

ไมโทคอนเดรีย: ออร์แกเนลล์ที่น่าพิศวง

นิชา เจริญศรี, พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์

บทคัดย่อ

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอตที่มีความน่าพิศวง เนื่องจากคุณสมบัติ 2 ประการ ได้แก่ การเป็นออร์แกเนลล์ที่มีพันธุกรรมของตัวเอง และการถ่ายทอดไมโทคอนเดรียที่เฉพาะมาจากทางมารดาเท่านั้น บทความนี้ได้นำความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติดังกล่าวและผลการศึกษาเพื่อไขปริศนาของไมโทคอนเดรียมาทบทวนเผยแพร่ ผลการศึกษาลักษณะพันธุกรรมและโปรตีนของไมโทคอนเดรียโดยการเปรียบเทียบระดับความคล้ายคลึงกับพันธุกรรมและโปรตีนของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ซึ่งให้เห็นว่าไมโทคอนเดรียมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งริคเกตเซีย ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มอัลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย จึงทำให้เกิดการยอมรับว่าต้นกำเนิดของไมโทคอนเดรียนั้นมีบรรพบุรุษร่วมกันกับแบคทีเรีย สำหรับคุณสมบัติของไมโทคอนเดรียที่มีการถ่ายทอดมาจากทางมารดานั้น มีหลักฐานแสดงให้เห็นว่าไมโทคอนเดรียจากบิดาถูกทำลายด้วยกลไกที่เกี่ยวข้องกับ ubiquitin-proteasome pathway และเอนไซม์นิวคลีเอส โดยการทำลายไมโทคอนเดรียจากพ่อเกิดขึ้นภายในไซโทพลาซึมภายหลังจากที่มีการปฏิสนธิแล้ว ความรู้เกี่ยวกับไมโทคอนเดรียดังกล่าวนี้มีประโยชน์ต่อการศึกษาในด้านต่างๆ เช่น การศึกษาเรื่องวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต การถ่ายทอดของโรคทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย การทำปฏิสนธิในห้องปฏิบัติการ เป็นต้น อย่างไรก็ตามความรู้ในระดับโมเลกุลของไมโทคอนเดรียยังคงมีการศึกษาต่อไปเพื่อไขปริศนาเกี่ยวกับไมโทคอนเดรียที่ยังมีอีกมาก

คำรหัส: ไมโทคอนเดรีย, พันธุกรรม, อัลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย, การถ่ายทอดจากมารดา

บทนำ

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอตที่มีความสำคัญมาก หน้าที่ของไมโทคอนเดรียที่มีความสำคัญที่สุดและมีการศึกษากันอย่างมากระยะต้นๆ คือการสร้างพลังงานในรูป adenosine triphosphate (ATP) นอกจากนี้ไมโทคอนเดรียยังทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกการตายของเซลล์แบบ apoptosis^{1,2} การสังเคราะห์สารประกอบกลุ่ม steroids (steroidogenesis)³ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการแก่ของเซลล์ (cell aging process)⁴ จากความสำคัญของไมโทคอนเดรียดังที่กล่าวมาทำให้มีการศึกษาไมโทคอนเดรียอย่างกว้างขวาง

ในหลากหลายแง่มุม ประกอบกับเทคโนโลยีใหม่ๆ ในระยะไม่กี่สิบปีที่ผ่านมาช่วยให้อธิบายข้อสงสัยเกี่ยวกับธรรมชาติของไมโทคอนเดรียมากขึ้นเป็นลำดับ บทความปริทัศน์นี้ได้รวบรวมความรู้จากการศึกษาทางอณูชีวโมเลกุลที่ทำให้เราเข้าใจไมโทคอนเดรียมากยิ่งขึ้น โดยกล่าวถึงลักษณะโดยทั่วไปของไมโทคอนเดรีย พันธุกรรมและจีโนมที่พบในไมโทคอนเดรีย ลักษณะพิเศษของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียที่บ่งชี้ว่าต้นกำเนิดของออร์แกเนลล์ชนิดนี้มีวิวัฒนาการมาจากสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอต นอกจากนี้ยังมีธรรมชาติการถ่ายทอดของไมโทคอนเดรียที่น่าพิศวงซึ่งนำมากล่าวทั้งสมมติฐาน

Department of Clinical Microbiology, Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories,
Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

Mitochondrion: an intriguing organelle

Nicha Charoensri, Pipat Sribenjalux

Abstract

Mitochondrion is an intriguing organelle of eukaryotes because it is the only organelle, besides the nucleus, carrying its own genetic materials. Significant numbers of phylogenetic studies on nucleotide and protein sequences have revealed that mitochondria share the same ancestor with Rickettsia, intracellular parasitic bacteria classified in the group of alpha-proteobacteria. More interestingly, most eukaryotes inherit their mitochondria from their mother. It has been suggested that mitochondria from father are selectively eliminated after fertilization. Elimination of paternal mitochondria is mediated by 2 specific degradation mechanisms, ubiquitin-proteasome pathway and nuclease pathway. The knowledge on mitochondria contributes crucial elements on various fields of biology such as genetic diseases, in vitro fertilization and evolution.

Key words: mitochondria. genetics. alpha-proteobacteria. maternal inheritance

และผลการศึกษาที่ไขปริศนาเกี่ยวกับกลไกที่ทำให้ไมโทคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีการถ่ายทอดอย่างจำเพาะมาจากมารดาเท่านั้น

รูปร่าง โครงสร้างและส่วนประกอบ

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่มีขนาดใหญ่รองจากนิวเคลียสในตำราชีววิทยาของเซลล์ส่วนใหญ่บรรยายเกี่ยวกับรูปร่างของไมโทคอนเดรียว่ามีลักษณะเป็นทรงกลมรี หรือรูปไข่ ขนาดประมาณ 1 ไมโครเมตร แต่ในความเป็นจริงแล้ว พบว่าเซลล์หลายชนิดมีไมโทคอนเดรียที่มีรูปร่างเป็นเครือข่ายของท่อลักษณะเช่นเดียวกับ endoplasmic reticulum และ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปตามสภาวะ หรือการทำงานของเซลล์นั้นๆ⁵⁻⁸ โครงสร้างของไมโทคอนเดรียประกอบด้วยเยื่อหุ้มที่มีลักษณะเป็น lipid bilayer 2 ชั้น เยื่อหุ้มชั้นในมี

ลักษณะพิเศษ คือยื่นพับเข้ามาภายในทำให้เกิดลักษณะเป็นชั้นซ้อนกัน เรียกลักษณะนี้ว่า cristae สำหรับบริเวณที่อยู่ภายในเยื่อหุ้มชั้นในเรียกว่า matrix และบริเวณที่อยู่ระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นใน เรียกว่า intermembrane space

