ХЛОРОПЛАСТЫ. СТРУКТУРА И ЭКСПРЕССИЯ ПЛАСТИДНОГО ГЕНОМА  
© 2018 г. В. В. Кузнецов

   
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  физиологии растений   им. К.А. Тимирязева РАН, Москва  
Поступил в редакцию 27.06.2017 г.

В течение последних двух десятилетий достигнуты значительные успехи в изучении структуры и экспрессии пластидного генома. Определена первичная последовательность сотен пластидных геномов растений, что позволило понять основные закономерности строения пластома. Открыты новые хлоропластные РНК-полимеразы ядерного кодирования и сигма-факторы. Активно изучаются механизмы посттранскрипционной регуляции экспрессии пластидных генов, включая сплайсинг и редактирование. Все больше появляется данных о важнейшей роли нуклеоидов в биогенезе хлоропластов. Большое внимание уделяется изучению белков ассоциированных с РНК-полимеразой бактериального типа. Определение первичной последовательности геномов ряда высших растений дало новую информацию об обмене генетическим материалом между клеточными органеллами. Активно изучается ежорганельный сигналинг в растительной клетке. В обзоре довольно кратко обсуждается широкий круг вопросов, включающий некоторые элементы эволюции хлоропластов, ядерно-пластидный сигналинг, описываются особенности организации генетического материала хлоропластов, а также обсуждаются основные этапы экспрессии пластидного генома.

Ключевые слова: посттранскрипционные этапы экспрессии пластидных генов – структура и экспрессия пластома – транскрипция – хлоропласты – ядерно-пластидный сигналинг  
DOI: 10.7868/S0015330318040012

*\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_*

*Сокращения:* БС РБФК – большая субъединица рибулозобисфосфаткарбоксилазы; MgПротоIX − Mg-протопорфирин IX; ТМХ – тилакоидные мембраны хлоропластов;

NEP – хлоропластная РНК-полимераза ядерного кодирования фагового типа; PAP – белки ассоциированные с РНК-полимеразой бактериального типа; PEP – хлоропластная РНК- полимераза бактериального типа; SD – Shine–Dalgarno последовательность.

*Адрес для корреспонденции*: Кузнецов Виктор Васильевич. 127276, Москва, Ботаническая ул., 35. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Электронная почта: vkusnetsov2001@mail.ru

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ХЛОРОПЛАСТОВ

Хлоропласты являются клеточными органеллами, отвечающими за фотосинтез, в ходе которого из углекислого газа и воды с участием солнечной энергии синтезируются органические вещества, что сопровождается выделением кислорода и поглощением углекислого газа, и что, фактически, обеспечивает жизнь на нашей планете.

Хлоропласты и митохондрии, согласно наиболее признанной в настоящее время эндосимбиотической гипотезе, произошли от прокариотических организмов. Впервые такая идея высказана в 1883 г. немецким ученым А. Шимпером. В ее развитии большую роль сыграли российские ученые К.С. Мережковский и А.С. Фаминцин, а окончательно эта гипотеза была обоснована во второй половине прошлого века проф. Маргулис из США [цит. по 1]. Согласно этой гипотезе 2.5−1.5 млрд. лет назад в первичную эукариотическую клетку, которая имела обособленное ядро, но была не способна к дыханию (окислительному фосфорилированию) и фотосинтезу, проникла аэробная альфа-протеобактерия, превратившаяся в ходе эволюции в митохондрию. Более 1.5 млрд. лет назад эукариотическая клетка, содержавшая будущую митохондрию, поглотила фотосинтезирующую цианобактерию, которая в ходе эволюции превратилась в хлоропласт. Альфа-протеобактерия поставляла клетке-хозяину энергию в виде АТФ, а цианобактерия обеспечивала продуктами фотосинтеза, в результате чего клетка-хозяин получила значительные эволюционные преимущества. Цитоплазма клетки-хозяина стала удобной средой обитания для эндосимбионтов. Весь аппарат фотосинтеза и дыхания эукариотической клетки сосредоточился в хлоропластах и митохондриях, соответственно. Кроме того, в эукариотической клетке появились три генома: ядерный, хлоропластный и митохондриальный.

Получено множество результатов, подтверждающих справедливость эндосимбиотической гипотезы. Обнаружено значительное сходство между хлоропластами и свободно живущими цианобактериями и между митохондриями и альфа-протеобактериями. Большинство компонентов генетической системы органелл (кольцевая ДНК и ее организация в нуклеоиды, отсутствие гистонов, объединение генов в опероны, РНК-полимераза бактериального типа и сигма-факторы, регуляторные элементы генов, процесс трансляции) имеют значительное сходство с прокариотами. Однако длительное существование эндосимбионтов внутри эукариотической клетки привело к значительным изменениям в организации и регуляции экспрессии генетического аппарата хлоропластов. В ряде генов эндосимбионтов появились интроны, которые не встречаются у прокариот. Появились новые хлоропластные РНК-полимеразы ядерного кодирования. Значительно усложнился процесс транскрипции и посттранскрипционной регуляции экспрессии пластидного генома.

ПЕРЕНОС ГЕНОВ ИЗ ХЛОРОПЛАСТНОГО В ЯДЕРНЫЙ ГЕНОМ

Хлоропласты являются полуавтономными органеллами, поскольку в ходе эволюции в условиях эндосимбиоза они потеряли не менее 95% генов в сравнении со свободно живущими цианобактериями [2−4]. Были утрачены гены, в продуктах которых больше не было необходимости, а значительная часть жизненно важных генов, ранее находившихся в геноме предшественника хлоропластов, перенесена в ядерный геном клетки-хозяина. Большинство белковых комплексов тилакоидных мембран хлоропластов (ТМХ) и мультисубъединичных ферментов содержат белки, кодируемые как ядерным, так и пластидным геномами. Это привело к невозможности полноценного существования и деления хлоропластов и митохондрий вне клетки-хозяина.

После полного секвенирования ряда ядерных геномов растений не осталось сомнений в том, что органельные гены переносятся в ядерный геном. В ядерном геноме риса обнаружен 701 фрагмент хлоропластной ДНК (хпДНК) общей длиной примерно 900 т.п.н. [5]. Установлено, что фрагменты разных участков хпДНК переносятся не с одинаковой частотой. Фрагменты хпДНК обнаружены во всех 12 хромосомах риса, однако их распределение между хромосомами не однородно [6]. Семь из 12 больших фрагментов хлоропластного генома обнаружены в прицентромерной области, которая часто бывает генетически инертна. Максимальный фрагмент хпДНК размером 131 т.п.н., практически равный полному хлоропластному геному (134.5 т.п.н.), локализуется в 10 хромосоме. Большие фрагменты подвергаются наиболее сильным генетическим модификациям: они фрагментируются, перестраиваются, делетируются и т.д. По мнению Matsuo с соавторами [5] период полужизни фрагментов хпДНК размером более 1.6 т.п.н. в ядерном геноме равен примерно 0.5 млн. лет.

Большинство фрагментов хпДНК поступают из хлоропласта прямо в ядро, однако хпДНК может также из хлоропласта переноситься вначале в митохондриальный геном, а из него − в ядерный. Механизмы выхода ДНК из хлоропласта и поступления ее в ядро, а также механизмы встраивания чужеродной ДНК в ядерный геном пока совершенно не изучены.

В настоящее время разработаны два экспериментальных подхода с применением транспластомных растений табака, позволяющих изучать перенос пластидных генов в ядерый геном. Stegemann с соавторами [7] получили транспластомные растения табака, в которые были введены два гена: ген устойчивости к спектиномицину (*aad*) под хлоропласт-специфическим промотором, который активен только в хлоропластах, и ген устойчивости к канамицину (*npt*) под управлением эукариотического промотора 35S CaMV (промотор вируса мозаики цветной капусты), который мог активно экспрессироваться только после перенесения в ядерный геном. Инкубация эксплантов гомопластомных растений на среде с канамицином позволила получить 12 независимых устойчивых к канамицину растений и доказать, что *npt* ген находится в ядре. Произведя примерный подсчет количества клеток в эксплантах, авторы пришли к выводу, что перенос гена из хлоропластного в ядерный геном происходил в 1 из 5000000 клеток листа табака. Эти результаты подтверждены другими исследователями, которые использовали иной экспериментальный подход [8]. Предполагается, что в природе перенос пластидных генов может происходить еще чаще, поскольку в приведенных экспериментах авторы следили за активно экспрессирующимся геном.

