

Лекція 3. Організація геному хлоропластів та мітохондрій.

ПОХОДЖЕННЯ.

2.5-1.5 млрд. років тому в первинну еукаріотичну клітину, яка мала відокремлене ядро, але була не здатна до дихання (окислювального фосфорилування) і фотосинтезу, проникла аеробна альфа-протеобактерія, що перетворилася в ході еволюції на мітохондрію. Більше 1.5 млрд. років тому еукаріотична клітина, що містила майбутню мітохондрію, поглинула фотосинтезуючу ціанобактерію, яка в ході еволюції перетворилася на хлоропласт. Альфа-протеобактерія постачала клітині-хазяїну енергію у вигляді АТФ, а ціанобактерія забезпечувала продуктами фотосинтезу, в результаті чого клітина-господар отримала значні еволюційні переваги.

Тривале існування ендосимбіонтів всередині еукаріотичної клітини призвело до значних змін в організації та регуляції експресії генетичного апарату хлоропластів. У ряді генів ендосимбіонтів з'явилися інтрони, які не зустрічаються у прокариотів. З'явилися нові хлоропластні РНК-полімерази ядерного кодування. Значно ускладнився процес транскрипції і посттранскрипційної регуляції експресії пластидного геному.

ВЗАЄМОДІЯ ЯДЕРНОГО І ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМІВ.

Хлоропласти є напівавтономні органелами, оскільки в ході еволюції в умовах ендосимбіозу вони втратили не менше **95%** генів у порівнянні з вільноживучими ціанобактеріями. Були втрачені гени, в продуктах яких більше не було необхідності, а значна частина життєво важливих генів, що раніше перебувала в геномі попередника хлоропластів, перенесена в ядерний геном клітини-господаря. В ядерному геномі рису виявлено 701 фрагмент хлоропластної ДНК (хпДНК) загальною довжиною приблизно 900 т. п. н.

Більшість білкових комплексів тілакоїдних мембран хлоропластів (ТМХ) і мультисубодиничних ферментів містять білки, що кодуються як ядерним, так і пластидним геномами. Це призвело до неможливості повноцінного існування і ділення хлоропластів і мітохондрій поза клітини-господаря.

Більшість фрагментів хпДНК надходять з хлоропласта прямо в ядро, проте хпДНК може також з хлоропласта переноситися спочатку в мітохондріальний геном, а з нього - в ядерний.

4500 генів (18% ядерних генів *A. thaliana*) перенесені в ядерний геном від попередника хлоропласта. Частина білкових продуктів генів, які були перенесені від попередника пластид в ядро, знову направляється у хлоропласт. У хлоропластах виявлено більше 3000 білків і лише близько 3% білків кодуються пластидним геномом.

Ядро визначає як біогенез, так і функціонування хлоропластів завдяки величезній кількості білків, які кодуються в ядрі та надходять в хлоропласти (близько 97% всіх білків хлоропластів). Це так званий ядерний або **антероградний контроль**. Майже всі білки, що беруть участь у процесінгу РНК, 2/3 білків пластидних рибосом і майже всі фактори регуляції транскрипції і трансляції кодуються ядерним геномом, що забезпечує контроль ядра над експресією пластидного геному, як на рівні транскрипції, так і на посттранскрипційних етапах.

В даний час встановлено, що пластиди не тільки сприймають сигнали, що до них надходять, але можуть генерувати і направляти ядру свій сигнал, званий пластидним або **ретроградним**. Цей сигнал інформує ядро про функціональний стан пластид.

Розвиток тілакоїдної системи і формування ферментативних комплексів темнових реакцій фотосинтезу знаходяться під контролем двох геномів: ядра й хлоропласта. Це здійснюється таким чином, що кожен функціонально важливий комплекс в хлоропластах складається з білків, частина яких кодується і синтезується в хлоропласті, а частина

кодується в ядрі, синтезується на 80S рибосомах цитоплазми, а потім проникає в хлоропласт і тут включається разом з утвореними в хлоропласті білками в побудову функціонально активних комплексів. Наприклад, для формування хлоропластних рибосом використовуються синтезовані в хлоропластах рибосомальні РНК і частина рибосомальних білків, а інша частина білків, необхідних для побудови рибосом, кодується синтезується в ядрі і цитоплазмі.

Транспортні РНК, які доставляють амінокислоти в рибосому і знаходять їм місце в зростаючому поліпептидному ланцюзі, синтезуються в хлоропласті, але ферменти, які активують амінокислоту і допомагають їй знайти свою транспортну РНК і приєднатися до неї (аміноацил-тРНК-синтетази), кодується в ядрі і синтезуються у цитоплазмі.