สำหรับโปรตีนองค์ประกอบของไมโทคอนเดรียนั้น มีรายงานจากการศึกษาด้วยเทคนิคทาง proteomics ว่าประกอบด้วยโปรตีนหลายร้อยชนิด เช่น Forner และคณะ⁹ ใช้เทคนิคการแยกโปรตีนด้วย polyacrylamide gel electrophoresis แล้วย่อยและวิเคราะห์โปรตีนด้วย mass spectrophotometry ในการศึกษาโปรตีนองค์ประกอบของไมโทคอนเดรียจากเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น หัวใจ ตับ และ กล้ามเนื้อ พบว่าไมโทคอนเดรียประกอบด้วยโปรตีนมากกว่า 650 ชนิด โปรตีนเหล่านี้กระจายอยู่ตามส่วนต่างๆของไมโทคอนเดรีย ทั้งที่เยื่อหุ้ม inter-

ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก และศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)
คณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

membrane space และ matrix ชนิดของโปรตีนองค์ประกอบของไมโทคอนเดรีย มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของเซลล์ รวมทั้งระยะเวลาในการเจริญเติบโตของเซลล์ ความแตกต่างของชนิดของโปรตีนที่พบแสดงให้เห็นถึงบทบาทการทำงานของไมโทคอนเดรียที่ต่างกันไปในแต่ละช่วงเวลาและหน้าที่ของเซลล์ โปรตีนในไมโทคอนเดรียส่วนใหญ่กว่า 98 % นั้นกำหนดโดยยีนที่อยู่ในโครโมโซม แต่มีโปรตีน 13 ชนิด กำหนดโดยยีนของไมโทคอนเดรียเองซึ่งจะกล่าวถึงในลำดับต่อไป โปรตีนที่สร้างจากยีนในโครโมโซมจะมีการขนส่งเข้ามายังไมโทคอนเดรีย¹⁰⁻¹²

ส่วนประกอบสำคัญของไมโทคอนเดรียอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่มีความพิเศษเฉพาะตัว คือ สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA, mtDNA) ซึ่งพบอยู่บริเวณ matrix นอกจากนี้ยังมีสารประกอบประเภทอาร์เอ็นเอทั้ง mRNA rRNA และ tRNA ที่ใช้สำหรับการแสดงออกของยีนที่อยู่ในสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียด้วย

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียของสัตว์โดยส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นวง (circular form) ของดีเอ็นเอสายคู่ที่ไม่มีโปรตีนประเภทฮิสโตนจับหุ้ม¹³⁻¹⁵ สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียในสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันมีขนาดต่างกัน โดยในสัตว์มีขนาดระหว่าง 15-20 กิโลเบสแพร์ในพืชมีขนาดใหญ่มากกว่าของสัตว์ 10-150 เท่า และในคนมีขนาด 16,569 นิวคลีโอไทด์¹⁶

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียของคนที่ใช้ในการอ้างอิงนั้น ผู้ที่รายงานครั้งแรกคือ Anderson และคณะ¹⁷ เรียกว่า Cambridge Reference Sequence (CRS) ต่อมาลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ถูกปรับปรุงแก้ไขไปบ้าง เนื่องจากพบว่าข้อมูลนิวคลีโอไทด์บางตำแหน่งมีความผิดพลาดจากเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ รวมทั้งนิวคลีโอไทด์บางตำแหน่งจัดเป็นลักษณะที่พบน้อยมากไม่เหมาะสม

ที่จะใช้เป็นข้อมูลอ้างอิง ปัจจุบันข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียของคนและสิ่งมีชีวิตหลายชนิดมีการรวบรวมไว้ที่เว็บไซต์ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/ORGANELLES/organelles.html> ของ National Center for Biotechnology Information และที่เว็บไซต์ <http://www.mitomap.org/> สาธารณชนสามารถเข้าไปสืบค้นข้อมูลจากเว็บไซต์เหล่านี้ได้

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียยังมีลักษณะพิเศษในเรื่องจำนวน โดยจำนวนชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียในเซลล์แต่ละชนิดมีจำนวนที่แตกต่างกันอย่างมาก เช่น เซลล์เพาะเลี้ยง HeLa และ mouse L cells มีจำนวนอยู่ระหว่าง 1,000-5,000 ชิ้น¹⁸ ในขณะที่ยังไม่ได้ผสมมีจำนวนสูงมากระหว่าง 20,000-598,000 ชิ้น¹⁹ เซลล์กล้ามเนื้อลาย และ กล้ามเนื้อหัวใจ มีจำนวนประมาณ 3,500 ชิ้น และ 7,000 ชิ้น ตามลำดับ²⁰ จำนวนชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย ที่แตกต่างกันอาจเป็นผลจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดและระยะของการเจริญเติบโตของเซลล์ที่นำมาศึกษา เทคนิคที่ใช้ในการศึกษา เป็นต้น

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียมีการเพิ่มจำนวนได้เช่นกัน โดยในกระบวนการจำลองตัวเองของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียใช้หลักการจำลองเช่นเดียวกับสารพันธุกรรมในนิวเคลียส คือ การจำลองแบบกึ่งอนุรักษ์ (semi-conservative replication) (โดยอาศัยเอนไซม์ต่างๆที่กำหนดจากยีนในนิวเคลียส) แม้ว่าการจำลองต้องอาศัยเอนไซม์ที่กำหนดโดยยีนในนิวเคลียส แต่การจำลองสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียและการแบ่งตัวของ ไมโทคอนเดรียไม่ขึ้นกับวงจรการแบ่งเซลล์²¹⁻²³ ความรู้เกี่ยวกับการควบคุมจำนวนชิ้นสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียและการเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียนั้นยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกเพื่อให้ทราบกลไกที่ชัดเจนขึ้น

ยีนในสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียของสัตว์ มียีนทั้งหมด 37 ยีน ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1