В ходе эволюции многие исходно цианобактериальные гены были интегрированы в ядерный геном, приобрели эукариотические регуляторные элементы и стали участвовать в различных метаболических путях клетки. Сравнение 9368 генов Arabidopsis thaliana с геномами трех цианобактерий (*Nostoc punctiforme*, *Prochlorococcus marinus* и *Synechocystis sp.*PCC 6803), 16 других прокариот и дрожжей [3] показало, что 4500 генов (18% ядерных генов A. thaliana) перенесены в ядерный геном от предшественника хлоропласта. Часть белковых продуктов генов, которые были перенесены от предшественника пластид в ядро, вновь направляется в хлоропласт. В хлоропластах обнаружено более 3000 белков и только около 3% белков кодируются пластидным геномом. В хлоропластном геноме сохранились гены, которые необходимы для процесса фотосинтеза, а также гены генетической системы хлоропластов.

ЯДЕРНО-ПЛАСТИДНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Все три ДНК-содержащие органеллы растительной клетки (ядро, митохондрии и хлоропласты) участвуют в координированном ответе, как на эндогенные, так и на экзогенные сигналы. Длительное существование хлоропластов в эукариотическом окружении привело к появлению новых сигнальных систем, которые связывают развитие и функционирование пластид с функцией всей клетки.

Ядро определяет как биогенез, так и функционирование хлоропластов благодаря огромному количеству кодируемых в ядре белков, которые поступают в хлоропласты (около 97% всех белков хлоропластов). Это так называемый ядерный или антероградный контроль [9, 10]. Почти все белки, участвующие в процессинге РНК, 2/3 белков пластидных рибосом и почти все факторы регуляции транскрипции и трансляции кодируются ядерным геномом, что обеспечивает контроль ядра над экспрессией пластидного генома, как на уровне транскрипции, так и на посттранскрипционных этапах.

В настоящее время установлено, что пластиды не только воспринимают поступающие к ним сигналы, но могут генерировать и направлять ядру свой сигнал, называемый пластидным или ретроградным. Этот сигнал информирует ядро о функциональном состоянии пластид. В ответ на такую информацию происходит изменение экспрессии ядерных генов, кодирующих чаще всего хлоропластные белки. В последние два десятилетия активно изучается природа ретроградного сигнала [9, 11, 12]. Сейчас известно, что от пластид могут идти сигналы различной природы.

Прежде всего, влияние функционального состояния пластид на экспрессию ядерных генов было обнаружено в *albostrians*мутанте *Hordeum vulgare*, в котором отсутствуют хлоропластные рибосомы и, как результат, отсутствуют все белки, кодируемые хлоропластным геномом [13]. Аналогичное влияние на экспрессию ядерных генов наблюдалось при подавлении трансляции или транскрипции в пластидах специфическими ингибиторами, на основании чего был сделан вывод о зависимости ретроградного сигнала от экспрессии пластидных генов.

Ретроградный сигнал зависит также и от синтеза пигментов. В мутантах по биосинтезу каротиноидов [14], а также в растениях, обработанных гербицидом норфлуразоном, ингибирующим биосинтез каротиноидов, наблюдалось фотоокислительное разрушение хлорофиллов, ТМХ и формирование пластидного сигнала [15, 16].

Изучение мутантных растений *A. thaliana* по генам биосинтеза тетрапирролов, названных *gun*(genomes uncouple) мутантами [17], в которых была нарушена передача сигнала из пластид в ядро, позволило предположить участие тетрапирролов в формировании ретроградного сигнала. Общая идея заключается в том, что нарушение пути биосинтеза хлорофилла приводит к накоплению Mg-протопорфирина IX (MgПротоIX), формируется пластидный сигнал, что и вызывает понижение экспрессии ядерных генов. Получено много экспериментальных данных, подтверждающих участие MgПротоIX в пластидном сигналинге, однако появляются результаты, вызывающие некоторое сомнение в справедливости этой идеи [12].

В последние годы большое внимание уделяется изучению участия редокс-состояния фотосинтетической электрон-транспортной цепи в сигналинге между хлоропластами и ядром [18]. Редокс-сигналы могут быть посланы отдельными компонентами или группой компонентов, которые находятся в окисленном или восстановленном состоянии. Редокс-сигналы от ЭТЦ сообщают о функциональном состоянии цепи транспорта электронов механизмам экспрессии хлоропластных и ядерных генов, кодирующих фотосинтетические белки. Показано, что очень важную роль играет редокс-состояние пластохинона. Появляются также отдельные факты, указывающие на возможное участие в ретроградном сигналинге перекиси водорода и синглетного кислорода [19, 20].

Важно отметить, что нарушение функционального состояния хлоропластов влияет не только на экспрессию ядерных, но и митохондриальных генов [21]. В *albostrians*мутанте ячменя[22], в котором нет белков пластидного кодирования, наблюдалось увеличение уровня транскриптов ряда митохондриальных генов, что могло быть связано с увеличением копийности митохондриального генома.

С другой стороны, нарушение функциональной активности митохондрий влияет на состояние хлоропластов. Это показано на мутантном трансгенном растении *A. thaliana*, у которого нарушено редактирование 9 субъединицы АТФ-синтазного комплекса [23]. У таких мутантов снижено содержание хлорофилла, значительно увеличен уровень транскриптов гена хлорофиллазы (*AtCHLH2*) и повышена Mg-дехелатазная активность.

Таким образом, ядро, хлоропласты и митохондрии взаимодействуют между собой, обмениваясь сигналами различной природы. Ведущую роль в регуляции биогенеза пластид и митохондрий играет ядро, однако пластиды и митохондрии корректируют экспрессию ядерных генов в зависимости от функционального состояния органелл. Ретроградные сигналы пластид и митохондрий взаимодействуют и функционируют совместно с ядерными сигналами, образуя сложную регуляторную сеть.

ТИПЫ ПЛАСТИД И ИХ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ

Вероятно, в период адаптации растений к условиям наземного существования, когда у растений появились разные ткани, произошло превращение хлоропластов в различные типы пластид, которые имели одинаковую генетическую информацию, но выполняли различные функции. Необходимость сохранения пластид в нефотосинтезирующих тканях, возможно, объясняется огромной ролью, которую пластиды играют в метаболизме растительной клетки. Кроме процесса фотосинтеза, пластиды участвуют в азотном метаболизме, синтезе аминокислот, пуринов и пиримидинов, изопреноидов, фенольных соединений, жирных кислот, крахмала, в метаболизме фитогормонов (по крайней мере, цитокининов, АБК и гиббереллинов) и т.д. [24 − 26].

Все пластиды растительной клетки происходят от пропластид меристематический ткани. Пропластиды обычно содержат небольшие фрагменты тилакоидных мембран, крахмальные зерна, а также структуры похожие на рибосомы. Обычно в клетке бывает 10−20 пропластид размером около 1 мкм.

Наиболее распространенными пластидами, располагающимися в фотосинтезирующих тканях, являются хлоропласты, осуществляющие процесс фотосинтеза. Как и все пластиды, хлоропласты ограничены двойной мембранной оболочкой. В хлоропластах существует система тилакоидных мембран, которые являются местом фотосинтетического транспорта электронов и синтеза АТФ. Тилакоиды состоят из ламелл, а собранные в стопки ламеллы называются гранами, которые соединяются ламеллами стромы.

В отсутствии света из пропластид развиваются этиопласты. В этиопластах не образуется хлорофилл, однако есть каротиноиды. В этих органеллах нет тилакоидных мембран, но есть проламеллярные тела. Этиопласты могут быстро превратиться в хлоропласты и активно синтезировать хлорофилл под действием света.

В цветках, свежих фруктах и т.д. формируются хромопласты – это пластиды, с большим содержанием разных видов пигментов, главным образом каротиноидов. При превращении хлоропластов в хромопласты разрушается хлорофилл и тилакоидные мембраны, а также увеличивается содержание ферментов биосинтеза каротиноидов.

Целая группа пластид, для которых характерно отсутствие любых пигментов, называется лейкопластами. Лейкопласты очень широко распространены, вариабельны по количеству и морфологии, могут запасать различные типы молекул. Лейкопласты, запасающие крахмал, называются амилопластами. Пластиды, накапливающие липиды, называются элайопластами, а накапливающие белки − протеинопластами. Лейкопласты обычно формируются из пропластид в ходе развития запасающих органов и тканей.

