

Die essentielle Funktion der Mitochondrien bei der Biogenese von Eisen-Schwefel-Proteinen

Roland Lill, Institut für Zytobiologie und Zytopathologie, Philipps-Universität Marburg

Eisen-Schwefel(Fe/S)-Proteine wurden vor etwa 40 Jahren entdeckt und besitzen zentrale Funktionen beim Elektronentransport, bei der Katalyse biochemischer Reaktionen und bei regulatorischen Vorgängen. Erst vor vier Jahren wurde jedoch klar, dass die Biosynthese eines Fe/S-Cofaktors und dessen Einbau in ein Apoprotein nicht spontan, sondern in einem katalysierten Prozess erfolgt. In Eukaryonten werden Fe/S-Cluster durch die ISC („iron sulfur cluster“-Assemblierungsmaschinerie in den Mitochondrien synthetisiert und in mitochondriale Apoproteine eingebaut. Auch Fe/S-Proteine im Cytosol benötigen die Funktion dieser Maschinerie sowie Komponenten einer noch wenig charakterisierten „ISC-Exportmaschinerie“. Mutationen in einigen der ISC-Komponenten führen zum Tod der Zelle und erklären damit, warum Mitochondrien essentielle Organellen sind. Beim Menschen haben Störungen in der Biosynthese von Fe/S-Proteinen neurodegenerative Erkrankungen (z.B. Friedreichs Ataxie) zur Folge.

