

KOMPLEKS TOB/SAM: KLUCZOWA ROLA W BIOGENEZIE MITOCHONDRIÓW

THE TOB/SAM COMPLEX: AN ESSENTIAL FUNCTION IN MITOCHONDRIA BIOGENESIS

Hanna KMITA, Małgorzata WOJTKOWSKA

Zakład Bioenergetyki, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii UAM Poznań

Streszczenie: Białka tworzące strukturę beczułki β występują w błonie zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych oraz w błonie zewnętrznej organelli pochodzenia endosymbiotycznego, tj. mitochondriów i chloroplastów, gdzie mogą pełnić różne funkcje. Mitochondrialne białka o strukturze beczułki β biorą udział w imporcie białka, transporcie metabolitów oraz w regulacji morfologii i dystrybucji mitochondriów. Białka te uznaje się także za istotny element ewolucji mitochondriów. Mechanizm wbudowywania białek tworzących strukturę beczułki β w błonę zewnętrzną mitochondriów i bakterii Gram-ujemnych został niedawno opisany. Co więcej, wykazano, iż uległ on utrwaleniu w toku ewolucji. W przypadku mitochondriów w procesie tym uczestniczy kompleks TOB/SAM (topogeneza białek zewnętrznej błony mitochondrialnej tworzących strukturę beczułki β /maszyna sortowania i składania białek), utworzony przez trzy podstawowe białka: Tob55 (Sam50), Tob38 (Sam35) and Mas 37 (Sam37). Wyniki analizy filogenetycznej wskazują, iż białko Tob55 pochodzi od bakteryjnego białka Omp85, podczas gdy inne mitochondrialne białka o strukturze beczułki β nie mają homologów wśród białek bakteryjnych.

Słowa kluczowe: mitochondria, biogeneza, ewolucja, beczułka β , kompleks TOB/SAM.

Summary: β -barrel proteins are present in the outer membrane of Gram-negative bacteria and of organelles of endosymbiotic origin, i.e. mitochondria and chloroplasts where they perform a variety of functions. Mitochondrial β -barrel proteins are important for protein import, metabolite transport and the organelle morphology and distribution. They also seem to play a crucial role in mitochondria evolution. Quite recently a specific pathway for the insertion of β -barrel proteins was identified in both mitochondria and Gram-negative bacteria and was proved to be conserved during evolution. In mitochondria the pathway is formed by the TOB/SAM complex (topogenesis of the mitochondrial outer membrane β -barrel proteins/sorting and assembly machinery) composed of three main proteins, namely Tob55 (Sam50), Tob38 (Sam35) and Mas 37 (Sam37). Phylogenetic analysis provides a strong case for the evolution of Tob55 from the bacterial homologue Omp85 while other mitochondrial β -barrel proteins do not display amino acid homology with bacterial β -barrel proteins.

Key words: mitochondria, biogenesis, evolution, β -barrel, the TOB/SAM complex.

Wykaz stosowanych skrótów: **TOB/SAM** (ang. TOB – *topogenesis of the mitochondrial outer membrane β -barrel proteins* / SAM – *sorting and assembly machinery*) – topogeneza białek zewnętrznej błony mitochondrialnej tworzących strukturę beczułki β / maszyneria sortowania i składania białek; **TOM** (ang. *translocase of the outer mitochondrial membrane*) – translokaza zewnętrznej błony mitochondrialnej; **TIM** (ang. *translocase of the inner mitochondrial membrane*) – translokaza wewnętrznej błony mitochondrialnej.

WSTĘP

Zgodnie z obowiązującymi obecnie ustaleniami mitochondria są potomkami α -proteobakterii (eubakterii mającej błonę zewnętrzną i zaliczanej do bakterii Gram-ujemnych), która w pewnym momencie historii życia na ziemi została wchłonięta przez innego prokariota (prawdopodobnie archebakterię) i przez pewien czas funkcjonowała jako endosymbiont. Większość genów tego endosymbionta została z czasem utracona lub przeniesiona do jądra komórkowego tworzonego przez gospodarza i endosymbionta [7,8,15,31]. Transfer ten umożliwił prawdopodobnie ustalenie komunikacji między jądrem a mitochondriami oraz przejęcie przez jądro kontroli nad funkcjonowaniem mitochondriów. Istotnym elementem tej kontroli jest zewnętrzna błona mitochondriów, bowiem wchodzące w jej skład białka odgrywają kluczową rolę w biogenezie mitochondriów [13]. Do białek tych zalicza się między innymi białko Tom, tworzące kompleks TOM (ang. *translocase of the outer mitochondrial membrane*), który gwarantuje rozpoznanie, transport i sortowanie białek importowanych do mitochondriów [7,10,18,24,34,45–47,52] oraz białko VDAC (ang. *voltage dependent anion channel*), które w stanie monomeru tworzy zależny od potencjału kanał o selektywności anionowej, będący miejscem transportu metabolitów przez błonę zewnętrzną mitochondriów oraz uczestniczący w dystrybucji ATP, w utrzymaniu homeostazy wapniowej komórki, w ochronie przed stresem oksydacyjnym i uruchomieniu apoptozy [1,6,9,24,30,50,53,54]. Informacje na temat kompleksu TOM i kanału VDAC czytelnik może znaleźć również w polskojęzycznych pracach przeglądowych [23,25,63].

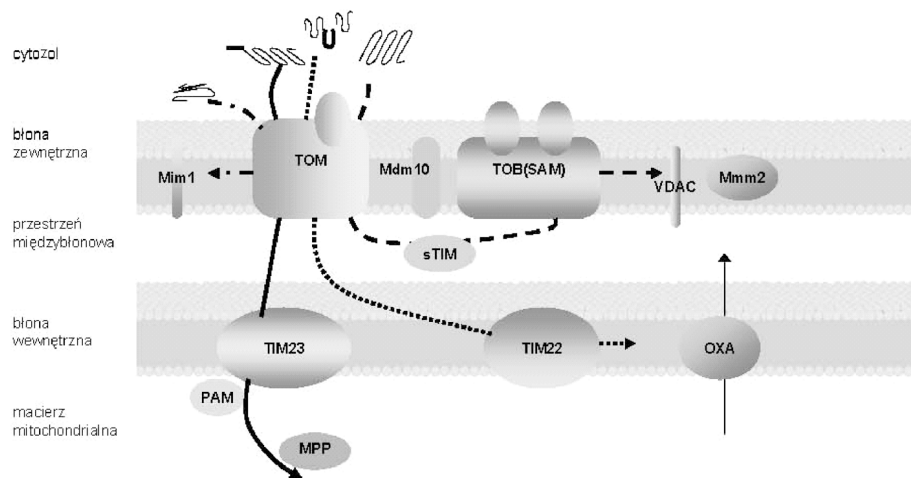
Białka Tom, podobnie jak białko VDAC, kodowane są przez geny jądrowe, syntetyzowane na rybosomach cytoplazmatycznych i następnie kierowane do mitochondriów [28,47]. Kluczową rolę w funkcjonowaniu kompleksu TOM odgrywa kanał importowy, będący miejscem translokacji importowanego białka przez błonę lub jego insercji w obszar błony. Podstawowym składnikiem kanału importowego jest białko Tom40, które może tworzyć w obrębie kompleksu 2 lub 3 oligomeryczne kanały translokujące [2,36,46]. Ustalenia teoretyczne, jak i analiza struktury drugorzędowej białka Tom40 [2,17,46,52] i VDAC [3,4,6,9] wskazują, że tworzą one w błonie strukturę beczułki β . Należą zatem do rodziny białek błonowych o strukturze beczułki β , których obecność jest charakterystyczna dla zewnętrznej błony eubakterii zaliczanych do bakterii Gram-ujemnych oraz zewnętrznej błony organelli o pochodzeniu endosymbiotycznym, to znaczy chloroplastów i mitochondriów [13,41,42]. Mimo podstawowego znaczenia dla powstania błony, dopiero niedawno pojawiły się pierwsze prace dotyczące mechanizmu insercji

białek o strukturze beczułki β w błonę. W przypadku mitochondriów wskazują one na kluczową rolę białka Tob55, nazywanego również Sam50 lub Omp85 [13,27,42,61]. Aby uniknąć trudności wynikających z nieuporządkowanego nazewnictwa, w pracy tej będziemy posługiwać się terminem Tob55.