Тип пластид определяется типом ткани. В одной клетке существуют пластиды только одного вида. Важнейшую роль в дифференциации хлоропластов играет свет, который инициирует сложную цепь событий, включая экспрессию ядерных и пластидных генов, что приводит к накоплению белков и формированию функционально активного хлоропласта. Взаимопревращение пластид контролируется процессами развития клеток, фитогормонами, различными метаболитами и внешними факторами. Взаимопревращение разных типов пластид – это нормальный процесс. Механизмы редифференциации пластид изучены слабо. В ходе развития пыльника происходит очень сложное превращение между пропластидами, амилопластами, хромопластами, хлоропластами, лейкопластами и этиопластами [27]. По мнению проф. K. Pyke никакую пластиду нельзя считать окончательно дифференцированной [28].

ОРГАНИЗАЦИЯ ПЛАСТИДНОГО ГЕНОМА

*Хлоропластная ДНК*

Два немецких исследователя E. Bauer и C. Correns в 1909 г. обнаружили неменделевское наследование пестролистности высших растений и предположили, что такой характер наследования связан с хлоропластами (цит. по [1]). В 1962 г. H. Ris и W. Plaut микроскопическими и цитохимическими методами доказали присутствие ДНК в хлоропластах *Chlamydomonas moewusii* [29]. По данным проф. A. Bandich [30] хпДНК в листьях растений составляет от 8 (картофель) до 23% (шпинат) от суммарной ДНК клетки. Пластиды содержат множество копий органельной ДНК. В настоящее время причина многокопийности хпДНК не известна. Количество копий зависит от типа ткани, этапа онтогенеза и вида растения [31]. В листьях*Arabidopsis* содержится менее 50 копий хпДНК на органеллу, в сахарной свекле – до 330, а в листьях пшеницы – до 900. Для многих растений на одну клетку в среднем приходится около 10000 копий пластидной ДНК [30]. Зеленые ткани обычно содержат больше копий хпДНК на органеллу. В ряде случаев обнаружена позитивная корреляция плоидности ядра и количества копий пластома.

На ранних стадиях развития листа, когда происходит превращение пропластид в хлоропласты, наблюдается увеличение содержания ДНК, как на пластиду, так и на клетку, но это происходит только в том случае, если скорость репликации пластидной ДНК будет превышать скорость деления пластид. Влияние света на копийность хпДНК зависит от вида растения [31, 32].

В ходе старения хлоропластные гены остаются активными, по крайней мере, до начала деградации пигментов [31, 33]. В желтых листьях *Arabidopsis*, когда было потеряно 80% хлорофилла, снижался уровень хпДНК и мРНК БС РБФК, а количество хлоропластов и уровень мРНК *psbA*оставался стабильным [33]. Все хлоропласты в зрелых листьях содержат достаточное количество обычно транскрипционно активной ДНК. В стареющих клетках листа хпДНК сохраняется до тех пор, пока сохраняются хлоропласты [31]. В ходе онтогенеза судьба хпДНК зависит от вида растения.

В связи с многокопийностью хлоропластного генома возникает сложная проблема, касающаяся координации взаимодействия ядра и хлоропласта в экспрессии генов и последующей сборке мультисубъединичных белковых комплексов. Например, в расчете на одну клетку малая субъединица РБФК кодируется в *Arabidopsis* четырьмя ядерными генами, а большая субъединица РБФК примерно 10000 хлоропластных генов на клетку [30], тогда как сам фермент РБФК состоит из 8 больших и 8 малых субъединиц. Эту сложную слабо понятную для нас проблему координации экспрессии ядерных и пластидных генов успешно решает растительная клетка.

*Структура хлоропластного генома*

Определение в 1986 г. под руководством проф. Sugiura полной нуклеотидной последовательности хлоропластного генома табака явилось выдающимся событием в молекулярной биологии клеточных органелл. К настоящему времени основные закономерности организации пластидного генома достаточно хорошо установлены [34 – 37].

Пластидный геном наземных растений представлен кольцевой двунитевой молекулой ДНК размером обычно 120−160 т.п.н. Самый большой хлоропластный геном (более 217 т.п.н.) у герани (*Pelargonium*), а самые маленькие геномы − у паразитических нефотосинтезирующих растений (около 70 т.п.н.). Различие в размере хпДНК почти всегда связано с размерами инвертированных повторов (ИП). В пластидном геноме низкое содержанием ГЦ пар (30−40%). Между инвентированными повторами (IRA и IRB) размером примерно по 25 т.п.н., локализуются большая (LSC) и малая (SSC) уникальные области. Инвертированные повторы в одном геноме всегда одинаковы. Каждый ген ИП имеет две копии на геном. Бобовые (горох, люцерна и др.) и некоторые голосеменные растения (например, сосна) не имеют ИП, а *Euglena gracilis* имеет три повтора, но не инвертированные, а прямые [38]. Размеры ИП могут сильно различаться у разных видов растений. Предполагается, что ИП, увеличивая дозу генов рРНК, обеспечивают их активную экспрессию, а так же стабилизируют геном, поскольку частота мутаций в ИП значительно ниже, чем в уникальных участках молекулы ДНК. Пластом растений содержит обычно 100-115 генов, которые кодируют только около 3% обнаруженных в хлоропласте белков. Это означает, что около 97% всех хлоропластных белков кодируются ядерным геномом. Все хлоропластные гены можно условно разделить на три группы. 1. Гены, кодирующие фотосинтетические белки (около 50); 2. Гены генетической системы (примерно 60); 3. Другие гены – все оставшиеся гены хлоропластного генома, включая открытые рамки считывания.

***Гены фотосинтетических белков.***У покрытосеменных растений 47 генов хлоропластного генома кодируют белки, участвующие в формировании фотосинтетического аппарата. Из них 15 генов кодируют субъединицы ФС II (*psb A, B, C, D, E, F, H, I, J, K, L, M, N, T, Z*). Продукты семи генов участвуют в формировании ФСI (*psa A, B, C, I, J*). В эти семь генов входят два гена(*ycf*3 и *ycf4*), кодирующие белки, которые участвуют в сборке ФСI. Шесть генов (*petA, B, D, G, L, N*) кодируют субъединицы цитохромного *b6f* − комплекса, осуществляющего взаимодействие ФС I и ФС II. Шесть генов кодируют субъединицы АТФ-синтазы (atpA, B, E, F, I, H), фермента, катализирующего превращение фосфата и АДФ в АТФ. Одиннадцать генов кодируют субъединицы хлоропластного НАДФН – пластохиноноксидоредуктазного комплекса (*ndh A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K*), который, как предполагается, участвует в циклическом потоке электронов с участием ФС I [36]. Этот комплекс не является обязательным для фотосинтеза, поскольку в геноме голосеменных *Pinus thunbergii* гены всех субъединиц этого комплекса отсутствуют. Хлоропластный геном кодирует также БС РБФК (*rbcL*). Только часть белков основных комплексов ТМХ кодируется пластидным геномом, другие белки кодируются ядерными генами.

***Гены генетической системы.***Наибольшая группа генов (всего 62), продукты которых участвуют на всех этапах экспрессии пластидного генома: 30 генов тРНК (*trn*), четыре –рРНК (*rrn*), 21 ген рибосомных белков (девять для большой субчастицы (*rpl*) и 12 – для малой (*rps*), четыре гена для субъединиц мультисубъединичной хлоропластной РНК-полимеразы (*rpo*; PEP), *matK*ген кодирует матуразу, которая участвует в сплайсинге интронов II группы и локализуется в интроне гена *trnK*, *clpP*кодирует субъединицу хлоропластной протеазы (Caseinolytic protease) и *infA* – кодирует фактор инициации трансляции IF-1 [36]. Все тРНК кодируются пластидным геномом. В отличие от генов прокариот ни один пластидный ген тРНК не кодирует 3’-CCA конец. Интересно, что кроме участия в трансляции tRNA-Glu вовлекается в синтез δ-аминолевулиновой кислоты, которая является предшественником хлорофилла [39]. Из четырех типов рРНК три (23S, 5S и 4.5S) связаны с 50S субчастицей. 16S рРНК входит в 30S субчастицу. Все рРНК кодируются *rrn* опероном и расположены в следующей последовательности: *rrn16-trnI-trnA-rrn23-rrn4,5-5S.*Две трети генов рибосомных белков кодируются ядром, остальные пластомом. Четыре субъединицы РНК-полимеразы бактериального типа кодируются пластидным геномом (*rpoA, rpoB , rpoC1* и *rpoC2*), а все σ-факторы и РНК полимеразы фагового типа кодируются ядерными генами [40, 41].

