

Экспрессия хлоропластного генома: современные представления и экспериментальные пути изучения

М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, Н.В. Луханина, А.М. Шимкевич, О.Г. Давыденко

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Уникальным свойством растений является наличие, кроме генома ядра, двух внеядерных геномов в хлоропластах и митохондриях. Геном хлоропластов относительно невелик – 100–120 генов, которые кодируют менее 5 % всех необходимых для функционирования пластид белков. Экспрессия генома пластид сохраняет черты прокариот: котранскрипцию генов в составе оперона, сходные с бактериями РНК-полимеразы и промоторы, присутствие 70S рибосом, однако появляются и новые свойства: транскрипция, не сопряженная с трансляцией, фагоподобные РНК-полимеразы, РНК эддинг и сплайсинг транскриптов. Взаимодействие ядра (генома ядра) и цитоплазмы (генома пластид, митохондрий) в процессе развития растительного организма абсолютно необходимо для полноценного развития растения, адаптации (пластичности) к факторам окружающей среды. В обзоре обобщены современные представления об особенностях экспрессии генома пластид в клетке. Последовательно показано, что происходит при реализации генетической информации генома пластид в хлоропластах (транскрипции, эддинге, сплайсинге, полиаденилировании, трансляции) и как отсутствие каких-либо компонентов отражается на функционировании растительной клетки и растения в целом. Описаны современные подходы к изучению пула транскриптов, выявлены критические точки ядерно-цитоплазматического взаимодействия при реализации функции хлоропластов в онтогенезе, воздействии факторов окружающей среды и др. Подробно представлена информация о важнейших факторах ядерно-цитоплазматического сигналинга у высших растений – сигма-факторах и PPR-белках, кодируемых ядром. Таким образом, показаны многоуровневость и целесообразность регуляции процессов экспрессии генома пластид в растительной клетке и взаимозависимость происходящих в разных компартаментах клетки процессов. Составлена также сводка последних работ по изучению экспрессии генома пластид с помощью генетических чипов (микро- и макроэррей). Приводятся результаты собственных исследований.

Ключевые слова: хлоропласт; пластиды; экспрессия; транскрипция; РНК-полимеразы; эддинг; сплайсинг; трансляция; микроэррей; макроэррей.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Синявская М.Г., Даниленко Н.Г., Луханина Н.В., Шимкевич А.М., Давыденко О.Г. Экспрессия хлоропластного генома: современные представления и экспериментальные пути изучения. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(5):511–528. DOI 10.18699/VJ15.068

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Siniauskaya M.G., Danilenko N.G., Lukhanina N.V., Shymkevich A.M., Davydenko O.G. Expression of the chloroplast genome: modern concepts and experimental approaches. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(5):511–528. DOI 10.18699/VJ15.068

DOI 10.18699/VJ15.068

УДК 575.13:577.21

Поступила в редакцию 14.07.2015 г.

Принята к публикации 09.09.2015 г.

© АВТОРЫ, 2015

 e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Expression of the chloroplast genome: modern concepts and experimental approaches

M.G. Siniauskaya, N.G. Danilenko, N.V. Lukhanina, A.M. Shymkevich, O.G. Davydenko

Institute of Genetics and Cytology NAS Belarus, Minsk, Belarus

A unique feature of plants is the presence of two extra-nuclear genomes, chloroplasts and mitochondria. The chloroplast genome is relatively small, 100–120 genes, which encode less than 5 % of all proteins required for plastids to function. The cpDNA expression retains prokaryotic features, cotranscription in the operon, bacteria-like RNA polymerases and promoters, 70S ribosomes etc., also new characters appear such as uncoupling of transcription with translation, phage-type RNA polymerases, RNA editing, and splicing of primary transcripts. The interaction of the nucleus (nuclear genomes) and cytoplasm (plastid and mitochondrial genes) during plant development is necessary for proper development and adaptation to the environment. The aim of this review is to disclose the peculiarities of plastid genome expression. The way the genetic information in chloroplasts is used (transcription, editing, splicing, polyadenylation and translation) is consequently described. Furthermore, the importance of all expression machinery components in plant life is discussed. Modern approaches for RNA pool study are described and critical points of nuclear-cytoplasmic interaction in the functions of chloroplasts are revealed. The information about the most important factors of nuclear-cytoplasmic signaling in higher plants (sigma factors and PPR proteins encoded by the nucleus) are reviewed. Thus, the multilevelness and viability of plastid genome expression regulation in plant cells and interdependence of the processes in different compartments is proved. A summary of the latest studies of the expression of the plastid genome using genetic chips (microarrays, macroarrays) is provided. Original results are presented.

Key words: chloroplast; plastids; expression; transcription; RNA polymerases; editing; splicing; translation; microarray; macroarray.

Присутствие пластид в клетке – одно из уникальных свойств растений. Кроме выполнения функции фотосинтеза, пластиды участвуют в ряде других жизненно важных клеточных процессов: синтезе крахмала, жирных кислот, пигментов и аминокислот (Wicke et al., 2011). Геном хлоропластов растений представляет собой двухцепочечную ДНК, средний размер которой – 130–180 т. п. н., а копияность варьирует в пределах 8–1 000 копий на пластиду, до 50 пластид на клетку. У ячменя геном хлоропластов – 136 462 п. н., пшеницы – 134 545 п. н. В настоящее время в GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=2759&opt=plastid>) имеется более 900 первичных нуклеотидных последовательностей пластов эукариот, из них около 700 – для группы Viridiplantae, к которой относятся и высшие наземные растения. Большинство пластов секвенировано после 2006 г., когда появились методы широкомасштабного секвенирования и стоимость анализа (сиквенса) значительно снизилась. Пластом фотосинтетических растений содержит от 70 (покрытосеменные) до 88 (мхи) генов, кодирующих белки, и 33 (большинство двудольных) – 34 (одnodольные) – 35 (мхи) генов структурных РНК, в целом это 100–120 генов (Wakasugi et al., 1994; Ohyama, 1996; Vock, 2007). В табл. 1 на примере пшеницы (Ogihara et al., 2000) представлен типичный набор генов хлоропластной ДНК высших растений, число которых в различных таксонах высших растений примерно одинаково.

Предполагается, что для функционирования пластид высших растений требуется более 2100 белков (Leister, 2003), только менее 5 % кодируется их собственным геномом (Shiina et al., 2005). Биогенез и дифференциация пластид – результат координированной экспрессии ядерных и пластидных генов (Gray et al., 2003). Регуляция экспрессии генома пластид может осуществляться на уровне ДНК за счет изменения копияности пластома на органеллу, но в большей степени она модулируется за счет различных процессов, происходящих во время и после транскрипции, во время трансляции и посттрансляционно (Zhelyazkova, 2012).

Хлоропласты в клетке появились в результате эндосимбиоза примитивных эукариотических одноклеточных организмов с фотосинтезирующими прокариотами (Даниленко, Давыденко 2003), поэтому неудивительно, что экспрессия генома пластид сохраняет черты прокариот: организацию в оперон (котранскрипцию генов), сходные с бактериями РНК-полимеразы и промоторы, структуру мРНК, присутствие 70S рибосом и др. Но у них появляются и новые свойства: несопряженная транскрипция и трансляция, фагоподобные РНК-полимеразы, изменение первичных транскриптов в результате эдитинга и сплайсинга (Barkan, 2011; Cardí et al., 2012).

Транскрипция генома пластид – сложный процесс, важный для онтогенетической и адаптивной регуляции их работы. В транскрипционной регуляции пластид задействован ряд молекул: РНК-полимеразы, сигма-факторы, транскрипционные регуляторы, белки пластидного нуклеоида и различные сигнальные молекулы (Shiina et al., 2005). Транскрипция пластидного генома в значительной степени зависит от экспрессии генома ядра.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

хпДНК – хлоропластная ДНК
 PEP – РНК-полимераза, кодируемая геномом хлоропластов
 NEP – РНК-полимераза, кодируемая геномом ядра
 ФС1 – фотосистема 1
 ФС2 – фотосистема 2
 dRNA-seq – дифференциальное РНК секвенирование
 σ-фактор – сигма-фактор
 SIG1–SIG6 – сигма-факторы арабидопсиса
 cpCK2 – хлоропластная казеин киназа 2
 UTR (untranslated regions) – нетранслируемая область транскрипта
 нкРНК – некодирующая РНК
 PNPase (polynucleotide phosphorylase) – полинуклеотид фосфорилаза
 RNase – рибонуклеаза
 IR – инвертированный повтор
 PPR-белки (pentatricopeptide repeat proteins) – белки с пентатрикопептидными повторами
 MORF (multiple sites organellar RNA editing factors) – белок-фактор эдитинга, необходимый для редактирования многих сайтов
 CRM белок (Chloroplast RNA splicing and ribosome maturation) – белок РНК сплайсинга хлоропластов и созревания рибосом
 SD – последовательность Шайн – Дальгарно
 qRT-PCR – ПЦР в режиме реального времени
 RT-PCR – полимеразная цепная реакция после обратной транскрипции

Транскрипция генов пластид высших растений осуществляется двумя разными типами полимераз: кодируемой пластидами РНК-полимеразой бактериального типа (PEP) и кодируемой ядром фагоподобной РНК-полимеразой (NEP), которые распознают разные типы промоторов и отличаются транскрипционной активностью в разных типах пластид (Börner et al., 2015). Более 60 % пластидных генов считываются в виде мультицистронных (полицистронных) достаточно стабильных комплексов. У разных видов растений пластидные опероны консервативны (Karoog, Sugira, 1998). Встречаются моно-, ди- и полицистронные комплексы.

Так, из 113 генов хлоропластного генома ячменя 86 входят в состав 20 оперонов (см. табл. 2), а 27 генов транскрибируются моноцистронно (Zhelyazkova et al., 2012).

Гены, кодирующие субъединицы одного комплекса или белки с общими функциями, в ряде случаев считываются в составе одного оперона, что определяет их скоординированную работу и стехиометрическую аккумуляцию. Такая организация способствует дифференциальной экспрессии генов транскрипционного/трансляционного аппарата относительно генов, кодирующих фотосинтетические белки (Baumgartner et al., 1993).

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

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

Большинство генов хлоропластной ДНК (хпДНК) могут транскрибироваться обоими типами полимераз, NEP и PEP, но с различных промоторов (Hajdukiewicz et al., 1997; Liere, Börner, 2007; Barkan, 2011). На табаке методом макроэрепей показано, что в мутантном растении с дефектной полимеразой пластид (PEP) ядерная РНК-полимераза (NEP) транскрибирует весь пластидный геном, но по характерному, отличному от нормального, профилю. В этом же исследовании обнаружено не только количественное, но и качественное отличие транскриптов нормальных и PEP-дефектных растений (Legen et al., 2002). По-видимому, тип полимеразы, синтезирующей транскрипт, во многом определяет его дальнейшую судьбу: будет ли с него считываться нормальный белок? Наличие только одного какого-либо типа полимеразы, NEP или PEP, недостаточно для биогенеза фотосинтетически компетентных хлоропластов, так как некоторые гены хлоропластов нуждаются в транскрипции конкретной полимеразой для соответствующего уровня экспрессии, однако потеря активности PEP менее травматична для растения (Allison et al., 1996; Hess, Börner, 1999; Swiatecka-Hagenbruch et al., 2008).

NEP может быть представлена двумя типами РНК полимераз: RpoTr (функционирует в пластидах) и RpoTnp (у двудольных функционирует и в митохондриях, и в пластидах). Показана функциональная значимость RpoTr

как на ранней, так и на поздней стадиях вегетативного развития растений (арабидопсис). RpoTnp особенно важна на ранней стадии (арабидопсис), на которой она выполняет специфическую функцию транскрипции *gpn* оперона (Courtois et al., 2007).

Современное развитие молекулярной биологии позволяет одновременно изучать особенности накопления транскриптов большого числа генов в различных объектах с помощью макроэрепей (макроэрепей). Имеется ряд исследований по геномике органелл, проводимых с помощью макроэрепей (макроэрепей) подходов, позволяющих глубже изучить особенности работы экспрессионного аппарата клетки растений.