เป็นจีนที่กำหนดการสร้าง rRNA จำนวน 2 จีน กลุ่มที่ 2 เป็นจีนที่กำหนดการสร้าง tRNA จำนวน 22 จีน และกลุ่มที่ 3 เป็นจีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนจำนวน 13 ชนิด ที่ทำงานในกระบวนการ electron transport และ oxidative phosphorylation ซึ่งได้แก่ จีน 7 จีนที่กำหนดโปรตีนในหน่วยย่อยของ complex I (NADH dehydrogenase-ubiquinone oxidoreductase) จีน 1 จีนที่กำหนดโปรตีนในหน่วยย่อยของ complex III (ubiquinone-cytochrome c oxidoreductase) จีน 3 จีนที่กำหนดโปรตีนในหน่วยย่อยของ complex IV (cytochrome c oxidase) และ จีน 2 จีนที่กำหนดโปรตีนในหน่วยย่อยของ complex V (ATP synthetase) สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียนอกจากบริเวณที่กำหนดขึ้นต่างๆดังกล่าวแล้ว ยังมีบริเวณที่เรียกว่า D loop หรือ control region ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมการจำลองตัวของสารพันธุกรรม และการถอดรหัสของจีน (transcription)²⁴

การกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย

สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียเกิดการกลายพันธุ์ได้เช่นเดียวกับโมเลกุลพันธุกรรมอื่นๆ จากการศึกษาวิเคราะห์อัตราการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณต่างๆ ในสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียพบว่าอัตราการกลายพันธุ์สูงกว่าสารพันธุกรรมที่อยู่ในนิวเคลียสถึง 4.5-20 เท่า²⁵⁻²⁸ ซึ่งสาเหตุอาจเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ การถูกทำลายสภาพโดยอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ที่เกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย อยู่ในสภาพที่ไม่มีโปรตีนฮิสโตนจับหุ้ม รวมทั้งไมโทคอนเดรียมีระบบการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair system) ที่ไม่มีประสิทธิภาพ

ไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งสร้างอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ประมาณ 90% เกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย²⁹ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณเยื่อหุ้มชั้นในเนื่องจากเป็นบริเวณที่เกิดปฏิกิริยา oxidative phosphorylation และ electron transport chain ถึงแม้ว่าไมโทคอนเดรียจะมีเอนไซม์ manganese-superoxide

dismutase ที่สามารถเปลี่ยนอนุมูลอิสระไปเป็น peroxide และเอนไซม์คาตาเลสเปลี่ยน peroxide ไปเป็นน้ำซึ่งไม่มีฤทธิ์ออกซิไดซ์ก็ตาม แต่พบว่าระบบการทำลายอนุมูลอิสระไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทั้งหมดได้ อนุมูลอิสระที่หลงเหลือมีฤทธิ์สามารถทำลายโมเลกุลต่างๆภายในไมโทคอนเดรียรวมทั้งสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย³⁰⁻³² นอกจากนี้สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียอยู่ในลักษณะที่มีโปรตีนเพียงไม่กี่ชนิดมาประกอบอยู่ เช่น mitochondrial transcription factor A (mtTFA) และ mitochondrial single-stranded DNA binding protein (mtSSB) แต่ไม่มีโปรตีนฮิสโตนจับหุ้ม^{13,15,33} โปรตีนฮิสโตนนี้เป็นเสมือนเกราะป้องกันดีเอ็นเอจากการทำลายของอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจึงมีโอกาสถูกทำลายสภาพในอัตราที่สูงกว่าสารพันธุกรรมในนิวเคลียส และระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียมีประสิทธิภาพต่ำกว่าระบบซ่อมแซมในนิวเคลียส³⁴⁻³⁶ ดังนั้นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นกับสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย จึงพบในอัตราที่สูงกว่าการกลายพันธุ์ของพันธุกรรมในนิวเคลียส

ผลของการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียต่อการทำงานของไมโทคอนเดรียนั้นมีลักษณะบางประการที่แตกต่างจากการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมในโครโมโซม นั่นก็คือในขณะที่จีนในโครโมโซมมีลักษณะเป็นอัลลีลคู่ (ยกเว้นจีนในโครโมโซม เอ็กซ์ และวาย) จีนในไมโทคอนเดรียมีลักษณะเป็นหลายอัลลีล เนื่องจากจำนวนชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียในเซลล์มีจำนวนแตกต่างกันตั้งแต่ประมาณ 1,000 ชิ้น จนถึง 600,000 ชิ้น สารพันธุกรรมแต่ละชิ้นก็สามารถทำงานกำหนดการสร้างโปรตีนและอาร์เอ็นเอได้ ในกรณีที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียทุกชิ้นมีลำดับที่เหมือนกัน ลักษณะนี้เรียกว่า homoplasmy แต่กรณีที่ชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น ทำให้ภายในเซลล์นั้นมีสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียที่ผสมกันระหว่างชิ้นที่เป็น wild type กับชิ้นที่มีการกลายพันธุ์ไป ลักษณะนี้เรียกว่า

heteroplasmy ถ้าอัตราส่วนของจีนที่กลายพันธุ์ต่อจีนที่ไม่กลายพันธุ์ (mutant load) มีค่าสูง หรือ มีจำนวนจีนของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียที่มีจีนที่ผิดปกติสูง ก็ จะส่งผลให้ไมโทคอนเดรียมีการทำงานที่ด้อยประสิทธิภาพไป เซลล์ไม่สามารถทำงานได้ เกิดเป็นอาการของโรคขึ้น^{37,38}

ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของจีนในไมโทคอนเดรีย นั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับค่า mutant load แล้ว ยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น ชนิดและการทำงานของเซลล์ เนื่องจากเซลล์แต่ละชนิดทำงานต่างกัน และมีความต้องการพลังงานแตกต่างกันไปด้วย เช่น เซลล์สมองและเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเป็นกลุ่มเซลล์ที่ทำงานหนักกว่าเซลล์อื่น เช่น เซลล์ผิวหนัง ดังนั้นเซลล์ที่มีการทำงานหนักต้องใช้พลังงานมาก ถ้ามีไมโทคอนเดรียที่สารพันธุกรรมกลายพันธุ์ในระดับ mutant load สูงก็ จะทำให้เซลล์นั้นทำงานได้ไม่ดี ส่งผลให้ร่างกายแสดงความผิดปกติของการทำงานของอวัยวะนั้น และมักพบว่า การกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย มักทำให้เกิดโรคที่มีความผิดปกติของระบบประสาท และกล้ามเนื้อหัวใจ^{37,38}

ต้นกำเนิดของไมโทคอนเดรีย

จากการที่ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ชนิดเดียวในเซลล์ นอกเหนือจากนิวเคลียสที่มีสารพันธุกรรมของตนเอง ทำให้เกิดสมมติฐานของต้นกำเนิดของไมโทคอนเดรียว่ามีวิวัฒนาการมาจากต้นกำเนิดที่แตกต่างจากออร์แกเนลล์อื่นๆ ซึ่งจากผลการศึกษาคุณสมบัติทางพันธุกรรมของจีนในไมโทคอนเดรียรวมทั้งคุณสมบัติของโปรตีนที่ประกอบเป็นไมโทคอนเดรียทำให้มีข้อสรุปในเชิงว่า ไมโทคอนเดรียมีต้นกำเนิดมาจากสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอตกลุ่มอัลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย (alpha-proteobacteria) ชนิด *Rickettsiaceae* ซึ่งเกิดการเข้ามาอยู่ร่วมกับเซลล์ต้นกำเนิดของยูคาริโอต (proto-eukaryote) ในแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) เมื่อยุคต้นของการวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต

บุคคลที่ทำให้สมมติฐานของต้นกำเนิดของไมโทคอนเดรีย ว่ามาจากสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอตได้รับ

ความสนใจ คือ Margulis³⁹ เมื่อปี ค.ศ. 1975 หลังจากนั้นมีการศึกษาอย่างกว้างและลึกซึ้งเกี่ยวกับคุณสมบัติด้านต่างๆ ของไมโทคอนเดรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณสมบัติของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย ซึ่งในลำดับต่อไปนี้จะกล่าวถึงผลการศึกษาที่สำคัญที่สนับสนุนสมมติฐานของต้นกำเนิดของไมโทคอนเดรียดังกล่าว

ผลการศึกษาคุณสมบัติของรหัสพันธุกรรมของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างจากรหัสพันธุกรรมของพันธุกรรมในนิวเคลียส ดังแสดงในตารางที่ 1^{17,40-42} จะเห็นได้ว่ารหัส UGA ซึ่งเป็นรหัสหยุดของพันธุกรรมในนิวเคลียสแต่ในพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียกลับกำหนดกรดอะมิโน Tryptophan ส่วนรหัส AGA และ AGG ที่กำหนดกรดอะมิโน Arginine ของพันธุกรรมในนิวเคลียส แต่ในพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียกลับเป็นรหัสหยุด เป็นต้น เมื่อศึกษาถึงคุณสมบัติขององค์ประกอบในการสังเคราะห์โปรตีนภายในไมโทคอนเดรีย เช่น rRNA และ tRNA ที่กำหนดโดยสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียเองก็พบว่า rRNA 2 จีน และ tRNA อีก 22 จีน กำหนดการสร้าง rRNA และ tRNA ที่มีลักษณะจำเพาะที่แตกต่างไปจาก rRNA และ tRNA ที่สร้างจากจีนในโครโมโซมแต่มีความคล้ายคลึงกับ rRNA และ tRNA จากสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอต⁴³ ซึ่งลักษณะดังกล่าวก็มีความสอดคล้องกับการที่พบว่ารหัสพันธุกรรมของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย มีความจำเพาะแตกต่างจากรหัสพันธุกรรมของพันธุกรรมในนิวเคลียส

ตารางที่ 1 โคดอนสำหรับสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย และโคดอนสำหรับสารพันธุกรรมในนิวเคลียส^{17,40-42}

โคดอน	สารพันธุกรรมในนิวเคลียส	สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย
UGA	Stop codon	Tryptophan
AGA	Arginine	Stop codon
AGG	Arginine	Stop codon
AUA	Isoleucine	Methionine

ในส่วนของจีนที่อยู่ในสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย พบว่าเป็นรูปแบบที่ไม่มี intron และการแสดงออกของจีนโดยกระบวนการ transcription นั้น แสดงออกในรูป polycistronic transcripts⁴⁴ คือมีการแสดงออกของจีนหลายจีนที่อยู่ต่อเนื่องกัน และแสดงออกมาเป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอโมเลกุลเดียวแล้วจึงมีการตัดแบ่งเป็นโมเลกุลใช้งานในภายหลัง ลักษณะการแสดงออกแบบนี้เป็นลักษณะของสิ่งมีชีวิตแบบโปรคาริโอต

จากการศึกษาเปรียบเทียบพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) ของ small subunit (SSU) rRNA^{43,45,46} และลักษณะโปรตีนเช่น chaperonin 60 (หรือในชื่อ GroEL และ HSP60)⁴⁷⁻⁴⁹ และ manganese-superoxide dismutase (Mn-SOD)^{50,51} พบว่าคุณสมบัติของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ SSU rRNA รวมทั้งลักษณะของโปรตีนดังกล่าวของไมโทคอนเดรียมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียกลุ่มอัลฟาโปรตีโอแบคทีเรียอย่างมากประกอบกับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมของ *Rickettsia prowazekii* กับสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย ก็ให้ข้อสรุปที่สอดคล้องสนับสนุนกัน

จากผลการศึกษาลักษณะของไมโทคอนเดรียที่กล่าวมา ทำให้ได้ข้อสรุปที่น่าเชื่อถือว่า ไมโทคอนเดรียมีต้นกำเนิดมาจากสิ่งมีชีวิตที่มีบรรพบุรุษเดียวกันกับ *Rickettsia prowazekii* ที่ได้เข้ามาอยู่ร่วมกันกับเซลล์ต้นกำเนิดของยูคาริโอตแบบพึ่งพาอาศัยกันแล้วก็มีวิวัฒนาการต่อมา ที่ทำให้สารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียมีขนาดเล็กลงมากเมื่อเทียบกับโครโมโซมของ *Rickettsia prowazekii* ในปัจจุบัน

ไมโทคอนเดรียของเราได้รับการถ่ายทอดจากมารดา

ไมโทคอนเดรียยังมีลักษณะเฉพาะอื่นที่น่าสนใจ คือ โดยส่วนมากของสิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอตที่การปฏิสนธิเกิดจากการผสมระหว่างสเปิร์มและไข่ นั้น รุ่นลูกหลานจะได้รับไมโทคอนเดรียมาจากทางแม่เท่านั้น การศึกษาแรกที่พิสูจน์ปรากฏการณ์นี้มาจาก Hutchison และคณะ⁵⁴ ที่ศึกษาติดตามการผสมพันธุ์ระหว่างม้าและลา แล้วตรวจ

พันธุกรรมโดยวิธี southern blot restriction fragment length polymorphism⁵⁴ หลังจากนั้นก็มีรายงานการศึกษาในสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่ให้ผลสอดคล้องกัน เช่น ในหนู⁵⁵ กบ *Xenopus laevis*⁵⁶ แมลงหวี่ *Drosophila melanogaster*⁵⁷ และในคน^{58,59} เป็นต้น

จากปรากฏการณ์ที่น่าพิศวงนี้ก่อให้เกิดคำถามว่า กลไกใดที่เป็นตัวควบคุมการถ่ายทอดไมโทคอนเดรียจากแม่อย่างมีความจำเพาะ โดยนักวิทยาศาสตร์ได้เสนอสมมติฐานที่มักมีการกล่าวถึง 3 สมมติฐาน คือ