***Другие гены.***К этой группе относятся гены, которые не вовлечены прямо в процесс фотосинтеза и в генетическую систему хлоропластов. К ним можно отнести *accD*ген, кодирующий β-субъединицу ацетил-КоА-карбоксилазы, ключевой фермент биосинтеза жирных кислот [42]. Высоко консервативный ген *ccsA*(*ycf5*) кодирует белок, участвующий в биогенезе цитохромов С у фотосинтезирующих растений. Ген *cemA* (*ycf10*) кодирует белок внутренней мембраны хлоропластов, инактивация которого приводит к снижению поглощения CO2. Кроме того, есть немногочисленные открытые рамки считывания (*ycf1*и *ycf2*), кодирующие белки пока неизвестной функции. Есть в хлоропластном геноме также не кодирующие открытые рамки считывания размером не более 150 кодонов, которые, как предполагается, не имеют большого функционального значения [36].

Несмотря на консерватизм пластидного генома, некоторые различия в наборе генов обнаружены между однодольными и двудольными растениями. Например, в хлоропластном геноме риса и кукурузы отсутствует *accD* ген и открытая рамка считывания *ycf2*. Интересно отметить, что в хлоропластном геноме высших растений есть две пары перекрывающихся генов: гены *atpB* и *atpE*перекрываются у табака и ячменя на 4 п.н., а гены *psbD* и *psbC* у табака перекрываются на 17 п.н., а у ячменя – на 53 п.н.

Для пластидного генома характерны как эукариотические, так и прокариотические признаки. Около половины пластидных генов объединены в опероны - это свойство прокариот, однако объединяются в пластидные опероны и гены, кодирующие функционально-различные белки. Опероны часто имеют несколько промоторов, которые могут узнаваться разными РНК-полимеразами. В отличие от бактериальных генов от 15 до 17 пластидных генов растений имеют интроны, что предполагает наличие сплайсинга, а это уже эукариотический признак. Кроме того, для пластид характерно редактирование их транскриптов.

*Нуклеоидная организация пластидной ДНК*

ДНК в пластидах организована в нуклеоиды. Нуклеоиды − это сложные комплексы, состоящие из ДНК, РНК и белков, которые проявляют различные ферментативные активности, участвуют в репарации, репликации, рекомбинации, транскрипции и в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов [31, 37, 43 − 46]. Обычно в один нуклеоид входят 10-20 копий пластидной ДНК. Структурная организация нуклеоидов пластид более сложная, чем у бактерий. В ходе развития пластид и в ответ на экзогенные факторы изменяется количество нуклеоидов и их локализация в хлоропласте. Даже внутри одного хлоропласта нуклеоиды могут отличаться по размеру и составу белков. Структурная организация и гетерогенность нуклеоидов, вероятно, регулируются многими белками, ассоциированными с ДНК.

В тщательно очищенных нуклеоидах пропластид и зрелых хлоропластов листьев кукурузы было идентифицировано более 150 белков [45 − 47]. Белки являются важнейшим компонентом нуклеоидов. Именно от состава белков и уровня их ферментативных активностей в значительной степени зависят изменения, происходящие в ходе биогенеза хлоропластов. В нуклеоидах всех исследованных высших растений (кроме некоторых паразитических растений) обнаружены субъединицы хлоропластной РНК-полимеразы пластидного кодирования. Они связаны, по крайней мере, с 12 белками, которые важны для инициации, элонгациии и терминации транскрипции [46]. Однако до настоящего времени РНК-полимераза фагового типа в нуклеоидах не идентифицирована. Только один ϭ-фактор (SIG 2) удалось обнаружить в препаратах нуклеоидов в проростках кукурузы [47].

Нуклеоиды содержат ДНК- и РНК-связывающие белки [46, 47], участвующие в созревании рРНК и сборке рибосом. В нуклеоидах обнаружены ДНК-гиразы и ДНК-полимераза (Pol I), которая отвечает за репликацию пластидной ДНК. Обнаружено значительное количество белков, создающих необходимую конформацию ДНК и структуру нуклеоидов и обеспечивающих их локализацию в хлоропластах. Трансмембранный PEND белок (the plastid envelope DNA binding protein) bZIP доменом специфично связывается с AT-обогащенной областью пластидной ДНК [46] и обеспечивает прикрепление нуклеоида к внутренней мембране хлоропласта. Ряд других белков нуклеоидов, таких как MFP1, TCP34 и pTAC16 участвуют в связывании нуклеоидов с тилакоидными мембранами. Сульфитредуктаза – один из наиболее представленных белков нуклеоидов. Она неспецифично связывается с ДНК, делая ее более компактной, что приводит к дифференциальному изменению транскрипционной активности генов изолированных нуклеоидов. CND41 белок лизин – богатой последовательностью неспецифично связывается с ДНК и подавляет экспрессию хлоропластных генов фотосинтетических белков. Подавление накопления CND41 белка приводит к подавлению старения, а увеличение его содержания вызывает ускоренное старение. Очень интересен YLMG1 белок, который отвечает за распределение нуклеоидов в хлоропласте [48]. Хлоропласты растений дикого типа *A. thaliana* содержат многочисленные нуклеоиды, в то время как оверэкспрессия YLMG1 белка приводит к агрегации нуклеоидов в большие структуры [48]. Белки, содержащие SWIB домен, имеют низкую молекулярную массу, высокую изоэлектрическую точку и высокое содержание лизина. Они являются ДНК-связывающими белками нуклеоидов и, возможно, могут выполнять роль гистонов в хлоропластах [46].

Кроме того в нуклеоидах обнаружен ряд бифункциональных белков, например, таких как сульфитредуктаза и CND41, а также ряд белков, которые локализуются как в пластидах, так и в ядре [49]. Идентифицированы два белка ERAL1 и NOA1, которые являются гомологами белков митохондриальных нуклеоидов. Фактор элонгации трансляции EF-Tu, кроме основной роли в белковом синтезе, участвует в адаптации растений к стрессам [46], ускоряя ренатурацию поврежденных при стрессе белков. Причем некоторые из белков могут изменять структуру ДНК, что может быть одним из возможных механизмов взаимного влияния ядра и хлоропластов в регуляции метаболизма растительной клетки.

Пластиды могут быть хранилищем белков, функционирующих в ядре [46]. Это относится, прежде всего, к ДНК-связывающим белкам, которые в пластидах связаны с нуклеоидами (такие белки как PEND, MFP1 и WHIRLY1). Транслокация таких белков в ядро может быть быстрым ответом на внезапный стресс вызванный, например, атакой патогенов.

По мнению Melonek с соавторами [46] нуклеоиды могут быть связующим звеном между внешними сигналами, влияющими на транспорт электронов фотосинтетической ЭТЦ, с одной стороны, и экспрессией генов и метаболическими процессами хлоропластов, с другой.

ЭКСПРЕССИЯ ПЛАСТИДНОГО ГЕНОМА

*Транскрипция*

За два последние десятилетия достигнуты большие успехи в изучении механизмов экспрессии пластидного генома и это относится, прежде всего, к процессу транскрипции. Именно в этот период были открыты две новые пластидные РНК-полимеразы ядерного кодирования и шесть сигма-факторов. Пластидная транскрипция оказалась исключительно сложной.

**Хлоропластная РНК-полимераза бактериального типа.**Мультисубъединичная пластидная РНК-полимераза бактериального типа (plastid-encoded plastid RNA polymerase, PEP) была открыта в 1986 году [50]. Она состоит из α-, β-, β’- и β’’-субъединиц, которые кодируются пластидными генами *rpoA, rpoB, rpoC1* и *rpoC2* соответственно. По структуре и ферментативным свойствам она сходна с РНК-полимеразой *E. coli* и поэтому стала называться РНК-полимеразой бактериального типа. PEP чувствительна к ингибитору бактериальной транскрипции тагетитоксину. Она обнаружена в нуклеоидах и может быть выделена из пластид как растворимый фермент, или как нерастворимая транскрипционно-активная хромосома (insoluble transcriptionally active chromosome; рTAC). рTAC содержит ДНК, субъединицы PEP и другие белки [43, 45, 51]. РЕР распознает прокариотические промоторы, содержащие -35 (TTGACA) и -10 (ATTAAT) консервативные последовательности, но они более вариабельны у хлоропластов, чем в прокариотах [40].