Białko Tob55 jest kluczowym składnikiem kompleksu TOB, nazywanego również kompleksem SAM lub ostatnio TOB/SAM (ang. TOB – *topogenesis of the mitochondrial outer membrane β -barrel proteins*; SAM – *sorting and assembly machinery*), którego podstawowym zadaniem jest przejście z kompleksu TOM importowanego białka o strukturze beczułki β i wprowadzenie go w zewnętrzną błonę mitochondrialną [7,13,27,41,42]. Co ciekawe, białko Tob55 też należy do rodziny białek błonowych o strukturze beczułki β , przy czym jest jedynym wśród białek zewnętrznej błony mitochondrialnej, w przypadku którego stwierdza się istnienie homologów bakteryjnych [7,31,41]. Zatem, białko Tob55 stanowi prawdopodobnie element zachowanego w toku ewolucji mitochondriów mechanizmu insercji białek o strukturze beczułki β wykorzystywanego przez bakteryjnego endosymbionta. System ten zapewne odegrał podstawową rolę w ewolucji kompleksu TOM [31,41] oraz kanału VDAC, co umożliwiło przekształcenie endosymbionta w funkcjonalną organelę. Nie ulega ponadto wątpliwości, iż kompleks TOB/SAM warunkuje powstanie funkcjonalnego kompleksu TOM i kanału VDAC, jak i innych białek zewnętrznej błony mitochondrialnej o strukturze beczułki β , i w tym sensie jest niezbędnym elementem biogenezy mitochondriów.

ORGANIZACJA KOMPLEKSU

W procesie importu białka do mitochondriów uczestniczą kompleksy białkowe zlokalizowane w obu błonach mitochondrialnych (ryc. 1). Obecność kompleksu TOB/SAM w zewnętrznej błonie mitochondrialnej opisano po raz pierwszy w roku 2003, a jego organizacja jest nadal przedmiotem badań i dyskusji. Podstawowym modelem wykorzystywanym w badaniach nad organizacją kompleksu TOB/SAM są mitochondria drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Do tej pory w obrębie kompleksu TOB/SAM *S. cerevisiae* potwierdzono obecność trzech odrębnych białek (ryc. 2), tworzących kompleks o masie 200–250 kD [27,42,61], którego stechiometria pozostaje nadal w sferze dyskusji [27,35,41,59,61]. Podstawowym składnikiem kompleksu TOB/SAM jest białko Tob55. Białko to zostało zidentyfikowane w roku 2003, dzięki analizie proteomu błony zewnętrznej mitochondriów *Neurospora crassa* [42] oraz poszukiwaniu białek oddziałujących z białkiem Mas37 [27]. Białko Mas37, nazywane również Sam37 lub Tom37 [41,45], zostało zidentyfikowane w roku 1995 [14], po czym stwierdzono, iż jest ono częścią kompleksu uczestniczącego we wbudowywaniu białka Tom40 w kompleks TOM [61]. Zatem, białko Mas37 to pierwszy zidentyfikowany składnik kompleksu TOB/SAM. Trzecim białkiem wchodzącym w skład kompleksu TOB/SAM jest białko Tob38, nazywane również Sam35 lub Tom38, które zidentyfikowano dzięki analizie wyizolowanego kompleksu TOB/SAM [35,59] oraz lokalizacji i badaniu roli w imporcie mitochondrialnych białek drożdżowych o nieustalonej do tej pory funkcji [21]. Dla przejrzystości w pracy tej będziemy posługiwać się terminami Tob38 i Mas37.



RYCINA 1. Schemat aparatu importu białka do mitochondriów. Strzałki oznaczają kierunek przemieszczania się białek z miejsca powstania w cytozolu do docelowego przedziału mitochondrialnego. Kompleks TOM rozpoznaje, sortuje i transportuje białka do przestrzeni międzybłonowej lub błony zewnętrznej. Kompleks TOB/SAM umożliwia wbudowanie w błonę zewnętrzną białek o charakterystycznej strukturze beczułki β (np. VDAC, Tom40, Tob55, Mdm10, Mmm2). Kompleks TIM23 wprowadza białka do macierzy mitochondrialnej lub błony wewnętrznej. Kompleks TIM22 wprowadza w błonę wewnętrzną białka z rodziny nośników mitochondrialnych. Kompleks OXA bierze udział w eksporcie białek powstających w macierzy mitochondrialnej lub w reeksporcie białek wprowadzonych do macierzy przez kompleks TIM23. Na schemacie nie uwzględniono podjednostek poszczególnych kompleksów. PAM – motor importowy będący częścią kompleksu TIM23; MPP – mitochondrialne peptydazy biorące udział w usuwaniu presekwencji

Białko Tob55 jest integralnym białkiem błonowym [13,27,41,42]. W białku tym wyróżnia się dwie domeny: błonową, na końcu karboksylowym, o masie ok. 35 kD, która tworzy strukturę beczułki β oraz hydrofilową, na końcu aminowym, o masie ok. 20 kD, skierowaną do przestrzeni międzybłonowej mitochondriów. Białko Tob38 jest białkiem peryferyjnym, oddziałującym z białkiem Tob55 od strony cytoplazmy [35,59]. Oba białka tworzą rdzeń kompleksu TOB/SAM, a ich obecność jest niezbędnym warunkiem powstania aktywnego kompleksu [41,59]. Co więcej, brak każdego z tych białek prowadzi do skutków śmiertelnych. Zatem kompleks TOB/SAM zawiera dwa niezbędne dla funkcjonowania komórki białka, co wskazuje na jego fundamentalną rolę w biogenezie mitochondriów. Białko Mas37 jest białkiem peryferyjnym, oddziałującym z Tob55 od strony cytoplazmy. Brak białka Mas37 nie przeciwdziała powstaniu rdzenia kompleksu TOB/SAM, ale powoduje akumulację importowanych białek tworzących strukturę beczułki β w postaci związanej z kompleksem TOB/SAM [42,59,61].

Funkcje poszczególnych białek w obrębie kompleksu TOB/SAM nie zostały jeszcze dokładnie opisane. Jednak wątpliwości nie ulega fakt, iż muszą one ze sobą współpracować, aby doszło do skutecznego importu białek tworzących strukturę beczułki β [45]. Białko Mas37 uczestniczy prawdopodobnie w uwalnianiu importowanych białek

z kompleksu TOB/SAM [16], co umożliwia ich wprowadzenie w strukturę błony lub warunkuje oddziaływanie z innymi białkami. Z kolei białko Tob38 warunkuje powstanie kompleksu TOB/SAM i jego stabilność [35,59]. Przy braku tego białka nie dochodzi do oddziaływania między białkami Tob55 i Mas37. Uważa się także, iż białko Tob38 stanowi miejsce oddziaływania kompleksu TOB/SAM z cytoplazmatycznymi białkami opiekuńczymi (chaperonami), co gwarantuje importowanym białkom tworzącym strukturę beczułki β utrzymanie odpowiedniej konformacji, zanim dojdzie do ich translokacji przez zewnętrzną błonę mitochondrialną, którą z kolei prowadzi kompleks TOM. Co więcej, białko Tob38 może być odpowiedzialne za oddziaływanie między kompleksem TOM i kompleksem TOB/SAM, co jest istotne dla skutecznego przekazania importowanego białka z kompleksu TOM do kompleksu TOB/SAM. Sugeruje się również, iż białko Tob38 może pełnić funkcje regulatora kanału tworzonego przez białko Tob55. Kanał tworzony przez białko Tob55 [42] uczestniczy zapewne w procesie insercji importowanych białek w błonę. Białko Tob55 uznaje się również za miejsce wstępnego oddziaływania importowanego białka z kompleksem TOB/SAM, gwarantującego wprowadzenie tego białka do kompleksu, co z kolei umożliwia jego wbudowanie w błonę [41,45,59].