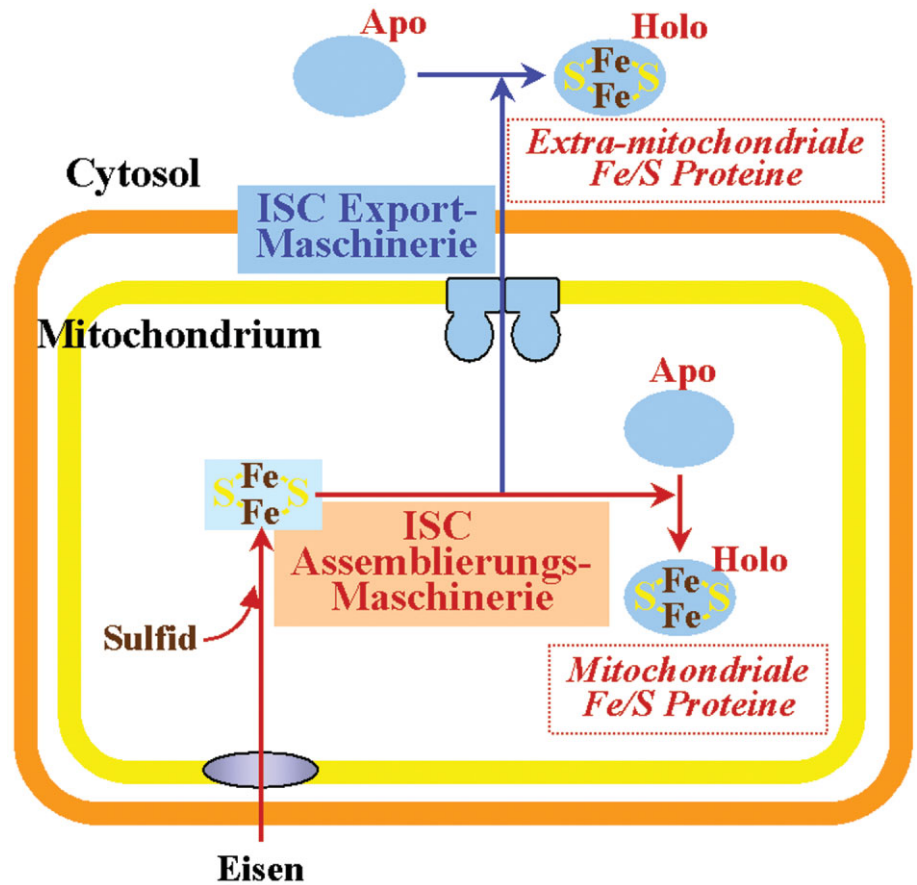


Abb. 1: Die zentrale Rolle der Mitochondrien bei der Biosynthese von Fe/S-Proteinen in Eukaryonten. Fe/S-Cluster werden aus Eisen- und Sulfidionen in den Mitochondrien durch die ISC-Assemblierungsmaschinerie synthetisiert und in mitochondriale Fe/S-Apoproteine eingebaut (rote Pfeile). Diese Maschinerie ist im Zusammenspiel mit der ISC-Exportmaschinerie auch an der Reifung von Fe/S-Proteinen außerhalb des Mitochondriums beteiligt (blaue Pfeile). Die ISC-Exportmaschinerie wird ausschließlich für die Reifung extra-mitochondrialer Fe/S-Proteine benötigt.

Einleitung

► Mitochondrien werden oft als ‚Kraftwerke der Zelle‘ bezeichnet, da ihre bekannteste biochemische Funktion die Gewinnung von Energie in Form von ATP durch die oxidative Phosphorylierung ist. Diese und andere Funktionen dieser Zellorganellen wie der Citratzyklus, die β -Oxidation von Fettsäuren und die Biosynthese verschiedener Metabolite sind auf molekularer Ebene bereits gut verstanden, sodass man glaubte, die Funktionen des Mitochondriums weitgehend zu kennen (Tab. 1). Vor kurzem wurden jedoch mit der Beteiligung der Mitochondrien an der Apoptose (programmier-

ter Zelltod) und der zentralen Aufgabe der Mitochondrien bei der Biosynthese von zellulären Eisen-Schwefel(Fe/S)-Proteinen zwei neue und komplexe Funktionen dieser Organellen entdeckt. Bei der Fe/S-Protein-Biogenese handelt es sich um die schon lange gesuchte Funktion, die Mitochondrien in vermutlich allen Eukaryonten unverzichtbar für das Wachstum der Zellen macht (Übersicht in^[1, 2, 3, 4]).

Die Biosynthese von eukaryontischen Fe/S-Proteinen – ein Überblick

Fe/S-Proteine enthalten Fe/S-Cluster als anorganische Cofaktoren, die im einfachsten

Falle aus jeweils zwei ([2Fe-2S]-Cluster) oder vier ([4Fe-4S]-Cluster) Eisen- und Schwefelatomen bestehen^[5]. Bis vor kurzem war die akzeptierte Vorstellung, dass Fe/S-Cluster in der Zelle spontan aus Eisen- und Sulfidionen entstehen und ohne weitere Hilfe in Apoproteine eingebaut werden. Dieses Modell basierte auf klassischen Experimenten, in denen eine *in vitro*-Rekonstitution eines Fe/S-Holo-Proteins mit reduziertem Eisen (Fe^{2+}) und einer Sulfidquelle gelungen war. Allerdings sind hierzu sauerstofffreie Bedingungen und unphysiologisch hohe Eisen- und Sulfidkonzentrationen nötig, die in der Zelle toxisch wirken würden. Vor etwa vier Jahren wurde jedoch klar, dass sowohl bakterielle als auch eukaryontische Zellen über einen recht ähnlichen Biosyntheseapparat für Fe/S-Proteine verfügen, der im Fall von Eukaryonten in den Mitochondrien lokalisiert ist^[6, 7, 8]. Dieser als ISC („iron sulfur cluster“-)Assemblierungsmaschinerie bezeichnete Biosyntheseapparat besteht aus mehr als zehn Proteinen^[2, 3] (Abb. 1). In Eukaryonten ist die ISC-Maschinerie von der Hefe bis hin zum Menschen konserviert. Die meisten dieser ISC-Komponenten sind in ihrer Primärstruktur sehr ähnlich zu bakteriellen Proteinen, die in den *nif*-, *isc*- und *suf*- Operons kodiert sind^[6, 4].

