brak danych; inne objaśnienia w tekście

Wszystkie te białka, nazywane małymi białkami Tim, formują trzy kompleksy: rozpuszczalne Tim9-Tim10 i Tim8-Tim13 oraz związany z błoną, dzięki oddziaływaniu białka Tim12 z kompleksem TIM22, kompleks Tim9-Tim10-Tim12 [8,50-51].

Białko Tim12 uważane jest za specyficzny dla drożdży duplikat drożdżowego białka Tim10. U zwierząt (Opisthokonta), w tym u człowieka, jego odpowiednikiem jest białko Tim10B, wykazujące homologię z białkiem Tim9 *S. cerevisiae* [43]. Co ciekawe, jak pokazano w tabeli 2, homologi droż-

dzowych białek Tim9 i Tim10 występują u przedstawicieli wszystkich wyróżnianych obecnie linii rozwojowych, z wyjątkiem Rhizaria. Natomiast obecność homologów Tim8 i Tim13 jest mniej rozpowszechniona, i oba występują wyłącznie u przedstawicieli Ophistokonta, Archaeplastida i Chromalveolata [28-29,34,51].

#### KOMPLEKS TIM23

Kanoniczny kompleks TIM23 (Ryc. 1 i Tab. 2) zbudowany jest z pięciu podjednostek: Tim17, Tim21, Tim23, Tim50

i Mgr2 [2,8,10,13,52]. Białka Tim23 i Tim17 tworzą prawdopodobnie kanał importowy w wewnętrznej błonie, białko Tim50 pełni funkcję receptora, a białko Tim21 uczestniczy prawdopodobnie w kierowaniu importowanego białka do kompleksu TIM23 i w jego oddziaływaniu z kompleksem III i IV łańcucha oddechowego, w czym pośredniczy niedawno zidentyfikowane białko Mgr2 [53]. W takiej formie kompleks nosi nazwę TIM23<sup>SORT</sup>. Kompleks TIM23 występuje również w innej kanonicznej formie nazywanej TIM23<sup>PAM</sup>. W tej formie kompleksu TIM23 nieobecne jest białko Tim21, a oddziaływanie z kompleksami łańcucha oddechowego zostaje zastąpione przez oddziaływanie z kompleksem PAM (patrz dalej), przy czym uważa się, że w oddziaływaniu z kompleksem PAM białko Mgr2 także odgrywa ważną rolę [54].

Co ciekawe, dostępne dane wskazują, że organizacja kompleksu TIM23 u przedstawicieli różnych linii rozwojowych wykazuje dużą konserwatywność [8]. Jak pokazano w tabeli 2, homologii Tim17, Tim23 i Tim50 zidentyfikowano u zwierząt (Opisthokonta), w tym człowieka [8], roślin i glonów zaliczanych do Archaeplastida [28] oraz u przedstawicieli Chromalveolata i Excavata [29]. Występowanie homologów Tim21 jest bardziej ograniczone, ponieważ nie znaleziono ich u niektórych przedstawicieli Archaeplastida i Chromalveolata oraz u przedstawicieli Excavata, w tym *T. brucei*. W tym ostatnim przypadku, poza konserwatywnymi białkami Tim17 i Tim50, zidentyfikowano trzy nowe białka związane z błoną wewnętrzną, tj. TbTim47, TbTim54 i TbTim62, przy czym w przypadku TbTim62 stwierdzono jego rolę w utrzymaniu stabilności kompleksu TIM23 [55-57]. Co ciekawe, w przypadku kompleksu TIM23 człowieka stwierdzono obecność dwóch izoform Tim17, co może być związane z obecnością subpopulacji kompleksu TIM23 w mitochondriach [58]. Należy także podkreślić, że homologiem drożdżowego białka Mgr2, szeroko rozpowszechnionym u innych organizmów eukariotycznych, jest białko ROMO [53]. Jednak w przypadku przedstawicieli Chromalveolata, Rhizaria i Excavata brak jest danych umożliwiających weryfikację obecności tego białka.