Точно так само близько половини білків, необхідних для побудови чотирьох основних комплексів електрон-транспортного ланцюга тилакоїдних мембран, кодується хлоропластним геномом і синтезується в хлоропласті, а половина кодується в ядрі, в цитоплазмі синтезується, проникає в хлоропласт і, взаємодіючи з хлоропластними білками, бере участь в утворенні цих комплексів.

Формування ферментативного апарату темнових реакцій фотосинтезу, в ході яких відбувається асиміляція (засвоєння) CO_2 , також знаходиться під контролем двох геномів, ядра й хлоропласта. Це здійснюється за рахунок того, що ключовий фермент циклу Кальвіна-Бенсона РБФК складається з двох субодиниць (з двох поліпептидів). Велика субодиниця (54 кДа) кодується і синтезується в хлоропласті, а мала (14 кДа) кодується та синтезується в ядрі і цитоплазмі у вигляді попередника. Потім вона проникає в хлоропласт і зустрічається там з синтезованою в хлоропласті великою субодиницею.

Для того щоб ці два поліпептиди утворили правильну кінцеву структуру функціонально активного ферменту РБФК, що складається з 8 великих та 8 малих субодиниць, необхідний додатковий 60 кДа білок. Його називають **шапероном** або шаперонином (від англ. *chaperon* - провідник, наставник). 60 кДа шаперон забезпечує правильну укладку ланцюгів двох субодиниць РБФК. Цей білок також кодується в синтезується в ядрі і цитоплазмі, проникаючи потім в хлоропласт. Так ядро контролює формування функціонально активної РБФК - ключового ферменту фіксації вуглекислоти у фотосинтезі.

Таким чином, формування всіх найважливіших структур хлоропласта залежить від ядра і цитоплазми. Це пояснює неможливість ідеї створення культури ізольованих хлоропластів, де б вони самостійно розмножувалися на живильному середовищі.

ТИПИ ПЛАСТИД.

Ймовірно, в період адаптації рослин до умов наземного існування, коли у рослин з'явилися різні тканини, відбулося перетворення хлоропластів у різні типи пластид, які мали однакову генетичну інформацію, але виконували різні функції. Необхідність збереження пластид в нефотосинтезуючих тканинах, можливо, пояснюється величезною роллю, яку пластиди грають у метаболізмі рослинної клітини. Крім процесу фотосинтезу, пластиди беруть участь в азотному обміні речовин, синтезі амінокислот, пуринів і піримідинів, ізопреноїдів, фенольних сполук, жирних кислот, крохмалю, у метаболізмі фітогормонів (принаймні, цитокинінів, АБК і гіберелінів) і т. д.

Всі пластиди рослинної клітини походять від пропластид меристематичної тканини. Пропластиди зазвичай містять невеликі фрагменти тилакоїдних мембран, крохмальні зерна, а також структури, схожі на рибосоми. Зазвичай в клітині буває 10-20 пропластид розміром близько 1 мкм.

Найбільш поширеними пластидами, що розташовуються у фотосинтезуючих тканинах, є хлоропласти, які здійснюють процес фотосинтезу. Як і всі пластиди, хлоропласти обмежені подвійною мембранною оболонкою. У хлоропластах існує система тилакоїдних мембран, які є місцем фотосинтетичного транспорту електронів і синтезу АТФ. Тилакоїди складаються з ламел, а зібрані в стопки ламели називаються гранами, які з'єднуються ламелами строми.

У відсутності світла з пропластид розвиваються етіопласти. В етіопластах не утворюється хлорофіл, однак є каротиноїди. В цих органелах немає тилакоїдних мембран, але є проламелярні тіла. Етіопласти можуть швидко перетворитися в хлоропласти і активно синтезувати хлорофіл під дією світла.

У квітках, свіжих фруктах і т. п. формуються хромопласти – це пластиди з великим вмістом різних видів пігментів, головним чином каротиноїдів. При перетворенні хлоропластів у хромопласти руйнується хлорофіл і тилакоїдні мембрани, а також збільшується вміст ферментів біосинтезу каротиноїдів.

Ціла група пластид, для яких характерна відсутність будь-яких пігментів, називається лейкопластами. Лейкопласти дуже широко поширені, варіабельні по кількості і морфології, можуть запасати різні типи молекул. Лейкопласти, що запасують крохмаль, називаються амілопластами. Пластиди, які накопичують ліпіди, називаються елайопластами, а які накопичують білки - протеїнопластами. Лейкопласти зазвичай формуються з пропластид в ході розвитку запасуючих органів і тканин.

Тип пластид визначається типом тканини. В одній клітині існують пластиди тільки одного виду.

ГЕНОМ ХЛОРОПЛАСТІВ.