Комплексное исследование транскриптома пластид томатов во время развития и созревания плодов при конверсии хлоропласт–хромoplast показало, что большинство пластидных генов ингибировано в большей степени в плодах, чем в листьях. Дифференциация хлоропласт–хромoplast (в плодах томатов) не вносит значительных изменений в уровень накопления пластидных транскриптов. Транскрипционное и трансляционное ингибирование (негативная регуляция) были более выражены для генов, имеющих отношение к фотосинтезу, по сравнению с генами, вовлеченными в экспрессию. *accD* – единственный пластидный ген (входит в цикл

Таблица 2. Возможные моно- и полицистронные транскрипционные комплексы (опероны) пластидных генов на примере ячменя (по данным Zhelyazkova et al., 2012)

Транскрипционные комплексы	
Характеристика	Состав
Моноцистронные	<i>ndhF, psbA, psbM, rbcL, rpl23, rps16, psal, psbN, petN, trnG-GGC, trnT-GGU, trnD-GUC, trnS-GGA, trnL-UAA, trnF-GAA, trnM-CAU, trnH-GUG, trnV-GAC, ccsA, trnN-GUU, trnL-CAA, trnP-UGG, trnW-CCA, trnC-GCA, trnS-UGA, trnS-GCU, trnQ-UGG</i>
Дицистронные и полицистронные	Состоит из генов с аналогичными или связанными функциями <i>psbE-psbF-psbL-psbJ</i> <i>psbK-psbI-psbD-psbC-psbZ</i> <i>trnG-UCC-trnM-CAU</i> <i>rpoB-rpoC1-rpoC2</i> <i>trnE-UUC-trnY-GUA</i> Состоит из генов с гетерологичными функциями <i>clpP-rps12 5'-rpl20</i> <i>petL-petG-psaJ-rpl33-rps18</i> <i>psaA-psaB-rps14-trnM-CAU-trnR-UCU</i> <i>psbB-psbT-psbH-petB-petD</i> <i>atpB-atpE-trnV-UAC-ndhC-ndhK-ndhJ</i> <i>rpl32-trnL-UAG</i> <i>trnT-UGU-rps4-ycf3</i> <i>ndhH-ndhA-ndhI-ndhG-ndhE-psaC-ndhD</i> <i>rps2-atpI-atpH-atpF-atpA</i> <i>ycf4-cemA-petA</i> <i>trnK-UUU-matK</i> <i>rps12 3'-rpsZ-ndhB</i> <i>trnI-CAU-rpl23-rpl2-rps19-rpl22-rps3-rpl16-rpl14-rps8-infA-rpl36-rps11-rpoA</i> <i>rrn16-trnI-GAU-trnA-UGC-rrn23-rrn4.5-rrn5-trnR-ACG-rps15-ndhH</i>

Подчеркнуты (например, *psbK*) гены, с которых может инициироваться транскрипция в составе оперона.

биосинтеза жирных кислот), который активно экспрессировался. По-видимому, именно для его работы в хромoplastах поддерживалась экспрессионная активность (Kahlau, Bock, 2008).

При сравнении у картофеля уровня накопления транскриптов в клубнях и листьях получены аналогичные результаты: большинство генов ингибировалось в амилопластах клубней по сравнению с листьями. Для транскрибируемых в хлоропластах и амилопластах генов идентифицировались общие (идентичные) сайты инициации транскрипции, однако отмечено появление новых, уникальных для листьев или клубней. Также между

двумя типами органелл наблюдались отличия в использовании промоторов. В целом ассоциация транскриптов с рибосомами в амилопластах была низкая, однако для транскрипта гена *accD* наблюдалась достаточно высокая ассоциация с рибосомами. Результаты двух вышеописанных исследований свидетельствуют о существовании общих регуляторных механизмов экспрессии органелл в амилопластах клубней и хромoplastах плодов (Valkov et al., 2009).

Уровень транскриптов генов, кодирующих субъединицы фотосинтетических белков у растений *Nicotiana tabacum*, растущих на свету, был значительно выше, чем в темноте. Около 60 % зондов к фотосинтетически значимым генам показали по крайней мере двойное увеличение количества транскриптов в растущих на свету тканях (Nakamura et al., 2003 a).

При изучении уровня «steady-state» транскриптов у пшеницы показано, что на начальной стадии развития (замачивание/прорастание) уровень транскриптов генов фотосистемы 1 (ФС1) был значительно ниже, чем таковой фотосистемы 2 (ФС2) (Siniauskaya et al., 2008). Это вполне объясняется и биологически, так как ФС2 развивается и начинает функционировать раньше, чем ФС1.

Сопоставление пластидного транскриптома листьев и женских цветков у огурца выявило значительное увеличение количества транскриптов 13 генов рибосомных белков и *rpoA, clpP, ycf1, ycf2, ycf15* в цветках при сильном репрессировании фотосинтетических генов. Наиболее яркий пример – значительно сниженные уровни транскриптов 8 генов *psb* (ФС2). У *ndhH*, единственного значимого для фотосинтеза гена, уровень экспрессии был повышен (Zmienko et al., 2011).

При изучении пула транскриптов в кончиках листа (апикальная часть) и у основания (базальная часть) у кукурузы показано, что РНК фотосинтетически важных генов занимают большую долю в кончике листа, тогда как в основании преобладают транскрипты генов энергетического обмена (Cahoon et al., 2008).

Дальнейший прогресс в изучении транскриптома высших растений (ячмень) достигнут благодаря исследованию Zhelyazkova с коллегами (2012). С использованием метода дифференциального РНК секвенирования (dRNA-seq) при сравнении двух кДНК библиотек, полученных из нормальных зеленых пластид ячменя и белых пластид мутанта ячменя *albostrians*, изучены первичные транскрипты пластид. В эксперимент специально была включена РНК пластома белых листьев (мутант ячменя *albostrians*), чтобы выявить разделение функций NEP и PEP в пластидах. Выяснилось, что только 11 генов пластид ячменя, *trnL-UAA, trnM-CAU, trnN-GUU, trnT, trnS-UGA, trnQ-UGG, psbE-F-L-J, petN*, транскрибируются исключительно PEP. Показано, что PEP является доминирующей полимеразой пластид зрелых листьев ячменя и 88 % TSS (сайтов начала транскрипции) зеленых листьев ячменя приходится на PEP. Результаты dRNA-seq показали, что в хлДНК намного больше промоторов, чем генов, поэтому наличие промоторов к обеим полимеразам является характерной чертой генов пластид. Возможно, это имеет адаптивную функцию. Таким образом, в растительных пластидах множественные промоторы запускают транс-

крипцию индивидуальных генов и оперонов, в результате генерируются различные транскрипты одного и того же гена, что востребовано функционально, позволяя растениям максимально быстро адаптироваться к меняющимся внешним и внутренним условиям. Более того, идентификация множества сайтов инициации транскрипции в составе (внутри) оперонов (см. табл. 2) свидетельствует о потенциальной возможности транскрипционного разъединения генов в полицистронном генном кластере (Zhelyazkova et al., 2012). Это путь образования менее сложных транскриптов и увеличения количества индивидуальных мРНК, транскрибируемых с одного и того же оперона, который ведет к дифференциальной экспрессии генов внутри одного оперона.

Интенсивность транскрипции индивидуальных генов в составе одного оперона очень консервативна, хотя различные участки одного и того же оперона могут транскрибироваться неравномерно (Алейникова и др., 2011). Как было показано на ячмене, гены оперонов *rrn16*, *rps2*, *psaA* и *atpB*, в состав которых входят функционально несвязанные белки или РНК, транскрибируются неравномерно (Алейникова, 2012). Оперон *atpB-atpE-trnV-ndhC-ndhK-ndhJ* характеризовался значительно большей интенсивностью транскрипции генов *atpB* и *trnV* в сравнении с другими генами (не менее чем в 3 раза). В опероне *psaA* первые два гена транскрибировались равномерно, а ген *rps14*, относящийся функционально к другой группе, транскрибировался значительно более интенсивно. Данными исследованиями подтверждена дифференциальная регуляция транскрипции индивидуальных генов в составе оперонов (Алейникова, 2012).

Инициация транскрипции – один из важнейших этапов в экспрессии генома во многих организмах. Ранее считалось, что транскрипция не играет значимую роль в регуляции экспрессии генов пластид, а более важными являются посттранскрипционные процессы. Эти представления были пересмотрены после открытия и изучения σ -факторов (сигма-факторов). σ -факторы – белки ядерного кодирования, придающие промоторную специфичность РЕР комплексу. В ферментативном комплексе РЕР (прокариотического типа) σ -фактор функционирует как субъединица, распознающая промоторную область генов (Toyoshima et al., 2005). С РНК-полимеразой σ -факторы взаимодействуют в двух процессах, которые определяют успех и эффективность транскрипции – в распознавании промотора и плавлении ДНК (Lerbs-Mache, 2011).

Разные σ -факторы имеют конкретные функции в регуляции экспрессии генома пластид и отвечают за транскрипцию определенного набора генов (Yagi, Shiina, 2014). Разнообразие σ -факторов и использование их растениями в зависимости от сигналов окружающей среды, стадий развития организма, типа пластид обеспечивает соответствующую регуляцию транскрипции (Allison, 2000; Toyoshima et al., 2005; Liere, Börner, 2007; Lerbs-Mache, 2011).

Существуют предположения о том, что наличие множества промоторов и σ -факторов в хлоропластах необходимо для поддержания функционального состояния генетической системы хлоропластов при возникающих мутациях (Maier et al., 2008) или, что более вероятно, для обеспечения согласованной работы всего транскрип-

ционного аппарата в различных условиях (Lerbs-Mache, 2011). Возможно, оба предположения о функциональном значении множественности промоторов и σ -факторов в хлоропластах отражают разные стороны процесса транскрипции, особенности которого еще далеко не изучены.

Все известные σ -факторы растений относятся к группе $\sigma 70$ (primary sigma factors). Большинство геномов высших растений кодируют шесть σ -факторов (Lyska et al., 2013). У *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) из шести σ -факторов SIG1–SIG6 два (SIG2 и SIG6) жизненно необходимы для полноценного функционирования пластид (фотоавтотрофного роста). Предполагаемая роль SIG1 – быстрая адаптация активности ФС1 к ежедневным изменениям в интенсивности освещения, возможна также его роль во взаимодействии хозяин–патоген (Lerbs-Mache, 2011). SIG2 участвует в распознавании промоторов и специфической транскрипции некоторых генов *mPHK* и *psaJ*, *psbD*, *psbA*, *rbcL* (кДНК микрочипирование арабидопсиса). SIG3 осуществляет специфическую инициацию транскрипции в промоторе гена *psbN* и может также влиять на экспрессию оперона *psbB* через транскрипт *psbT* («антисмысловый», образующийся с другой цепи ДНК в другом направлении) (Zghidi et al., 2007). SIG4 особенно значим для транскрипции гена *ndhF*. SIG5 необходим для распознавания светозависимого промотора (от голубого света) гена *psbD*, а также в циркадной регуляции транскрипции отдельных генов хлоропластов (Noordally et al., 2013). SIG6 играет «глобальную» роль во время ранней дифференциации пластид и развития растения (Lerbs-Mache, 2011). Информация о σ -факторах и их роли в растении представлена в табл. 3.

Модификация σ -факторов через фосфорилирование влияет на экспрессию генома пластид. Важнейшим регулятором активности σ -факторов и, следовательно, транскрипции является кодируемая ядром хлоропластная киназа 2 (срСК2) (Schweer et al., 2010).

Недавно было детально изучено взаимодействие генов комплекса АТФ-синтазы (важнейшего для фотосинтетических процессов и дыхания) и σ -факторов (Ghulam et al., 2012). У высших растений гены АТФ-синтазного комплекса разобщены и организованы в два оперона, большой (*atp1/H/A*) и малый (*atpB/E*). На арабидопсисе продемонстрировано, как в хлоропластах преодолевается физическая разобщенность кластера генов АТФ-синтазного комплекса (*atp*) и координируется его транскрипция. Оба промотора *atp* оперонов РЕР-зависимые и требуют σ -факторов для специфического распознавания. Транскрипция этих оперонов иницируется одним общим σ -фактором, SIG2, который определяет синтез базисного уровня мРНК генов *atp*, кодирующих различные субъединицы АТФ-синтазы. Далее в транскрипционной инициации большого и малого оперонов *atp* участвуют σ -факторы SIG3 и SIG6 соответственно, которые модулируют экспрессию генов *atp* в зависимости от физиологических и природных условий. Сочетание регуляции транскрипции *atpH* мРНК SIG3 фактором и специфическая стабилизация этих транскриптов через взаимодействие с белком PPR10, возможно, является для хлоропластов механизмом контроля экспрессии гена *atpH*, кодирующего субъединицы С и размер С кольца у АТФ-синтазы.

Таблица 3. Сигма-факторы растений и их функциональная роль в пластидах (на примере арабидопсиса). По: Lerbs-Mache, 2011 с дополнениями.

Ген арабидопсиса, кодирующий σ -фактор	σ -фактор	Биохимический процесс	Биологическая функция в пластидах
At1g64860	SIG1	Фосфорилирование Взаимодействие с SIB1*	Быстрая адаптация активности ФС1 к изменениям в интенсивности освещения. Транскрипция <i>psaA</i> , <i>psbB</i> , <i>psbE</i> (Tozawa et al., 2007)
At1g08540	SIG2		Регуляция трансляции и биосинтеза хлорофилла через транскрипцию тРНК. Стабилизация ФС1 через транскрипцию <i>psaJ</i> . Преодоление физической разобщенности <i>atp</i> кластера в хлДНК и координация его транскрипции (Ghulam et al., 2012). Переключение РНК-полимераз с NEP на PEP через взаимодействие с RPOTr
At3g53920	SIG3	Протеолитическое расщепление?	Специфическая транскрипция <i>psbN</i> – регуляция экспрессии <i>psbT</i> через продуцирование антисенс РНК. Участие в транскрипционной инициации большого <i>atp</i> кластера, <i>atpI/H/F/A</i> (Ghulam et al., 2012)
At5g13730	SIG4		Специфическая транскрипция <i>ndhF</i>
At5g24120	SIG5		Специфическая транскрипция гена <i>psbD</i> с чувствительного к синему свету промотора. Циркадная регуляция транскрипции отдельных генов хлоропластов
At2g36990	SIG6	Фосфорилирование, взаимодействие с DG I**	Важнейший σ -фактор на ранней стадии развития. Участие в транскрипционной инициации малого <i>atp</i> кластера, <i>atpB/atpE</i> , на поздних стадиях развития растения (Ghulam et al., 2012)

* SIB1 – белок, взаимодействующий с SIG1, играет роль в защитной реакции растений; ** DG1 – PPR-белок, взаимодействующий с SIG6, выполняет регуляторную функцию.