BIĄŁKA WSPÓLDZIAŁAJĄCE Z KOMPLEKSEM

Badania nad importem białka Tom40 i składaniem funkcjonalnego kompleksu TOM doprowadziły do identyfikacji dwóch białek zewnętrznej błony mitochondrialnej, istotnych dla działania kompleksu TOB/SAM. Białko Mdm10 (ang. *mitochondrial distribution and morphology*) jest integralnym białkiem błonowym o masie ok. 55 kD, zdolnym do tworzenia struktury beczułki β [45,55]. Białku temu przypisuje się istotną rolę w utrzymaniu prawidłowego rozmieszczenia i morfologii mitochondriów. Jednakże stwierdzono także, iż białko Mdm10 warunkuje stopniowe przyłączanie się białek Tom do wprowadzonego w błonę białka Tom40. Co więcej, wykazano, iż białko Mdm10 może oddziaływać z białkiem Mas37, co wskazuje na jego współdziałanie z kompleksem TOB/SAM [34]. W przypadku komórek *S. cerevisiae*, brak białka Mdm10 upośledza zarówno morfologię mitochondriów, jak i powstanie kompleksu TOM. Zmiany morfologii mitochondriów obserwuje się także w przypadku upośledzenia funkcji kompleksu TOM i kompleksu TOB/SAM. Wydaje się zatem, iż zmiany morfologii mitochondriów wywołane brakiem białka Mdm10 są pośrednim skutkiem upośledzenia funkcji obu kompleksów, kluczowych dla importu białek błony zewnętrznej mitochondriów, uczestniczących bezpośrednio w kontroli ich morfologii [45]. Jednocześnie nie można wykluczyć, iż białko Mdm10 kontroluje niezależnie składanie kompleksów białkowych błony zewnętrznej oraz morfologię mitochondriów, co wiąże się z jego oddziaływaniem z różnymi kompleksami białkowymi [5,41]. Pozostaje to w zgodzie z opublikowanymi niedawno wynikami analizy kompleksów białkowych drożdży *S. cerevisiae* opartej na technice oczyszczania z zastosowaniem powinowactwa kolumnowego. Wyniki te

wskazują, iż powszechnym sposobem składania funkcjonalnych kompleksów białkowych jest oddziaływanie podstawowego zestawu białek z dodatkowymi białkami lub modułami białkowymi, co z kolei warunkuje zróżnicowanie funkcji [12,29]. Taka modułowa organizacja jest także charakterystyczna dla aparatu importu białka do mitochondriów [7]. Z kolei białko Mim1 (ang. *mitochondrial import*) [58], nazywane również Tom13 [21], to niewielkie białko (około 14 kD) integralne, zakotwiczone w błonie zewnętrznej mitochondriów za pomocą odcinka o strukturze amfipatycznej helisy α . Białko Mim1 prawdopodobnie włącza się w składanie kompleksu TOM po uwolnieniu białka Tom40 z kompleksu TOB/SAM. Stwierdzono jednak, iż brak białka Mim1 prowadzi do obniżenia powinowactwa kompleksu TOB/SAM względem Tom40. Co więcej, do tej pory nie udało się ustalić, czy uwalnianie białka Tom40 z kompleksu TOB/SAM lub oligomeryzacja białka Tom40 w obrębie powstającego kompleksu TOM może pozostawać pod kontrolą białka Mim1.

Wśród białek współdziałających z kompleksem TOB/SAM wymienia się również białko Tom7, wchodzące w skład kompleksu TOM oraz małe białka Tim (ang. *translocase of the inner mitochondrial membrane*), zlokalizowane w przestrzeni międzybłonowej mitochondriów. Jak wykazano ostatnio, białko Tom7 sprzyja odłączaniu białka Mdm10 od kompleksu TOB/SAM, co utrudnia powstawanie funkcjonalnego kompleksu TOM, ale jednocześnie odsłania na kompleksie TOB/SAM miejsca istotne dla wbudowania w błonę białka VDAC [33]. Białko Tom7 jest zatem specyficznym regulatorem aktywności kompleksu TOB/SAM. Z kolei małe białka Tim tworzą dwa kompleksy, Tim8/Tim13 i Tim9/Tim10, które uczestniczą w przeniesieniu importowanych białek z kompleksu TOM do kompleksu TIM22 (ryc. 1), odpowiedzialnego za ich wbudowanie w obszar wewnętrznej błony mitochondrialnej [22,26,40,43,48]. Kompleksy tworzone przez małe białka Tim mogą także uczestniczyć w przeniesieniu importowanego białka z kompleksu TOM do kompleksu TOB/SAM [16,19,52,60]. Ponieważ białka wbudowywane w błonę wewnętrzną mitochondriów charakteryzują się dużą zawartością odcinków hydrofobowych, chronionych podczas przeniesienia do kompleksu TIM22 przez kompleksy małych białek Tim, uważa się, iż współdziałanie kompleksów małych białek Tim z kompleksem TOB/SAM polega prawdopodobnie także na osłanianiu odcinków hydrofobowych białek tworzących strukturę beczułki β po ich uwolnieniu z kompleksu TOM, co z kolei ułatwia utrzymywanie importowanego białka w stanie konformacyjnym umożliwiającym jego oddziaływanie z kompleksem TOB/SAM i następnie wbudowanie w błonę. Współpraca małych białek Tim z kompleksem TOM i kompleksem TOB/SAM jest zapewne koniecznością wynikającą z braku bezpośredniego oddziaływania między tymi kompleksami. Jednak dokładne poznanie faktycznego znaczenia małych białek Tim w funkcjonowaniu kompleksu TOB/SAM wymaga dalszych badań [41,45].