Геном хлоропластів рослин являє собою дволанцюгову ДНК (кільцевий дуплекс), середній розмір якої - 120-180 т. п. н. довжина до 40-60 мкм. Довжина молекул хлДНК варіює від 135 т. п. н. у *Euglena gracilis* до 200-220 т. п. н. у *Pelargonium zonale*. (для порівняння - ДНК мітохондрій дріжджів - 80 т. п. н., тварин 20 т. п. н.).

Різниця в розмірі хлДНК майже завжди пов'язана з розмірами інвертованих повторів (ІП). У пластидному геномі низький вміст ГЦ пар (30-40%). Між інвертованими повторами (IRA і IRB) розміром приблизно по 25 т. п. н., локалізуються велика (LSC) і мала (SSC) унікальні області. Інвертовані повтори в одному геномі завжди однакові. Кожен ген ІП має дві копії на геном. Бобові (горох, люцерна та ін) і деякі голонасінні рослини (наприклад, сосна) не мають ІП.

Розміри ІП можуть сильно відрізнятись у різних видів рослин. Передбачається, що ІП, збільшуючи дозу генів рРНК, забезпечують їх активну експресію, а так само стабілізують геном, оскільки частота мутацій в ІП значно нижче, ніж в унікальних ділянках молекули ДНК.

Копійність геному хлоропласту в одній органелі варіює в межах 8-1000 копій на пластиду, до 50 пластид на клітину. Так, в індивідуальному хлоропласті кукурудзи присутні 20-40 копій молекул ДНК.

У ячменю геном хлоропластів – 136 462 пар основ, пшениці - 134 545 пар основ. Натепер в GenBank є понад 900 первинних нуклеотидних послідовностей пластид еукаріот, з них біля 700 - для групи *Viridiplantae*, до якої належать і Вищі наземні рослини.

Хлоропласти розмножуються в клітинах рослин шляхом ділення. Поділу хлоропласта передують подвоєння (редуплікація) ДНК, проте хлоропласти розмножуються в клітині не необмежено. Для кожного виду характерно певна кількість хлоропластів в клітині, яка варіює у різних видів від декількох одиниць до величин, що перевищують

сотню. Число хлоропластів в клітині, а отже, їх розподіл, контролюються ядром. Наприклад, ДНК-полімераза, що здійснює редуплікацію хлДНК, кодується в ядрі, синтезується на 80S рибосомах цитоплазми і потім проникає в хлоропласт, де і забезпечує синтез ДНК.

ДНК хлоропластів не перебуває в комплексі з гістонами. Всі ці характеристики ДНК хлоропластів близькі до характеристик ДНК прокаріотичних клітин. Більш того, схожість ДНК мітохондрій та бактерій підкріплюється ще й тим, що основні регуляторні послідовності транскрипції (промотори, термінатори) у них однакові. На ДНК хлоропластів синтезуються всі види РНК (інформаційна, транспортна, рибосомна). ДНК хлоропластів кодує рРНК, що входить до складу рибосом, які відносяться до прокаріотів 70S типу (містять 4.5S; 5S; 16S і 23S рРНК). Рибосоми хлоропластів чутливі до антибіотика хлорамфеніколу, як у прокаріотичних клітин.

Передбачається, що для функціонування пластид вищих рослин потрібно більше 2100 білків. Пластом рослин містить зазвичай 100-115 генів, які кодують тільки близько 3% виявлених у хлоропласті білків. Це означає, що близько 97% всіх хлоропластних білків кодуються ядерним геномом.

Всі хлоропластні гени можна умовно розділити на три групи.

1. Гени, що кодують фотосинтетичні білки (близько 50);
2. Гени генетичної системи (приблизно 60);
3. Інші гени – всі гени хлоропластного геному, включаючи відкриті рамки зчитування.

Гени фотосинтетичних білків. У покритонасінних рослин 47 генів хлоропластного геному кодують білки, які беруть участь у формуванні фотосинтетичного апарату. З них 15 генів, що кодують субодиниці ФС II (psb A, B, C, D, E, F, H, I, J, K, L, M, N, T, Z). Продукти семи генів беруть участь у формуванні ФС I (psa A, B, C, I, J). У ці сім генів входять два гена (uscf3 і uscf4), що кодують білки, які беруть участь у складанні ФС I. Шість генів (petA, B, D, G, L, N) кодують субодиниці цитохромного b6f - комплексу, який здійснює взаємодію ФС I і ФС II. Шість генів, що кодують субодиниці АТФ-синтази. Одинадцять генів, що кодують субодиниці хлоропластного НАДФН – пластохіноноксидоредуктазного комплексу (ndh A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K), який бере участь в циклічному потоці електронів за участю ФС I.