Известно, что в зависимости от вида количество С субъединиц в кольце АТФ-синтазы может варьировать от 10 до 15 (Stock et al., 1999; Pogoryelov et al., 2005, 2007). Количество С субъединиц – крайне важный параметр для АТФ-синтазного комплекса, так как он определяет количество H⁺ (протонов), которые транслоцируются через мембрану для синтеза АТФ. Очень интересная гипотеза – увеличение размера С кольца, возможно, является той ценой, которую растению приходится платить за синтез АТФ в неблагоприятных условиях. Вероятно, в хлоропластах существует регуляторный механизм для увеличения эффективности работы АТФ-синтазы за счет изменения количества субъединиц в С кольце в результате воздействия различных стрессовых факторов (Ghulam et al., 2012).

Экспрессия (транскрипция) генома пластид в онтогенезе

Изначально была предложена так называемая «каскадная модель активации плазмона через NEP» (Liere, Maliga, 2001). Как полагали, активность NEP необходима для инициирования PEP на ранних стадиях развития хлоропластов путем транскрипции оперона, содержащего гены *proA* и *proB* субъединиц PEP. Затем NEP в большей мере замещается на PEP, и последняя селективно транскрибирует гены фотосинтетических комплексов. По мере того как появляются фотосинтетически зрелые хлоропласты, активность PEP снижается до уровня «steady-state». Эта гипотеза достаточно хорошо объясняла регуляцию генов

пластид в онтогенезе, однако результаты многих последующих исследований по транскрипции свидетельствовали об ином.

В работе Cahoon с коллегами (2004) на кукурузе показано, что по мере развития хлоропластов активность обоих типов полимераз увеличивается, но наблюдается разница в стабильности их транскриптов. Количество фермента NEP уменьшается по мере взросления растений, и наблюдается повышенная дестабилизация ее транскриптов, однако за счет повышения активности данной полимеразы в зрелых хлоропластах уровень мРНК, продуцируемых NEP, остается в клетке примерно тем же (Cahoon et al., 2004). Транскрипционная активность PEP растет по мере развития хлоропластов при неизменном или даже увеличивающемся уровне стабильности ее транскриптов. Поэтому Cahoon с коллегами (2004) отметили характерную черту экспрессии генома пластид в онтогенезе – различие в накоплении транскриптов генов, продуцируемых двумя полимеразами, NEP и PEP. В процессе развития пластид количество транскриптов NEP практически не менялось, а количество транскриптов PEP увеличивалось.

Далее на арабидопсисе и шпинате было показано, что NEP и PEP уже изначально представлены в семенах, а применение Tagetina (специфического ингибитора активности PEP) подтвердило, что PEP необходима для эффективного прорастания семян, так как обеспечивает транскрипцию рибосомальных РНК (Demarsy et al., 2006). Этими же исследователями обнаружено, что при прорастании семян арабидопсиса все три полимеразы NEP (RpoTr, RpoTmr и

PEP) активно синтезируют новые пластидные мРНК уже на этапе замачивания/стратификации семян (стадия 0+). РpoTr транскрибирует гены рибосомных белков и PEP субъединиц, а РpoTnp и PEP – оперон *rRNA*. Перенос на свет (стадия прорастания после 0+) запускает транскрипцию посредством PEP фотосинтетически значимых генов (*rbcL* транскрибируется первым). По мере дальнейшего развития проростков (стадия 1–2) PEP продолжает активную транскрипцию генов ФС1, ФС2 и электрон-транспортной цепи (Demarsy et al., 2012).

Число синтезированных NEP транскриптов генов субъединиц PEP и белков рибосом со стадии 0+ резко перестает расти и идет на спад, а на стадии 1 (появление корешков) поддерживается на определенном стабильном уровне либо уменьшается. Фаза высокой активности NEP – самые ранние этапы прорастания семени арабидопсиса – характеризуется высоким уровнем транскрипции всего пластидного генома, приводя к продукции (считыванию) антисмысловых РНК с генов, локализованных на противоположной цепи ДНК. Отметим, что количественное соотношение смысловых и антисмысловых РНК для преобладающего большинства пластидных мРНК изменялось в зависимости от стадии развития растения и дифференциации пластид. Стадии стратификации и появления корня (0–1) характеризовались высоким уровнем антисмысловых РНК при малом значении отношения количества смысловых РНК к антисмысловым (смысловые/антисмысловые). В зеленых тканях (стадии 2–4 – рост корня, зеленение проростков, раскрытие семядолей) для большинства пластидных мРНК смысловых транскриптов значительно больше, чем антисмысловых, поэтому отношение смысловых/антисмысловых РНК увеличивается (Demarsy et al., 2012). Неясно функциональное значение образования антисмысловых РНК, имеет ли оно регуляторную функцию переключения полимераз с NEP на PEP, или это сопутствующее данному процессу явление?

Характерной чертой экспрессии генов в хлоропластах наземных растений является сложность популяции (пула) молекул РНК, возникающих при транскрипции большинства генов (Barkan, 2011). Пул пластидных РНК содержит первичные и процессированные («зрелые») транскрипты. Разнообразие транскриптов в хлоропластах образуется при инициации транскрипции не с одного промотора, а с разных (для одних и тех же генов), далее – с последующим процессингом РНК по множеству различных возможных сайтов. Пример, показывающий возможность накопления различных транскриптов для генного кластера, – *psbB* оперон (Barkan, 1988; Westhoff, Hermann, 1988). Одна проба к данному кодирующему району позволяет идентифицировать 15 и более типов транскриптов (Stern et al., 2010).

Происходящие после транскрипции РНК-процессинг и стабилизация – деградация транскриптов более значимы в регуляции экспрессии генома пластид (работе пластид), чем сама транскрипция (Del Campo, 2009).

Процессинг РНК

Первичные транскрипты хлоропластных генов считаются в виде полицистронных молекул, которые разрезаются на отдельные фрагменты, а затем их 5'-, 3'-

концы подвергаются модификациям (созреванию). 5'-UTR (5' untranslated regions) и 3'-UTR области транскриптов предотвращают быструю деградацию первичных транскриптов, обеспечивая их стабильность (Del Campo, 2009). Они необходимы для посттрансляционной регуляции экспрессии (Stern et al., 2010; Zhelyzkova et al., 2012).

Непроцессированные (первичные) 5'-концы хлоропластных транскриптов несут 5'-ди- или трифосфаты, процессированные хлоропластные транскрипты имеют монофосфорилированные 5'-концы (Zhelyzkova et al., 2012). У «зрелых» мРНК они формируются двумя возможными механизмами: 5'–3' экзонуклеолитический путь и сайт-специфическое расщепление эндорибонуклеазами (Stern et al., 2010).

Считается, что основным механизмом «созревания» 5'-концов является эндонуклеолитический путь, однако появились факты и в пользу другого предположения. В этих процессах участвует RNase J, с меньшей вероятностью – RNase E. RNase J является основной рибонуклеазой, ответственной за «созревание» 5'-концевых участков хлоропластных транскриптов, на которых РНК-связывающиеся белки (кодируемые в ядре PPR-белки (pentatricopeptide repeat proteins)) функционируют как барьеры для ее активности (Lugo et al., 2013). Таким образом, степень 5'-процессинга транскрипта определяется PPR-белками, а также вторичной структурой самой молекулы РНК (Stern et al., 2010).

Транскрипционная терминация в хлоропластах неэффективна, поэтому большинство 3'-концов «зрелых» пластидных мРНК образуется в результате процессинга первичного транскрипта. При формировании 3'-концевых районов участвуют экзо-, эндонуклеазы и РНК-связывающиеся белки. В хлоропластах растений достаточно хорошо изучены две экзорибонуклеазы – PNPase и RNR1 (RNase R). 3'-концы формируются главным образом благодаря 3'–5' экзорибонуклеазной активности полинуклеотид фосфорилазы (polynucleotide phosphorylase – PNPase). Данный фермент чувствителен к наличию вторичных структур РНК и терминальных IR (инвертированных повторов), поэтому ингибируется на 3'«stem-loop» структурах (Yehudai-Resheff et al., 2001). О значимости данного фермента говорит тот факт, что у растений с отсутствием PNPase формирование 3'-концов *rbcL* и *psbA* мРНК не завершено (Walter et al., 2002).

Не у всех хлоропластных мРНК может образовываться 3'«stem-loop» структура, и именно такие мРНК – кандидаты для стабилизации с помощью малых некодирующих РНК (нкРНК). Они обнаружены в большом количестве в хлоропластах различных растений (Hotto et al., 2011; Zhelyzkova et al., 2012). нкРНК пластид синтезируются как с межгенных районов, так и в виде антисмысловых транскриптов (для примерно 35 % всех генов зеленых пластид). По данным Hotto с коллегами (2011), у арабидопсиса обнаружено не менее 39 хлоропластных нкРНК, комплементарных 3'-концам смысловых хлоропластных мРНК. Для бактерий известно, что нкРНК, связываясь с 3'-концами мРНК, стабилизируют данные мРНК, блокируя работу 3'–5'-экзорибонуклеазы (Opdyke et al., 2004). Возможно, аналогичное происходит и в хлоропластах. Самый простой пример стабилизации РНК с помощью

нкРНК – антисмысловая РНК гена *psbT*, которая, образуясь, стабилизирует комплементарную смысловую *psbT* мРНК через формирование дунитевых РНК/РНК гибридов, приводя к трансляционной инактивации *psbT* мРНК и защите ее от нуклеолитической деградации в условиях окислительного стресса (Zghidi-Abouzid et al., 2011).

Предполагается, что каждая малая РНК соответствует месту связи с PPR- белком (является как бы «отпечатком» PPR-белка), а одной из хорошо документированных функций этих белков является защита прилежащей РНК от деградации экзонуклеазами (Loiselay et al., 2008; Zhelyazkova et al., 2012). Таким образом, стабилизация транскрипта происходит через связывание с PPR белками. Это описано для PPR10, CRP1, HCF152 белков (Barkan et al., 1994; Meierhoff et al., 2003; Nakamura et al., 2003b; Pfalz et al., 2009), подобные функции предполагаются и для других PPR и TPR-подобных белков, специфичных для различного набора транскриптов (Barkan, 2011; Lyska et al., 2013). В качестве примера можно привести PPR10 белок, который связывается с 5'- и 3'-районами хлоропластных транскриптов *psaJ-rpl33* или *atpI-atpH*, защищая их от экзонуклеаз в обоих 5'- и 3'-направлениях. При связывании с 5'-концом *atpH* PPR10 активизирует трансляцию, высвобождая связывающийся с рибосомой район из РНК дуплекса (Prikryl et al., 2011). Потеря PPR-белка ведет к потере соответствующей мРНК (Schmitz-Linneweber et al., 2005). Этот механизм защиты мРНК (и, по-видимому, контроля их уровня) является уникальным для органелл растений, и пока не ясно, встречается ли аналогичный в ядре.

Эдитинг – важнейший этап в посттранскрипционном контроле экспрессии генов органелл. Был открыт в митохондриях в 1989 г. (Covello, Gray, 1989; Gualberto et al., 1989; Hiesel et al., 1989), затем в пластидах в 1991 г. (Hoch et al., 1991) как процесс модификации последовательности транскрипта в результате конверсии С нуклеотида в U, приводящий к возникновению последовательности, отличной от кодируемой ДНК. Эдитинг наблюдается у всех наземных растений, за исключением печеночных мхов (Rüdinger et al., 2008). В пластидах высших растений обнаружен в основном С-U эдитинг (Takenaka et al., 2013).

Одно из предположений: эдитинг возник изначально для коррекции мутаций генома, которые появлялись в ходе заселения Земли растениями. Результатом такой «правки» было обеспечение синтеза нормального белка. Действительно, эдитинг часто изменяет (восстанавливает) ту аминокислоту, которая важна для функции протеина (Sugita et al., 2006). В результате эдитинга также может возникать новый иницирующий трансляцию кодон или, наоборот, стоп-кодон. Однако эдитинг происходит и в тех точках генома, где это непосредственно не отражается на функции кодируемого белка (Okuda et al., 2010) – в нетранслируемых районах РНК (5', 3' UTR), интронах. Частота эдитинга в некодирующих районах очень низка по сравнению с кодирующими. Существует предположение о необходимости эдитинга для эффективного последующего сплайсинга (Takenaka et al., 2013).

Обычно в различных мРНК пластид семенных растений имеется около 30–40 специфических сайтов эдитинга. У

арабидопсиса их 43 в 18 генах, из них 36 – в кодирующих областях (Ruwe et al., 2013). Однодольные и двудольные растения отличаются друг от друга по более чем половине сайтов эдитинга (Barkan, 2011).

В геноме митохондрий сайтов эдитинга значительно больше. Так, у арабидопсиса и риса найден 441 (Giege, Brennicke, 1999) и 491 (Notsu et al., 2002) сайт эдитинга соответственно.

Разные исследователи неоднократно пытались выявить характерные черты последовательности РНК в области сайта эдитинга (*cis*-элементы) (Bock, Коор, 1997; Miyamoto et al., 2004). Отмечено, что последовательность РНК в 20–25 нуклеотидов, расположенная выше (5') сайта эдитинга, содержит в себе специфические элементы, необходимые для его распознавания (Bock et al., 1996; Chateigner-Boutin et al., 2003; Verbitskiy et al., 2008). Далее при детальном исследовании *in vitro* и *in organello* показано, что «критические нуклеотиды» для эдитинга расположены с 5-го по 15-й нуклеотид выше редактируемого С (Takenaka et al., 2013).