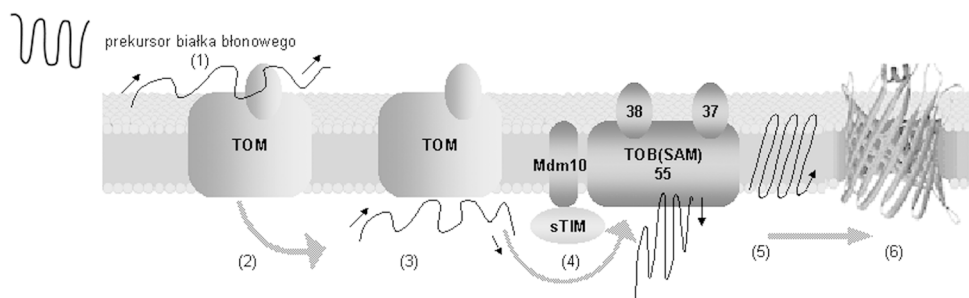
AKTYWNOŚĆ KANAŁOWA KOMPLEKSU

Dzięki zastosowaniu mikroskopii elektronowej stwierdzono, iż białko Tob55 może tworzyć w obrębie kompleksu TOB/SAM kanał o średnicy 4–5 nm, co potwierdzono dzięki zastosowaniu układu rekonstruowanego [42]. Wykazano bowiem, iż białko Tob55 jest zdolne do insercji w dwuwarstwę lipidową i tworzenia kanału o średniej wartości przewodnictwa 3,7 nS (w obecności 1 M KCl). Co więcej, kanał ten wykazuje symetryczną zależność od potencjału, przy czym zamyka się przy wartościach potencjału wyższych niż 70 mV [42]. Na razie brakuje danych pozwalających wyjaśnić sposób tworzenia i organizacji kanału w obrębie kompleksu TOB/SAM, jak i udział tego kanału w procesie wprowadzenia importowanego białka w kompleks TOB/SAM i następnie w błonę. Wyniki badań w układach rekonstruowanych wskazują, iż izolowane i poddane denaturacji białko tworzące strukturę beczułki β ulegają ponownemu fałdowaniu i następnie wbudowaniu w dwuwarstwę lipidową [11,57]. Proces wbudowywania jest jednak wolniejszy od obserwowanego w przypadku mitochondriów. Zakłada się zatem, iż importowane białko może ulec pofałdowaniu w obrębie kanału kompleksu TOB/SAM, na co pozwalają jego duże rozmiary, uwolnione z kanału i następnie wbudowane w błonę lub bezpośrednio wprowadzone w błonę na skutek bocznego otwarcia kanału [41,42]. Należy jednak pamiętać, iż białko Tob55 samo tworzy strukturę beczułki β , a do tej pory nie udało się wykazać, czy beczułka β może bocznie otworzyć się i następnie zamknąć bez uszkodzenia integralności strukturalnej [41,46].

FIZJOLOGICZNA ROLA KOMPLEKSU

Punktem wyjścia dla badań kompleksu TOB/SAM było udowodnienie, iż kompleks TOM, pełniący funkcję „bramy do mitochondriów” dla praktycznie wszystkich importowanych białek, nie jest w stanie samodzielnie zapewnić skutecznego importu do zewnętrznej błony mitochondrialnej białek tworzących strukturę beczułki β , w tym własnego składnika – białka Tom40 [61]. Co więcej, udowodniono, iż nowo importowane białko Tom40, zanim ulegnie wbudowaniu w błonę zewnętrzną, zostaje przeniesione przez kompleks TOM do przestrzeni międzybłonowej mitochondriów, co wskazywało na istnienie nieznanej wtedy jeszcze drogi insercji tego typu białka w zewnętrzną błonę mitochondrialną [37,61]. Białko Tom40 jest obecnie traktowane jako model w badaniach poświęconych importowi białek tworzących strukturę beczułki β do zewnętrznej błony mitochondriów [37,41,45–47], a prace poświęcone fizjologicznej roli kompleksu TOB/SAM dotyczą głównie jego udziału w składaniu funkcjonalnego kompleksu TOM [27,34,42,58,59]. Funkcjonujący obecnie model importu do zewnętrznej błony mitochondrialnej białek tworzących strukturę beczułki β zakłada następujące etapy:

- (1) rozpoznanie przez receptory kompleksu TOM;
- (2) przeniesienie przez kompleks TOM do przestrzeni międzybłonowej;
- (3) stabilizacja importowanego białka w przestrzeni międzybłonowej, w wyniku związania z kompleksem TOM;



RYCINA 2. Organizacja i mechanizm działania kompleksu TOB/SAM. W skład kompleksu TOB/SAM wchodzi prawdopodobnie trzy białka tworzące kompleks o masie 200–250 kD o niepoznanej jeszcze stechiometrii. Białko Tob55 jest integralnym białkiem błonowym zdolnym do tworzenia kanału. Białko to od strony cytoplazmy oddziałuje z dwoma białkami peryferyjnymi, Tob38 i Mas37. Udział białka Mdm10 w organizacji kompleksu TOB/SAM pozostaje w sferze dyskusji. Białko to oddziałując z kompleksem TOB/SAM zapewnia powstanie funkcjonalnego kompleksu TOM. Funkcjonujący obecnie model wbudowywania białek o strukturze beczułki β obejmuje następujące etapy: (1) rozpoznanie przez receptory kompleksu TOM; (2) przeniesienie przez kompleks TOM do przestrzeni międzybłonowej; (3) stabilizację importowanego białka w przestrzeni międzybłonowej, w wyniku związania z kompleksem TOM; (4) przeniesienie importowanego białka do kompleksu TOB/SAM, z przypuszczalnym udziałem małych białek Tim; (5) związanie importowanego białka przez kompleks TOB/SAM; (6) wprowadzenie importowanego białka w błonę przez kompleks TOB/SAM (według [41], zmodyfikowany)

(4) przeniesienie importowanego białka do kompleksu TOB/SAM, z przypuszczalnym udziałem małych białek Tim;

(5) związanie importowanego białka przez kompleks TOB/SAM;

(6) wprowadzenie importowanego białka w błonę przez kompleks TOB/SAM (ryc. 2).

W przypadku białka Tom40 wykazano, iż po wprowadzeniu w błonę ulega ono oligomeryzacji i oddziałuje z innymi białkami Tom, co jest warunkiem powstania funkcjonalnego kompleksu TOM [41] i wymaga udziału dodatkowych białek (patrz „Białka współdziałające z kompleksem”). Co ciekawe, analizując skutki mutacji Tom40 *Neurospora crassa* wykazano, iż kompleks TOM jest w stanie odróżnić od siebie poszczególne klasy importowanych białek, w tym białka tworzące strukturę beczułki β , co jest warunkiem wstępnym prawidłowego sortowania importowanych białek i wprowadzenia w odpowiedni przedział mitochondrialny [52].

Ponieważ kompleks TOB/SAM odgrywa kluczową rolę w powstaniu funkcjonalnego kompleksu TOM, jak i skutecznym imporcie innych białek tworzących w zewnętrznej błonie mitochondrialnej strukturę beczułki β , na przykład kanału VDAC gwarantującego wymianę metabolitów między mitochondriami i cytoplazmą, nie ulega wątpliwości, iż kompleks ten odgrywa podstawową rolę w tworzeniu i funkcjonowaniu mitochondriów. Co więcej, duży rozmiar kanału kompleksu TOB/SAM sprawia, iż rozpatruje się jego udział w procesach wymagających translokacji małych, sfałdowanych białek przez zewnętrzną błonę mitochondrialną, na przykład w uwalnianiu cytochromu c z mitochondriów, uznawanym za kluczowy etap apoptozy [42]. Udział kompleksu TOB/SAM w apoptozie sugeruje się również na podstawie ograniczonego podobieństwa sekwencji

aminokwasowej jego składników i metaksyn (patrz „Związki ewolucyjne”), będących prawdopodobnie istotną częścią mitochondrialnej maszyneryi egzekucji apoptozy [35].