**Сигма-факторы.** Для распознавания промоторов и инициации транскрипции для РЕР необходимы σ-факторы, которые кодируются малым семейством ядерных генов (*SIG1, SIG2, SIG3, SIG4, SIG5*и *SIG6*). Сигма-факторы взаимодействуют с РЕР и определяют специфичность транскрипции пластидных генов. Они структурно и функционально сходны с σ-70 бактериальными факторами транскрипции, но отличаются от них наличием на N-конце молекулы неконсервативной последовательности (200-300 аминокислот) и транспептида (30-60 аминокислот), который отвечает за поступление σ-факторов в хлоропласты [41]. Структура, функция и эволюция пластидных σ-факторов рассмотрены в обзорах [41, 52]. Из шести сигма факторов в настоящее время лучше изучены *SIG2*, *SIG5* и *SIG6*.

*SIG2* активно экспрессируется в хлоропластах, индуцируется светом, обеспечивает сильную транскрипцию *psbA* гена. Инактивация *SIG2* гена приводит к бледно-зеленому фенотипу и к серьезному нарушению ультраструктуры хлоропласта. *SIG5* активно экспрессируется в ответ на различные абиотические стрессоры [53]. *SIG5* участвует в транскрипции *psbD* гена с *BLRP-948*промотора. При инактивации *AtSIG5*гена нарушается экспрессия *psbD* оперона и снижается устойчивость мутантов к различным стрессорам. *SIG6*экспрессируется наиболее активно в нефотосинтезирующих тканях. Предполагается важная роль этого *транс*-фактора на ранних этапах развития растений. Имеющиеся результаты позволяют предположить, что каждый сигма-фактор преимущественно участвует в транскрипции определенных пластидных генов.

**Белки, связанные с коровыми субъединицами PEP**. По мере превращения этиопластов в хлоропласты после тщательной очистки выделяется РНК-полимеразный комплекс, в состав которого входят базовые субъединицы РЕР (α-, β-, β’-, β’’) и 12 дополнительных полипептидов (PEP-associated proteins, PAPs). Формируется так называемый минимальный РНК-полимеразный комплекс, транскрипционная активность которого *in vitro* зависит от экзогенной ДНК [45, 54, 55]. Только после формирования такого комплекса этиопласты превращаются в хлоропласты. Получены нокаутированные линии по генам всех 12 белков. Все мутанты давали бесхлорофильный или бледно-зеленый фенотип с подавленным развития хлоропластов. В то же самое время эти белки были не важны для транскрипции в условиях *in vitro*. Двенадцать дополнительных полипептидов найдены также в нуклеоидах и транскрипционно-активной хромосоме. Предполагается, что часть этих белков может участвовать в регуляции транскрипции, другие, возможно, выполняют структурную функцию. При отсутствии любого из РАР останавливается сборка минимального комплекса, или он становится крайне нестабильным и разрушается, что и приводит к ингибированию транскрипции и остановке превращения этиопластов в хлоропласты. Таким образом, РАРs играют важнейшую роль, как в регуляции транскрипции, так и в биогенезе хлоропластов.

**Хлоропластные РНК-полимеразы ядерного кодирования.**Под руководством проф. Бернера в 1997 г. в Берлинском университете была открыта пластидная РНК-полимераза ядерного кодирования (nuclear-encoded plastid RNA polymerase of the phage T3/T7 type, NEP) фагового типа. NEP кодируется *RPOT*(RNA polymerase) генами [56, 57]. Ген, кодирующий NEP, образовался путем дупликации ядерного гена, кодирующего митохондриальную РНК полимеразу.

NEP представлена в однодольных растениях одной формой RPOTp, которая локализуется только в хлоропластах, а в двудольных растениях двумя формами RPOTp и RPOTmp, причем, RPOTmp участвует в транскрипции как пластидных, так и митохондриальных генов [57] и она наиболее важна для экспрессии митохондриального генома [58]. РНК-полимераза фагового типа состоит только из одной каталитической субъединицы (110 кДа) [56, 57]. Пока не идентифицирован ни один *транс*-фактор для РНК-полимеразы фагового типа. Многочисленные белки, взаимодействующие с PEP, не взаимодействуют с RPOTp или RPOTmp. NEP не выделяются вместе с PEP и не обнаруживаются среди белков нуклеоидов [47]. Ядерно-кодируемые РНК-полимеразы имеют промоторы похожие на промоторы бактериофагов и митохондрий. В пластидах выделяют 2 группы таких промоторов [40].

Как PEP, так и NEP важны для пластидной транскрипции и биогенеза хлоропластов. Нокаутированные мутанты по гену β-субъединицы PEP имеют безхлорофильный фенотип и могут расти только на питательной среде [59]. При инактивации *RPOTp* или *RPOTmp* генов в *Arabidopsis* получаются растения с задержанным биогенезом хлоропластов, измененным морфогенезом листьев и подавленным ростом. По имеющимся в настоящее время данным PEP и NEP транскрибируют пластидные гены одновременно и в одних и тех же тканях [57]. Однако считается общепризнанным, что РЕР более активно транскрибирует гены фотосинтетических белков, а NЕР – гены генетической системы. Возможно ли взаимодействие обоих типов РНК полимераз, пока неизвестно.

Для пластидных генов характерно наличие многочисленных и разнообразных промоторов, в том числе и внутри оперонных [40, 60]. Многие гены имеют промоторы, узнаваемые обеими РНК-полимеразами. Интересно отметить, что в пластидах разных видов растений один и тот же ген может транскрибироваться с разных промоторов [40].

Таким образом, в пластидах наблюдается очень сложная регуляция транскрипции, которая обусловлена в значительной степени сложностью транскрипционного аппарата пластид, и это обеспечивает тонкую регуляцию экспрессии генов в ответ на различные воздействия.

*Посттранскрипционные этапы экспрессии пластидных генов*

В ходе эволюции значительно снизилось количество хлоропластных генов и резко увеличилось поступление в хлоропласт ядерных, в том числе и регуляторных белков. Не уменьшая значения транскрипционной регуляции, считается, что в ходе эволюции в пластидах произошло ослабление роли транскрипционной регуляции и усиление посттранскрипционной [61]. На высших растениях и водорослях было показано, что свет активирует накопление быстро обновляющегося D1 белка ФС II в 50−100 раз без параллельного увеличения уровня мРНК *psbA*, что говорит о важности посттранскрипционной регуляции [62, 63]. Посттранскрипционный контроль осуществляется на уровне стабильности транскриптов, трансляции, а также на уровне стабильности и активности белков [61, 63, 64].

Важнейшую роль в посттранскрипционной регуляции экспрессии пластидных генов играет процессинг или созревание РНК, под которым мы понимаем все события, которые происходят с РНК при ее превращении из первичного транскрипта в зрелую РНК (мРНК, тРНК или рРНК). Можно выделить три главных этапа посттранскрипционного созревания РНК: сплайсинг, редактирование и созревание 5'- и 3'- концов РНК. Постранскрипционная регуляция особенно важна для хлоропластной РНК, поскольку более половины пластидных генов объединены в опероны. При транскрипции оперонов получается большой предшественник РНК, который может содержать копии множества генов, кодирующих, в том числе и функционально различные белки. По мере созревания РНК-предшественника может получаться большой набор транскриптов. Например, в ходе созревания первичного транскрипта *psbB*оперона, кодирующего пять белков ТМХ, три из которых являются компонентами ФС II (*psbB*, *psbT*, *psbH*) и два − компонентами цитохром *b6/f* комплекса (*petB*, *petD*), образуется около 20 транскриптов разного размера [65]. Результатом процессинга является получение зрелых функционально активных молекул РНК.

**Сплайсинг пластидных транскриптов.**Некоторые пластидные гены (обычно 15−17 генов на пластом) имеют экзон-интронную структуру и подвергаются сплайсингу, то есть вырезанию интронов и объединению экзонов. В геноме пластид растений встречается только один интрон I группы и около 20 интронов II группы, которые, различаются механизмом сплайсинга и консервативными структурными элементами [66, 67]. Интрон I группы находится в *trnL-UAA* гене и является наиболее древним интроном пластид. Количество интронов II группы неодинаково в разных видах растений. Ни один интрон наземных растений не способен к самосплайсингу в условиях *in vitro*. У *rps12*гена наблюдается *транс*-сплайсинг, при котором мРНК сплассируется из двух независимых предшественников.

В растительной клетке сплайсинг идет с участием белков как пластидного, так и ядерного кодирования. Предполагается, что белки сплайсинга активируют фолдинг интронов в их каталитически-активные структуры. Кроме того, белки могут действовать как РНК-шапероны, чтобы исправить неправильный фолдинг. При *транс*-сплайсинге белки могут участвовать в сборке фрагментов экзонов.