Auch im Cytosol und im Zellkern von eukaryontischen Zellen befinden sich einige Fe/S-Proteine^[3]. Wie und wo werden diese Proteine assembliert? Überraschenderweise spielt die mitochondriale ISC-Assemblierungsmaschinerie bei diesem Vorgang eine entscheidende Rolle^[7, 9, 10]. Die Funktion der ISC-Proteine für die Reifung der cytosolischen Fe/S-Proteine kann nur im Mitochondrium ausgeübt werden, da fehllokalisierte ISC-Proteine im Cytosol keine funktionelle Aktivität zeigen. Zusätzlich werden weitere mitochondriale Komponenten (u.a. ein ABC-Transporter der Innenmembran) benötigt, die ausschließlich an der Reifung extra-mitochondrialer Fe/S-Proteine beteiligt sind und deshalb als ISC-Exportmaschinerie zusammengefasst werden (Abb. 1). Da cytosolische Apoproteine zur Insertion des Fe/S-Clusters nicht transient ins Mitochondrium geschleust werden, vermutet man, dass eine Substanz aus dem Mitochondrium ins Cytosol transportiert wird, die dort für die Reifung der Apoproteine nötig ist.

Die mitochondriale ISC-Assemblierungsmaschinerie

Unseren augenblicklichen Kenntnisstand zur Funktion der einzelnen ISC-Komponenten bei der Biosynthese von zellulären Fe/S-Proteinen im Modellorganismus Hefe

Klassisch:	Neu:
ATP-Synthese durch oxidative Phosphorylierung	Apoptose (programmierter Zelltod)
Citratzyklus	Reifung von Eisen-Schwefel Proteinen
β -Oxidation von Fettsäuren	
Hämbiosynthese	
Harnstoffzyklus	
Biosynthese von Aminosäuren	
Phospholipidbiosynthese	
Biosynthese von Biotin, Liponsäure	
Produktion reaktiver Sauerstoffradikale	
DNA-Replikation	
Transkription	
Proteinbiosynthese	
Proteinabbau	

Table 1: Klassische und neue Funktionen des Mitochondriums

fasst Abb. 2 zusammen. Der Syntheseprozess beginnt mit der Freisetzung eines Schwefelatoms aus Cystein durch die Cysteine-sulfurase Nfs1. Der Schwefel wird vorübergehend auf einen konservierten Cysteinrest des Nfs1 unter Bildung eines Persulfids übertragen^[11] und von dort auf die Proteine Isu1/Isu2 überführt. Nach dem Import von reduzierten Eisenionen in den Matrixraum der Organellen durch einen noch unbekannt Eisentransporter fungieren die Isu-Proteine als Gerüst für die Synthese eines [2Fe-2S]Clusters, der auch zu einem [4Fe-4S]Cluster dimerisieren kann^[12].

Die Synthese des Fe/S-Clusters benötigt die Bereitstellung von Elektronen, die unter anderem zur Reduktion des Sulfanschwefels zu Sulfid benutzt werden (Abb. 2). Dazu wird die Elektronentransportkette aus der Ferredoxinreduktase Arh1 und dem Ferredoxin Yah1 verwendet, die ihrerseits Elektronen von NAD(P)H erhalten^[9, 13]. Für die Bildung des Fe/S-Clusters auf den Isu-Proteinen ist auch das Matrixprotein Yfh1 (yeast frataxin homolog) von Bedeutung^[14], MÜHLENHOFF *et al.*, in Vorbereitung). Das humane Ortholog Frataxin ist in Patienten, die an der neurodegenerativen Erkrankung Friedreichs Ataxie leiden, verringert^[15]. Diese häufigste Form einer Ataxie (1 von 50.000 Europäern) führt zu neurologischen Störungen im Rückenmark und im Gehirn sowie zu Eisenablagerungen im Gehirn und im Herzen. Die Patienten sterben meist an einem durch eine Kardiomyopathie hervorgerufenen Herzversagen. Da auch in Zellen aus Friedreichs-Ataxie-Patienten reduzierte Enzymaktivitäten von mitochondrialen Fe/S-Proteinen beschrieben wurden, scheint die primäre Ursache der Erkrankung eine Störung in der Biosynthese der Fe/S-Proteine zu sein.