1. ไมโทคอนเดรียในสเปิร์มที่อยู่บริเวณหางไม่สามารถเข้าไปในไข่หลังจากการปฏิสนธิ
2. การถูกกำจัดหายไปเนื่องจากไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มมีปริมาณน้อย
3. การถูกทำลายอย่างจำเพาะภายหลังจากการปฏิสนธิแล้ว

สมมติฐานที่ว่าในการปฏิสนธินั้นเฉพาะส่วนหัวของสเปิร์มเท่านั้นที่เข้าไปในไข่ โดยที่ส่วนหางซึ่งเป็นบริเวณที่มีไมโทคอนเดรียนั้นหลุดออกในระหว่างที่หัวสเปิร์มเจาะเข้าไปในไข่ได้แล้ว ความเชื่อนี้มีปรากฏเมื่อประมาณ 70 ปีที่แล้ว⁶⁰ แต่ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีและอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาได้รับการพัฒนา เช่น การตรวจวิเคราะห์เซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ทำให้พบว่าสเปิร์มทั้งส่วนหัวและหางนั้นเข้าสู่ภายในไข่ และยังสามารถติดตามพบไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มภายหลังจากการปฏิสนธิ และจนกระทั่งหลังจากการเจริญแบ่งเซลล์ในรอบแรกๆ⁶¹⁻⁶³

สำหรับสมมติฐานที่ว่า ไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มซึ่งมีจำนวนน้อยนั้นถูกกำจัดโดยไมโทคอนเดรียจำนวนมากที่มีอยู่ในไข่ทำให้ไม่สามารถตรวจพบ สมมติฐานนี้มีแนวคิดมาจากข้อมูลการศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าสเปิร์มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีจำนวนไมโทคอนเดรียเพียง 50-75 อัน โดยอยู่บริเวณคอของสเปิร์ม⁶⁴ และการศึกษาจำนวนชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียในสเปิร์มก็มีจำนวนน้อยสอดคล้องกับจำนวนไมโทคอนเดรีย เช่น สเปิร์มของคนมีจำนวนชิ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียอยู่ระหว่าง 700-1,300 ชิ้น⁶⁵

ส่วนจำนวนไมโทคอนเดรียในไข่ที่พบว่ามีจำนวนมากกว่า เช่น จากการศึกษาในไข่ของหนูมีไมโทคอนเดรียอยู่ประมาณ 100,000 อัน⁶⁶ ใน *Xenopus laevis* มีจำนวนประมาณ 1,000,000 อัน⁶⁷ และในไข่ของคนที่ยังไม่ได้ผสมนั้นมีจำนวนขึ้นของสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียเป็นจำนวนอยู่ระหว่าง 20,000-598,000 ชิ้น¹⁹ จะเห็นว่าจำนวนไมโทคอนเดรียและสารพันธุกรรมในสเปิร์มกับในไข่มีจำนวนแตกต่างกันได้ 100-1,000 เท่า ดังนั้นเมื่อสเปิร์มเจาะเข้าไปในไข่และเกิดการปฏิสนธิแล้วอาจทำให้มีการเจือจางไมโทคอนเดรียจากทางพ่อไปจนปริมาณไมโทคอนเดรียจากพ่อมีจำนวนน้อยลงไปเรื่อยๆ จนไม่สามารถตรวจพบได้

เนื่องจากในการศึกษาช่วงแรกใช้เทคนิค southern blot restriction fragment length polymorphism ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวต่ำ แต่ในปัจจุบันเทคนิคทางอณูชีวโมเลกุล เช่น polymerase chain reaction (PCR) ได้รับการพัฒนาจนมีความจำเพาะและความไวสูงมากสามารถตรวจวิเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายปริมาณน้อยมากๆได้ ซึ่ง Shitara และคณะ⁶⁸ ใช้เทคนิค PCR ติดตามสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจากพ่อภายหลังจากการปฏิสนธิ ซึ่งพบว่าสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจากพ่อยังคงมีปรากฏภายหลังจากการปฏิสนธิแล้ว จากผลการศึกษาดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า สมมติฐานที่ว่าไมโทคอนเดรียจากพ่อถูกเจือจางไปนั้นไม่น่าจะเป็นสาเหตุว่าในรุ่นลูกหลานนั้นได้รับการถ่ายทอดไมโทคอนเดรียมาเฉพาะจากทางแม่เท่านั้น

สมมติฐานว่าไมโทคอนเดรียจากพ่อถูกทำลายภายหลังจากการปฏิสนธิแล้ว เป็นสมมติฐานที่มีผลการศึกษาจากนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มสนับสนุน จากหลักฐานการศึกษาติดตามไข่และสเปิร์มของแฮมสเตอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าภายหลังจากการปฏิสนธิไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มยังคงปรากฏอยู่ในไซโทพลาซึมของไข่ แต่เมื่อถึงระยะ two-cell พบว่าไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มถูกล้อมรอบด้วยถุง vesicles ลักษณะ multi-vesicular bodies คล้ายไลโซโซม⁶⁹ และเมื่อถึงระยะ eight-cell พบว่าไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มมีลักษณะ

บวมและมีการสลายของโครงสร้างเยื่อหุ้มไป⁶³ จากผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มนั้นถูกทำลายไปโดยกลไกภายในไซโทพลาซึมของเซลล์

การศึกษาต่อมาแสดงว่าการทำลายไมโทคอนเดรียจากพ่อในออสัยกลไกที่มีความจำเพาะ ผลจากการศึกษาโดยการฉีดไมโทคอนเดรียที่สกัดจากสเปิร์มเข้าสู่ไซโทพลาซึมของไข่โดยตรง และเปรียบเทียบกับการฉีดไมโทคอนเดรียที่สกัดจากเซลล์ตับพบว่าเฉพาะไมโทคอนเดรียที่สกัดจากเซลล์ตับพบว่าเฉพาะไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มเท่านั้นที่ถูกทำลายไป⁷⁰ และจากการศึกษาในหนูที่ทำการผสมพันธุ์แบบข้ามชนิด พบว่าเฉพาะไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มของหนูชนิดเดียวกันเท่านั้นที่ถูกทำลาย ในขณะที่ไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มของหนูต่างชนิดกันไม่ถูกทำลาย และสามารถตรวจพบไมโทคอนเดรียจากพ่อได้ในลูกหนู⁷¹ และการศึกษาในทำนองเดียวกันในวัวก็ให้ผลที่สอดคล้องกับในหนู⁷² จากผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า การทำลายไมโทคอนเดรียจากพ่อมีความจำเพาะและน่าจะเกิดจากกลไกที่มีการทำงานร่วมกันระหว่างสารประกอบบางอย่างที่อยู่ในไมโทคอนเดรียของสเปิร์มนั้นๆ ร่วมกับระบบการทำลายที่มีอยู่ในไข่