Трансфакторами эдитинга растений, распознающими последовательность РНК, являются PPR-белки PLS группы.

PPR-белки делятся на две большие группы белков, Р и PLS белки (Shikanai, Fujii, 2013). «Р» группа PPR-белков необходима на различных этапах созревания РНК транскрипта, и такие белки состоят из канонического 35-аминокислотного повтора (PPR мотива), повторяющегося тандемно до 30 раз (Р-область). Однако в эдитинге участвует другая группа PPR-белков – «PLS» белки, которые характеризуются наличием трех типов повторов: канонического (Р), чуть более длинного (L) (примерно из 36 аминокислот) и короткого (S) (из 31–34 аминокислот) (Small, Peeters, 2000; Lurin et al, 2004; Schmitz-Linneweber, Small, 2008). На С конце этих белков расположен E (extended domain) домен, который, как предполагают, непосредственно взаимодействует с ферментом эдитинга. У примерно половины PLS белков за E доменом располагается DYW домен, названный так за наличие высококонсервативного трипептида аспаргат-тирозин-триптофана (DYW) (см. рис. 1). Возможно, при эдитинге он обладает каталитической активностью (Manna, 2015).

Каждый такой белок может участвовать в эдитинге от 1 до 10 сайтов. Возможно даже перекрытие «специфичности» PPR-белков, при котором в одном и том же сайте эдитинга функционируют несколько PPR-белков. PPR-белки, участвующие в эдитинге, связываются с РНК обратимо, так как зрелые мРНК должны быть доступны для синтеза белка в рибосомах. Связывание РНК с PPR-белками документировано пока только для нескольких участвующих в эдитинге РНК PPR-белков, однако более интенсивно изучено и подтверждено для PPR-белков процессинга РНК (Okuda et al., 2006; Williams-Carrier et al., 2008).

Не так давно был найден новый класс белков, функционирующих в растительной «эдитосоме» и необходимых для эдитинга в органеллах, это MORF (multiple sites organellar RNA editing factors) белки. Каждый такой белок задействован в редактировании не одного, а многих сайтов эдитинга. Так, у арабидопсиса в ядре кодируются

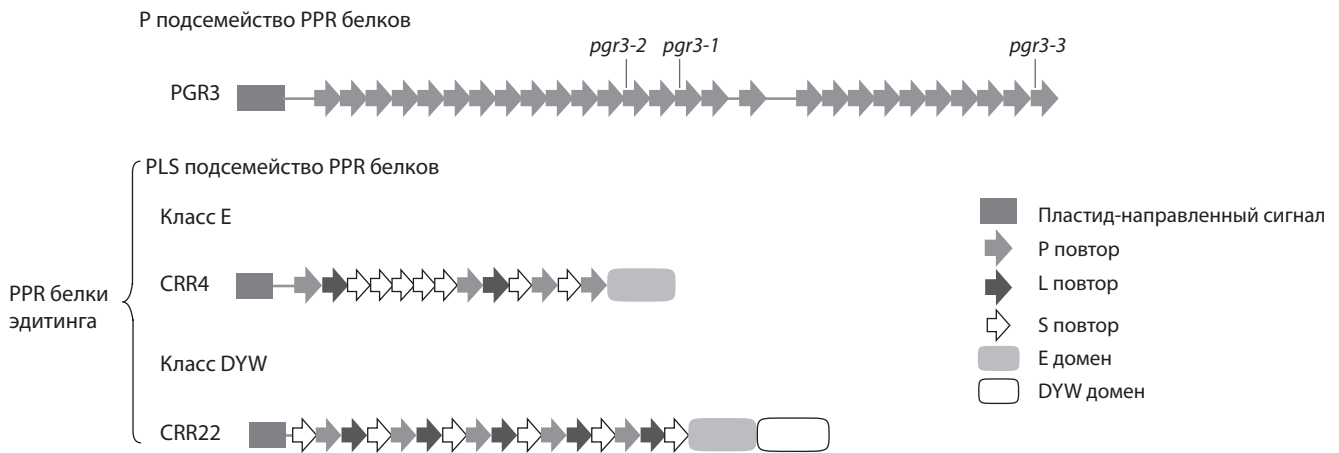


Рис. 1. Схема организации PPR белков (по: Shikanai, 2015).

10 членов этого семейства: два из них работают только в пластидах, пять – только в митохондриях и два – как в хлоропластах, так и в митохондриях. Обнаружено, что для большинства точек эдитинга хлоропластных транскриптов требуется одновременное функционирование обоих MORF белков хлоропластов (ориентированных для работы исключительно в данной органелле), так как дефекты в любом из них влияют на успешность прохождения данного процесса (Takenaka et al., 2012; Bentolila et al., 2013). Два MORF белка формируют функциональный гетеродимер, который только в некоторых случаях может замещаться гомодимером. Кроме того, около 20 % эдитинга в пластидах контролируется работой MORF белка, функционирующего как в хлоропластах, так и в митохондриях (Bentolila et al., 2013). Предполагаемая функция MORF белков в гипотетической «эдитосоме» пока еще не определена. Возможно, они являются связующим звеном между PPR-белками и ферментом эдитинга (Takenaka et al., 2013).

В основе процесса эдитинга в хлоропластах лежит дезаминирование цитидина. Реакция, происходящая с С основанием, аналогична конверсии единичного нуклеотида (single nucleotide conversion) в пути биосинтеза уридина, осуществляемого цитидин дезаминазой, при котором сахаро-фосфатный «скелет» РНК в точке эдитинга остается интактным, а С нуклеотид модифицируется. Фермент, катализирующий реакцию РНК эдитинга в хлоропластах, до сих пор экспериментально не выявлен, однако предполагают, что это может быть: 1) классическая цитидин дезаминаза; 2) PPR-белок с DYW доменом (содержит аминокислотный мотив классической цитидин дезаминазы), обеспечивающий цитидин дезаминазную активность; 3) фермент с модифицированной трансаминазной активностью (Salone et al., 2007; Takenaka et al., 2013).

Эдитинг РНК необходим для функционирования растительных органелл (пластид) и выживания растений. Является ли эдитинг регуляторным процессом для адаптации растений к меняющимся условиям окружающей среды, все еще предстоит выяснить (Takenaka et al., 2013).

Считается, что эдитинг – самый ранний процесс мо-

дификации мРНК, предшествующий сплайсингу и рестрикции полицистронных транскриптов (Freyer et al. 1993; Schmitz-Linneweber, Regel, 2002; Del Campo, 2009). Однако сплайсинг интронов, формирование «зрелых» концов мРНК, эдитинг могут происходить в разной очередности, некоторые сайты на границе экзонов редактируются только после сплайсинга прилежащих интронов (Li-Pook-Than, Bonen, 2006).

Сплайсинг – необходимый процесс в созревании РНК в органеллах, в результате которого удаляются интроны, прерывающие рамку считывания генов, ответственных за фотосинтез и экспрессию пластома. Растительные органеллы содержат два основных типа интронов: интроны групп I и II, которые различаются по структуре и механизмам сплайсинга. Двадцать из двадцати одного пластидного интрона наземных растений принадлежат к группе II, а один в *trnL-UAA* гене – к группе I (Cardi et al., 2012). В сплайсинге каждого интрона участвует множество ядерно кодируемых белков (de Longevialle et al., 2010). Значительный прогресс достигнут в идентификации этих белков, и обнаружено 16 ядерных генов, продукты которых требуются для сплайсинга одного или нескольких хлоропластных интронов группы II (Germain et al., 2013, см. рис. 2).

Белки, участвующие в сплайсинге в хлоропластах, не родственны белкам сплайсинга транскриптов ядра. У большинства хлоропластных сплайсинг-факторов имеются связывающиеся с РНК домены типа CRM, PORR, APO, PPR, OPR, характерные для белков, функционирующих в органеллах. Наиболее широко представлены два семейства белков: CRM белки (Chloroplast RNA splicing and ribosome maturation), функционирующие в нескольких разных сайтах сплайсинга, и PPR белки, специфичные только для одного транскрипта (Schmitz-Linneweber, Small, 2008; Stern et al., 2010). Кроме того, в сплайсинге ряда интронов группы II участвует хлоропластно кодируемая матураза (ген *matK* расположен в интроне гена *trnK*), жизненно необходимая для нормального развития растений (Rogalski et al., 2006; Legen et al., 2007).

В хлоропластах нет «сплайсосом», аналогичных

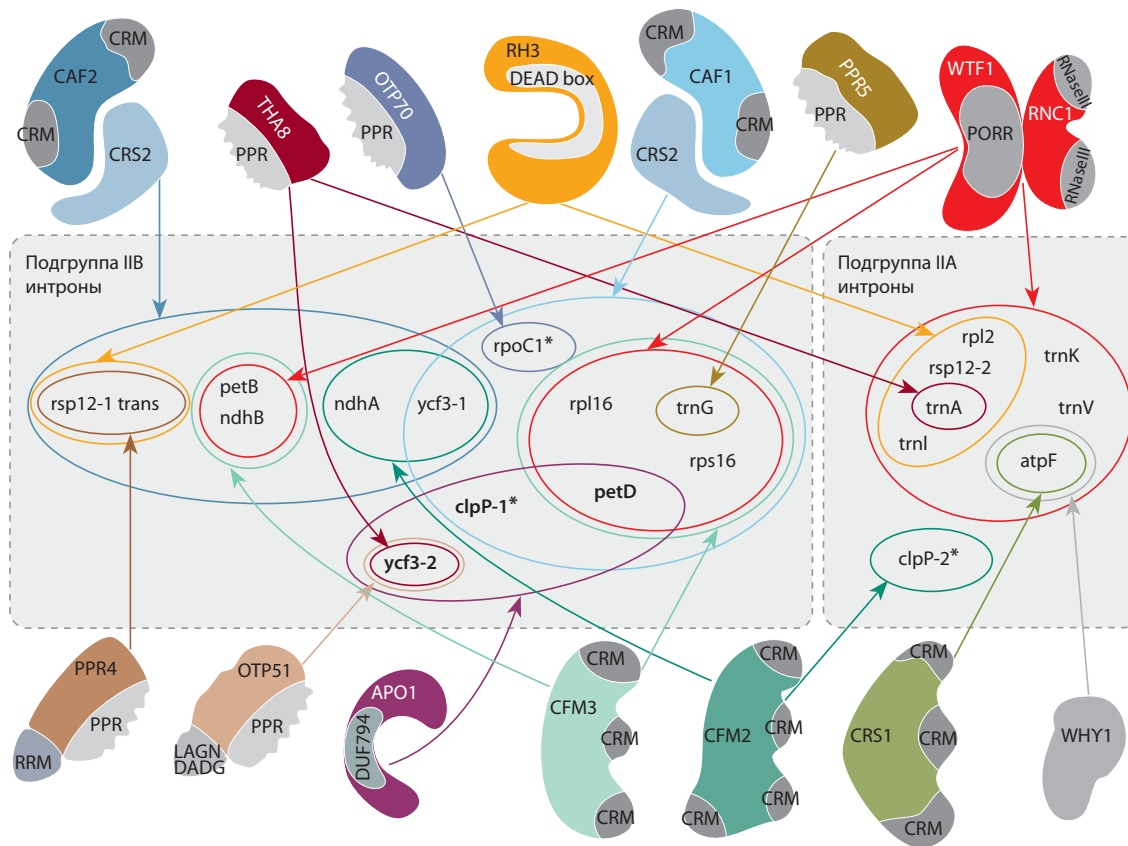


Рис. 2. Ядерно-кодируемые белки сплайсинга интронов II группы в хлоропластах покрытосеменных (по: Germain et al., 2013).

ядерным. Сплайсинг интронов – сложный процесс, вовлекающий в себя огромное количество факторов (белков). Хлоропластные факторы сплайсинга взаимодействуют в различных комбинациях, образуя комплексы с интронными РНК, каждый для обеспечения сплайсинга набора определенных интронов (Germain et al., 2013). Сплайсинг катализируется самой РНК, и сплайсинг-факторы играют «добавочную» роль. Эти факторы, связываясь с РНК, способствуют ее соответствующей укладке для формирования каталитически компетентной структуры.

Несомненно, сплайсинг играет регуляторную роль в онтогенезе растения. Он также может приводить к изменению относительных количеств зрелых мРНК в пуле РНК в зависимости от условий окружающей среды, выполняя адаптивную функцию (Stern et al., 2010).

Уровень транскриптов генов хлоропластов также зависит от скорости их деградации. В деградацию РНК в пластидах вовлечено полиаденилирование, которое в ядре обеспечивает стабилизацию мРНК, но у прокариот (и в пластидах) является сигналом нестабильности (разрушения) (Cardi et al., 2012).

На основании исследований *in vitro* и *in vivo* ясно показано, что полиаденилирование может способствовать деградации РНК в хлоропластах, так как средство полинуклеотид фосфорилазы к полиаденилированным РНК повышается. Данный фермент является основным в «глобальном» процессе деградации РНК в клетке. Однако пока до конца не выяснено, насколько полиаденилирование

важно для метаболизма РНК в пластидах (RNA turnover) (Germain et al., 2013).