BIOGENEZA KOMPLEKSU

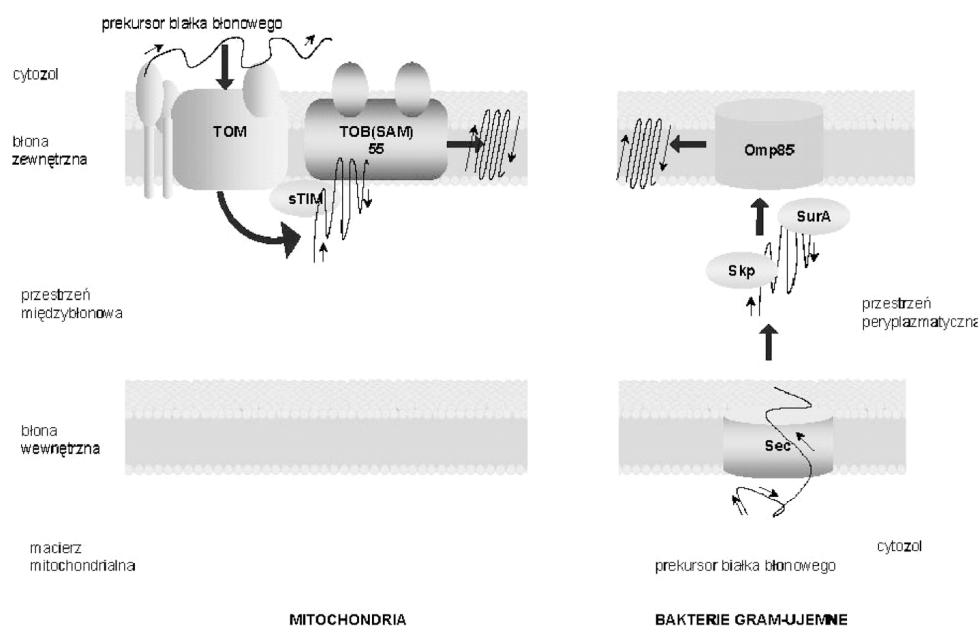
Biogeneza kompleksu TOB/SAM jest nadal zagadnieniem mało zbadanym. Oczywiście nie ulega wątpliwości, iż import głównego składnika kompleksu, białka Tob55, które należy do rodziny białek tworzących strukturę beczułki β , wymaga udziału kompleksu TOB/SAM [16,41,42]. Jednakże w odróżnieniu od innych importowanych w ten sposób białek, białko Tob55 nie musi opuścić kompleksu TOB/SAM. W kierowaniu białka Tob55 do kompleksu TOB/SAM uczestniczą kolejno kompleks TOM i małe białka Tim w przestrzeni międzybłonowej mitochondriów. Dalsze etapy włączania białka Tob55 w funkcjonalny kompleks TOB/SAM są nadal przedmiotem dyskusji, przy czym obecnie sugeruje się, że białko to jest jednak uwalniane do błony, zanim dojdzie do jego włączenia w kompleks TOB/SAM [41]. Nie ulega jednak wątpliwości, że warunkiem powstania aktywnego kompleksu TOB/SAM jest powstanie rdzenia tego kompleksu w wyniku oddziaływań między białkami Tob55 i Tob38 [16,59]. Co ciekawe, trzeci składnik kompleksu TOB/SAM, białko Mas37, które pełni bardzo ważną rolę w imporcie białek tworzących strukturę beczułki β [61], nie jest niezbędne do wbudowania białka Tob55 w błonę. Zatem, rdzeń kompleksu TOB/SAM prawdopodobnie powstaje bez udziału białka Mas37 [16]. Dotychczas nie powstała praca poświęcona mechanizmowi importu białka Tob38 do mitochondriów. Z kolei w przypadku białka Mas37 wykazano, iż jego import do mitochondriów przebiega bez udziału kompleksu TOM. Co więcej, sugeruje się, iż w procesie tym uczestniczy bezpośrednio kompleks TOB/SAM [16]. Nowopowstałe białko Mas37 jest prawdopodobnie rozpoznawane przez rdzeń kompleksu TOB/SAM i następnie przyłączane, co stanowi zupełnie nowy mechanizm wykorzystywany w imporcie białek do mitochondriów.

ZWIĄZKI EWOLUCYJNE

Białka tworzące strukturę beczułki β występują powszechnie w zewnętrznej błonie eubakterii zaliczanych do bakterii Gram-ujemnych, gdzie pełnią funkcję transporterów białek i metabolitów, receptorów, enzymów i czynników wirulencji [41,46,62]. Na przykład w przypadku *Escherichia coli* dotychczas zidentyfikowano ok. 60 białek tego typu. Białka tworzące strukturę beczułki β występują również w błonie zewnętrznej organelli pochodzenia endosymbiotycznego, tj. mitochondriów i chloroplastów, jednak liczba zidentyfikowanych w tych organellach białek o takiej strukturze jest zdecydowanie mniejsza. Na przykład w przypadku mitochondriów *S. cerevisiae* zidentyfikowano tylko 6 białek tego typu [41]. Są to dwie izoformy kanału VDAC, białko Tom40, białko Tob55, białko Mdm10 oraz białko Mmm2 (ang. *maintenance of mitochondrial morphology*), uczestniczące prawdopodobnie w wytworzeniu odpowiedniej morfologii mitochondriów (ryc. 1).

Konieczność włączenia się kompleksu TOB/SAM w proces wbudowywania w zewnętrzną błonę mitochondrialną białek tworzących strukturę beczułki β rodzi oczywiście pytanie dotyczące złożoności procesu importu tych białek. Białka te zostają skierowane początkowo przez kompleks TOM do przestrzeni międzybłonowej mitochondriów, skąd trafiają do kompleksu TOB/SAM i następnie do błony. Sugeruje się, iż tak skomplikowany przebieg importu jest skutkiem ewolucyjnego pochodzenia mitochondrialnych białek tworzących strukturę beczułki β od białek zewnętrznej błony eubakterii o analogicznej topologii i strukturze [13,32,4142,45]. W toku ewolucji kierunek wbudowywania tego typu białek w błonę uległ zakonserwowaniu (ryc. 3). U eubakterii oraz w przypadku mitochondriów białka tworzące strukturę beczułki β kierowane są najpierw do przedziału hydrofilnego (odpowiednio przestrzeń periplazmatyczna i mitochondrialna przestrzeń międzybłonowa), skąd przy udziale białek opiekuńczych trafiają do kompleksu gwarantującego wbudowanie w zewnętrzną błonę. Przeniesienie genów kodujących białka z genomu endosymbionta do genomu jądrowego, jak i powstanie nowych genów kodujących białka mitochondrialne towarzyszące ewolucji komórki eukariotycznej spowodowało konieczność zaangażowania w proces importu kompleksu TOM, który umożliwia wprowadzenie białek tworzących strukturę beczułki β z cytoplazmy do mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej. Co ciekawe, dostępne dane wskazują, iż sposób wbudowywania białek tworzących strukturę beczułki β w błonę zewnętrzną chloroplastów jest podobny do opisanego dla mitochondriów [41].

Jednak wykazanie pokrewieństwa między bakteryjnymi i mitochondrialnymi białkami tworzącymi strukturę beczułki β natrafia na duże trudności, wynikające z braku homologii sekwencji aminokwasowej. Dotychczas taką homologię udało się wykazać jedynie w przypadku białka Tob55 [7,4142]. Brak podobieństwa sekwencji aminokwasowej w przypadku bakteryjnych i mitochondrialnych białek tworzących strukturę beczułki β wynikać może z obserwowanej w przypadku tych białek silnej tendencji do ewolucji dywergentnej [13,41,62]. Należy jednak zaznaczyć, iż kwestia ewolucyjnego pochodzenia mitochondrialnych białek tworzących strukturę beczułki β nie została do dzisiaj jednoznacznie wyjaśniona. Na przykład, w przypadku kanału VDAC funkcjonują dwa przeciwstawne poglądy, z których jeden zakłada istnienie pokrewieństwa między kanałem VDAC a porynami bakteryjnymi, prowadzącymi transport metabolitów przez zewnętrzną błonę eubakterii i uznaje za zasadne stosowanie w przypadku tego kanału nazwy poryna mitochondrialna, natomiast drugi uznaje istniejące podobieństwa za przypadkowe [6,9]. Także w przypadku białka Tom40 istnieją dane wskazujące na jego pochodzenie eukariotyczne [31,44]. Jeśli istotnie niektóre z mitochondrialnych białek tworzących strukturę beczułki β nie są spokrewnione z białkami eubakterii, ich powstanie byłoby skutkiem ewolucji konwergentnej, ponieważ wszystkie te białka wykazują wspólne cechy struktury drugorzędowej, będącej warunkiem wstępnym utworzenia beczułki β . Zawierają parzystą liczbę (zwykle od 8 do 22) odcinków przyjmujących postać amfipatycznych i antyrównoległych harmonijek β , z których każda zawiera od 8 do 11 aminokwasów. Taka długość harmonijki umożliwia utworzenie fragmentu ściany beczułki β [41]. Należy jednak zaznaczyć, iż struktury przestrzenne na poziomie atomowym udało się do tej pory uzyskać jedynie w przypadku białek bakteryjnych. W przypadku białek eukariotycznych, w tym białek mitochondrialnych, wnioskowanie o obecności beczułki β opiera się na