การศึกษาเกี่ยวกับกลไกในการทำลายไมโทคอนเดรียของสเปิร์มในไข่นั้น พบหลักฐานว่ามีอย่างน้อย 2 กลไก โดยในกลไกแรกเสนอว่าการทำลายอย่างจำเพาะนั้นเกิดขึ้นกับสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียโดยเอนไซม์กลุ่มนิวคลีเอส (nuclease) ก่อน แล้วเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียจึงถูกย่อยสลายไป แนวคิดนี้เป็นผลมาจากการศึกษาของ Moriyama และคณะ^{73,74} ในสิ่งมีชีวิตชนิด *Physarum* (เป็น isogamous protist) โดยการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ต่างๆและตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงด้วยกล้อง เฟสคอนทราสต์ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ PCR ซึ่งพบว่าสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจากเซลล์พ่อหรือเซลล์ตัวผู้หนึ่งเกิดการสลายไปอย่างรวดเร็ว ภายในเวลา 1.5 ชั่วโมงภายหลังการรวมกันของนิวเคลียส ในขณะที่เยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียจากพ่อที่ไม่มีไมเลกุลพันธุกรรมแล้วยังคงสภาพอยู่จนถึงประมาณ 60 ชั่วโมงหลังการผสมพันธุ์ หลังจากนั้นจึงสังเกตพบ

การสลายของเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียจากเซลล์ฟอ ส่วนไมโทคอนเดรียของเซลล์แม่หรือเซลล์ตัวรับมีการเพิ่มจำนวนภายหลังการผสมพันธุ์ จากผลการศึกษาเสนอว่าการทำลายไมโทคอนเดรียน่าจะเกิดจากกลไกที่จำเพาะที่สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์นิวคลีเอสที่มีภายในไมโทคอนเดรียเอง หรืออาจมีโปรตีนที่เป็นตัวพาเอนไซม์นิวคลีเอสจากไซโทพลาซึมเข้าสู่ไมโทคอนเดรียที่มาจากฟอ และเมื่อสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียถูกทำลายไปแล้ว เยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียจึงถูกย่อยสลายด้วยกลไกการย่อยสลายโปรตีนของเซลล์ คาดว่าโดยระบบ ubiquitin-proteasome pathway

จากการศึกษาของ Hayashida และคณะ⁷⁵ ก็ให้ผลสนับสนุนกับกลไกของการทำลายไมโทคอนเดรียโดยการย่อยสลายสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียก่อน ผลการศึกษาในหนูพบว่าภายหลังจากการปฏิสนธิจะสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มได้มากขึ้น เมื่อเติมสารที่สามารถขัดขวางเอนไซม์นิวคลีเอส เช่น EGTA และ aurointricarboxylic acid (ATA) เป็นต้น นอกจากนี้ยังศึกษาค้นหาโปรตีนที่พบเฉพาะในสเปิร์มและอยู่ที่เยื่อหุ้มชั้นนอกของไมโทคอนเดรียโปรตีนนี้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งโมเลกุลจากไซโทพลาซึมเข้าสู่ภายในไมโทคอนเดรีย ซึ่งพบว่าโปรตีน tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein involved in spermatogenesis (tpis) มีคุณสมบัติดังกล่าวและเมื่อใช้แอนติบอดีต่อโปรตีนนี้ทำปฏิกิริยากับสเปิร์มก่อนการปฏิสนธิ พบว่าสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียจากสเปิร์มได้มากขึ้นเช่นกันทำให้เชื่อว่าโปรตีน tpis มีส่วนเกี่ยวข้องกับการนำสารประกอบที่เข้ามาทำลายสารพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียอย่างจำเพาะ

ส่วนอีกกลไกหนึ่งเสนอว่าการทำลายเกิดขึ้นอย่างจำเพาะที่เยื่อหุ้มของไมโทคอนเดรีย โดยระบบ ubiquitin-proteasome pathway โดยอาศัยโปรตีน prohibitin เนื่องจากการศึกษาในวัวและลิงพบว่าในระหว่างการสร้างสเปิร์มนั้น prohibitin ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ที่ยึดเยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรียมีการเติมด้วยโมเลกุลของ ubiquitin อย่างมาก ซึ่งเป็นกลไกการติดฉลากโมเลกุลที่จะถูกย่อย

สลายด้วยระบบ ubiquitin-proteasome pathway^{72,76} และเมื่อการปฏิสนธิเกิดขึ้นแล้วระบบ ubiquitin-proteasome pathway ในไซโทพลาซึมของไข่ สามารถตรวจสอบโมเลกุล ubiquitinated-prohibitin จึงกระตุ้นให้เกิดการย่อยสลายเยื่อหุ้มของไมโทคอนเดรียจากสเปิร์ม โดยที่ไมโทคอนเดรียของไข่เองนั้นไม่ถูกติดฉลากจึงไม่โดนย่อยสลาย

ในส่วนของการคำถามว่า เพราะเหตุใดในการวิวัฒนาการจึงทำให้สิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอตส่วนใหญ่ต้องกำจัดไมโทคอนเดรียจากฝ่ายหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากฟอ รวมทั้งข้อดีของการรับไมโทคอนเดรียจากฝ่ายแม่เท่านั้น ความรู้เหล่านี้จะช่วยเสริมให้การทำปฏิสนธิในหลอดทดลอง รวมทั้งการช่วยการปฏิสนธิโดยเทคนิค intracytoplasmic sperm injection หรือ ooplasmic transfer มีความชัดเจนยิ่งขึ้น และสามารถควบคุมผลกระทบจากบทบาทของไมโทคอนเดรียได้ ข้อสงสัยเหล่านี้ยังไม่มีคำตอบที่ชัดเจน และรอคอยให้นักวิทยาศาสตร์ที่สนใจดำเนินการศึกษาค้นคว้าในเรื่องเหล่านี้ต่อไป