#### KOMPLEKS PAM

Kanoniczna organizacja kompleksu PAM obejmuje sześć podjednostek (Ryc. 1). Są to białka Tim44, Pam18 (Tim14), Pam16 (Tim16), Pam17, mtHsp70 (Ssc1) oraz Mge1 (czynnik wymiany nukleotydów, homolog bakteryjnego białka GrpE) [1-2,8,48,59-60]. Białko Tim44 oddziałuje z białkami z mtHsp70, Pam16 i Pam18, tworząc motor umożliwiający jednokierunkową translokację białka kierowanego do macierzy mitochondrialnej, dzięki kanałowi importowemu w obrębie kompleksu TIM23.

Jak pokazano w tabeli 2, skład podjednostkowy kompleksu PAM u przedstawicieli różnych linii rozwojowych wykazuje duże podobieństwo. Należy jednak zaznaczyć, że dla większości przedstawicieli Chromalveolata i Excavata [29] brak jest danych pozwalających na określenie budowy podjednostkowej tego kompleksu. Dostępne dane dla zwierząt, w tym człowieka (Opisthokonta), Archaeplastida (rośliny i niektóre glony) i Chromalveolata (niektóre glony) wskazują na obecność homologów, z wyjątkiem białka Pam17 u roślin i glonów [28]. Co ciekawe, w kompleksie PAM człowieka zidentyfikowano dwa ortologi Pam18 (MCJ/DNAJC19), które

nie są w pełni wymienne funkcjonalnie [58]. Stwierdzono także, że ludzkimi odpowiednikami drożdżowych białek Pam16 i mtHsp70 są odpowiednio białka Magma i Mortalin [8].

#### KOMPLEKS MIA

Kanoniczny kompleks MIA składa się z dwóch podjednostek: Mia40 (Tim40) oraz białka Erv1 [6,61]. Mia40 pełni funkcję receptora i oksydoreduktazy, natomiast Erv1 wykazuje aktywność oksydazy siarczyny. Aktywności obu białek są istotne dla translokacji importowanego białka z kompleksu TOM do przestrzeni międzybłonowej. W skrócie, zakłada się, że białko Mia40 rozpoznaje importowane białko, tworząc z nim wiązania dwusiarczkowe, eliminowane następnie dzięki białku Erv1.

Jak pokazano w tabeli 2, białko Mia40 zidentyfikowano u wielu organizmów, ale nie u przedstawicieli Chromalveolata i Excavata [28-29] oraz niektórych Amoebozoa (Wojtkowska i in., dane nieopublikowane). Co ciekawe, w przypadku zwierząt i roślin, Mia40 występuje w przestrzeni międzybłonowej w formie rozpuszczalnej, natomiast u *S. cerevisiae* jest białkiem zakotwiczonym w błonie (Ryc. 1) i skierowanym domeną N końcową do przestrzeni międzybłonowej [61-64]. Z kolei homologii białka Erv1 występują u przedstawicieli różnych linii rozwojowych. U człowieka takim homologiem jest białko Alr [8]. Obecności homologów białka Erv1 nie stwierdzono dotychczas w przypadku Rhizaria (brak danych) i niektórych Amoebozoa (Wojtkowska i in., dane nieopublikowane).

#### INSERTAZA OXA

W ujęciu kanonicznym insertaza OXA jest prawdopodobnie dimerem białka Oxa1 [23], przy czym u drożdży zidentyfikowano także homolog Oxa1, nazywany Oxa2 lub Cox18 [2,65]. Zakłada się, że Cox18/Oxa2 odgrywa ważną rolę w faldowaniu białek wprowadzanych do błony z udziałem kompleksu OXA [66]. Niestety liczba danych dotyczących tego kompleksu u innych organizmów jest bardzo ograniczona (Tab. 2). U roślin, tj. *Arabidopsis thaliana*, stwierdzono występowanie homologów obu białek Oxa [65], a u człowieka białka Oxa1 [66].