Гени генетичної системи. Найбільша група генів (всього 62), продукти яких беруть участь на всіх етапах експресії пластидного геному: 30 генів тРНК (trn), чотири – рРНК (rrn), 21 ген рибосомних білків (дев'ять для великої субчастиці (rpl) і 12 – для малої (rps), чотири гени для субодиниць мультисубодиничної хлоропластної РНК-полімерази (rpo; PEP), matK ген кодує матуразу, яка бере участь у сплайсингу інтронів II групи, clpP кодує субодиницю хлоропластної протеази (Caseinolytic protease) і infA – кодує фактор ініціації трансляції IF-1.

Всі тРНК кодуються пластидним геномом. На відміну від генів прокаріотів жоден пластидний ген тРНК не кодує 3'-ССА кінець. Цікаво, що крім участі в трансляції tRNA-Glu втягується в синтез δ -амінолевулінової кислоти, яка є попередником хлорофілу.

З чотирьох типів рРНК три (23S, 5S і 4.5 S) пов'язані з 50S субчастицею. 16S рРНК входить в 30S субчастицу. Всі рРНК кодуються rrn опероном і розташовані в наступній послідовності: rrn16-trnI-trnA-rrn23-rrn4,5-5S. Дві третини генів рибосомних білків кодуються ядром, інші пластомом.

Чотири субодиниці РНК-полімерази бактеріального типу кодуються пластидним геномом (rpoA, rpoB, rpoC1 і rpoC2), а всі σ -фактори і РНК полімерази фагового типу кодуються ядерними генами.

Інші гени. До цієї групи відносяться гени, які не залучені безпосередньо в процес фотосинтезу і генетичну систему хлоропластів. До них можна віднести *accD* ген, що кодує β-субодиницю ацетил-КоА-карбоксилази, ключовий фермент біосинтезу жирних кислот.

Високо консервативний ген *csaA* (*ycf5*) кодує білок, що бере участь в біогенезі цитохромів у фотосинтезуючих рослин.

Ген *cemA* (*ycf10*) кодує білок внутрішньої мембрани хлоропластів, інактивація якого призводить до зниження поглинання CO₂.

Є в хлоропластному геномі також відкриті рамки зчитування розміром не більше 150 кодонов, які, як передбачається, не мають великого функціонального значення.

Для пластидного геному характерні як еукаріотичні, так і прокаріотичні ознаки. Близько половини пластидних генів об'єднані в оперони- це властивість прокаріотів, однак об'єднуються в пластидні оперони і гени, які кодують функціонально-різні білки. Оперон часто має кілька промоторів, які можуть впізнаватися різними РНК-полімеразами. На відміну від бактеріальних генів від 15 до 17 пластидних генів рослин **мають інтрони**, що передбачає наявність сплайсингу, а це вже еукаріотична ознака. Крім того, для пластид характерно **редагування** їх транскриптів.

У табл. 1 на прикладі пшениці представлений типовий набір генів хлоропластної ДНК вищих рослин, число яких в різних таксонах вищих рослин приблизно однаково.

У геномі пластид рослин зустрічається тільки один інтрон I групи і близько 20 інтронів II групи. Основне число білкових чинників, що беруть участь в сплайсингу пластидних генів, кодуються ядерним геномом. Білки, які беруть участь в сплайсингу ядерних і пластидних транскриптів, різні.

Структура хлоропластних білків і відповідних генів висококонсервативна, тому що швидкість еволюції послідовностей ДНК хлоропластів значно нижче такої для ядерних генів (мітохондріальна ДНК еволюціонує в 10 разів частіше, ніж ядерна).

Таблиця 1. Состав хлоропластного генома пшеницы (по: Ogihara et al., 2000; 2002)

Конечный продукт	Обозначение генов	Информация о кодируемом продукте
РНК	<i>23S rDNA, 16S rDNA, 5S rDNA, 4.5S rDNA</i> <i>trnA, trnC, trnD, trnE, trnF, trnG, trnH, trnI, trnK, trnL, trnM (trnM), trnN, trnP, trnQ, trnR, trnS, trnT, trV, trW, trnY</i>	Рибосомальні гени Гени тРНК (30 типів, соответствующих 20 аминокислотам)
Белки фотосинтетического аппарата	<i>PsaA, -B, -C, -I, -J</i> <i>PsbA, -B, -C, -D, -E, -F, -H, -I, -J, -K, -L, -M, -N, -T</i> <i>PetA, -B, -D, -G</i> <i>AtpA, -B, -E, -F, -H, -I</i> <i>rbcl</i>	Фотосистема 1 Фотосистема 2 Цитохромы АТФ синтаза Большая субъединица рибулозобифосфаткарбоксилазы
Рибосомальні белки	<i>rpl 2, rpl14, rpl16, rpl20, rpl22, rpl23, rpl32, rpl33, rpl36</i> <i>rps 2, rps3, rps4, rps7, rps8, rps11, rps12, rps14, rps15, rps16, rps18, rps19</i>	Большая субъединица рибосом Малая субъединица рибосом
Белки транскрипционного/трансляционного аппаратов	<i>rpoA, rpoB, rpoC1, rpoC2</i> <i>infA</i>	Субъединицы РНК полимеразы Трансляционный фактор
Прочие белки	<i>ndhA, ndhB, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i> <i>clpP</i> <i>cemA</i> <i>matK</i> <i>ycf3, ycf4, ycf5, ycf6, ycf9</i>	Субъединицы НАДФ дегидрогеназы Протеиназа Белок мембраны хлоропластов Матураза Открытые рамки считывания, консервативные среди пластовых злаков