В хлоропластах в промежуточном продукте деградации 3'-концов найдены полиА-последовательности (poly(A) tails), которые состоят не только из аденозина, но и из небольшого количества других остатков, в основном из гуанозина. Показано, что полиаденилированные транскрипты деградируют быстрее, чем неаденилированные. Молекулярные механизмы деградации РНК в хлоропластах напоминают таковые у бактерий – после эндонуклеолитического расщепления РНК происходит полиаденилирование. Полиаденилированный продукт расщепления затем подвергается быстрой экзонуклеолитической деградации полинуклеотид фосфорилазами и, возможно, другими экзонуклеазами (Del Campo, 2009). Не ясно, является ли полинуклеотид фосфорилаза единственным ферментом полиаденилирования в хлоропластах, но это пока единственный фермент, функция которого в полиаденилировании подтверждена (Stern et al., 2010).

Детектируемое количество полиаденилированных транскриптов пластид крайне мало, для обнаружения их требуется около 50 циклов ПЦР (Kudla et al., 1996). В EST базах полиаденилированных РНК они встречаются только эпизодически. Вероятно, их низкая встречаемость отражает их быструю деградацию, однако это может быть и следствием незначительной роли полиаденилирования в метаболизме хлоропластной РНК, что предстоит выяснить

в будущем (Germain et al., 2013).

Процессы транскрипции и трансляции в хлоропластах не сопряжены жестко, поэтому существует дополнительный уровень регуляции для предотвращения инициации конститутивной трансляции мРНК через взаимодействия последовательности Шайн–Дальгарно (SD) и 16S рибосомальной РНК (SD–16S взаимодействия).

Трансляция пластидных транскриптов происходит на 70S рибосомах бактериального типа. Хлоропластные гомологи бактериальных факторов инициации и элонгации идентифицированы, и некоторые из них охарактеризованы (Lin et al., 1996; Albrecht et al., 2006; Shen et al., 2013). Существует определенная степень сходства между факторами трансляции и рибосомальными белками пластид и бактерий, однако наблюдаются и значительные отличия (Beligni et al., 2004). Обе (большая и малая) субъединицы рибосом наряду с белками, аналогичными бактериальным, включают в свой состав ядерно кодируемые пластид-специфические белки (PSRP) (Yamaguchi et al., 2002, 2003; Tiller et al., 2012).

Хлоропластная рибосома состоит из двух субъединиц, 50S и 30S. Обе субъединицы представляют собой комплексы, состоящие из одной или более специфических рибосомных РНК и множества белков. 30S субъединица несет 16S рРНК, а 50S субъединица – 23S, 5S, 4.5S (последней субъединицы нет у бактерий, но, вероятно, она образовалась из 23S рРНК фрагментацией (Tiller, Bock, 2014). 30S субъединица хлоропластных рибосом состоит из 24 белков, из которых 3 специфичны для хлоропластов (PSRP), а 21 белок – ортологи *E. coli* 30S рибосомных белков. В 50S субъединице содержится 33 белка: 31 ортолог бактериальным белкам и 2 белка, специфичных для хлоропластов (PSRP) (Tiller, Bock, 2014). Специфические для пластид рибосомные белки (PSRP), вероятно, играют структурную роль в пластидной рибосоме (Sharma et al., 2007).

Инициация трансляции – важнейший этап в пластидной трансляции. Критическая ступень в инициации трансляции – выбор корректного старт-кодона из нескольких возможных. Иницирующий кодон у цветковых растений – AUG, реже – GUG (Sugiura et al., 2014). Цис-элементы в 5'UTR являются важнейшими детерминантами для корректной инициации и регуляции трансляции (Staub, Maliga, 1993; Sugiura et al., 2014).

Организация цис-элементов. Особенностью трансляции в хлоропластах является избыток цис-элементов (элементов последовательности РНК) в 5'UTR хлоропластных мРНК. В 5'-районах UTR пластидных транскриптов найдены SD (Shine-Dalgarno)-подобные последовательности (Sugiura et al., 1998), функция которых состоит в инициации трансляции через обозначение корректной позиции для ассоциации транскриптов с рибосомами. SD элементы в консенсусной позиции имеются, примерно, у 1/3 хлоропластных генов наземных растений, и для некоторых из них действительно подтверждено, что они иницируют трансляцию. Однако у большинства хлоропластных генов отсутствует характерно расположенная SD последовательность, и связыванию и/или расположению иницирующего трансляцию комплекса вдоль мРНК способствуют альтернативные цис-элементы и транс-

действующие факторы (Sugiura et al., 1998; Barkan, 2011; Sugiura, 2014). Так, у табака трансляция транскриптов *rbcl*, *atpE*, *rps14* зависима, *rps12*, *petB* – частично зависима, а *psbA*, *atpB* – независима от SD последовательностей (Lyska et al., 2013).

Показано, что области инициации трансляции без SD районов менее структурированы, чем имеющие SD последовательности, отсюда предположено, что доступность старт-кодона особенно критична при отсутствии SD взаимодействий (Tiller, Bock, 2014). Отсутствие формирования вторичной структуры вокруг старт-кодона, по-видимому, способствует распознаванию точки начала трансляции и связыванию 30S субъединицы рибосом. После того как выбран старт-кодон, в процесс вовлекается 50S субъединица, что способствует превращению преиницирующего комплекса в активный иницирующий, который далее переходит на стадию элонгации.

Механизмы регуляции (настройки) трансляции с помощью цис-элементов в значительной степени варьируют. Так, ряд альтернативных цис-элементов в 5'UTR пластидных транскриптах участвует в инициации трансляции для мРНК, которые не используют SD последовательности. Но существует другой вариант, при котором они дополняют SD последовательности или обеспечивают специфическую регуляцию трансляции в ответ на сигналы этапов развития организма или окружающей среды (Peled-Zehavi, Danon, 2007). SD последовательность гена *rps2* функционирует как негативный регулятор трансляции, с которым также взаимодействуют транс-действующие факторы (Plader, Sugiura, 2003).

Регуляторные цис-элементы были обнаружены в 5'UTR генов *psbC*, *petD* и *rps7* *Chlamydomonas* (Zerges et al., 1997, 2003; Fargo et al., 1999) и гена *atpB* мРНК табака (Hirose, Suigira, 2004) в составе мишеней для транс-действующих факторов.

Транс-факторы трансляции кодируются в ядре и в основном специфичны для индивидуальных транскриптов. Они участвуют в инициации трансляции через связывание с их 5'UTR, высвобождая сайты связывания с рибосомами (Barkan, 2011; Prikryl et al., 2011). Эти функции выполняют PPR-белки, такие как PPR10, HCF152, CRP1, PPR38 (*atp1-atpH*, *psbH-petB*, *petB-petD* и *clpP-rps12* транскриптов соответственно), которые ранее были идентифицированы у арабидопсиса, кукурузы, мха *Physcomitrella patens* (Meierhof et al., 2003; Schmitz-Linneweber et al., 2005; Hattori, Sugita, 2009; Pfalz et al., 2009; Barkan, 2011; Prikryl et al., 2011). Еще один PPR-белок, HCF107, найденный у арабидопсиса и кукурузы, регулирует стабильность и трансляцию *psbH* транскрипта (Stoppel, Meurer, 2013). Описывается большое количество новых транс-факторов, но как они взаимодействуют с цис-элементами – пока не ясно.

В хлоропластах по сравнению с прокариотами преобладает позитивная регуляция трансляции, в то время как у прокариот вторичная структура цис-элементов или белка, связывающегося с мРНК, выступает в качестве ингибирующего трансляцию фактора, блокируя доступ к сайту инициации (Gold, 1988; Kozak, 2005).

Скорость трансляции индивидуальных мРНК регулируется несколькими предполагаемыми механизмами: 1) из-

Таблица 4. Сводка опубликованных статей по экспрессии геномов органелл у растений с помощью микроэррей (макроэррей) за период 2002–2014 гг.

Организм	Тип набора генов	Эксперимент	Литературный источник
Табак	Макроэррей на мембране – ПЦР продукт к 118 генам и 11 <i>orf</i> хлоропластов	Транспластомный табак с отсутствием PEP, сравнение экспрессии с диким типом растений	Legen et al., 2002
	кДНК микроэррей из 220 ПЦР зондов (71–2 373 п. н.), соответствующих отдельным генам, межгенным участкам	Проростки, выращенные на свету/темноте, RIP-chip анализ MatK-связывающихся РНК	Nakamura et al., 2003a; Zoschke et al., 2010
<i>Physcomitrella patens</i>	кДНК микроэррей, 108 фрагментов ДНК для детекции всех генов пластид	Изучение трансформантов без гена тРНК аргинина	Nakamura et al., 2005
Арабидопсис	кДНК микроэррей, 79 ПЦР зондов (88–1 646 п. н.), соответствующих протеин-кодирующим генам	Изучен эффект потери гена <i>Sig2</i> на «глобальную» экспрессию генов пластид	Nagashima et al., 2004
Кукуруза (ячмень как пример кросс-видовой гибридизации)	кДНК микроэррей, 248 перекрывающихся ПЦР продуктов (73–1 653 п. н.), составляющих весь геном пластид	Идентификация РНК, ассоциированных с PPR белками у кукурузы (CRP1, PPR4, PPR5) или whirly у ячменя (RIP-chip)	Schmitz-Linneweber et al., 2005; Melonek et al., 2010
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	кДНК микроэррей, ПЦР продукты (150–1 500 п. н.) для 47 генов пластид, 9 митохондриальных и 15 ядерных генов	Изучение нефотосинтетических мутантов, несущих мутации в ядерном гене <i>Mcd1</i>	Erikson et al., 2005
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	кДНК микроэррей, 193 ПЦР зондов для протеин-кодирующих проб и <i>orf</i>	Роль кодируемых ядром сигма-факторов в изменении транскриптома пластид при сдвиге темнота – свет	Minoda et al., 2005
	Олигонуклеотидный микроэррей из зондов к генам митохондрий, ядра и хлоропластов	Координация экспрессии генов пластида – митохондрии динамично модулируется светом и клеточным циклом у <i>C. merolae</i>	Kanesaki et al., 2012
Пшеница	Макроэррей, 67 ПЦР зондов (200–1 259 п. н.) к 60 генам пластид (без тРНК), 7 ядерным генам, необходимым для работы пластид	Прорастающие семена и проростки на 3 разных стадиях развития	Siniauskaya et al., 2008
	Макроэррей пшеницы – ПЦР продукт 28 генов митохондрий и 5 генов ядра, функционально важных для работы митохондрий, нанесен на мембрану	Исследован «steady-state» уровень митохондриальных и некоторых ядерных транскриптов на ранних стадиях развития проростков пшеницы в нормальных и стрессовых условиях	Khanam et al., 2007
Кукуруза	кДНК микроэррей, ПЦР зонды к 887 ядерным, 62 хлоропластным и 27 митохондриальным генам и <i>orf</i>	Сравнение экспрессии генов хлоропластов и этиопластов у растений кукурузы на стадии 2 листовых проростков	Cahoon et al., 2008
Табак, картофель, томаты	Олигонуклеотидный микроэррей, 128 зондов (68–71 нуклеотид), гены хлоропластов табака, <i>ucf</i> и <i>orf</i>	Созревание плодов томатов, конверсия хлоропласт – хромопласт	Kahlau et al., 2008; Valkov et al., 2009;
<i>Euglena gracilis</i>	Макроэррей, 96 ПЦР зондов (75–400 п. н.) ко всем генам, псевдогенам и <i>orf</i> эвглены	12 различных стадий развития и воздействие стресса	Geimer et al., 2009
Арабидопсис	Макроэррей, 94 ПЦР проб к генам пластидных протеинов, тРНК и рРНК	Ядерные мутанты арабидопсиса с нарушениями функционирования хлоропластов в различных условиях произрастания и под воздействием различных стрессовых факторов, данные сопоставлены с опубликованными результатами экспериментов с Affymetrix 22K ATH1 чипом ячменя	Cho et al., 2009

Окончание таблицы 4

Организм	Тип набора генов	Эксперимент	Литературный источник
Огурец (кросс-видовая гибридизация на 9 видах из самых различных таксонов)	Олигонуклеотидный микроэзрей, 1 629 олигонуклеотидных зондов, как обычных, так и «тиллинг» зондов, равномерно распределенных между кодирующими и некодирующими участками	Приводится дизайн микроэзрей, детальный протокол мечения РНК и последующей гибридизации. Проведен пробный эксперимент на РНК огурца и РНК др. таксонов: арабидопсиса, табака, томата, шпината, салата, люцерны, лотоса, тополя, ячменя. Этот микроэзрей – отличное многостороннее приспособление для глобальных функциональных исследований геномов пластид	Zmienko et al., 2011
Арабидопсис	Олигонуклеотидный микроэзрей (60 п. н. зонды), сенс-, антисенс зонды, весь пластидный транскриптом	Исследование изменений в пластидном транскриптоме и в работе транскрипционного аппарата у растений на уровне мРНК и белка во время трех стадий формирования семян. Результаты свидетельствуют о том, как быстро может происходить восстановление работы транскрипционного аппарата пластид при замачивании (прорастании семян).	Allorent et al., 2013

менением окислительно-восстановительного потенциала (redox regulation), через которое сопрягаются трансляция и фотосинтетический перенос электронов; 2) механизмом авторегуляции, соединяющим трансляцию и сборку белковых комплексов хлоропластов (CES – control by epistasy of synthesis). CES механизм подобен негативной регуляции у прокариот (Kozak, 2005). Компоненты мембраны, не вошедшие в комплексы (т. е. если компоненты мембраны присутствуют в избытке), подавляют инициацию своей собственной трансляции через 5'UTR. Такая авторегуляция – основная черта пластид у хламидомонад, подобный тип регуляции уже описан для гена *rbcL* табака (Wostrikoff, Stern, 2007).