An der Dissoziation der Fe/S-Cluster von den Isu-Proteinen und/oder ihrem Einbau

in die Apoproteine sind zwei Chaperone der Hsp70/DnaK (Ssq1)- und Hsp40/DnaJ (Jac1)-Proteinfamilien beteiligt, die direkt mit Isu1/Isu2 interagieren (Abb. 2). Weitere Proteine werden für die Reifung von Fe/S-Proteinen benötigt, jedoch kennt man ihren mechanistischen Wirkort noch nicht. Dazu gehören die Proteine Isa1 und Isa2, die ebenfalls Homologe im *isc*-Gencluster von Bakterien besitzen^[10, 16]. Beide Proteine können einen Fe/S-Cluster binden und man vermutet daher, dass sie ein zu den Isu-Proteinen alternatives Gerüst für die Synthese der Fe/S-Cluster darstellen.

Die Reifung cytosolischer Fe/S-Proteine

Bisher wurden drei Komponenten mit einer spezifischen Funktion bei der Reifung cytosolischer Fe/S-Proteine entdeckt. Diese Komponenten der ISC-Exportmaschinerie werden im Gegensatz zur ISC-Assemblierungsmaschinerie nicht für die Synthese mitochondrialer Fe/S-Proteine benötigt. Das erste Protein mit solch einer spezifischen Funktion war das mitochondriale Innenmembranprotein Atm1, ein Mitglied der ABC („ATP binding cassette“-)Transporterfamilie^[7]. Mutationen im menschlichen Orthologen ABC7 führen zu einer Eisenspeichererkrankung, der X-Chromosom-verknüpften sideroblastischen Anämie und Ataxie (XLSA/A)^[17]. Betroffene Zellen reichern Eisen in den Sideroblasten (Eisen-beladenen Mitochondrien) an. Die Membranorientierung des Atm1/ABC7-Proteins mit der Nukleotidbindungsdomäne in der mitochondrialen Matrix (Abb. 2) lässt auf eine Exportfunktion des ABC-Transporters schließen. Deshalb wurde auf der Basis der oben dargestellten Befunde vorgeschlagen, dass in der mitochondrialen Matrix zunächst ein Fe/S-Cluster von der ISC-Assemblierungsmaschinerie hergestellt wird, um dann

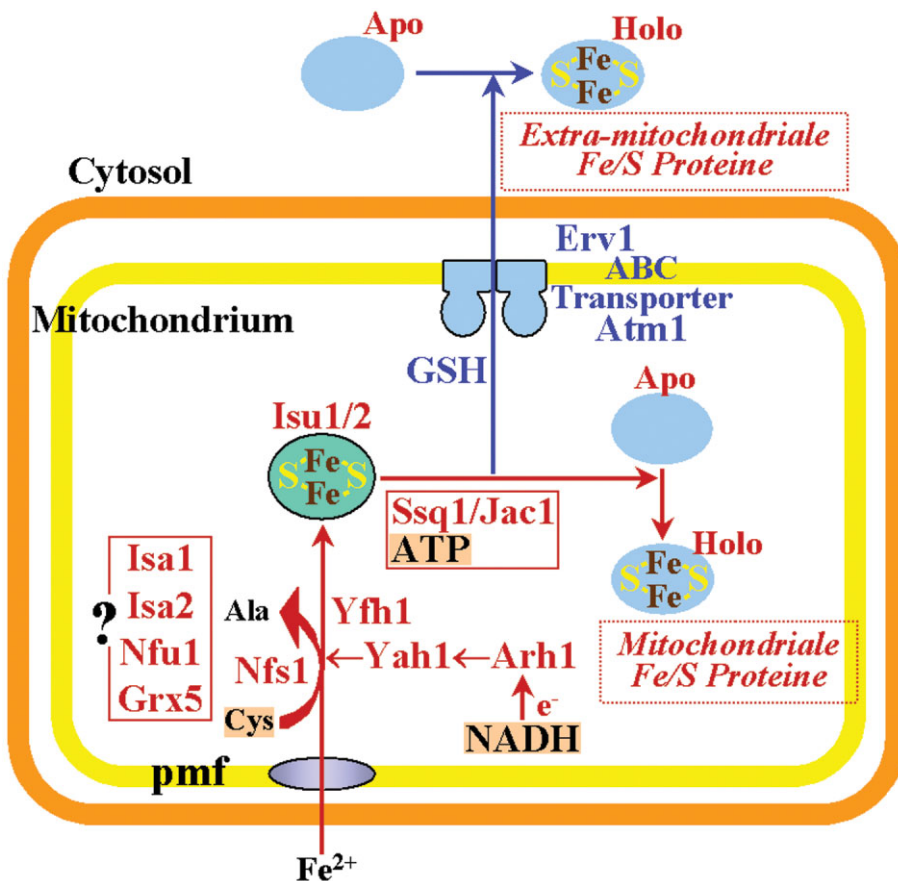
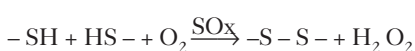