Таблиця А.1 – Групи генів хлоропластного генома *L. Sibirica*

Група генів	Кількість кодуючих участків в геномі
tRNA	31
rRNA	3
Ribosomal proteins	25
Photosystems I,II	22
Cytochrome (b6 – f, b559)	10
RNA polymerase	5
ATP synthase	4
Light-independent protochlorophyllide reductase	3
Translation initiation factor 1	1
NAD(P)H-quinone oxidoreductase	1
Cell division protein FtsH	1
Maturase K	1
Ribulose biphosphate carboxylase	1
Acetyl-coenzyme A carboxyl transferase	1
ATP-dependent Clp protease	1
Hypothetical protein	10

РЕДАГУВАННЯ РНК. Хлоропласти мають механізм, здатний змінювати послідовність транскрипта в порівнянні з послідовністю його гена. Цей процес, званий **редагуванням (editing)** РНК, був відкритий в пластидах в 1991 році. Редагування піддаються деякі тРНК, рРНК, мРНК і мікроРНК. Редагування РНК відбувається в клітинному ядрі і цитоплазмі, а також в мітохондріях і пластидах.

Редагування РНК може призводити до перетворення цитидину (С) в уридин (U) і аденозину (А) в інозін (I) в результаті дезамінування, а також приєднання до РНК нових нуклеотидів і видалення тих, хто входить до її складу.

У хлоропластах відомі тільки два типи заміни С-U і рідше U-C. У пластидах квіткових рослин існує від 30 до 40 сайтів редагування. Редагування зазвичай відбувається в послідовності, що кодує і тільки в рідкісних випадках - в інтронах або в некодуючих ділянках. Редаговані кодони завжди кодують амінокислоти, дуже важливі для функції білка.

Редагування РНК може так змінити мРНК, що зміниться амінокислотний склад кодованого білка і він буде відрізнятися від поліпептиду, передбаченого за послідовністю гена. Редагування буває важливо для отримання активного білка. Іноді редагування необхідно, щоб створити сайт ініціації трансляції або "виправити" сайт термінації.

Одне з припущень: едітінг виник спочатку для корекції мутацій генома, які з'являлися під заселення Землі рослинами. Результат - синтез нормального Білка.]

У ДНК хлоропластів використовується універсальний генетичний код.

Таким чином, проаналізувавши доступні в даний час експериментальні дані, можна зробити висновок, що будова і основні етапи експресії пластидного генома організовані за прокаріотичним типом, проте через тривале перебування пластид в ході еволюції в еукаріотичних клітинах в них відбулися значні зміни. **Пластида втратили 95% генів** в порівнянні з вільноживучим ціанобактеріями і втратила здатність до існування поза еукаріотичною клітиною. Вони кодують тільки близько **3% всіх виявлених в хлоропластах білків**. Значно ускладнився в пластидах процес транскрипції через появу двох додаткових РНК-полімераз ядерного кодування, великої кількості промоторів у пластидних генів, відомі РНК-полімерази обох типів. У зв'язку з появою інтронів виник

сплайсинг, з'явилося редагування транскриптів. Між ДНК-вмістними органелами клітини відбувається постійний обмін інформацією, спрямований на координацію дій у відповіді клітини на екзогенні та ендогенні фактори. Все це створює дуже складну регуляцію експресії пластидних генів, в якій бере участь велика кількість білків ядерного кодування.

Геном мітохондрій.

Кількість мітохондрій у рослинній клітині становить від 50 до 2000, і кожна мітохондрія містить від 1 до 100 копій генома.

Рослинні мітохондрії сильно відрізняються від мітохондрій тварин. Вони мають додаткові шляхи електронного транспорту, не пов'язані з синтезом АТФ, включаючи неспряжені окислення НАДН і НАДФН зовні і зсередини мітохондрії, а також неспряжене перенесення електронів з убихінону на кисень. Білки, що виконують ці реакції (альтернативні НАД(Ф)Н-дегідрогенази та альтернативна оксидаза, стійка до цианіду), кодуються в ядрі. Функція цих шляхів, мабуть, пов'язана з фотосинтезом і полягає в необхідності швидкого окислення фотосинтетично утворених субстратів. Мітохондрії фотосинтезуючих тканин здатні інтенсивно окисляти гліцин, що утворюється в листках у великих кількостях і є продуктом фотодихання.