RYCINA 3. Schemat wbudowywania białek o strukturze beczułki β w zewnętrzną błonę mitochondriów i bakterii Gram-ujemnych. W toku ewolucji kierunek wbudowywania białek o strukturze beczułki β w błonę uległ zakonserwowaniu. U bakterii Gram-ujemnych oraz w przypadku mitochondriów białka tworzące strukturę beczułki β kierowane są najpierw do przedziału hydrofilnego (odpowiednio, przestrzeń peryplazmatyczna i mitochondrialna przestrzeń międzybłonowa), skąd przy udziale białek opiekuńczych trafiają do kompleksu gwarantującego wbudowanie w zewnętrzną błonę (odpowiednio, białko Omp85 i kompleks TOB/SAM) (według [45], zmodyfikowany)

dowodach pośrednich obejmujących dane dotyczące mechanizmu importu, zawartości harmonijek β i komputerowego modelowania białek [46].

Jak wspomniano wcześniej, białko Tob55, główny składnik kompleksu TOB/SAM, jest jedynym mitochondrialnym białkiem tworzącym strukturę beczułki β , w przypadku którego stwierdzono homologię z białkami bakteryjnymi [7,13,31,41,42]. Białka te zaliczane są do rodziny Omp85 (ang. *outer membrane porin*). Analiza filogenetyczna białek zaliczanych do tej rodziny pozwala na wyróżnienie czterech głównych grup o różnym stopniu pokrewieństwa. Są to:

- (1) białka Tob55;
- (2) białka zewnętrznej błony eubakterii zaliczanych do bakterii Gram-ujemnych, w tym α -proteobakterii;
- (3) białka zewnętrznej błony niektórych bakterii Gram-dodatnich, u których błona ta jest elementem przystosowania do funkcjonowania w warunkach ekstremalnych, np. *Deinococcus radiodurans* czy *Thermatoga maritime*;
- (4) białka błony zewnętrznej chloroplastów – białka Toc75 (ang. *translocon at the outer membrane of chloroplast*) oraz ich homologi u cyjanobakterii, traktowane jako odrębna gałąź drzewa ewolucyjnego białek Omp85.

Należy także zaznaczyć, iż białka Toc75 nie stanowią grupy homogennej z punktu widzenia filogenezy. Do białek tych zalicza się między innymi funkcjonalne odpowiedniki białka Tom40, jak i białka Tob55 [38,41,56]. Na podstawie homologii z białkiem Tob55 z mitochondriów *S. cerevisiae* obecność tego białka stwierdzono w mitochondriach praktycznie wszystkich organizmów eukariotycznych, łącznie z roślinami i człowiekiem [7,13,31,42]. Jednak w przypadku pozostałych składników kompleksu TOB/SAM zidentyfikowanych w mitochondriach *S. cerevisiae* udało się jedynie zidentyfikować nieliczne homologi. Obecność białka Tob38 stwierdzono tylko w mitochondriach grzybów, przy czym sugeruje się, iż może być ono odpowiednikiem metaksyny 2, białka zlokalizowanego w mitochondriach zwierząt [18,31,41]. Z kolei białko Mas37 wykazuje ograniczone podobieństwo sekwencji aminokwasowej do metaksyny 1, białka zlokalizowanego w mitochondriach zwierząt i roślin [18,31,35,41].

Dostępne dane nie pozwalają zatem na razie na opracowanie powszechnie obowiązującego modelu organizacji kompleksu TOB/SAM organizmów eukariotycznych. Nie udało się również wykazać funkcjonowania u eubakterii „homologu” kompleksu TOB/SAM. Istnieją co prawda dane wskazujące na oddziaływanie bakteryjnych homologów białka Tob55 z peryferyjnymi białkami błonowymi [31,41,64], ale białka te nie wykazują homologii z białkami eukariotycznymi oraz do tej pory nie udowodniono, aby powstające z ich udziałem kompleksy uczestniczyły w insercji w błonę białek tworzących strukturę beczułki β . Jednak tworzące strukturę beczułki β białka eubakterii poddane ekspresji w komórkach drożdży są skutecznie wprowadzane w zewnętrzną błonę mitochondriów [39], co wskazuje na duże podobieństwo informacji zawartej w translokowanym białku i tworzonej przez inne białka maszynierii dekodowania tej informacji oraz zbliżony sposób funkcjonowania oddziałujących białek. Co ciekawe, mitochondria są również zdolne do importu chloroplastowych białek tworzących strukturę beczułki β i wprowadzania ich w błonę zewnętrzną [49]. Analiza sekwencji aminokwasowych białek tworzących strukturę beczułki β i uczestniczących w procesie transportu białek wskazuje na istnienie przynajmniej czterech różnych „sygatur” pozwalających na identyfikację tych białek [13,38,41,51]. Pierwsza z nich, określana mianem POTRA (ang. *polypeptide transport associated domain*) znajduje się w rejonie końca aminowego, zlokalizowanego poza błoną i przypuszczalnie uczestniczy w rozpoznawaniu transportowanych białek. Trzy następne zlokalizowane są w rejonie końca karboksylowego, tworzącego strukturę beczułki β i występują w analizowanych białkach z różną częstotliwością. Obecność takich specyficznych motywów sekwencyjnych wskazuje na silne pokrewieństwo ewolucyjne tworzących strukturę beczułki β transporterów białek i jest podstawą wyróżniania nadrodziny tworzących strukturę beczułki β transporterów białek, do której obok białek eubakterii zaliczane są białka Tob55 i Toc75.

PODSUMOWANIE

W skomplikowanych procesach rozpoznawania i sortowania białek kierowanych do mitochondriów uczestniczą kompleksy białkowe, zlokalizowane w obu błonach mitochondrialnych. Wśród nich podstawową rolę w zapoczątkowaniu importu białek do mitochondriów odgrywa kompleks TOM zlokalizowany w zewnętrznej błonie mitochondrialnej. Co więcej, warunkiem skutecznego kierowania białek do mitochondriów jest odpowiedni stan energetyczny mitochondriów, warunkowany skuteczną wymianą metabolitów między tymi organellami i resztą komórki. Proces ten jest kontrolowany przez funkcjonujący w błonie zewnętrznej kanał VDAC. Zarówno kanał VDAC, jak i warunkujące działanie kompleksu TOM białko Tom40 należą do rodziny białek tworzących w błonie strukturę beczułki β . Członkami tej rodziny są również białka kontrolujące morfologię i dystrybucję mitochondriów. Zatem, wbudowywanie w błonę zewnętrzną białek o takiej topologii ma fundamentalne znaczenie nie tylko dla tworzenia mitochondriów w toku ewolucji, ale również dla ich prawidłowego działania we współczesnych komórkach. Kompleks TOB/SAM gwarantujący powstanie funkcjonalnych białek o strukturze beczułki β w zewnętrznej błonie mitochondriów zyskuje zatem miano kluczowego w badaniach nad mitochondriami, a jego podstawowy składnik, białko Tob55, wykazujące homologię z białkami bakteryjnymi jest istotnym elementem rozważań nad ewolucją komórki eukariotycznej.