Трансляция хлоропластных транскриптов происходит по типу транскрипт-специфической регуляции (т. е. более специализирована) по сравнению с прокариотами.

Установлено, что трансляционный аппарат пластид тонко реагирует на абиотический стресс, особенно температурный (Xu et al., 2013). Уровень большинства пластидных мРНК остается относительно неизменным в условиях свет–темнота, но скорость трансляции резко возрастает при изменении освещения, стадии развития или при влиянии иных факторов, например созревании. Это обеспечивается через существование и функционирование множества транс-факторов трансляции, которые участвуют в адаптивном видоизменении процесса, а именно в пластичности трансляционной системы хлоропластов в ответ на различные воздействия (Sugiura, 2014).

По всей видимости, трансляционная активность пластид генерирует ретроградный сигнал, влияющий на специфические аспекты растительной анатомии и морфологии, но как этот сигнал включается (где он входит) в крайне сложный пейзаж взаимоотношений пластиды – ядро – необходимо еще установить (Tiller, Bock, 2014).

Последние десятилетия знаменательны для развития высокоразрешающих методов в биологии. Эти методы

позволили исследователям сфокусироваться на изучении целостных систем (геномов, транскриптомов или протеомов) вместо исследования индивидуальных генов или путей. Примерно за десятилетие использование ДНК микроэзрей (microarray) стало лидирующей методологией для изучения общей (глобальной) экспрессии генов в растениях и животных. ДНК микроэзрей – мультиплексная технология, используемая в молекулярной биологии и медицине (Schena et al., 1995; Kehoe et al., 1999; Stoughton, 2005).

Применение генетических чипов (микроэзрей) для изучения экспрессии геномов клеточных органелл и взаимодействия их с ядром – закономерная ступень в развитии исследований в данной области. В настоящее время имеется достаточно большое количество работ по исследованию экспрессии генома органелл, краткая сводка по этому вопросу приведена ниже. Как видно из табл. 4, это макро- и микроэзрей эксперименты с самыми различными задачами, решая которые исследователи пытаются выйти на конкретные гены с оценкой их функции в системе взаимодействия ядро–цитоплазма и влияния этих взаимодействий на различных этапах реализации генетической информации хлоропластов и митохондрий, от транскрипции до трансляции.

Ранее в лаборатории нехромосомной наследственности ИГиЦ НАНБ была создана модельная коллекция аллоплазматических линий ячменя (*Hordeum vulgare* L. ssp. *spontaneum*) с маркированными геномами хлоропластов и митохондрий. На основании изучения данной коллекции показано, что замещение ядра на различных цитоплазматических фонах приводит к изменению ряда характеристик фотосинтетического аппарата: содержания хлорофиллов и каротиноидов, количества Q_b -невосстанавливающих центров ФС2, нефотохимического тушения хлорофиллов и др. (Шимкевич и др., 2006). Для исследования последствий замещения на молекулярно-генетическом уровне (уровне пула транскриптов) был разработан набор ДНК зондов к

геномам хлоропластов и митохондрий, который сначала нанесли на мембрану, получив макроэрей (Siniuskaya et al., 2008; Сиянская и др., 2012), на стекло – микроэрей (66 зондов к генам органелл, а также ядерным генам, ориентированным функционально в хлоропласты). Проведен эксперимент по микроэрей гибридизации данных проб с флюоресцентно меченой кДНК ячменя. Таким образом, начато изучение профилей экспрессии генов митохондрий и хлоропластов у линий аллоплазматического ячменя и их эуплазматических аналогов в нормальных условиях и при периодическом температурном стрессе. Обнаружено, что уровень транскриптов одного и того же гена может значительно изменяться в зависимости от конкретной ядерно-цитоплазматической комбинации как в норме, так и при стрессе. Температурный стресс в общем влияет негативно на пул транскриптов, уменьшая их количество.

Выявлены неоднозначные различия в уровне транскриптов отдельных генов ФС2 (хлоропласты) и комплекса I, V (митохондрий) между аллоплазматическими линиями и сортом ячменя-донора ядра. Для одних генов наибольший уровень транскрипта был у исходного сорта, а по другим генам – у аллоплазматических линий. По-видимому, это проявление того, что ядерно-цитоплазматические отношения видоизменяют возможный ответ растения на стресс (температуру), т.е. определяют адаптивность. В настоящее время полученные результаты верифицируются методами qRT-PCR, RT-PCR и, конечно, нуждаются в дальнейшей проверке.

Таким образом, в данном обзоре предпринята попытка собрать и проанализировать информацию об этапах экспрессии генома пластид, показать многоуровневость и целесообразность регуляции и взаимозависимость происходящих в разных компартаментах клетки процессов.

Благодарности

Данное исследование проведено при финансовой поддержке ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологий» 2011–2015 гг. «Геномика» 2.35.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Алейникова А.Ю. Неравномерность транскрипции генов в составе хлоропластных оперонов ячменя: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2012.

Алейникова А.Ю., Зубо Я.О., Кузнецов В.В. Интенсивность транскрипции генов *atpB* оперона хлоропластов листьев ячменя в зависимости от действия разных факторов. Вестн. Томского гос. ун-та. Биология. 2011;3(15):139-142.

Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Минск: Тэхналогія, 2003.

Сиянская М.Г., Сивицкая Л.Н., Давыденко О.Г. Создание макроэрей для изучения экспрессии геномов органелл у злаков. Генетика и биотехнология XXI в.: проблемы, достижения, перспективы (к 100-летию со дня рождения акад. Н.В. Турбина). Матер. междунар. науч. конф. Минск, 8–11 октября 2012 г. Минск, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, 2012.

Шимкевич А.М., Макаров В.Н., Голоенко И.М., Давыденко О.Г. Функциональное состояние фотосинтетического аппарата у

аллоплазматических линий ячменя. Экол. генетика. 2006;4(3): 37-42.

Albrecht V., Ingenfeld A., Apel K. Characterization of the snowy cotyledon 1 mutant of *Arabidopsis thaliana*: the impact of chloroplast elongation factor G on chloroplast development and plant vitality. Plant Mol. Biol. 2006;60(4):507-518. DOI: 10.1007/s11103-005-4921-0

Allison L. The role of sigma factors in chloroplast transcription. Biochimie. 2000;82(6-7):537-548. DOI: 10.1016/S0300-9084(00)00611-8

Allison L., Simon L., Maliga P. Deletion of *rpoBm* reveals a second distinct transcription system in plastids of higher plants. EMBO J. 1996;15(11):2802-2809.

Allotent G., Courtois F., Chevalier F., Lerbs-Mache S. Plastid gene expression during chloroplast differentiation and dedifferentiation into non-photosynthetic plastids during seed formation. Plant Mol. Biol. 2013;82(1):59-70. DOI: 10.1007/s11103-013-0037-0

Barkan A. Proteins encoded by a complex chloroplast transcription unit are each translated from both monocistronic and polycistronic mRNAs. EMBO J. 1988;7(9):2637-2644.

Barkan A., Walker M., Nolasco M., Johnson D. A nuclear mutation in maize blocks the processing and translation of several chloroplast mRNAs and provides evidence for the differential translation of alternative mRNA forms. EMBO J. 1994;13(13):3170-3181.

Barkan A. Expression of plastid genes: organelle-specific elaborations on a prokaryotic scaffold. Plant Physiol. 2011;155(4):1520-1532. DOI: 10.1104/pp.110.171231

Baumgartner B.J., Rapp J.C., Mullet J.E. Plastid genes encoding the transcription/translation apparatus are differentially transcribed early in barley (*Hordeum vulgare*) chloroplast development evidence for selective stabilization of psbA mRNA. Plant Physiol. 1993; 101(3):781-791.

Beligni M.V., Yamaguchi K., Mayfield S.P. The translational apparatus of *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast. Photosynth. Res. 2004;82(3):315-325.

Bentolila S., Oh J., Hanson M.R., Bukowski R. Comprehensive high-resolution analysis of the role of an Arabidopsis gene family in RNA editing. PLoS Genet. 2013;9(6):e1003584. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003584

Bock R. Structure, function, and inheritance of plastid genomes. Topics in Current Genetics. V. 19. Cell and Molecular Biology of Plastids. Ed. R. Bock. Berlin. Heidelberg: Springer-Verlag, 2007:29-63. DOI: 10.1007/978-3-540-75376-6

Bock R., Hermann M., Kussel H. *In vivo* dissection of cis-acting determinants for plastid RNA editing. EMBO J. 1996;15(18):5052-5059.

Bock R., Koop H.U. Extraplasmidic site-specific factors mediate RNA editing in chloroplasts. EMBO J. 1997;16(11): 3282-3288.

Börner T., Aleynikova A.Y., Zubo Y.O., Kusnetsov V.V. Chloroplast RNA polymerases: role in chloroplast biogenesis. Biochim. Biophys. Acta. 2015;1847(9):761-769. DOI: 10.1016/j.bbabi.2015.02.004

Cahoon A.B., Harris F.M., Stern D.B. Analysis of developing maize plastids reveals two mRNA stability classes correlating with RNA polymerase type. EMBO Rep. 2004;5(8):801-806. DOI: 10.1038/sj.embor.7400202

Cahoon B., Takacs E., Sharpe R., Stern D. Nuclear, chloroplast, and mitochondrial transcript abundance along a maize leaf developmental gradient. Plant Mol. Biol. 2008;66(1-2):33-46. DOI: 10.1007/s11103-007-9250-z

Cardi T., Giegé P., Kahlau S., Scotti N. Expression profiling of organellar genes. Advances in Photosynthesis and respiration. Genomics of Chloroplasts and Mitochondria. Ed. R. Bock, V. Knoop. Springer, 2012,35:323-355. DOI: 10.1007/978-94-007-2920-9

Chateigner-Boutin A., Hanson L., Maureen R. Developmental co-variation of RNA editing extent of plastid editing sites exhibiting similar cis-elements. Nucl. Acids Res. 2003;31(10):2586-2594. DOI: 10.1093/nar/gkg354

Cho W.K., Geimer S., Meurer J. Cluster analysis and comparison of various chloroplast transcriptomes and genes in *Arabidopsis thali-*