Матураза К, кодируемая *matK*геном, который локализуется в интроне *trnK*гена, является единственным белком пластидного кодирования, участвующим в сплайсинге пластидных генов у наземных растений [67]. Однако основное число белковых факторов, участвующих в сплайсинге пластидных генов, кодируются ядерным геномом. Благодаря большому количеству ядерных мутантов с нарушенным сплайсингом найдено 16 белков у покрытосеменных растений, которые необходимы для сплайсинга одного или нескольких интронов II группы [68]. Белки, имеющие РНК связывающий CRM (chloroplast RNA splicing and ribosome maturation) домен, участвуют в сплайсинге нескольких разных интронов. Белки, участвующие в сплайсинге ядерных и пластидных транскриптов, различны. Эффективность сплайсинга изменяется в ходе биогенеза хлоропластов. Значительное увеличение прошедших сплайсинг мРНК обнаруживается в зрелых активно функционирующих хлоропластах, что способствует увеличению синтеза хлоропластных белков.

**Редактирование РНК.**Хлоропласты имеют механизм, способный изменять последовательность транскрипта в сравнении с последовательностью кодируемого его гена [69, 70]. Этот процесс, называемый редактированием (editing) РНК, был открыт в пластидах в 1991 году. В хлоропластах известны только два типа замен C-U и реже U-C. В пластидах цветковых растений существует от 30 до 40 сайтов редактирования. Редактирование обычно происходит в кодирующей последовательности и только в редких случаях - в интронах или некодирующих областях. Редактируемые кодоны всегда кодируют аминокислоты очень важные для функции белка. Редактирование бывает важно для получения активного белка. Иногда редактирование необходимо, чтобы создать сайт инициации трансляции или “исправить” сайт терминации трансляции. *Транс*-аминирование является наиболее вероятным механизмом C-U превращения. Однако пока неизвестно может ли происходить замена C на U котранскрипционно с участием РНК-полимеразы или действием цитидиндезаминазы в синтезированном предшественнике мРНК. Временная последовательность сплайсинга и редактирования специфична для отдельных индивидуальных матриц. Например, *petB*и *ycf3* транскрипты проходили полное редактирование независимо от сплайсинга, однако несплайсированная *ndhA* мРНК шпината не редактируется вовсе. Редактирование зависит от *ци*с-элементов, которые участвуют в определении места замены основания, и *транс*-факторов, которые отвечают за распознавание сайта редактирования и катализ. Все *транс*-факторы редактирования кодируются ядром. Предложены две модели гипотетической эдитосомы, осуществляющей редактирование РНК в хлоропластах [67, 71].

**Созревание 5’- и 3’-концов РНК.**Набор хлоропластных транскриптов включает первичные транскрипты, которые образуются при инициации транскрипции и на 5’-концах несут ди- или трифосфаты, и процессированные транскрипты, которые образуются в ходе процессинга и на 5’-конце имеют гидроксильную группу. При наличии одного оперонного промотора и многих сайтов процессинга может образоваться большой набор транскриптов, как, например, у *psbB*оперона [65, 72]. 5’-конец транскрипта в ходе процессинга может сформироваться за счет 5’-3’ экзонуклеазного пути или за счет сайт-специфичного разрезания эндорибонуклеазами. 5’-3’-активностью обладает РНКаза E, но ее активность недостаточна для модификации первичных транскриптов. РНКаза J обладает не только 5’-3’-экзонуклеазной, но и эндонуклеазной активностями. Предполагается, что РНКаза J за счет эндонуклеазной активности отщепляет НТФ с 5’-конца и затем может включиться экзонуклеазная активность. Протяженность процессинга с 5’-конца определяется специфическими РНК-связывающими белками (прежде всего PPR- белками группы «Р») и/или вторичной структурой РНК.

Большинство 3’-концов пластидных РНК образуются не в результате терминации транскрипции, а в результате процессинга первичного транскрипта, в котором участвуют экзо- и эндорибонуклеазные активности и РНК-связывающие белки. Транскрипт может являться субстратом 3’-5’ экзонуклеазной активности полинуклеотидфосфорилазы (ПНФаза), которая чувствительна к вторичной структуре РНК и не может разрушить инвертированный повтор. Если есть шпилечная структура, на первом этапе необходима эндорибонуклеаза или 3’-конец транскрипта может быть полиаденилирован и это активирует экзонуклеазную активность ПНФазы, которая гидролизует фрагмент с инвертированным повтором [73]. ПНФаза действует как полимераза и как 3'-5'-экзорибонуклеаза. Для внутрицистронного разрезания транскрипта требуются эндонуклеаы, а после первичного разрезания необходимы 3’-5’- и 5’-3’-экзорибонуклеазные активности и сайт-специфические РНК-связывающие белки, которые определяют концы пластидной РНК.

Любая РНК (мРНК, рРНК или тРНК), прошедшая процессинг, становится функционально активной. Она способна транслироваться, участвовать в синтезе белка или в формировании полисом.

*Трансляция*

Трансляция является важнейшим посттранскрипционным этапом экспрессии пластидных генов. Аппарат хлоропластной трансляции очень похож на бактериальный аппарат синтеза белка [74, 75]. Например, в шпинате пластидные рибосомы имеют 59 белков (33 в 50S и 25 в 30S субъединицах и предполагаемый фактор освобождения в 70S рибосомах), из которых ортологами бактерий являются 53 белка, а шесть белков уникальны для пластидных рибосом. Примерно две трети рибосомных белков кодируется ядерным геномом. В большой субъединице (50S) белки взаимодействуют с тремя рРНК: 23S, 5S и 4.5S, а в малой (30S) с - одной рРНК - 16S. Все рРНК кодируются в составе одного оперона *rrn.* Все тРНК кодируются пластидным геномом.

Инициация является наиболее регулируемой стадией трансляции. Она начинается с формирования преинициирующего комплекса, состоящего из 30S рибосомной субъединицы и инициаторной тРНК, которая выбирает на мРНК сайт инициации трансляции. Кодонами инициации пластидной трансляции являются AUG, и значительно более редко GUG или UUG [76]. Как и в бактериях, на 3’-конце 16S рРНК есть последовательность, комплементарная Shine–Dalgarno (SD, сайт связывания рибосом) последовательности, которая локализуется в 5’-некодируемой области мРНК и участвует в формировании инициирующего комплекса. Многие пластидные мРНК имеют SD последовательность, расположенную в “правильном” месте относительно сайта инициации трансляции как у прокариот, однако у 2/3 пластидных мРНК локализация SD отличается и у них инициация трансляции не может проходить по прокариотическому типу. У таких мРНК инициация трансляции может начинаться с помощью альтернативных путей с участием других *цис*-элементов и *транс*-факторов. Комплекс 30S с мРНК в прокариотах включает три фактора инициации IF1, IF2, IF3. В пластидах эти факторы отличаются от прокариотических.

В ходе элонгации трансляции рибосома «скользит» вдоль кодирующей последовательности мРНК, включая аминокислоты, соответствующие каждому кодону, в растущую полипептидную цепь с помощью факторов элонгации трансляции EF-Tu, EF-G, и EF-Ts. Пластиды используют стандартный генетический код. Трансляция останавливается, когда рибосома достигает одного из трех терминирующих кодонов (UAA, UAG или UGA). Процесс терминации требует участия факторов освобождения (ribosome release factors) [77]. При этом 70S рибосома диссоциирует на 30S и 50S субъединицы, освобождается синтезированный полипептид, мРНК и 30S субъединица получают способность к новому циклу инициации трансляции [78]. Инициация трансляции может происходить в темноте, а элонгация трансляции мРНК фотосинтетических белков может инициироваться светом. Это является очень быстрым способом регуляции уровня фотосинтетических белков в хлоропластах.