Мт геном тварин виглядає так: це кільцева молекула розміром 14-20 Кбп. Зазвичай такий геном кодує 2 рибосомніРНК, 13 специфічних поліпептидів і до 25 тРНК (кількість може змінюватися від 2 до 24 у різних видів).

Геноми тварин містять дуже незначний відсоток некодуючої ДНК у вигляді єдиної контрольної області (проте, трапляються винятки. Інтрони відсутні. Гени тРНК розташовані, як правило, між генами білків і, крім основної функції – транспорту амінокислот при біосинтезі білка, виконують функцію сигналів («ком»), за яким відбувається процесинг поліцистронної пре-мРНК. (Довжина мтДНК хребетних тварин відрізняється незначно: у людини — 16569 пар нуклеотидів, у свині — 16350, у дельфіна — 16330, у шпорцевої жаби *Xenopus laevis* — 17533, у коропа — 16400).

Прикладом іншого варіанту організації може бути геном діатомової водорості *Synedra acus*, геноми зелених і червоних водоростей. Це також кільцева молекула, розмірні межі якої знаходяться в межах 19 – 1000 Кбп. Відмінності від першого варіанту стосуються в першу чергу наявності міжгенних спейсерних послідовностей різної довжини і присутності додаткових генів. Кількість ідентифікованих генів коливається від 40 до 156. Структурні гени у деяких видів містять інтрони I або II типу.

Третій варіант виявлений у багатьох грибів і вищих рослин. Розмір геному мітохондрій наземних рослин набагато більше мтДНК тварин і може досягати сотень тисяч пар нуклеотидів (наприклад, у *Arabidopsis thaliana* 366 924 пар нуклеотидів – це в 20 разів більше, ніж у людини). Для третього варіанту характерно присутність крім кільцевої молекули (розміри молекули як у другому варіанті від 20 до 1000 Кбп, частіше 100-500) плазмідоподобних кільцевих або лінійних молекул. Розміри і кількість молекул мтДНК може варіювати в широких межах. При цьому 7-8-кратні відмінності в розмірах мтДНК вищих рослин виявляються навіть у межах одного сімейства. Наприклад, сімейство гарбузових у кавуна мітохондріальний геном навіть менше, ніж у арабідопсису (330 тис. пар нуклеотидів), у гарбуза він містить 850 тис. пар нуклеотидів, а у дині - 2400 тис. пар нуклеотидів.

Таким чином, мітохондрії містять набагато більші геноми, ніж пластиди (останні зазвичай містять 120-160 тис. пар нуклеотидів), проте в мітохондріальному геномі рослин набагато менше унікальних кодуєчих послідовностей.

Встановлено, що збільшення розміру геному сталося після того, як рослини заселили сушу, і в цей же еволюційний період мітохондріальні геноми рослин втратили ряд генів, передавши їх до ядра. Звідси випливає, що збільшення розміру геному мітохондрій відбулося за рахунок межгенних ділянок. Структура цих ділянок геному непостійна. У них переважають видоспецифічні послідовності. Таким чином, спрямованість еволюції мітохондріального геному рослин протилежна спрямованості еволюції мітохондріального геному тварин клітин, у яких геном мітохондрій в процесі еволюції став менше і компактніше.

Велика варіабельність пов'язана з рекомбіногеною природою геному мітохондрій вищих рослин. Мітохондріальний геном рослин, як правило, складається з декількох молекул різного розміру. Одна з них, "основна хромосома", "майстер-хромосома", містить велику частину генів, а кільцеві форми меншої довжини, що знаходяться в динамічній рівновазі як між собою, так і з основною хромосомою, утворюються в результаті внутрішньо-і міжмолекулярної рекомбінації завдяки наявності повторених послідовностей (рис.1).

На відміну від хребетних, у рослин, грибів і найпростіших мтДНК містять до 80% не кодуєчих послідовностей.

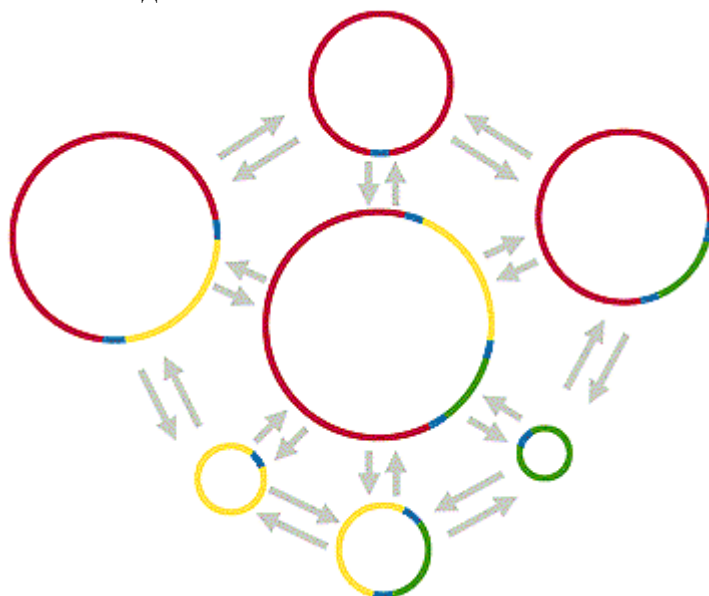


Рис 1. Схема утворення кільцевих ДНК. Рекомбінація відбувається по повтореним ділянкам (сині).