#### PODSUMOWANIE

Liczba dostępnych danych dotyczących organizacji kompleksów importowych, szczególnie dla przedstawicieli Amoebozoa, Archaeplastida (inne niż rośliny), Chromalveolata, Excavata i Rhizaria jest mocno ograniczona. Jednak wyłaniający się obraz wskazuje na ich zróżnicowanie, szczególnie widoczne w przypadku kompleksu TOM. Jednym z istotnych aspektów tego zróżnicowania jest redukcja liczby podjednostek w porównaniu z układem kanonicznym. Jest to obserwacja znacząca z punktu widzenia dyskusji dotyczącej ewolucji aparatu importu białka do mitochondriów, której bardzo interesującym aspektem jest eliminacja pewnych podjednostek. Podjednostkom tym bowiem przypisuje się określony udział w przebiegu importu białka do mitochondriów, w konsekwencji czego pojawia się możliwość ich zastąpienia przez inne, niezidentyfikowane jeszcze białka. Z drugiej strony, biorąc pod uwagę funkcje kompleksu TOM, można założyć,



że kompleks ten odgrywa istotną rolę w przystosowaniu do warunków środowiska. W związku z tym, silne zróżnicowanie jego organizacji wynikać może z presji doboru naturalnego. Pozostaje to w logicznym związku z sugestią, że różnice w organizacji kompleksów importowych u przedstawicieli wyróżnianych obecnie supergrup organizmów eukariotycznych mogą odzwierciedlać przebieg ewolucji tych organizmów [4], także w obrębie tych supergrup.