Таким образом, проанализировав доступные в настоящее время экспериментальные данные, можно заключить, что строение и основные этапы экспрессии пластидного генома организованы по прокариотическому типу, однако из-за длительного пребывания пластид в ходе эволюции в эукариотическом окружении в них произошли значительные изменения. Пластиды утратили 95% генов в сравнении со свободноживущими цианобактериями и потеряли способность к существованию вне эукариотической клетки. Они кодируют только около 3% всех обнаруженных в хлоропластах белков. Значительно усложнился в пластидах процесс транскрипции из-за появления двух дополнительных РНК-полимераз ядерного кодирования, большого количества промоторов у пластидных генов, узнаваемых РНК-полимеразами обоих типов. В связи с появлением интронов возник сплайсинг, появилось редактирование транскриптов. Процесс трансляции в пластидах значительно отличается от прокариот. Между ДНК-содержащими органеллами клетки происходит постоянный обмен информацией, направленный на координацию действий в ответе клетки на экзогенные и эндогенные факторы. Все это создает очень сложную регуляцию экспрессии пластидных генов, в которой участвует большое количество белков ядерного кодирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом

Грант № 14–14–00584.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Минск: Тэхналогiя. 2003. 494 с.
2. Martin W., Herrmann R.G. Gene transfer from organelles to the nucleus: how much, what happens, and Why? // Plant Physiol. 1998. V. 118. P. 9−17.
3. Martin W., Rujan T., Richly E., Hansen A., Cornelsen S., Lins T., Leister D., Stoebe B., Hasegawa M., Penny D. Evolutionary analysis of Arabidopsis, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 12246−12251.
4. Nakayama T., Archibald J.M. Evolving a photosynthetic organelle // BMC Biol. 2012. Apr 24;10:35. doi: 10.1186/1741-7007-10-35.
5. Matsuo M., Ito Y., Yamauchi R., Obokata J. The rice nuclear genome continuously integrates, shuffles, and eliminates the chloroplast genome to cause chloroplast–nuclear DNA flux // The Plant Cell. 2005. V. 17. P. 665–675.
6. Cullis C.A., Vorster B.J., Van Der Vyver C., Kunert K.J. Transfer of genetic material between the chloroplast and nucleus: how is it related to stress in plants? // Ann. Bot. 2009. V. 103. P. 625−633.
7. Stegemann S., Hartmann S., Ruf S., Bock R. High-frequency gene transfer from the chloroplast genome to the nucleus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 8828−8833.
8. Huang C.Y., Ayliffe M.A., Timmis J.N. Direct measurement of the transfer rate of chloroplast DNA into the nucleus // Nature 2003. V. 422. P. 72−76.
9. Bräutigam K., Dietzel L., Pfannschmidt Th. Plastid-nucleus communication: anterograde and retrograde signalling in the development and function of plastids // Topics in Current Genetic V. 19: Cell and Molecular Biology of Plastids / Eds. Bock, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. P. 409−451.
10. Kleffmann T., Hirsch-Hoffmann M., Gruissem W., Baginsky S. Plprot: a comprehensive proteome database for different plastid types // Plant Cell Physiol. 2006. V. 47. P. 432−436.
11. Nott A., Jung H.-S., Kousservitzky S., Chory J. Plastid-to-nucleus retrograde signaling // Ann. Rev. Plant Biol. 2006. V. 57. P. 739−759.
12. Юрина Н.П., Осипенкова О.В., Одинцова М.С. Тетрапирролы высших растений: биосинтез, его регуляция и их роль в передаче ретроградных сигналов // Физиология растений. 2012. Т. 59. С. 3−16.
13. Börner Th. The discovery of plastid-to-nucleus retrograde signaling—a personal perspective // Protoplasma. 2017. DOI 10.1007/s00709-017-1104-1
14. Mayfield S., Taylor W. Carotenoid-deficient maize seedlings fail to accumulate lightharvesting chlorophyll a/b binding protein (LHCP) mRNA // Eur. J. Biochem. 1984. V. 144. P. 79−84.
15. Oelmüller R., Mohr H. Photooxidative destruction of chloroplasts and its cosequences for expression of nuclear genes // Planta. 1986. V. 167. P. 106−113.
16. Strand A. Plastid-to-nucleus signaling // Curr. Opin. Plant Biol. 2004. V. 7. P. 621−625.
17. Susek R., Ausubel F., Chory J. Signal transduction mutants of Arabidopsis uncouple nuclear CAB and RBCS gene expression from chloroplast development // Cell. 1993. V. 74. P. 787−799.
18. Fey V., Wagner R., Bräutigam K., Wirtz M., Hell R., Dietzmann A., Leister D., Oelmüller R., Pfannschmidt T. Retrograde plastid redox signals in the expression of nuclear genes for chloroplast proteins of Arabidopsis thaliana // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 5318−5328.
19. op den Camp R.G., Przybyla D., Ochsenbein C., Laloi C., Kim C., Danon A., Wagner D., Hideg E., Gobel C., Feussner I., Nater M., Apel K. Rapid induction of distinct stress responses after the release of singlet oxygen in Arabidopsis // Plant Cell. 2003. V. 15. P. 2320−2332.
20. Wagner D., Przybyla D., Op den Camp R., Kim C., Landgraf F., Lee K.P., Wursch M., Laloi C., Nater M., Hideg E., Apel K. The genetic basis of singlet oxygen-induced stress responses of Arabidopsis thaliana // Science. 2004. V. 306. P. 1183−1185.
21. Hedtke B., Wagner I., Börner Th., Hess W.R. Inter-organellar crosstalk in higher plants: impaired chloroplast development affects mitochondrial gene and transcript levels // Plant J. 1999. V. 19. P. 635–643.
22. Hess W.R., Hübschmann T., Börner T. Ribosome-deficient plastids of albostrians barley: extreme representatives of non-photosynthetic plastids // Endocytobiosis Cell Res. 1994. V. 10. P. 65−80.
23. Busi M.V., Gomez-Lobato M.E., Rius S.P., Turowski V.R., Casati P., Zabaleta E.J., Gomez-Casati D.F., Araya A. Effect of mitochondrial dysfunction on carbon metabolism and gene expression in flower tissues of Arabidopsis thaliana // Mol. Plant. 2011. V. 4. P. 127−143.
24. Joyarda J., Ferrob M., Masselonb Ch., Seigneurin-Bernya D., Salvia D., Garinb J., Rollanda N. Chloroplast proteomics and the compartmentation of plastidial isoprenoid biosynthetic pathways // Molecular Plant. 2009. V. 2. P. 1154–1180.
25. Sakakibara H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation // Annu. Rev. Plant Biol. 2006. V. 57. P. 431−449.
26. Reyes-Prieto A., Moustafa A. Plastid-localized amino acid biosynthetic pathways of Plantae are predominantly composed of non-cyanobacterial enzymes // Sci. Rep. 2012. V. 2. 955. P. 1-12. doi: 10.1038/srep00955.
27. Clément C., Pacini E. Anther plastids in angiosperms // Bot. Rev. 2001. V. 67:54. doi:10.1007/BF02857849
28. Pyke K. Plastid biogenesis and differentiation // Cell and molecular biology of plastids. Topics in Current Genetics, V. 19 / Eds. Bock R. Springer, Heidelberg. 2007. P. 1–28.
29. Ris H., Plaut W. Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of Chlamydomonas // J. Cell Biol. 1962. V. 13. P. 383–391.
30. Bendich A.J. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome? // Bioessays. 1987. V. 6. P. 279−282.
31. Liere K., Berner T. Development-dependent changes in the amount and structural organization of plastid DNA // Plastid Development in Leaves During Growth and Senescence, Advances in Photosynthesis and Respiration, Eds. Biswal B., K. Krupinska K., Biswal U.C., Springer Science+Business Media Dordrecht. 2013. P. 215–237.
32. Baumgartner B.J., Rapp J.C., Mullet J.E. Plastid transcription activity and DNA copy number increase early in barley chloroplast development // Plant Physiol. 1989. V. 89. P. 1011−1118.
33. Evans I.M., Rus A.M., Belanger E.M., Kimoto M., Brusslan J.A. Dismantling of Arabidopsis thaliana mesophyll cell chloroplasts during natural leaf senescence // Plant Biol. 2010. V. 12. P. 1–12.
34. 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. V. 76. P. 273−297.
35. Sugiura M. The chloroplast genome // Plant Mol. Biol. 1992. V. 19. P. 149–168.
36. Bock R. Structure, function, and inheritance of plastid genomes // Cell and molecular biology of plastids. Topics in Current Genetics. V. 19 / Eds. Bock R., Springer, Heidelberg, 2007. P. 29–62.