Abb. 2: Arbeitsmodell für die Reifung von zellulären Fe/S-Proteinen in Eukaryonten. Proteine der mitochondrialen-ISC Assemblierungsmaschinerie sind Rot, Komponenten der ISC-Exportmaschinerie Blau dargestellt. Die Wirkorte der Isa-Proteine, des Nfu1 und des Grx5 wurden noch nicht identifiziert. Details zum Ablauf der Biosynthesereaktionen sind im Text erläutert. Der Import reduzierter Eisenionen in die Mitochondrien erfordert ein Membranpotenzial (pmf, proton motive force). Abkürzung: GSH, Glutathion.

in einem zweiten Schritt aus den Mitochondrien ins Cytosol exportiert und in Apoproteine eingebaut zu werden^[1]. Obwohl diese Idee mit allen bisher erhaltenen Befunden übereinstimmt, existiert noch kein direkter Beweis für den Transport eines Fe/S-Clusters. Wir versuchen augenblicklich, das Substrat von Atm1/ABC7 zu identifizieren und näher zu charakterisieren. Die Reinigung des Atm1 aus Hefe als funktionelle ATPase ist uns bereits gelungen (KUHNE *et al.*, in Vorbereitung).

Eine zweite Komponente mit einer spezifischen Rolle bei der Biosynthese extra-mitochondrialer Fe/S-Proteine ist Erv1, das im Intermembranraum der Mitochondrien lokalisiert ist^[18]. Erv1 und sein menschliches Orthologe ALR fungieren *in vitro* als Sulfhydroxydidasen (SOx) und katalysieren die sauerstoffabhängige Bildung von Disulfidbrücken nach folgender Reaktionsgleichung^[19].



Es ist deshalb denkbar, dass Erv1/ALR auch *in vivo* die Verknüpfung von Disulfidbrücken in Proteinen des Intermembranraums fördern. Allerdings sind bisher weder deren Substrate bekannt, noch kennt man die genaue molekulare Funktion von Erv1/ALR bei der Reifung cytosolischer Fe/S-Proteine. Die dritte Komponente der ISC-Exportmaschinerie ist Glutathion, das Tripeptid γ -Glu-Cys-Gly^[20]. Wird die Substanz in der Zelle erschöpft, so kommt die Assemblierung der cytosolischen, nicht aber der mitochondrialen Fe/S-Proteine vollständig zum Erliegen. Welche genaue Rolle Glutathion auf molekularer Ebene spielt, muss noch geklärt werden.