Висока концентрація активних форм кисню в мітохондріях і слабка система репарації збільшують частоту мутацій мтДНК у порівнянні з ядерною на порядок. Радикали кисню служать причиною специфічних замінів Ц-Т (дезамінування цитозина) і Г-Т (окисне пошкодження гуаніна), внаслідок чого, можливо, мтДНК багаті АТ-парами. Крім того, всі мтДНК володіють цікавою властивістю — вони не метилуються, на відміну від ядерних і прокариотичних ДНК.

Вперше виявлене в мітохондріях трипаносоми редагування РНК (едітінг) широко поширене в хлоропластах і мітохондріях вищих рослин. РНК редагування в мітохондріях квіткових рослин полягає в дезамінуванні С до U. У вивчених мітохондріальних геномах налічується близько 400-500 сайтів дезамінування всередині відкритих рамок зчитування. Зараз відомо, що редагування РНК — часто зустрічається і дуже важливий процес корекції експресії генів в мітохондріях більшості видів рослин. Велика частина сайтів редагування РНК знаходиться в генах, що кодуєть білки. Небагато таких сайтів виявлено в тРНК, нетранслюємих ділянках мітохондріального геному і інтронах. Число сайтів редагування

варіює від 357 у цукрових буряків до 491 у рису. Виявлено ряд видоспецифічних сайтів редагування.

Доказів наявності редагування РНК в мітохондріях клітин тварин і грибів немає. Існує уявлення, що різні царства еукаріот мали різних предків і ендосимбіоз бактерій виникав на різних етапах еволюції живих організмів. Про це ж говорять відмінності в будові мітохондріальних геномів найпростіших, грибів, рослин і вищих тварин. Але у всіх випадках основна частина генів з промітохондрій потрапила в ядро, можливо, з допомогою мобільних генетичних елементів.

Іншою незвичайною рисою мітохондрій є особливість впізнавання кодонів транспортними РНК, що призводить до того, що одна молекула дізнається відразу чотири кодона. Зазначена зміна мітохондріального генетичного коду зменшує значимість третього нуклеотиду в кодоне і призводить до того, що потрібно менше транспортних РНК. Всього 22 транспортних РНК достатньо для пізнавання всіх 64 кодонів.

У складі мтДНК міститься від 25 (у хламідомонади) до 104 (у печіночника) генів. У вищих рослин мтДНК містить 50-70 генів. Наприклад, у арабідопсису загальна кількість генів – 52. Гени складають 7-17% мітохондріального геному покритонасінних. Деякі міжгенні ділянки містять послідовності хпДНК (1.6—6.2% геному) і яДНК (0.1—13.4% геному). Така "змішана" ДНК не виявлено в мітохондріальних геномах тварин клітин. Вважають, що послідовності хпДНК в мтДНК можуть бути джерелами деяких функціональних генів тРНК, а також служити промоторами мітохондріальних генів. Функції ядерної ДНК у мітохондріальних геномах невідомі.

Кодують білок – 27; з них:

Дихальний комплекс – 17. (Деякі білки дихального ланцюга, частина субодиноць (3) АТФ-синтетази, чотири білка, беруть участь у синтезі цитохрому с. В мітохондріальному геномі рослин були ідентифіковані деякі субодиноці дихального комплексу, не характерні для ссавців)

Рибосомні білки – 7 (МтДНК рослин кодує 10 рибосомних білків, в той час як у ссавців жоден з 85 рибосомних білків не кодується її мтДНК);

Транспортні білки – 3;

Гени рРНК – 3 (Мітохондріальні рРНК рослин (18S і 26S) більше, ніж у тварин (12S і 16S). Крім того, миторибосоми рослин містять 5S рРНК.).

Гени тРНК - 22. (Склад генів тРНК в мітохондріях рослин унікальний. Покритонасінні рослини містять 15-21 генів тРНК. Частина генів тРНК володіє значною гомологією з генами хпДНК. Нуклеотидні послідовності інших генів не відповідають послідовності тРНК жодного з відомих джерел. Для мітохондрій рослин типовий імпорт молекул тРНК з цитозолу. При секвенуванні мітохондріальних геномів було встановлено, що в них відсутні зазвичай гени тРНК аланіну, аргініну, лейцину, треоніна і валіну, так що відповідні тРНК, ймовірно, імпортуються. Молекули тРНК, як припускають, що надходять у мітохондрію через потенціал-залежні аніонні канали зовнішньої мембрани.)