- ana*. DNA Res. 2009;16(1):31-44. DOI: 10.1093/dnares/dsn031
- Courtois F., Merendino L., Demarsy E., Mache R., Lerbs-Mache S. Phage-type RNA polymerase *RPOTmp* transcribes the *rrn* operon from the PC promoter at early developmental stages in Arabidopsis. Plant Physiol. 2007;145(3):712-721. DOI: 10.1104/pp.107.103846
- Covello P.S., Gray M.W. RNA editing in plant mitochondria. Nature. 1989;341(6243):662-666. DOI: 10.1038/341662a0
- de Longevialle A.F., Small I.D., Lurin C. Nuclearly encoded splicing factors implicated in RNA splicing in higher plant organelles. Mol. Plant. 2010;3(4):691-705. DOI: 10.1093/mp/ssq025
- Del Campo E.M. Post-transcriptional control of chloroplast gene expression. Gene Regul. Syst. Biol. 2009;3:31-47.
- Demarsy E., Courtois F., Azevedo J., Buhot L., Lerbs-Mache S. Building up of the plastid transcriptional machinery during germination and early plant development. Plant Physiol. 2006;142(3): 993-1003. DOI: 10.1104/pp.106.085043
- Demarsy E., Buhr F., Lambert E., Lerbs-Mache S. Characterization of the plastid-specific germination and seedling establishment transcriptional programme. J. Exp. Bot. 2012;63(2):925-939. DOI: 10.1093/jxb/err322
- Erikson B., Stern D., Higgs D. Microarray analysis confirms the specificity of a *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast RNA stability mutant. Plant Physiol. 2005;137(2):534-544. DOI: 10.1104/pp.104.053256
- Fargo D.C., Boynton J.E., Gillham N.W. Mutations altering the predicted secondary structure of a chloroplast 5' untranslated region affect its physical and biochemical properties as well as its ability to promote translation of reporter mRNAs both in the *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast and in *Escherichia coli*. Mol. Cell Biol. 1999;19(10):6980-6990.
- Freyer R., Hoch B., Neckermann K., Maier R.M., Kössel H. RNA editing in maize chloroplasts is a processing step independent of splicing and cleavage to monocistronic mRNAs. Plant J. 1993;4(4):621-629. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1993.04040621
- Geimer S., Belicová A., Legen J. Transcriptome analysis of the *Euglena gracilis* plastid chromosome. Curr. Genet. 2009;55(4):425-438. DOI: 10.1007/s00294-009-0256-8
- Germain A., Hottot A.M., Barkan A., Stern D.B. RNA processing and decay in plastids. RNA (WIREs RNA). 2013;4(3):295-316. DOI: 10.1002/wrna.1161
- Ghulam M.M., Zghidi-Abouzid O., Lambert E., Lerbs-Mache S., Merendino L. Transcriptional organization of the large and the small ATP synthase operons, *atpI/H/F/A* and *atpB/E*, in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. Plant Mol. Biol. 2012;79(3):259-272. DOI: 10.1007/s11103-012-9910-5
- Giege P., Brennicke A. RNA editing in Arabidopsis mitochondria effects 441 C to U changes in ORFs. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1999; 96(26):15324-15329. DOI: 10.1073/pnas.96.26.15324
- Gold L. Posttranscriptional regulatory mechanisms in *Escherichia coli*. Annu. Rev. Biochem. 1988;57:199-233.
- Gray J.C., Sullivan J.A., Wang J.H., Jerome C.A., MacLean D. Coordination of plastid and nuclear gene expression. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 2003;358(1429):135-145. DOI: 10.1098/rstb.2002.1180
- Gualberto J.M., Lamattina L., Bonnard G., Weil J.H., Grienenberger J.M. RNA editing in wheat mitochondria results in conservation of protein sequences. Nature. 1989;341(6243):660-662. DOI: 10.1038/341660a0
- Hajdukiewicz P.T., Allison L.A., Maliga P. The two RNA polymerases encoded by the nuclear and the plastid compartments transcribe distinct groups of genes in tobacco plastids. EMBO J. 1997;16(13):4041-4048.
- Hattori M., Sugita M. A moss pentatricopeptide repeat protein binds to the 3' end of plastid clpP pre-mRNA and assists with mRNA maturation. FEBS J. 2009;276(20):5860-5869. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07267.x
- Hess W.R., Börner T. Organellar RNA polymerases of higher plants. Int. Rev. Cytol. 1999;190:1-59.
- Hiesel R., Wissinger B., Schuster W., Brennicke A. RNA editing in plant mitochondria. Science. 1989;246(4937):1632-1634. DOI: 10.1126/science.2480644
- Hirose T., Sugiura M. Multiple elements required for translation of plastid atpB mRNA lacking the Shine-Dalgarno sequence. Nucl. Acids Res. 2004;32(11):3503-3510. DOI: 10.1093/nar/gkh682
- Hoch B., Maier R.M., Appel K., Igloi G.L., Kössel H. Editing of a chloroplast mRNA by creation of an initiation codon. Nature. 1991;353(6340):178-180. DOI: 10.1038/353178a0
- Hottot A.M., Schmitz R.J., Fei Z., Ecker J.R., Stern D.B. Unexpected diversity of chloroplast noncoding RNAs as revealed by deep sequencing of the Arabidopsis transcriptome. G3 (Bethesda). 2011;1(7):559-570. DOI: 10.1534/g3.111.000752
- Kahlau S., Bock R. Plastid transcriptomics and translomics of tomato fruit development and chloroplast-to-chromoplast differentiation: chromoplast gene expression largely serves the production of a single protein. Plant Cell. 2008;20(4):856-874. DOI: 10.1105/tpc.107.055202
- Kanesaki Y., Imamura S., Minoda A., Tanaka K. External light conditions and internal cell cycle phases coordinate accumulation of chloroplast and mitochondrial transcripts in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. DNA Res. 2012;19(3):289-303. DOI: 10.1093/dnares/dss013
- Kapoor S., Sugira M. Expression and regulation of plastid genes. Photosynthesis: A Comprehensive Treatise. Cambridge, UK: Cambr. Univ. Press, 1998.
- Kehe D., Villand P., Somerville S. DNA microarrays for studies of higher plants and other photosynthetic organisms. Trends Plant Sci. 1999;4(1):38-41. DOI: 10.1016/S1360-1385(98)01354-5
- Khanam S.M., Naydenov N.G., Kadowaki K., Nakamura C. Mitochondrial biogenesis as revealed by mitochondrial transcript profiles during germination and early seedling growth in wheat. Genes Genet. Syst. 2007;82(5):409-420. DOI: 10.1266/ggs.82.409
- Kozak M. Regulation of translation via mRNA structure in prokaryotes and eukaryotes. Gene. 2005;361:13-37. DOI: 10.1016/j.gene.2005.06.037
- Kudla J., Hayes R., Gruissem W. Polyadenylation accelerates degradation of chloroplast mRNA. EMBO J. 1996;15(24):7137-7146.
- Legen J., Kemp S., Krause K., Profanter B., Herrmann R.G., Maier R.M. Comparative analysis of plastid transcription profiles of entire plastid chromosomes from tobacco attributed to wild-type and PEP-deficient transcription machineries. Plant J. 2002;31(2):171-188. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2002.01349.x
- Legen J., Wanner G., Herrmann R.G., Small I., Schmitz-Linneweber C. Plastid tRNA genes *trnC-GCA* and *trnN-GUU* are essential for plant cell development. Plant J. 2007;51(5):751-762. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03177.x
- Leister D. Chloroplast research in the genomic age. Trends Genet. 2003;19(1):47-56. DOI: 10.1016/S0168-9525(02)00003-3
- Lerbs-Mache S. Function of plastid sigma factors in higher plants: regulation of gene expression or just preservation of constitutive transcription? Plant Mol. Biol. 2011;76(3-5):235-249. DOI: 10.1007/s11103-010-9714-4
- Liere K., Börner T. Transcription and transcriptional regulation in plastids. Topics in Current Genetics. Cell and Molecular Biology of Plastids. Ed. R. Bock. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag, 2007;19: 121-174. DOI: 10.1007/978-3-540-75376-6
- Liere K., Maliga P. Plastid RNA polymerases in higher plants. Regulation of photosynthesis. Eds B. Andersson, E.-M. Aro. Netherlands, Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 2001.
- Lin Q., Yu N.-J., Spremulli L.L. Expression and functional analysis of *Euglena gracilis* chloroplast initiation factor 3. Plant Mol. Biol. 1996;32(5):937-945.
- Li-Pook-Than, J., Bonen L. Multiple physical forms of excised group II intron RNAs in wheat mitochondria. Nucl. Acids Res. 2006;34(9): 2782-2790. DOI: 10.1093/nar/gkl328
- Loiselay C., Gumpel N.J., Girard-Bascou J., Watson A.T., Purton S.,

- Wollman F.-A., Choquet Y. Molecular identification and function of *cis*- and *trans*-acting determinants for *petA* transcript stability in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplasts. *Mol. Cell Biol.* 2008; 28(17):5529-5542. DOI: 10.1128/MCB.02056-07
- Lurin C., Andres C., Aubourg S., Bellaoui M., Bittou F. Genome-wide analysis of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *Plant Cell.* 2004;16(8):2089-2103. DOI: 10.1105/tpc.104.022236
- Luro S., Germain A., Sharwood R., Stern D.B. RNase J participates in a pentatricopeptide repeat protein-mediated 5' end maturation of chloroplast mRNAs. *Nucl. Acids Res.* 2013;41(19):9141-9151. DOI: 10.1093/nar/gkt640
- Lyska D., Meierhoff K., Westhoff P. How to build functional thylakoid membranes: from plastid transcription to protein complex assembly? *Planta.* 2013;237(2):413-428. DOI: 10.1007/s00425-012-1752-5
- Maier U.G., Bozarth A., Funk H.T., Zauner S., Rensing S.A., Schmitz-Linneweber C., Börner T., Tillich M. Complex chloroplast RNA metabolism: just debugging the genetic programme? *BMC Biology.* 2008;6(36):1-9. DOI: 10.1186/1741-7007-6-36
- Manna S. An overview of pentatricopeptide repeat proteins and their applications. *Biochimie.* 2015;113:93-99. DOI: 10.1016/j.biochi.2015.04.004
- Meierhoff K., Felder S., Nakamura T., Bechtold N., Schuster G. HCF152 an Arabidopsis RNA binding pentatricopeptide repeat protein involved in the processing of chloroplast *psbB-psbT-psbH-petB-petD* RNAs. *Plant Cell.* 2003;15(6):1480-1495. DOI: 10.1105/tpc.010397
- Melonek J., Mulisch M., Schmitz-Linneweber C., Grabowski E., Hensel G., Krupinska K. Whirly1 in chloroplasts associates with intron containing RNAs and rarely co-localizes with nucleoids. *Planta.* 2010;232(2):471-481. DOI: 10.1007/s00425-010-1183-0
- Minoda A., Nagasawa K., Hanaoka M., Horiuchi M., Takahashi H., Tanaka K. Microarray profiling of plastid gene expression in a unicellular red alga, *Cyanidioschyzon merola*. *Plant Mol. Biol.* 2005;59(3):375-385. DOI: 10.1007/s11103-005-0182-1
- Miyamoto T., Obokata J., Sugiura M. A site-specific factor interacts directly with its cognate RNA editing site in chloroplast transcripts. *Proc. Natl Acad. Sci.* 2004;101(1):48-52. DOI: 10.1073/pnas.0307163101
- Nagashima A., Hanaoka M., Motohashi R., Seki M., Shinzaki K., Kanamaru K., Takahashi H., Tanaka K. DNA microarray analysis of plastid gene expression in an Arabidopsis mutant deficient in a plastid transcription factor sigma, SIG2. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* 2004;68(3):694-704. DOI:10.1271/bbb.68.694
- Nakamura T., Furuhashi Y., Hasegawa K., Hashimoto H., Watanabe K., Obokata J., Sugiura M., Sugiura M. Array-based analysis on tobacco plastid transcripts: preparation of a genomic microarray containing all genes and all intergenic regions. *Plant Cell Physiol.* 2003a; 44(8):861-867. DOI: 10.1093/pcp/pcg101
- Nakamura T., Meierhoff K., Westhoff P., Schuster G. RNA-binding properties of HCF152, an Arabidopsis PPR protein involved in the processing of chloroplast RNA. *Eur. J. Biochem.* 2003b;270(20): 4070-4081. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03796.x
- Nakamura T., Sugiura C., Kobayashi Y., Sugiura M. Transcript profiling in plastid arginine *tRNA-CCG* gene knockout moss: construction of *Physcomitrella patens* plastid DNA microarray. *Plant Biol. (Stuttg).* 2005;7(3):258-265. DOI: 10.1055/s-2005-865620
- Noordally Z.B., Ishii K., Atkins K.A., Wetherill S.J., Kusakina J., Walton E.J., Kato M., Azuma M., Tanaka K., Hanaoka M., Dodd A.N. Circadian control of chloroplast transcription by a nuclear-encoded timing signal. *Science.* 2013;339(6125):1316-1319. DOI: 10.1126/science.1230397
- Notsu Y., Masood S., Nishikawa T., Kubo N., Akiduki G., Nakazono M., Hirai A., Kadowaki K. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome. *Mol. Genet. Genomics.* 2002;268(4):434-445. DOI: 10.1007/s00438-002-0767-1
- Ogihara Y., Endo A., Kojima T., Isono K., Hanaoka M., Shiina T., Terachi T., Utsugi S., Murata M., Mori N., Murai K., Matsuoka Y., Ohnishi Y., Tajiri H., Tsunewaki K. Chinese Spring wheat (*Triticum aestivum* L.) chloroplast genome: complete sequence and contig clones. *Plant Mol Biol Rep.* 2000;18:243-253. DOI: 10.1007/BF02823995
- Ogihara Y., Isono K., Kojima T., Endo A., Hanaoka M., Shiina T., Terachi T., Utsugi S., Murata M., Mori N., Takumi S., Ikeo K., Gjobori T., Murai R., Murai K., Matsuoka Y., Ohnishi Y., Tajiri H., Tsunewaki K. Structural features of a wheat plastome as revealed by complete sequencing of chloroplast DNA. *Mol. Genet. Genomics.* 2002;266(5):740-746. DOI: 10.1007/s00438-001-0606-9
- Ohyama K. Chloroplast and mitochondrial genomes from a liverwort, *Marchantia polymorpha* – gene organization and molecular evolution. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1996;60:16-24.
- Okuda K., Hammami K., Tanz S.K., Peng L., Fukao Y., Myouga F., Motohashi R., Shinzaki K., Small I., Shikanai T. The pentatricopeptide repeat protein OTP82 is required for RNA editing of plastid *ndhB* and *ndhG* transcripts. *Plant J.* 2010;61(2):339-349. DOI: 10.1111/j.1365-3113X.2009.04059.x
- Okuda K., Nakamura T., Sugiura M., Shimizu T., Shikanai T. A pentatricopeptide repeat protein is a site recognition factor in chloroplast RNA editing. *J. Biol. Chem.* 2006;281(49):37661-37667.
- Opdyke J.A., Kang J.G., Storz G. GadY, a small-RNA regulator of acid response genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2004;186(20):6698-705. DOI: 10.1128/JB.186.20.6698-6705.2004
- Peled-Zehavi H., Danon A. Translation and translational regulation in Chloroplasts. *Topics in Current Genetics. Cell and Molecular Biology of Plastids.* Ed. R. Bock. Berlin: Springer-Verlag, 2007;19:249-281. DOI:10.1007/978-3-540-75376-6
- Pfalz J., Bayraktar O.A., Prikryl J., Barkan A. Site-specific binding of a PPR protein defines and stabilizes 5' and 3' mRNA termini in chloroplasts. *EMBO J.* 2009;28 (14):2042-2052. DOI: 10.1038/emboj.2009.121
- Plader W., Sugiura M. The Shine-Dalgarno-like sequence is a negative regulatory element for translation of tobacco chloroplast *rps2* mRNA: an additional mechanism for translational control in chloroplasts. *Plant J.* 2003;34(3):377-382. DOI: 10.1046/j.1365-3113X.2003.01732.x
- Pogoryelov D., Reichen C., Klyszejko A.L., Brunisholz R., Muller D. J., Dimroth P., Meier T. The oligomeric state of c rings from cyanobacterial F-ATP synthases varies from 13 to 15. *J. Bacteriol.* 2007;189(16):5895-5902. DOI: 10.1128/JB.00581-07
- Pogoryelov D., Yu J., Meier T., Vonck J., Dimroth P., Muller D.J. The c15 ring of the *Spirulina platensis* F-ATP synthase: F1/F0 symmetry mismatch is not obligatory. *EMBO Rep.* 2005;6(11):1040-1044. DOI: 10.1038/sj.embor.7400517
- Prikryl J., Rojas M., Schuster G., Barkan A. Mechanism of RNA stabilization and translational activation by a pentatricopeptide repeat protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011;108(1):415-420. DOI: 10.1073/pnas.1012076108
- Rogalski M., Ruf S., Bock R. Tobacco plastid ribosomal protein S18 is essential for cell survival. *Nucl. Acids Res.* 2006;34(16):4537-4545. DOI: 10.1093/nar/gkl634
- Rüdinger M., Polsakiewicz M., Knoop V. Organellar RNA editing and plant-specific extensions of pentatricopeptide repeat proteins in jungermanniid but not in marchantioid liverworts. *Mol. Biol. Evol.* 2008;25(7):1405-1414. DOI: 0.1093/molbev/msn084
- Ruwe H., Castandet B., Schmitz-Linneweber C., Stern D.B. Arabidopsis chloroplast quantitative editotype. *FEBS Lett.* 2013;587(9):1429-1433. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.03.022
- Salone V., Rüdinger M., Polsakiewicz M., Hoffmann B., Groth-Malonek M., Szurek B., Small I., Knoop V., Lurin C. A hypothesis on the identification of the editing enzyme in plant organelles. *FEBS Lett.* 2007;581(22):4132-4138. DOI:10.1016/j.febslet.2007.07.075
- Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.* 1995;270(5235):467-470. DOI:10.1126/science.270.5235.467
- Schmitz-Linneweber C., Regel R., Du T.G., Hupfer H., Herrmann R.G., Maier R.M. The plastid chromosome of *Atropa belladonna* and its comparison with that of *Nicotiana tabacum*: The role of RNA edit-