## PIŚMIENNICTWO:

- Schmidt O, Pfanner N, Meisinger C (2010) Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11: 655-667
- Neupert W (2015) A perspective on transport of proteins into mitochondria: a myriad of open questions. *J Mol Biol* 427: 1135-1158
- Dolezal P, Likic V, Tachezy J, Lithgow T (2006) Evolution of the molecular machines for protein import into mitochondria. *Science* 313: 314-318
- Mani J, Meisinger C, Schneider A (2015) Peeping at TOMs - Diverse entry gates to mitochondria provide insights into the evolution of eukaryotes. *Mol Biol Evol* 33: 337-351
- Jedelsky PL, Dolezal P, Rada P, Pyrih J, Smid O, Hrdy I, Sedinova M, Marcincikova M, Voleman L, Perry AJ, Beltran NC, Lithgow T, Tachezy J (2011) The minimal proteome in the reduced mitochondrion of the parasitic protist *Giardia intestinalis*. *PLoS One*: e17285
- Embley TM i Martin W (2006) Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature* 440: 623-630
- Murcha MW, Wang Y, Narsai R, Whelan J (2014) The plant mitochondrial protein import apparatus - the differences make it interesting. *Biochim Biophys Acta* 1840: 1233-1245
- Sokol AM, Sztolszterer ME, Wasilewski M, Heinz E, Chacinska A (2014) Mitochondrial protein translocases for survival and wellbeing. *FEBS Lett* 588: 2484-2495
- Neupert W, Herrman JM (2007) Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem* 76: 723-749
- Chacinska A, Koehler C, Milenkovic M, Lithgow T i Pfanner N (2009) Importing mitochondrial proteins: machineries and mechanisms. *Cell* 138: 628-644
- Endo TI, Yamano K (2010) Transport of proteins across or into the mitochondrial outer membrane. *Biochim Biophys Acta* 1803: 706-714
- Shiota T, Imai K, Qiu J, Hewitt VL, Tan K, Shen HH, Sakiyama N, Fukasawa Y, Hayat S, Kamiya M, Elofsson A, Tomii K, Horton P, Wiedemann N, Pfanner N, Lithgow T, Endo T (2015) Molecular architecture of the active mitochondrial protein gate. *Science* 349: 1544-1548
- Mokranjac D, Neupert W (2010) The many faces of the mitochondrial TIM23 complex. *Biochim Biophys Acta* 1797: 1045-1054
- Paschen SA, Neupert W, Rapaport D (2005) Biogenesis of beta-barrel membrane proteins of mitochondria. *Trends Biochem Sci* 30: 575-582
- Kmita H, Wojtkowska M. (2007) Kompleks TOB/SAM: kluczowa rola w biogenezie mitochondriów. *Postępy Biologii Komórki* 34: 69-84
- Stroud DA, Becker T, Qiu J, Stojanovski D, Pfannschmidt S, Wirth C, Hunte C, Guiard B, Meisinger C, Pfanner N, Wiedemann N (2011) Biogenesis of mitochondrial beta-barrel proteins: the POTRA domain is involved in precursor release from the SAM complex. *Mol Biol Cell* 22: 2823-2833
- Becker T, Bottinger L, Pfanner N (2012) Mitochondrial protein import: from transport pathways to an integrated network. *Trends Biochem Sci* 37: 85-91
- Ellenrieder L, Mårtensson CU, Becker T (2015) Biogenesis of mitochondrial outer membrane proteins, problems and diseases. *Biol Chem* 396: 1199-213
- Fox TD (2012) Mitochondrial protein synthesis, import, and assembly. *Genetics* 192: 1203-1234
- Harbauer AB, Opalinska M, Gerbeth C, Herman JS, Rao S, Schonfisch B, Guiard B, Schmidt O, Pfanner N, Meisinger C (2014) Mitochondria: Cell cycle-dependent regulation of mitochondrial preprotein translocase. *Science* 346: 1109-1321
- Bonnefoy N, Heather L, Fiumera B, Dujardin G, Fox TD (2009) Roles of Oxa1-related inner-membrane translocases in assembly of respiratory chain complexes. *Biochim Biophys Acta* 2009: 60-70