Die Biogenese cytosolischer Fe/S-Proteine als essentielle Funktion der Mitochondrien

Die Biogenese von Fe/S-Proteinen ist die bisher einzige biochemische Funktion der Mitochondrien, die den essentiellen Charakter der Organellen erklärt. Einige der

ISC-Komponenten sind für das Überleben von Hefe (und vermutlich anderen Eukaryonten) unverzichtbar. Dazu gehören die Cysteindesulfurase Nfs1, die Isu-Proteine, die Komponenten der Elektronentransportkette Yah1 und Arh1, das Chaperon Jac1 sowie Erv1. Demgegenüber kann die Hefezelle auf so bedeutende Reaktionswege wie die oxidative Phosphorylierung oder den Citratzyklus verzichten, da Hefe bekanntlich ein fakultativer Anaerobier ist, der seine Energie vollständig aus der Glykolyse beziehen kann. Diese Betrachtungsweise ist zumindest für die frühe Embryonalentwicklung auch auf höhere Zellen übertragbar. Mäuse, bei denen entweder das Gen von Cytochrom *c* deletiert ist oder denen die mitochondriale DNA fehlt, besitzen zwar keine respiratorische Aktivität in den Mitochondrien, sind aber die ersten acht bis zehn Tage der Embryonalentwicklung lebensfähig^[21]. In der ersten Hälfte der Embryonalentwicklung können Säuger offensichtlich auch ohne Atmung leben.

Keines der bekannten mitochondrialen Fe/S-Proteine ist für das Überleben einer Hefezelle essentiell. Die Deletion der kodierenden Gene erzeugt im gravierendsten Fall einen *pet*-Phänotyp (kein Zellwachstum auf nicht-fermentierbaren Kohlenstoffquellen). Im Cytosol der Hefe existiert jedoch zumindest ein essentielles und konserviertes Fe/S-Protein (Rli1), das zu seiner Reifung die mitochondrialen ISC-Komponenten braucht (KISPAL *et al.*, in Vorbereitung). Die unverzichtbare Aufgabe der Mitochondrien in der Zelle ist demnach durch die Reifung dieses extra-mitochondrialen Fe/S-Proteins zu erklären. Die (essentielle) Funktion des Rli1 ist bisher allerdings unbekannt. Warum sind gerade Mitochondrien der Syntheseort von Fe/S Clustern in der Zelle? Ein entscheidender Grund hierfür könnte die reduktive Umgebung der mitochondrialen Matrix sein, die eine vorzeitige oxidative Zerstörung des entstehenden Fe/S-Clusters minimiert.

Eine oft gestellte Frage ist, wie und wo eukaryontische Zellen ohne klassische Mitochondrien (Amitochondriaten) ihre Fe/S Proteine synthetisieren. Zu diesen Organismen gehören etwa Mikrosporidien, Diplomonaden und Trichomonaden. Neue Untersuchungen ergaben erste Antworten auf diese Frage: Zum einen entdeckte man in diesen Organismen Mitosomen, kleine sphärische Organellen mit einer Doppelmembran^[22]. Diese Rest-Mitochondrien scheinen zwar die meisten klassischen Funktionen des Mitochondriums (*Tab. 1*) verloren zu haben, jedoch noch eine von diesem Organell abgeleitete minimale Proteinausstattung zu besitzen. Dazu gehören Homologe der mitochondrialen Proteine

Hsp70, Nfs1, Yah1, Isu1, Yfh1 und Atm1, die im Genom von Mikrosporidien kodiert sind^[23]. Es ist daher anzunehmen, dass Mitochondrien der Ort der Biosynthese von Fe/S-Proteinen in Amöbendiaten sind. Ein erster Hinweis für diese Vermutung ist die funktionelle Komplementation von Yfh1-defizienten Hefezellen durch das Frataxin-Homolog aus Mikrosporidien (G. KUHNKE *et al.*, *in Vorbereitung*). Der Verbleib der Biogenese von Fe/S-Proteinen in Mitochondrien steht in gutem Einklang mit der zentralen Funktion der Mitochondrien bei diesem lebenswichtigen Prozess.