- ing in generating divergence in the process of plant speciation. *Mol. Biol. Evol.* 2002;19(9):1602-1612. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004222
- Schmitz-Linneweber C., Small I. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression. *Trends Plant Sci.* 2008;13(12):663-670. DOI: 10.1016/j.tplants.2008.10.001
- Schmitz-Linneweber C., Williams-Carrier R., Barkan A. RNA immunoprecipitation and microarray analysis show a chloroplast PPR protein to be associated with the 5'-region of mRNAs whose translation it activates. *Plant Cell.* 2005;17:2791-2804. DOI: 10.1105/tpc.105.034454
- Schweer J., Türkeri H., Kolpack A., Link G. Role and regulation of plastid sigma factors and their functional interactors during chloroplast transcription – recent lessons from *Arabidopsis thaliana*. *Eur. J. Cell Biol.* 2010;89(12):940-946. DOI: 10.1016/j.ejcb.2010.06.016
- Sharma M.R., Wilson D.N., Datta P.P., Barat C., Schluenzen F., Fucini P., Agrawal R.K. Cryo-EM study of the spinach chloroplast ribosome reveals the structural and functional roles of plastid-specific ribosomal proteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007;104(49):19315-19320. DOI: 10.1073/pnas.0709856104
- Shen Y., Li C., McCarty d.R., Meeley R., Tan B.-C. Embryo defective12 encodes the plastid initiation factor 3 and is essential for embryogenesis in maize. *Plant J.* 2013;74(5):792-804. DOI: 10.1111/tj.12161
- Shiina T., Yuichi T., Yoichi N., Khan M.S. Plastid RNA polymerases, promoters, and transcription regulators in higher plants. *Intern. Rev. Cytology.* 2005;244:1-68. DOI: 10.1016/S0074-7696(05)44001-2
- Shikanai T. RNA editing in plants: Machinery and flexibility of site recognition. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015;1847(9):779-785. DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.12.010
- Shikanai T., Fujii S. Function of PPR proteins in plastid gene expression. *RNA Biology.* 2013;10(9):1446-1456. DOI: 10.4161/rna.25207
- Sinauskaya M., Naydenov N., Davydenko O., Nakamura C. Macroarray for studying chloroplast gene expression profiles associated with the initial development of wheat. *Proc. of the 11th Intern. Wheat Genet. Symp. Ed. R. Appels et al.* 2008.
- Small I.D., Peeters N. The PPR motif: a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem. Sci.* 2000;25(2):46-47. DOI: 10.1016/S0968-0004(99)01520-0
- Staub J.M., Maliga P. Accumulation of D1 polypeptide in tobacco plastids is regulated via the untranslated region of the psbA mRNA. *EMBO J.* 1993;12(2):601-606.
- Stern D.B., Goldschmidt-Clermont M., Hanson M.R. Chloroplast RNA metabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010;61:125-155. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112242
- Stock D., Leslie A.G.W., Walker J.E. Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science.* 1999;86(5445):1700-1705. DOI: 10.1126/science.286.5445.1700
- Stoppel R., Meurer J. Complex RNA metabolism in the chloroplast: an update on the *psbB* operon. *Planta.* 2013;237(2):441-449. DOI: 10.1007/s00425-012-1782-z
- Stoughton R.B. Applications of DNA microarrays in biology. *Annu. Rev. Biochem.* 2005;74:53-82. DOI: 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133212
- Sugita M., Miyata Y., Maruyama K., Sugiura C., Arikawa T., Higuchi M. Extensive RNA editing in transcripts from the *PsbB* operon and *RpoA* gene of plastids from the enigmatic moss *Takakia lepidozoides*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006;70(9):2268-2274. DOI: 10.1271/bbb.60204
- Sugiura M. Plastid mRNA translation Chloroplast Biotechnology. *Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology.* Ed. P. Maliga. Humana Press. 2014;1132:73-90. DOI 10.1007/978-1-62703-995-6
- Sugiura M., Hirose T., Sugita M. Evolution and mechanism of translation in chloroplasts. *Annu. Rev. Genet.* 1998;32:437-459. DOI: 10.1146/annurev.genet.32.1.437
- Swiatecka-Hagenbruch M., Emanuel C., Hedtke B., Liere K., Börner T. Impaired function of the phage-type RNA polymerase RpoTp in transcription of chloroplast genes is compensated by a second phage-type RNA polymerase. *Nucl. Acids Res.* 2008;36(3):785-792. DOI: 10.1093/nar/gkm1111
- Takenaka M., Zehrmann A., Hartel B., Kugelmann M., Verbitskiy D., Brennicke A. Multiple organellar RNA editing factor (MORF) family proteins are required for RNA editing in mitochondria and plastids of plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109(13):5104-5109. DOI: 10.1073/pnas.1202452109
- Takenaka M., Zehrmann A., Verbitskiy D., Härtel B., Brennicke A. RNA editing in plants and its evolution. *Annu. Rev. Genet.* 2013;47(13):335-352. DOI: 10.1146/annurev-genet-111212-133519
- Tiller N., Bock R. The translational apparatus of plastids and its role in plant development. *Mol. Plant.* 2014;7(7):1105-1120. DOI: 10.1093/mp/ssu022
- Tiller N., Weingartner M., Thiele W., Maximova E., Schöttler M.A., Bock R. The plastid-specific ribosomal proteins of *Arabidopsis thaliana* can be divided into non-essential proteins and genuine ribosomal proteins. *Plant J.* 2012;69(2):302-316. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04791.x
- Toyoshima Y., Onda Y., Shiina T., Nakahira Y. Plastid transcription in higher plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 2005;24(1):59-81. DOI: 10.1080/07352680590910438
- Tozawa Y., Teraishi M., Sasaki T., Sonoike K., Nishiyama Y., Itaya M., Miyao A., Hirochika H. The plastid sigma factor SIG1 maintains photosystem I activity via regulated expression of the *psaA* operon in rice chloroplasts. *Plant J.* 2007;52(1):124-132. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03216.x
- Valkov V.T., Scotti N., Kahlau S., Maclean D., Grillo S., Gray J.C., Bock R., Cardi T. Genome-wide analysis of plastid gene expression in potato leaf chloroplasts and tuber amyloplasts: transcriptional and posttranscriptional control. *Plant Physiol.* 2009;150(4):2030-2044. DOI: 10.1104/pp.109.140483
- Verbitskiy D., van der Merwe J.A., Zehrmann A., Brennicke A., Takenaka M. Multiple specificity recognition motifs enhance plant mitochondrial RNA editing *in vitro*. *J. Biol. Chem.* 2008;283(36):24374-24381. DOI: 10.1074/jbc.M803292200
- Wakasugi T., Tsudzuki J., Ito S., Nakashima K., Tsudzuki T., Sugiura M. Loss of all *ndh* genes as determined by sequencing the entire chloroplast genome of the Black Pine *Pinus thunbergii*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994;91(21):9794-9798. DOI: 10.1073/pnas.91.21.9794
- Walter M., Kilian J., Kudla J. PNPase activity determines the efficiency of mRNA 3'-end processing, the degradation of tRNA and the extent of polyadenylation in chloroplasts. *EMBO J.* 2002;21(24):6905-6914. DOI: 10.1093/emboj/cdf686
- Westhoff P., Hermann R.G. Complex RNA maturation in chloroplasts: the *psbB* operon from spinach. *Eur. J. Biochem.* 1988;171(3):551-564. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1988.tb13824.x
- Wicke S., Schneeweiss G.M., dePamphilis C.W., Müller K.F., Quandt D. The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function. *Plant Mol. Biol.* 2011;76(3/5):273-297. DOI: 10.1007/s11103-011-9762-4
- Williams-Carrier R., Kroeger T., Barkan A. Sequence-specific binding of a chloroplast pentatricopeptide repeat protein to its native group II intron ligand. *RNA.* 2008;14(9):1930-1941. DOI: 10.1261/rna.1077708
- Wostrikoff K., Stern D. Rubisco large-subunit translation is autoregulated in response to its assembly state in tobacco chloroplasts. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007;104(15):6466-6471. DOI: 10.1073/pnas.0610586104
- Xu T., Lee K., Gu L., Kim J.I., Kang H. Functional characterization of a plastid-specific ribosomal protein PSRP2 in *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 2013;73:405-411. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.10.027
- Yagi Y., Shiina T. Recent advances in the study of chloroplast gene expression and its evolution. *Front. Plant Sci.* 2014;5(61):1-7. DOI: 10.3389/fpls.2014.00061
- Yamaguchi K., Beligni M.V., Prieto S., Haynes P.A., McDonald W.H., Yates J.R. 3rd Mayfield S.P. Proteomic characterization of the *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast ribosome. Identification of proteins

- unique to the 70 S ribosome. *J. Biol. Chem.* 2003;278(36):33774-33785. DOI: 10.1074/jbc.M301934200
- Yamaguchi K., Prieto S., Beligni M.V., Haynes P.A., McDonald W.H., Yates J.R. 3rd, Mayfield S.P. Proteomic characterization of the small subunit of *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast ribosome: identification of a novel S1 domain-containing protein and unusually large orthologs of bacterial S2, S3, and S5. *Plant Cell.* 2002;14(11):2957-2974. DOI: 10.1105/tpc.004341
- Yehudai-Resheff S., Hirsh M., Schuster G. Polynucleotide phosphorylase functions as both an exonuclease and a poly(A) polymerase in spinach chloroplasts. *Mol. Cell Biol.* 2001;21(16):5408-5416. DOI:10.1128/MCB.21.16.5408-5416.2001
- Zerges W., Auchincloss A.H., Rochaix J.D. Multiple translational control sequences in the 5' leader of the chloroplast *psbC* mRNA interact with nuclear gene products in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Genetics.* 2003;163(3):895-904.
- Zerges W., Girard-Bascou J., Rochaix J.D. Translation of the chloroplast *psbC* mRNA is controlled by interactions between its 5' leader and the nuclear loci TBC1 and TBC3 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol. Cell Biol.* 1997;17(6):3440-3448.
- Zghidi W., Merendino L., Cottet A., Mache R., Lerbs-Mache S. Nucleus-encoded plastid sigma factor SIG3 transcribes specifically the *psbN* gene in plastids. *Nucl. Acids Res.* 2007;35(2):455-464. DOI: 10.1093/nar/gkl1067
- Zghidi-Abouzid O., Merendino L., Buhr F., M. Ghulam M., Lerbs-Mache S. Characterization of plastid *psbT* sense and antisense RNAs. *Nucl. Acids Res.* 2011;39(13):5379-5387. DOI: 10.1093/nar/gkr143
- Zhelyazkova P. The transcriptome of barley chloroplasts revealed by deep sequencing. Dissertation. Berlin, 2012
- Zhelyazkova P., Hammani K., Rojas M., Voelker R., Vargas-Suárez M., Börner T., Barkan A. Protein-mediated protection as the predominant mechanism for defining processed mRNA termini in land plant chloroplasts. *Nucl. Acids Res.* 2012;40(7):3092-3105. DOI: 10.1093/nar/gkr1137
- Zhelyazkova P., Sharma C.M., Förstner K.U., Liere K., Vogel J., Börner T. The primary transcriptome of barley chloroplasts: numerous noncoding RNAs and the dominating role of the plastid-encoded RNA polymerase. *Plant Cell.* 2012;4(1):123-136. DOI: 10.1105/tpc.111.089441
- Zmienko A., Guzowska-Nowowiejska M., Urbaniak R., Plader W., Formanowicz P., Figlerowicz M. A tiling microarray for global analysis of chloroplast genome expression in cucumber and other plants. *Plant Methods.* 2011;7:29. DOI: 10.1186/1746-4811-7-29
- Zoschke R., Nakamura M., Liere K., Sugiura M., Börner T., Schmitz-Linneweber C. An organellar maturase associates with multiple group II introns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107(7):3245-3250. DOI: 10.1073/pnas.0909400107