บทสรุป

ไมโทคอนเดรียนอกจากจะเป็นออร์แกเนลล์ที่มีความสำคัญอย่างมากต่อสิ่งมีชีวิตชนิดยูคาริโอตแล้ว ไมโทคอนเดรียมีความน่าพิศวงในตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการที่เป็นออร์แกเนลล์ที่มีสารพันธุกรรมของตัวเอง ซึ่งทำให้เราทราบว่าไมโทคอนเดรียมีต้นกำเนิดมาจากบรรพบุรุษเดียวกันกับแบคทีเรียชนิดรีคเคตเซีย กลุ่มอัลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย ซึ่งเป็นเซลล์ประเภทโปรคาริโอต นอกจากนี้ความน่าพิศวงอีกประการคือการถ่ายทอดไมโทคอนเดรียขึ้นโดยส่วนใหญ่จะได้รับการถ่ายทอดจากทางมารดาเท่านั้น เนื่องจากไมโทคอนเดรียจากทางบิดจะถูกทำลายอย่างจำเพาะภายในไซโทพลาซึมหลังจากการปฏิสนธิเรียบร้อยแล้ว ถึงแม้ว่าเราจะทราบข้อมูลของคุณสมบัติและบทบาทการทำงานของไมโทคอนเดรียมากขึ้นในระยะไม่นานมานี้ แต่ยังมีรายละเอียดอีกมากที่ยังไม่กระจ่าง ซึ่งยังต้องมีการศึกษากันต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001;410: 549-54.
2. Bras M, Queenan B, Susin SA. Programmed cell death via mitochondria: different modes of dying. *Biochemistry (Mosc)* 2005;70:231-9.
3. Bose H, Lingappa VR, Miller WL. Rapid regulation of steroidogenesis by mitochondrial protein import. *Nature* 2002;417:87-91.
4. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005;58:495-505.
5. Brocard JB, Rintoul GL, Reynolds IJ. New perspectives on mitochondrial morphology in cell function. *Biol Cell* 2003;95:239-42.
6. Karbowski M, Youle RJ. Dynamics of mitochondrial morphology in healthy cells and during apoptosis. *Cell Death Differ* 2003; 10:870-80.
7. Okamoto K, Shaw JM. Mitochondrial morphology and dynamics in yeast and multicellular eukaryotes. *Annu Rev Genet* 2005;39:503-36.
8. Rappaport L, Oliviero P, Samuel JL. Cytoskeleton and mitochondrial morphology and function. *Mol Cell Biochem* 1998; 184:101-5.
9. Forner F, Foster LJ, Campanaro S, Valle G, Mann M. Quantitative proteomic comparison of rat mitochondria from muscle, heart and liver. *Mol Cell Proteomics* 2006;5:608-19.
10. Neupert W. Protein import into mitochondria. *Annu Rev Biochem* 1997;66:863-917.
11. Truscott KN, Pfanner N, Voos W. Transport of proteins into mitochondria. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2001;143:81-136.
12. Rassow J, Pfanner N. The protein import machinery of the mitochondrial membranes. *Traffic* 2000;1:457-64.
13. Kanki T, Nakayama H, Sasaki N, Takio K, Alam TI, Hamasaki N, et al. Mitochondrial nucleoid and transcription factor A. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1011:61-8.
14. Shen EL, Bogenhagen DF. Developmentally-regulated packaging of mitochondrial DNA by the HMG-box protein mtTFA during *Xenopus* oogenesis. *Nucleic Acids Res* 2001;29:2822-8.
15. Megraw TL, Chae CB. Functional complementarity between the HMG1-like yeast mitochondrial histone HM and the bacterial histone-like protein HU. *J Biol Chem* 1993;268:12758-63.
16. Organelle Genome Resources [homepage on the internet] Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine (US). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/ORGANELLES/animal.about.html>
17. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981;290:457-65.
18. Bogenhagen D, Clayton DA. The number of mitochondrial deoxyribonucleic acid genomes in mouse L and human HeLa cells. Quantitative isolation of mitochondrial deoxyribonucleic acid. *J. Biol. Chem.* 1974;249:7991-5.
19. Reynier P, May-Panloup P, Chretien MF, Morgan CJ, Jean M, Savagner F, et al. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001;7:425-9.
20. Miller FJ, Rosenfeldt FL, Zhang C, Linnane AW, Nagley P. Precise determination of mitochondrial DNA copy number in human skeletal and cardiac muscle by a PCR-based assay: lack of change of copy number with age. *Nucleic Acids Res* 2003;31:e61.