- Hildenbeutel M, Theis M, Geier M, Haferkamp I, Neuhaus HE, Herrmann JM, Ott M (2012) The membrane insertase Oxa1 is required for efficient import of carrier proteins into mitochondria. *J Mol Biol* 423: 590-599
- Kohler R, Boehringer D, Greber B, Bingel-Erlenmeyer R, Collinson I, Schaffitzel C, Ban N (2009) YidC and Oxa1 form dimeric insertion pores on the translating ribosome. *Mol Cell* 34: 344-353
- Hell K (2008) The Erv1-disulfide relay system in the intermembrane space of mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1783: 601-609
- Keeling PJ, Burger G, Durnford DG, Lang BF, Lee RW, Pearlman RE, Roger AJ, Gray MW (2005) The tree of eukaryotes. *Trends Ecol Evol* 20: 670-676
- Hug LA, Baker BJ, Anantharaman K, Brown CT, Probst AJ, Castelle CJ, Butterfield CN, HERNSDORF AW, Amano Y, Ise K, Suzuki Y, Dudek N, Relman DA, Finstad KM, Amundson R, Thomas BC, Banfield JF (2016) A new view of the tree of life. *Nat Microbiol* 16048: 1-6
- Adl SM, Simpson AG, Lane CE, Luke J, Bass D, Bowser SS, Brown MW, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, Heiss A, Hoppenrath M, Lara E, Le Gall L, Lynn DH, McManus H, Mitchell EA, Mozley-Stanridge SE, Parfrey LW, Pawłowski J, Rueckert S, Shadwick RS, Schoch CL, Smirnov A, Spiegel FW (2012) The revised classification of eukaryotes. *J Eukaryot Microbiol* 59: 429-493
- Carrie C, Murcha M, Whelan W (2010) An in silico analysis of the mitochondrial protein import apparatus of plants. *BMC Plant Biol* 10: 249
- Eckers E, Cyrklaff M, Simpson L, Deponte M (2012) Mitochondrial protein import pathways are functionally conserved among eukaryotes despite compositional diversity of the import machineries. *Biol Chem* 393: 513-524
- Zarsky V, Tachezy J i Dolezal P (2012) Tom40 is likely common to all mitochondria. *Curr Biol* 22: R479-481
- Macasev D, Whelan J, Newbigin E, Silva-Filho, MC, Mulhern TD, Lithgow T (2004) Tom22', an 8-kDa trans-site receptor in plants and protozoans, is a conserved feature of the TOM complex that appeared early in the evolution of eukaryotes. *Mol Biol Evol* 21: 1557-1564
- Hoogenraad NJ, Ward LA, Ryan MT (2002) Import and assembly of proteins into mitochondria of mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* 1592: 97-105
- Schneider A., Bursac D, Lithgow T (2008) The direct route: a simplified pathway for protein import into the mitochondrion of trypanosomes. *Trends Cell Biol* 18: 12-18
- Hewitt V, Alcock F, Lithgow T (2011) Minor modifications and major adaptations: the evolution of molecular machines driving mitochondrial protein import. *Biochim Biophys Acta* 1808: 947-954
- Lister R, Hulett JM, Lithgow T, Whelan J (2005) Protein import into mitochondria: origins and functions today. *Mol Membr Biol* 22: 87-100
- Perry AJ, Rimmer KA, Mertens HD, Waller RF, Mulhern TD, Lithgow T, Gooley PR (2008) Structure, topology and function of the translocase of the outer membrane of mitochondria. *Plant Physiol Biochem* 46: 265-274
- Tsaousis AD, Gaston D, Stechmann A, Walker PB, Lithgow T, Roger AJ (2011) A functional Tom70 in the human parasite *Blastocystis* sp.: implications for the evolution of the mitochondrial import apparatus. *Mol Biol Evol* 28: 781-791
- Buczek D, Wojtkowska M, Suzuki Y, Sonobe S, Nishigami Y, Antoniewicz M, Kmita H, Makalowski W (2016) Protein import complexes in the mitochondrial outer membrane of Amoebozoa representatives. *BMC Genomics* 17: 99
- Kutik S, Guiard B, Meyer HE, Wiedemann N, Pfanner N (2007) Cooperation of translocase complexes in mitochondrial protein import. *J Cell Biol* 179: 585-591