LITERATURA

- [1] ABUHAMAD S, SIVAN S, SHOSAHANBARMATZ Z. The expression level of the voltage-dependent anion channel controls life and death of the cell. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**(15): 578–792.
- [2] AHTING U, THIEFFRY M, ENGELHARDT H, HEGERL R, NEUPERT W, NUSSBERGER S. Tom40, the poreforming component of the proteinconducting TOM channel in the Outer Membrane of Mitochondria. *J Cell Biol* 2001; **153**: 1151–1160.
- [3] BENZ R. Permeation of hydrophilic solutes through mitochondrial outer membranes: review on mitochondrial proteins. *Biochim Biophys Acta* 1994; **1197**: 167–196.
- [4] BLACHYDYSON E, FORTE M. VDAC channels. *IUBMB Life* 2001; **52**: 113–118.
- [5] BOLDOGH IR, NOWKOWSKI DW, YANG HC, CHUNG H, KARMON S, ROYES P, PON LA. A protein complex containing Mdm10p, Mdm12p, and Mmm1p links mitochondrial membranes and DNA to the cytoskeletonbased segregation machinery. *Mol Biol Cell* 2003; **14**(11): 4618–4627.
- [6] COLOMBINI M. VDAC: the channel at the interface between mitochondria and the cytosol. *Mol Cell Biochem* 2004; **256–257**(12): 107–115.
- [7] DOLEZAL P, LIKIC V, TACHEZY J, LITHGOW T. Evolution of the molecular machines of protein import into mitochondria. *Science* 2006; **313** (5785): 314–318.
- [8] DYALL SD, BROWN MT, JOHANSON PJ. Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science* 2004; **9**; 304(5668): 253–257.
- [9] DE PINTO V, MESSINA A, ACCARDI R, AIELLO A, GUARINO F, TOMASELLO MF, TOMMASINO M, TASCIO G, CASADIO R, BENZ R, DE GIORGI F, ICHAS F, BAKER M, LAWEN A. New functions of an old protein: the eukaryotic porin or voltage dependent anion selective channel (VDAC). *J Biochem* 2003; **52**(1): 17–24.
- [10] GABRIEL K, EGAN B, LITHGOW T. Tom40, the import channel of the mitochondrial outer membrane, plays an active role in sorting imported proteins. *EMBO* 2003; **22**: 2380–2386.

- [11] GABRIEL K, BUCHANAN SK, LITHGOW T. The alpha and the beta: protein translocation across mitochondrial and plastid outer membranes. *Trends Biochem Sci* 2001; **26**(1): 38–40.
- [12] GAVIN AC, ALOY P, GRANDI P, [...] RUSSEL RB, SUPERTIFURGA G. Proteome survey reveals modularity of the yeast cell machinery. *Nature* 2006; **440**(7084): 63–16.
- [13] GENTLE I, GABRIEL K, BEECH P, WALLER R, LITHGOW T. The Omp85 family of proteins is essential for outer membrane biogenesis in mitochondria and bacteria. *J Cell Biol* 2004; **164** (1): 19–24.
- [14] GRATZER -S, LITHGOW T, BAUER RE, LAMPING E, PALTAUF F, KOHWEIN SD, HAUCKE V, JUNNE T, SCHATZ G, HORST G. Mas37p, a novel receptor subunit for protein import into mitochondria. *J Cell Biol* 1995; **129**(1): 25–34.
- [15] GRAY MG, BURGER G, LANG BF. Mitochondrial evolution. *Science* 1999; **283**: 1474–1481.
- [16] HABIB SJ, WAIZENEGGER T, LECH M, NEUPERT W, RAPAPORT D. Assembly of the TOB complex of mitochondria. *J Biol Cell* 2005; **280**: 6434–6440.
- [17] HILL K, MODEL, RYAN MT, DIETMEIER K, MARTIN F, WAGNER R, PFANNER N. Tom40 forms the hydrophobic channel of the mitochondrial import pore for preproteins. *Nature* 1998; **396**: 516–521.
- [18] HOOGENRAAD NJ, WARD LA, RYAN MT. Import and assembly of proteins into mitochondria of mammals. *Biochim Biophys Acta* 2002; **1592**: 97–105.
- [19] HOPPINS SC, NARGANG TE W. The Tim8Tim13 Complex of *Neurospora crassa* Functions in the Assembly of Proteins into Both Mitochondrial Membranes. *J Biol Cell* 2004; **13**: 12396–12405.
- [20] HUMPHRIES AD, STREIMANN IC, STROYNOVSKI D, JOHANSON AJ, JANO M, HOOGENRAAD NJ, RYAN MT. Dissection of the mitochondrial import and assembly pathway for human Tom40. *J Biol Chem* 2005; **280**(12): 11535–11543.
- [21] ISHIKAWA D, YAMAMOTO H, TAMURA Y, MORITOH K, ENDO T. The novel proteins in the mitochondrial outer membrane mediate β -barrel protein assembly. *J Cell Biol* 2004; **166**: 621–627.
- [22] JENSEN RE, DUNN CD. Protein import into and across the mitochondrial inner membrane: role of the TIM23 and TIM22 translocons. *Biochim Biophys Acta* 2002; **1592**(1): 25–34.
- [23] KMITA H, STOBIEŃA O. Kanał VDAC jako regulator funkcji mitochondriów. *Post Biochem* 2006; **52**(2): 129–136.
- [24] KMITA H, ANTOS N, WOJTKOWSKA M, HRYNIEWIECKA H. Processes underlying the upregulation of Tom proteins in *S. cerevisiae* mitochondria depleted of the VDAC channel. *J Bioenerg Biomembr* 2004; **36**(2): 187–193.
- [25] KMITA H, ANTOS N. Udział kanałów błony zewnętrznej w fizjologii mitochondriów. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 203–220.
- [26] KOEHLER CM. New developments in mitochondrial assembly. *Cell Dev Biol* 2004; **20**: 309–335.
- [27] KOZJAK V, WIEDEMANN N, MILENKOVIC D, LOHAUS CH, MEYER HE, GUIARD B, MEISINGER CH, PFANNER N. An essential role of Sam50 in the protein sorting and assembly machinery of the mitochondrial outer membrane. *J Biol Chem* 2003; **278**: 48520–48523.
- [28] KRIMMER T, GEISSLER A, PFANNER N, RASOW J. Sorting of preproteins into mitochondria. *Chem-biochem* 2001; **2**(78): 505–512.
- [29] KROGAN NJ, CADNEY G, [...], GREENBLAT JF. Global landscape of protein complex in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 2006; **30**; 440(7084): 637–643.
- [30] LEMASTERS JJ, HOLMUHAMEDOV E. Voltagedependent anion channel (VDAC) as mitochondrial governor thinking outside the box. *Biochim Biophys Acta* 2006; **762**(2): 181–190.
- [31] LISTER R, HULETT JM, LITHGOW T, WHELAN J. Protein import into mitochondria: origins and functions today. *Mol Membr Biol* 2005; **22**(12): 87–100.
- [32] MARCOTTE EM, XENARIOS I, VAN DER BLIEK AM, EISENBERG D. Localizing proteins in the cell from their phylogenetic profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**(22): 12115–12120.
- [33] MEISINGER C, WIEDEMANN N, RISSLER M, STRUB A, MILENKOVIC D, SCHONFISCH B, MULLER H, KOZJAK V, PFANNER N. Mitochondrial Protein Sorting: differentiation of betabarrel assembly by tom7 mediated segregation of Mdm10. *J Biol Chem* 2006; **281**(32): 22819–22826.
- [34] MEISINGER C, RISSLER H, CHACIŃSKA A, SZKLARZ LK, MILENKOWIC D, KOZJAK V, SCHONFISCH B, LOHAUS B, MEYER HE, YAFFE MP, GUIARD B, WIEDEMANN N, PFANNER N. The mitochondrial morphology protein Mdm10 functions in assembly of the the preprotein translocase of the outer membrane. *Dev Cell* 2004; **7**(1): 61–71.
- [35] MILENKOVIC D, KOZJAK V, WIEDEMAN N, LOHAUS C, MEYER HE, GUIARD B, PFANNER N, MEISINGER C. Sam 35 of the mitochondrial protein sorting and assembly machinery is a peripheral outer membrane protein essential for cell viability. *J Biol Chem* 2004; **279**: 22781–22785.