21. Bereiter-Hahn J, Voth M. Dynamics of mitochondria in living cells: shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. *Microsc Res Tech* 1994;27:198-219.
22. Magnusson J, Orth M, Lestienne P, Taanman JW. Replication of mitochondrial DNA occurs throughout the mitochondria of cultured human cells. *Exp Cell Res* 2003;289:133-42.
23. Shaulsky G, Loomis WF. Mitochondrial DNA replication but no nuclear DNA replication during development of *Dictyostelium*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:5660-3.
24. Fernandez-Silva P, Enriquez JA, Montoya J. Replication and transcription of mammalian mitochondrial DNA. *Exp Physiol* 2003;88:41-56.
25. Ballard JW, Whitlock MC. The incomplete natural history of mitochondria. *Mol Ecol* 2004;13:729-44.
26. Chinnery PF, Howell N, Lightowlers RN, Turnbull DM. Molecular pathology of MELAS and MERRF. The relationship between mutation load and clinical phenotypes. *Brain* 1997;120:1713-21.
27. Howell N, Kubacka I, Mackey DA. How rapidly does the human mitochondrial genome evolve? *Am J Hum Genet* 1996;59:501-9.
28. Parsons TJ, Muniec DS, Sullivan K, Woodyatt N, Alliston-Greiner R, Wilson MR, et al. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nat Genet* 1997;15:363-8.
29. Richter C. Oxidative stress, mitochondria, and apoptosis. *Restor Neurol Neurosci* 1998;12:59-62.
30. Jezek P, Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37:2478-503.
31. Salazar JJ, Van Houten B. Preferential mitochondrial DNA injury caused by glucose oxidase as a steady generator of hydrogen peroxide in human fibroblasts. *Mutat Res* 1997;385:139-49.
32. Yakes FM, Van Houten B. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:514-19.
33. Bogenhagen DF, Wang Y, Shen EL, Kobayashi R. Protein components of mitochondrial DNA nucleoids in higher eukaryotes. *Mol Cell Proteomics* 2003;2:1205-16.
34. Driggers WJ, LeDoux SP, Wilson GL. Repair of oxidative damage within the mitochondrial DNA of RINr 38 cells. *J Biol Chem* 1993;268:22042-5.
35. Harrison JF, Hollensworth SB, Spitz DR, Copeland WC, Wilson GL, LeDoux SP. Oxidative stress-induced apoptosis in neurons correlates with mitochondrial DNA base excision repair pathway imbalance. *Nucleic Acids Res* 2005;33:4660-71.
36. Sawyer DE, Van Houten B. Repair of DNA damage in mitochondria. *Mutat Res* 1999;434:161-76.
37. Chinnery PF, Schon EA. Mitochondria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:1188-99.
38. Graff C, Bui TH, Larsson NG. Mitochondrial diseases. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002;16:715-28.
39. Margulis L. Symbiotic theory of the origin of eukaryotic organelles; criteria for proof. *Symp Soc Exp Biol* 1975;29:21-38.
40. Andersson SG. Bioenergetics of the obligate intracellular parasite *Rickettsia prowazekii*. *Biochim Biophys Acta* 1998;1365:105-11.
41. Barrell BG, Anderson S, Bankier AT, de Bruijn MH, Chen E, Coulson AR, et al. Different pattern of codon recognition by mammalian mitochondrial tRNAs. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A 1980;77:3164-6.
42. Yokobori S, Suzuki T, Watanabe K. Genetic code variations in mitochondria: tRNA as a major determinant of genetic code plasticity. *J Mol Evol* 2001;53:314-26.
 43. Olsen GJ, Woese CR. Ribosomal RNA: a key to phylogeny. *FASEB J* 1993;7:113-23.
 44. Clayton DA. Transcription and replication of animal mitochondrial DNAs. *Int Rev Cytol* 1992;141:217-32.
 45. Olsen GJ, Woese CR, Overbeck R. The winds of (evolutionary) change: breathing new life into microbiology. *J Bacteriol* 1994;176:1-6.
 46. Yang D, Oyaizu Y, Oyaizu H, Olsen GJ, Woese CR. Mitochondrial origins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:4443-7.
 47. Bui ET, Bradley PJ, Johnson PJ. A common evolutionary origin for mitochondria and hydrogenosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:9651-6.
 48. Hill JE, Penny SL, Crowell KG, Goh SH, Hemmingsen SM. cpnDB: a chaperonin sequence database. *Genome Res* 2004;14:1669-75.
 49. Viale AM, Arakaki AK. The chaperone connection to the origins of the eukaryotic organelles. *FEBS Lett* 1994;341:146-51.
 50. Grace SC. Phylogenetic distribution of superoxide dismutase supports an endosymbiotic origin for chloroplasts and mitochondria. *Life Sci* 1990;47:1875-86.
 51. Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev* 2005;126:365-79.
 52. Lang BF, Seif E, Gray MW, O'Kelly CJ, Burger G. A comparative genomics approach to the evolution of eukaryotes and their mitochondria. *J Eukaryot Microbiol* 1999;46:320-26.
 53. Gray MW. Rickettsia, typhus and the mitochondrial connection. *Nature* 1998;396:109-10.
 54. Hutchison CA, III, Newbold JE, Potter SS, Edgell MH. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature* 1974;251:536-8.
 55. Hayashi JJ, Yonekawa H, Gotoh O, Watanabe J, Tagashira Y. Strictly maternal inheritance of rat mitochondrial DNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1978;83:1032-8.
 56. Dawid IB, Blackler AW. Maternal and cytoplasmic inheritance of mitochondrial DNA in *Xenopus*. *Dev Biol* 1972;29:152-61.
 57. Reilly JG, Thomas CA, Jr. Length polymorphisms, restriction site variation, and maternal inheritance of mitochondrial DNA of *Drosophila melanogaster*. *Plasmid* 1980;3:109-15.
 58. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77:6715-9.
 59. Birky CW, Jr. The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. *Annu Rev Genet* 2001;35:125-48.
 60. Ankel-Simons F, Cummins JM. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: implications for theories on human evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:13859-63.
 61. Yanagimachi R. Male gamete contributions to the embryo. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1061:203-7.
 62. Shalgi R, Magnus A, Jones R, Phillips DM. Fate of sperm organelles during early embryogenesis in the rat. *Mol Reprod Dev* 1994;37:264-71.
 63. Szollosi D. The fate of sperm middle-piece mitochondria in the rat egg. *J Exp Zool* 1965;159:367-77.
 64. Hecht NB, Liem H, Kleene KC, Distel RJ, Ho SM. Maternal inheritance of the mouse mitochondrial genome is not mediated by a

- loss or gross alteration of the paternal mitochondrial DNA or by methylation of the oocyte mitochondrial DNA. *Dev Biol* 1984;102:452-61.
65. Diez-Sanchez C, Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Montoya J, Perez-Martos A, Enriquez JA, et al. Mitochondrial DNA content of human spermatozoa. *Biol Reprod* 2003;68:180-5.
 66. Piko L, Matsumoto L. Number of mitochondria and some properties of mitochondrial DNA in the mouse egg. *Dev Biol* 1976;49:1-10.
 67. Marinos E. The number of mitochondria in *Xenopus laevis* ovulated oocytes. *Cell Differ* 1985;16:139-43.
 68. Shitara H, Hayashi JI, Takahama S, Kaneda H, Yonekawa H. Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage. *Genetics* 1998;148:851-7.
 69. Hiraoka J, Hirao Y. Fate of sperm tail components after incorporation into the hamster egg. *Gamete Res* 1988;19:369-80.
 70. Shitara H, Kaneda H, Sato A, Inoue K, Ogura A, Yonekawa H, et al. Selective and continuous elimination of mitochondria microinjected into mouse eggs from spermatids, but not from liver cells, occurs throughout embryogenesis. *Genetics* 2000;156:1277-84.
 71. Kaneda H, Hayashi J, Takahama S, Taya C, Lindahl KF, Yonekawa H. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:4542-6.
 72. Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C, Schatten G. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biol Reprod* 2000;63:582-90.
 73. Moriyama Y, Kawano S. Rapid, selective digestion of mitochondrial DNA in accordance with the matA hierarchy of multiallelic mating types in the mitochondrial inheritance of *Physarum polycephalum*. *Genetics* 2003;164:963-75.
 74. Moriyama Y, Yamazaki T, Nomura H, Sasaki N, Kawano S. Early zygote-specific nuclease in mitochondria of the true slime mold *Physarum polycephalum*. *Curr Genet* 2005;48:334-43.
 75. Hayashida K, Omagari K, Masuda J, Hazama H, Kadokawa Y, Ohba K, et al. The sperm mitochondria-specific translocator has a key role in maternal mitochondrial inheritance. *Cell Biol Int* 2005;29:472-81.
 76. Thompson WE, Ramalho-Santos J, Sutovsky P. Ubiquitination of prohibitin in mammalian sperm mitochondria: possible roles in the regulation of mitochondrial inheritance and sperm quality control. *Biol Reprod* 2003;69:254-60.