Aufgrund der in den letzten Jahren gewonnenen Erkenntnisse zur Biogenese von Fe/S-Proteinen sollten Mitochondrien nicht nur als Kraftwerk der Zelle, sondern auch als genereller Synthesort für Fe/S-Cluster betrachtet werden. Die kommenden Jahre werden einerseits die noch bestehenden Lücken im Verständnis des molekularen Mechanismus der Synthese von Fe/S-Clustern im Mitochondrium und deren Einbau in Apoproteine schließen. Andererseits ist die Entdeckung und funktionelle Charakterisierung weiterer Proteine mit Aufgaben beim Transport aus dem Mitochondrium und bei der Assemblierung der Fe/S-Holoenzyme im Cytosol zu erwarten.

Danksagung

Der Autor dankt herzlich seinen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, die in den vergangenen Jahren Einblicke in dieses neue Feld erarbeitet haben. Ein besonderer Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der chemischen Industrie, der Volkswagenstiftung und der Alexander von Humboldt Stiftung für die großzügige Förderung unserer Arbeiten.



Roland Lill

geboren 1955; Studium der Chemie an den Universitäten Ulm und München; 1986 Promotion (Mechanismus der Proteinbiosynthese), Prof. W. Wintermeyer (Lehrstuhl Prof. H.G. Zachau), Universität

München; 1987-1989 DFG Stipendium (Proteinexport aus Bakterien), Prof. W. Wickner, UCLA, Los Angeles; 1990-1996 Habilitation (Proteinimport in Mitochondrien, Cytochrombiogenese), Prof. W. Neupert, Universität München; seit 1996, Professur für Zellbiologie an der Universität Marburg (Biogenese von Fe/S-Proteinen, mitochondrialer Transport); seit 2003 Sprecher des Sonderforschungsbereichs 593.

Literaturangaben

- [1] **Lill, R. & Kispal, G.** Maturation of cellular Fe/S proteins: The essential function of mitochondria. *Trends Biochem. Sci.* 25, 352–356 (2000)
- [2] **Mühlenhoff, U. & Lill, R.** Biogenesis of iron-sulfur proteins in eukaryotes: A novel task of mitochondria that is inherited from bacteria. *Biochim. Biophys. Acta.* 1459, 370–382 (2000)
- [3] **Gerber, J. & Lill, R.** Biogenesis of iron-sulfur proteins in eukaryotes: Components, mechanism and pathology. *Mitochondrion.* 2, 71–86 (2002)
- [4] **Frazzon, J. & Dean, D.R.** Formation of iron-sulfur clusters in bacteria – an emerging field in bioinorganic chemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 7, in press (2003)
- [5] **Beinert, H., Holm, R.H. & Münck, E.** Iron-sulfur clusters: Nature's modular, multipurpose structures. *Science.* 277, 653–659 (1997)
- [6] **Zheng, L., Cash, V.L., Flint, D.H. & Dean, D.R.** Assembly of iron-sulfur clusters. Identification of an *iscSUA-hscBA-fdx* gene cluster from *Azotobacter vinelandii*. *J. Biol. Chem.* 273, 13264–13272 (1998)
- [7] **Kispal, G., Csere, P., Prohl, C. & Lill, R.** The mitochondrial proteins Atm1p and Nfs1p are required for biogenesis of cytosolic Fe/S proteins. *EMBO J.* 18, 3981–3989 (1999)
- [8] **Schilke, B., Voisine, C., Beinert, H. & Craig, E.** Evidence for a conserved system for iron metabolism in the mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 10206–10211 (1999)
- [9] **Lange, H., Kispal, G., Kaut, A. & Lill, R.** A mitochondrial ferredoxin is essential for biogenesis of intra- and extra-mitochondrial Fe/S proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 1050–1055 (2000)
- [10] **Kaut, A., Lange, H., Diekert, K., Kispal, G. & Lill, R.** Isa1p is a Component of the Mitochondrial Machinery for Maturation of Cellular Iron-Sulfur Proteins and Requires Conserved Cysteine Residues for Function. *J. Biol. Chem.* 275, 15955–15961 (2000)
- [11] **Kaiser, J.T., Clausen, T., Bourenkow, G.P., Bartunik, H.D., Steinbacher, S. & Huber, R.** Crystal structure of a NifS-like protein from *Thermotoga maritima*: Implications for iron-sulfur cluster assembly. *J. Mol. Biol.* 297, 451–464 (2000)
- [12] **Yuvaniyama, P., Agar, J.N., Cash, V.L., Johnson, M.K. & Dean, D.R.** NifS-directed assembly of a transient [2Fe-2S] cluster within the NifU protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 599–604 (2000)
- [13] **Li, J., Saxena, S., Pain, D. & Dancis, A.** Adrenodoxin reductase homolog (Arh1p) of yeast mitochondria required for iron homeostasis. *J. Biol. Chem.* 276, 1503–1509 (2001)
- [14] **Mühlenhoff, U., Richhardt, N., Ristow, M., Kispal, G. & Lill, R.** The yeast frataxin homologue Yfh1p plays a specific role in the maturation of cellular Fe/S proteins. *Hum. Mol. Genet.* 11, 2025–2036 (2002)
- [15] **Puccio, H. & Koenig, M.** Recent advances in the molecular pathogenesis of Friedreich ataxia. *Hum. Mol. Genet.* 9, 887–892 (2000)
- [16] **Jensen, L.T. & Culotta, V.C.** Role of *Saccharomyces cerevisiae* ISA1 and ISA2 in iron homeostasis. *Mol. Cell. Biol.* 20, 3918–3927 (2000)