37. Yurina N.P., Sharapova L.S., Odintsova M.S. Structure of plastid genomes of photosynthetic eukaryotes // Biochemistry (Moscow). 2017. V. 82. P. 678−691.
38. Антонов А.С. Геносистематика растений. М.: Академкнига. 2006. 293 с.
39. Аверина Н.Г., Рудой А.Б., Савченко Г.Е., Фрадкин Л.И., Чайка М.Т., Беляева О.Б., Одинцова М.С., Островская Л.К., Филиппович И.И. Биосинтез пигментного аппарата фотосинтеза. Минск: Наука и техника, 1988. 319 с.
40. Liere K., Börner T. Transcription and transcriptional regulation in plastids // Cell and Molecular Biology of Plastids / Eds. Bock R., Springer Berlin/Heidelberg, 2007, P. 121−174.
41. Lysenko E.A. Plant sigma factors and their role in plastid transcription // Plant Cell Rep. 2007. V. 26. P. 845−859.
42. Sasaki Y., Konishi T., Nagano Y. The compartmentation of acetyl-coenzyme A carboxylase in plants // Plant Physiol. 1995. V. 108. P. 445−449.
43. Krupinska K., Melonek J., Krause K. New insights into plastid nucleoid structure and functionality // Planta 2013. V. 237. P. 653–664.
44. Sakai A., Takano H., Kuroiwa H. Organelle nuclei in higher plants: structure, composition, function, and evolution // Int. Rev. Cytol. 2004. V. 238. P. 59–118.
45. Pfalz J., Pfannschmidt Th. Essential nucleoid proteins in early chloroplast development // Trends in Plant Science. 2013. V. 18. P. 186−194.
46. Melonek J., Oetke S., Krupinska K. Multifunctionality of plastid nucleoids as revealed by proteome analyses // Biochim. Biophys. Acta. 2016. V. 1864. P. 1016−1038.
47. Majeran W., Friso G., Asakura Y., Qu X., Huang M., Ponnala L., Watkins K.P., Barkan A., van Wijk K.J. Nucleoid-enriched proteomes in developing plastids and chloroplasts from maize leaves; a new conceptual framework for nucleoid functions // Plant Physiol. 2012. V. 158. P. 156–189.
48. Kabeya Y., Nakanishi H., Suzuki K., Ichikawa T., Kondou Y., Matsui M., Miyagishima S.Y. The YlmG protein has a conserved function related to the distribution of nucleoids in chloroplasts and cyanobacteria // BMC Plant Biol. 2010. 10. 57. P. 1-13. doi: 10.1186/1471-2229-10-57.
49. Krupinska K., Oetke S., Desel C., Mulisch M., Schäfer A., Hollmann J., Kumlehn J., Hensel G. WHIRLY1 is a major organizer of chloroplast nucleoids // Front. Plant Sci. 2014. V. 5. Article 432. P. 1-11. doi: 10.3389/fpls.2014.00432.
50. Лысенко Е.А., Кузнецов В.В. РНК-полимеразы пластид // Молекулярная биология. 2005. Т. 39. С. 762−775.
51. Liere K., Börner T. Transcription of plastid genes // Regulation of transcription in plants/ Eds. Grasser K.D., Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2006. P. 184−224.
52. 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. V. 76. P. 235−249.
53. Nagashima A., Hanaoka M., Shikanai T., Fujiwara M., Kanamaru K., Takahashi H., Tanaka K. The multiple-stress responsive plastid sigma factor, SIG5, directs activation of the psbD blue light-responsive promoter (BLRP) in Arabidopsis thaliana // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45. P. 357−368.
54. Steiner S., Schröter Y., Pfalz J., Pfannschmidt T. Identification of essential subunits in the plastid-encoded RNA polymerase complex reveals building blocks for proper plastid development // Plant Physiol. 2011. V. 157. P. 1043–1055.
55. Yu Q. B., Huang C., Yang Z.-N. Nuclear-encoded factors associated with the chloroplast transcription machinery of higher plants // Frontiers in Plant Science. 2014. V. 5. Article 316, P. 1-10. doi: 10.3389/fpls.2014.00316
56. Hess W.R., Börner T. Organellar RNA polymerases of higher plants // Inter Rev. Cytol. 1999. V. 190. P. 1−59.
57. Börner Th., Aleynikova A.Yu., Zubo Ya.O., Kusnetsov V.V. Chloroplast RNA polymerases: role in chloroplast biogenesis. Biochimica et Biophysica Acta. (BBA) − Bioenergetics. 2015. V. 1847. P. 761–769.
58. Tarasenko V.I., Katyshev A.I., Yakovleva T.V., Garnik E.Y., Chernikova V.V., Konstantinov Y.M., Koulintchenko M.V. RPOTmp, an Arabidopsis RNA polymerase with dual targeting, plays an important role in mitochondria, but not in chloroplasts // J. Exp. Bot. 2016. V. 67. P. 5657−5669.
59. Legen J., Kemp S., Krause K., Profanter B., Herrmann R.G., Maier R. Comparative analysis of plastid transcription profiles of entire plastid chromosomes from tobacco attributed to wild-type end PEP-deficient transcription machineries // Plant J. 2002. V. 31. P. 171−188.
60. Zhelayzkova P., Sharma C.V., Förstner K.U., Liere K., Vogel J., Börner Th. The primary transcriptome of barley chloroplasts: numerous noncoding RNAs and the domonating role of the plastid-encoded RNA polymerase // The Plant Cell. 2012. V. 24. P. 123−136.
61. Eberhard S., Drapier D., Wollman F.-A. Searching limiting steps in the expression of chloroplast-encoded proteins: relations between gene copy number, transcription, transcript abundance and translation rate in the chloroplast of Chlamydomonas reinhardtii // Plant J. 2002. V. 31. P. 149–160.
62. Fromm H., Devic M., Fluhr R., Edelman M. Control of psbA gene expression: in mature
63. Spirodela chloroplasts light regulation of 32-kd protein synthesis is independent of
64. transcript level // EMBO J. 1985. V. 4. P. 291−295.
65. Klaff P., Gruissem W. Changes in Chloroplast mRNA Stability during Leaf Development // The Plant Cell. 1991. V. 3. P. 517−529.
66. Kahlau S., Bock R. Plastid transcriptomics and translatomics of tomato fruit development and chloroplast-to chromoplast differentiation: chromoplast gene expression largely serves the production of a single protein // Plant Cell. 2008. V. 20. P. 856–874.
67. Westhoff P., Herrmann R.G. Complex RNA maturation in chloroplasts. The psbB operon from spinach // Eur. J. Biochem. 1988. V. 171. P. 551−564.
68. Schmitz-Linneweber C., Barkan A. RNA splicing and RNA editing in chloroplasts // Topics in Current Genetic V.19R.: Cell and Molecular Biology of Plastids / Eds. Bock R. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007. Р. 213−248.
69. Stern D.B., Goldschmidt-Clermont M., Hanson M.R. Chloroplast RNA metabolism // Annu. Rev. Plant Biol. 2010. V. 61. P. 125−155.
70. Germain A., Hotto A.M., Barkan A., Stern D.B. RNA processing and decay in plastids. RNA (WIREs RNA). 2013. V. 4. P. 295−316.
71. Bock R. Sense from nonsense: how the genetic information of chloroplasts is altered by RNA editing // Biochimie. 2000. V. 82. P. 549−557.
72. Shikanai T. RNA editing in plants: Machinery and flexibility of site recognition. Biochim. Biophys. Acta. 2015. V. 1847. P. 779−785. DOI: 10.1016/j.bbabio.2014.12.010
73. Sugiura M. RNA editing in chloroplasts // RNA Editing. Nucleic Acids and Molecular Biology. V. 20. / Eds. Güringer H.U., Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008. P. 123−142.
74. Barkan A. Expression of plastid genes:organelle-specific elaborations on a prokaryotic scaffold // Plant Physiol. 2011. V. 155. P. 1520−1532.
75. Hunt A.G. Messenger RNA 3’-end formation and the regulation of gene expression // Regulation of gene expression in plants / Eds. Bassett C.L., Springer. 2007. P. 101−122.
76. Tiller N., Bock R. The Translational apparatus of plastids and its role in plant development // Molecular Plant. 2014. V. 7. P. 1105–1120.
77. Peled-Zehavi H., Danon A. Translation and translational regulation // Chloroplasts. Topics in Current Genetic V.19R. Cell and Molecular Biology of Plastids / Eds. Bock R., Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007. Р. 249−281.
78. Sugiura M., Hirose T., Sugita M. Evolution and mechanism of translation in chloroplasts // Annu. Rev. Genet. 1998. V. 32. P. 437−459.
79. Motohashi R., Yamazaki T., Myouga F., Ito T., Ito K., Satou M., Kobayashi M., Nagata N., Yoshida S., Nagashima A., Tanaka K., Takahashi S., Shinozaki K. Chloroplast ribosome release factor 1 (AtcpRF1) is essential for chloroplast development // Plant Mol. Biol. 2007. V. 64. P. 481–497.
80. Wang L., Ouyang M., Li Q., Zou M., Guo J., Ma J., Lu C., Zhang L. The Arabidopsis chloroplast ribosome recycling factor is essential for embryogenesis and chloroplast biogenesis // Plant Mol. Biol. 2010. V. 74. P. 47–59.