Число інтронів – 23. (У кожному з секвенированих мітохондріальних геномів загальне число інтронів становить 20-24, що відповідає 4-13% геному. Інтрони відносяться до груп I і II, причому особливо численні у рослин інтрони II групи, тоді як у інших організмів цей тип інтронів зустрічається у вигляді винятку. Інтрони виявлені також в генах

мітохондрій протистів і грибів, але вони відсутні (за небагатьма винятками) в мітохондріальних генах тварин.)

[В геномах бактерій і органел зустрічаються самосплайсуючі інтрони, хоча вони і дуже рідкісні (т. зв. інтрони типів I і II). Ці інтрони вирізаються без допомоги сплайсоми за рахунок рибозимної активності самих інтронів, утворюють спеціальні структури. Є свідчення того, що інтрони типу II і сплайсосомні інтрони мали спільного предка. Механізм вирізання цієї інтронів типу II схожий з таким у сплайсосомних інтронів.]

Мітохондріальні гени рослин транслюються за допомогою універсального генетичного коду (у тварин – ні).

[Найбільший сюрприз вченим мітохондрії піднесли в 1979 р. До того часу вважалося, що генетичний код універсальний і одні і ті ж триплети кодують однакові амінокислоти у бактерій, вірусів, грибів, рослин і тварин. Англійський дослідник Беррел зіставив структуру одного з мітохондріальних генів теляти з послідовністю амінокислот у кодованого цим геном субодиниці цитохромоксидази. Виявилось, що генетичний код мітохондрій великої рогатої худоби (як і людину) не просто відрізняється від універсального, він "ідеальний", тобто підпорядковується наступним правилом: "якщо два кодона мають два однакових нуклеотиду, а треті нуклеотиди належать до одного класу (пуринових — А, Г, або піримідинових — У, Ц), то вони кодують одну і ту ж амінокислоту". В універсальному коді є два винятки з цього правила: триплет АУА кодує ізолейцин, а кодон АУГ — метіонін, в той час як в ідеальному коді мітохондрій обидва ці триплети кодують метіонін; триплет УГГ кодує лише триптофан, а триплет УГА — стоп-кодон. В універсальному коді обидва відхилення стосуються принципових моментів синтезу білка: кодон АУГ — ініціюючий, а стоп-кодон УГА зупиняє синтез поліпептиду. Ідеальний код властивий не всім описаним мітохондрій, але жодна з них немає універсального коду. Можна сказати, що мітохондрії говорять на різних мовах, але ніколи — на мові ядра.]

Крім кодування ключових компонентів дихального ланцюга і власного білоксинтезуючого апарату, мітохондріальний геном в окремих випадках бере участь у формуванні деяких морфологічних і фізіологічних ознак. До таких ознак відносяться характерні для ряду видів вищих рослин синдром NCS (non-chromosomal stripe, нехромосомно кодується плямистість листя) і цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦМС), що приводить до порушення нормального розвитку пилку. Прояв обох ознак обумовлено змінами в структурі мтДНК. При ЦМС спостерігаються перебудови геномів мітохондрій в результаті рекомбінаційних подій, що ведуть до делецій, дуплікацій, інверсій або інсерцій певних нуклеотидних послідовностей або цілих генів. Такі зміни можуть викликати не тільки пошкодження наявних генів, але і поява нових працюючих генів.

Взаємодія між продуктами хромосомних, мітохондріальних і хлоропластних генів обумовлена генетично. Наприклад, мутації в мітохондріях ДНК кукурудзи можуть супресироватися хромосомними мутаціями, а певні види чоловічої стерильності - викликані мутаціями в мітохондріальній ДНК (відновлення фертильності пов'язаність пов'язані з мутаціями в хромосомних генах).

Література:

1. Экспрессия хлоропластного генома: со временные представления и экспериментальные пути изучения. М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, Н.В. Луханина, А.М. Шимкевич, О.Г. Давыденко \ \ Вавиловский журнал генетики и селекции • 19 • 5 • 2015/С/ 511-528.

2. МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ВАРИАНТОВ ОРГАНИЗАЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА. А. А. КОЛЕСНИКОВ, Е. С. ГЕРАСИМОВ \ \ Успехи биологической химии, т. 52, 2012, с. 37–62

3. Хлоропласты. Структура и экспрессия пластидного генома. В. В. Кузнецов. *Физиология растений*. Т.65, № 4,г.2018,С.243-255.

4.