- [36] MODEL K, PRINZ T, RUIZ T, RADERMACHER M, KRIMMER T, KUHLEBRANDT W, PFANNER N, MEISINGER C. Protein translocase of the mitochondrial outer membrane: role of import receptors in the structural organization of the TOM complex. *J Mol Biol* 2002; **316**(3): 657–666.
- [37] MODEL K, MEISINGER C, PRINZ T, WIEDEMANN N, TRUSCOTT KN, PFANNER N, RYAN MT. Multistep assembly of the protein import channel of the mitochondrial outer membrane. *Nat Struct Biol* 2001; **8**(4): 361–370.
- [38] MOSLAVAC S, MIRUS O, BREDMEIER R, SOLL J, VON HAESELER A, SCHLEIFF E. Conserved poreforming regions in polypeptidetransporting proteins. *FEBS J* 2005; **272**(6): 1367–1378.
- [39] MULLER A, RASSOW J, GRIMM J, MACHUY N, MEYER TF, RUDEL T. VDAC and the bacterial porin PorB of *Neisseria gonorrhoeae* share mitochondrial import pathways. *EMBO J* 2002; **21**(8): 1916–1929.
- [40] MUHLENBEIN N, HOFMANN S, ROTHBAUER U, BAUER MF. Organization and function of the small Tim complexes acting along the import pathway of metabolite carriers into mammalian mitochondria. *J Biol Chem* 2004; **279**(14): 13540–13546.
- [41] PASCHEN SA, NEUPERT W, RAPAPORT D. Biogenesis of β -barrel membrane proteins of mitochondria. *Trends in Biochem Sci* 2005; **10**: 575–582.
- [42] PASCHEN SA, WAIZENEGGER T, STAN T, PREUSS M, CYRKLAFF M, HELL K, RAPAPORT D, NEUPERT W. Evolutionary conservation of biogenesis of betabarrel membrane proteins. *Nature* 2003; **426**(6968): 862–866.
- [43] PASCHEN SA, NEUPERT W. Protein import into mitochondria. *IUBMB Life* 2001; **52**: 101–112.
- [44] PERRY AJ, HULETT JN, LIKIC VA, LITHGOW T, GOOLEY PR. Convergent evolution of receptors for protein import into mitochondria. *Curr Biol* 2006; **16**(3): 221–229.
- [45] PFANNER N, WIEDEMAN N, MEISINGER C, LITHGOW T. Assembling the mitochondrial outer membrane. *Nat Struct and Mol Biol* 2004; **11**: 1044–1048.
- [46] RAPAPORT D. How does the TOM complex mediate insertion of precursor proteins into the mitochondrial outer membrane. *J Cell Biol* 2005; **171**(3): 419–423.
- [47] RAPAPORT D. Biogenesis of the mitochondrial TOM complex. *Trends Biochem Sci* 2002; **27**: 191–197.
- [48] REHLING P, PFANNER N, MEISINGER C. Insertion of hydrophobic membrane proteins into the inner mitochondrial membrane A guided tour. *J Mol Biol* 2003; **326**: 639–657.
- [49] ROHL T, MOTZKUS M, SOLL J. The outer envelope protein OEP24 from pea chloroplasts can functionally replace the mitochondrial VDAC in yeast. *FEBS Lett* 1999; **460**(3): 491–494.
- [50] ROSTOVTSOVA TK, TAN W, COLOMBINI M. On the role of VDAC in apoptosis: fact and fiction. *J Bioenerg Biomembr* 2005; **37**(3): 129–142.
- [51] SANCHEZPULIDO L, DEVOS D, GENEVOIS G, VICENTE M, VALENCIA A. POTRA: a conserved domain in the FtsQ family and a class of betabarrel outer membrane proteins. *Trends Biochem Sci* 2003; **28**(10): 523–526.
- [52] SHERMAN EL, TAYLOR ED, GONNE, NARGANG FE. Effect of Mutations in Tom40 on Stability of the Translocase of the Outer Mitochondrial Membrane (TOM) Complex, Assembly of Tom40, and Import of Mitochondrial Preproteins. *J Biol Chem* 2006; **281**(32): 22554–22565.
- [53] SHOSHANBARMATZ V, ISRAELSON A, BRDICKA D, SHEU SS. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des* 2006; **12**(18): 2249–2270.
- [54] SHOSHANBARMATZ V, ISRAELSON A. The voltage-dependent anion channel in Endoplasmic/sarcoplasmic reticulum: characterization, modulation and possible function. *J Membr Biol* 2005; **204**(2): 57–66.
- [55] SOGO LF, YAFFE MP. Regulation of mitochondrial morphology and inheritance by Mdm10p, a protein of the mitochondrial outer membrane. *J Cell Biol* 1994; **126**(6): 1361–1373.
- [56] SOLL J, SCHLEIFF E. Protein import into chloroplasts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; **5**(3): 198–208.
- [57] TAMM LK, HONG H, LIANG B. Folding and assembly of beta-barrel membrane proteins. *Biochim Biophys Acta* 2004; **1666**: 250–263.
- [58] WAIZENEGGER T, SCHMITT S, ZIVKOVIC J, NEUPERT N, RAPAPORT D. Mim1, a protein required for the assembly of the TOM complex of mitochondria. *EMBO Rep* 2005; **6**(1): 57–62.
- [59] WAIZENEGGER T, HABIB SJ, LECH M, MOKRANJAC D, PASCHEN SA, HELL K, NEUPERT W, RAPAPORT D. Tob38, a novel essential component in the biogenesis of betabarrel proteins of mitochondria. *EMBO Rep* 2004; **5**(7): 704–709.

- [60] WIEDEMANN N, TRUSCOT KN, PFANNSCHMIDT S, GUIARD B, MEISINGER C, PFANNER N. Biogenesis of the protein import channel tom 40 of the mitochondrial outer membrane. *J Biol Cell* 2004; **18**: 18188–18194.
- [61] WIEDEMANN N, KOZJAK V, CHACIŃSKA A, SCHONFISCH B, ROSPERT S, RYAN MT, PFANNER N, MEISINGER C. Machinery for protein sorting and assembly in the mitochondrial outer membrane. *Nature* 2003; **424**(6948): 565–571.
- [62] WIMLEY WC. The versatile betabarrel membrane protein. *Curr Opin Struct Biol* 2003; **13**(4): 404–411.
- [63] WOJTKOWSKA M, KMITA H. Kanały aparatu importu białka do mitochondriów. *Post Biol Kom* 2004; **31**(3): 397–628.
- [64] WU T. Identification of a multicomponent complex required for outer membrane biogenesis in *Escherichia coli*. *Cell* 2005; **121**: 235–245.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 05.10. 2006 r.
Przyjęto: 28.11. 2006 r.
ul. Fredry 10, Poznań 60701
kmita@amu.edu.pl