[17] **Bekri, S., Kispal, G., Lange, H., Fitzsimons, E., Tolmie, J., Lill, R. & Bishop, D.F.** Human ABC7 transporter: Gene structure and mutation causing X-linked sideroblastic anemia with ataxia (XLSA/A) with disruption of cytosolic iron-sulfur protein maturation. *Blood.* 96, 3256–3264 (2000)

[18] **Lange, H., Lisowsky, T., Gerber, J., Mühlenhoff, U., Kispal, G. & Lill, R.** An essential function of the mitochondrial sulfhydryl oxidase Erv1p/ALR in the maturation of cytosolic Fe/S proteins. *EMBO Rep.* 2, 715–720 (2001)

[19] **Lee, J.E., Hofhaus, G. & Lisowsky, T.** Erv1p from *Saccharomyces cerevisiae* is a FAD-linked sulfhydryl oxidase. *FEBS Lett.* 477, 62–66 (2000)

[20] **Sipos, K., Lange, H., Fekete, Z., Ullmann, P., Lill, R. & Kispal, G.** Maturation of cytosolic iron-sulfur proteins requires glutathione. *J. Biol. Chem.* 277, 26944–26949 (2002)

[21] **Larsson, N.G., Wang, J., Wilhelmsson, H., Oldfors, A., Rustin, P., Lewandoski, M., Barsh, G. S. & Clayton, D.A.** Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat. Genet.* 18, 231–236 (1998)

[22] **Williams, B.A., Hirt, R.P., Lucocq, J.M. & Embley, T.M.** A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature.* 418, 865–869 (2002)

[23] **Katinka, M.D., Duprat, S., Cornillot, E., Metenier, G., Thomarat, F., Prensier, G., Barbe, V., Peyretailade, E., Brottier, P., Wincker, P., Delbac, F., El Alaoui, H., Peyret, P., Saurin, W., Gouy, M., Weissenbach, J. & Vivares, C.P.** Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature.* 414, 450–453 (2001)

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Roland Lill
Institut für Zytobiologie
Philipps-Universität Marburg
Robert-Koch-Str. 5
D-35037 Marburg
Tel.: 06421-286 6449
06421-286 6483 (Sekr.)
Fax: 06421-286 6414
Lill@mail.uni-marburg.de
www.uni-marburg.de/cyto/lill/Lill.htm