40. Dukanovic JI, Rapaport D (2011) Multiple pathways in the integration of proteins into the mitochondrial outer membrane. *Biochim Biophys Acta* 1808: 971-980
41. Flinner N, Ellenrieder L, Stiller SB, Becker T, Schleiff E, Mirus O (2013) Mdm10 is an ancient eukaryotic porin co-occurring with the ERMES complex. *Biochim Biophys Acta* 1833: 3314-3325
42. Lang A, John Peter AT, Kornmann B (2015) ER-mitochondria contact sites in yeast: beyond the myths of ERMES. *Curr Opin Cell Biol* 35: 7-12
43. Gentle I, Gabriel K, Beech P, Waller R, Lithgow T (2004) The Omp85 family of proteins is essential for outer membrane biogenesis in mitochondria and bacteria. *J Cell Biol* 164: 19-24
44. Heinz E, Lithgow T (2013) Back to basics: a revealing secondary reduction of the mitochondrial protein import pathway in diverse intracellular parasites. *Biochim Biophys Acta* 1833: 295-303
45. Gatsos X, Perry AJ, Anwari K, Dolezal P, Wolyneć PP (2008) Protein secretion and outer membrane assembly in Alphaproteobacteria. *FEMS Microbiol Rev* 32: 995-1009
46. Vogtle FN, Burkhart JM, Rao S, Gerbeth C, Hinrich J, Martinou JC, Chacinska A, Sickmann A, Zahedi RP, Meisinger C (2012) Intermembrane space proteome of yeast mitochondria. *Mol Cell Proteomics* 11: 1840-1852
47. Dimmer KS, Papic D, Schumann B, Sperl D, Krumpke K, Walther DM, Rapaport D (2012) A crucial role for Mim2 in the biogenesis of mitochondrial outer membrane proteins. *J Cell Sci* 125: 3464-3473
48. Kulawiak B, Hopker J, Gebert M, Guiard B, Wiedemann N, Gebert N (2013) The mitochondrial protein import machinery has multiple connections to the respiratory chain. *Biochim Biophys Acta* 1827: 612-626
49. Bauer MF (1999) Genetic and structural characterization of the human mitochondrial inner membrane translocase. *J Mol Biol* 289: 69-82
50. Muhlenbein N, Hofmann S, Rothbauer UI, Bauer MF (2004) Organization and function of the small Tim complexes acting along the import pathway of metabolite carriers into mammalian mitochondria. *J Biol Chem* 279: 13540-13546
51. Gentle IE, Perry AJ, Alcock FH, Likic VA, Dolezal P, Ng ET, Purcell AW, McConville M, Naderer T, Chanez AL, Charrie' re F, Aschinger C, Schneider A, Tokatlidis K, Lithgow T (2007) Conserved Motifs Reveal Details of Ancestry and Structure in the Small TIM Chaperones of the Mitochondrial Intermembrane Space. *Mol Biol Evol* 24: 1149-1160
52. Wagner K, Gebert N, Guiard B, Brandner K, Truscott KN, Wiedemann N, Pfanner N, Rehling P (2008) The assembly pathway of the mitochondrial carrier translocase involves four preprotein translocases. *Mol Cell Biol*, 28: 4251-4260
53. Gebert M, Schrempp SG, Mehnert CS, Heisswolf AK, Oeljeklaus S, Iieva R, Bohnert M, von der Malsburg K, Wiese S, Kleinschroth T, Hunte C, Meyer HE, Haferkamp I, Guiard B, Warscheid B, Pfanner N, Van der Laan M (2012) Mgr2 promotes coupling of the mitochondrial presequence translocase to partner complexes. *J Cell Biol* 197: 595-604
54. Schulz C, Schendzielorz A, Rehling P (2014) Unlocking the presequence import pathway. *Trends Cell Biol* 25: 265-275
55. Singha UK, Hamilton V, Duncan MR, Weems E, Tripathi MK, Chaudhuri M (2012) Protein translocase of mitochondrial inner membrane in *Trypanosoma brucei*. *J Biol Chem* 287: 14480-14493
56. Duncan MR, Fullerton M, Chaudhuri M (2013) Tim50 in *Trypanosoma brucei* possesses a dual specificity phosphatase activity and is critical for mitochondrial protein import. *J Biol Chem* 288: 3184-3197
57. Singha UK, Hamilton V, Chaudhuri M (2015) Tim62, a novel mitochondrial protein in *Trypanosoma brucei*, is essential for assembly and stability of the TbTim17 protein complex. *Biol Chem* 290: 23226-23239
58. Sinha D, Srivastava S, Krishna L, D'Silva P (2014) Unraveling the intricate Organization of Mammalian mitochondrial presequence translocases: existence of multiple translocases for maintenance of mitochondrial function. *Mol Cell Biol* 34: 1757-1775
59. Wiedemann N, Frazier AE, Pfanner N (2004) The protein import machinery of mitochondria. *J Biol Chem* 279: 14473-14476
60. Stojanovski D, Bohnert M, Pfanner N, Van der Laan M (2012) Mechanisms of protein sorting in mitochondria. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1: 4
61. Stojanovski D, Bragoszewski P, Chacinska A (2012) The MIA pathway: a tight bond between protein transport and oxidative folding in mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1823: 1142-1150
62. Chacinska A, Pfannschmidt S, Wiedemann N, Kozjak V, Sanjuan Szklarz LK, Schulze-Specking A, Truscott KN, Guiard B, Meisinger C, Pfanner N (2004) Essential role of 40 in import and assembly of mitochondrial intermembrane space proteins. *EMBO J* 23: 3735-3746
63. Terziyska N, Lutz T, Kozany C, Mokranjac D, Mesecke N, Neupert W, Herrmann JM, Hell K (2005) Mia40, a novel factor for protein import into the intermembrane space of mitochondria is able to bind metal ions. *FEBS Lett* 579: 179-184
64. Guo PC, Ma JD, Jiang YL, Wang SJ, Bao ZZ, Yu XJ, Chen Y, Zhou CZ (2012) Structure of yeast sulfhydryl oxidase erv1 reveals electron transfer of the disulfide relay system in the mitochondrial intermembrane space. *J Biol Chem* 287: 34961-34969
65. Souza RL, Green-Willms NS, Fox TD, Tzagoloff A, Nobrega, FG (2000). Cloning and characterization of COX18, a *Saccharomyces cerevisiae* PET gene required for the assembly of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 275: 14898-902
66. Benz M, Soll J, Ankele E (2013) *Arabidopsis thaliana* Oxa proteins locate to mitochondria and fulfill essential roles during embryo development. *Planta* 237: 573-588

## Mitochondrial protein import complexes – a phylogenetic perspective

Małgorzata Wojtkowska✉, Hanna Kmita

Laboratory of Bioenergetics, Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University in Poznan, 89 Umultowska St., 61-614 Poznan, Poland

✉e-mail: woytek@amu.edu.pl

**Key words:** protein import into mitochondria, import complexes, eukaryotic lineages

### ABSTRACT

The proper functioning of mitochondria and consequently of eukaryotic cells requires protein import into mitochondria. The import proceeds due to the presence of different pathways formed by sophisticated complexes known as the import complexes. The complexes are located in all mitochondrial compartments including the both mitochondrial membranes. Here we collect data concerning the organization of the import complexes and available for representatives of currently distinguished eukaryotic lineages. Despite the lack of many data, the emerging picture indicates at differentiation of the complex organization, particularly observed for the TOM complex. This, in turn, implicates interesting issues for further discussion concerning mitochondria evolution and the knowledge practical application.