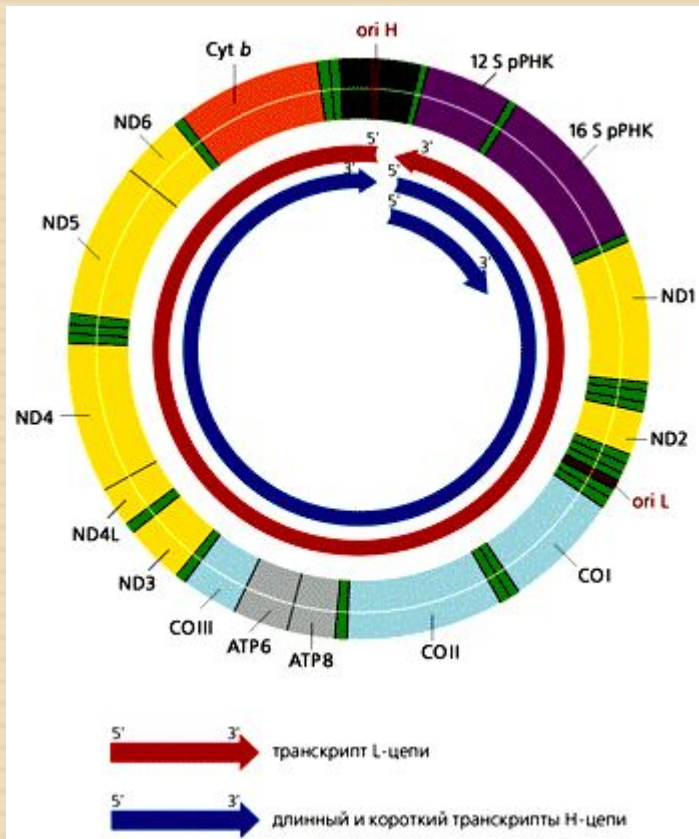




МИТОХОНДРИИ, ПЕРОКСИСОМЫ И ПЛАСТИДЫ

Кто, зачем и почему

Митохондриальный геном растений

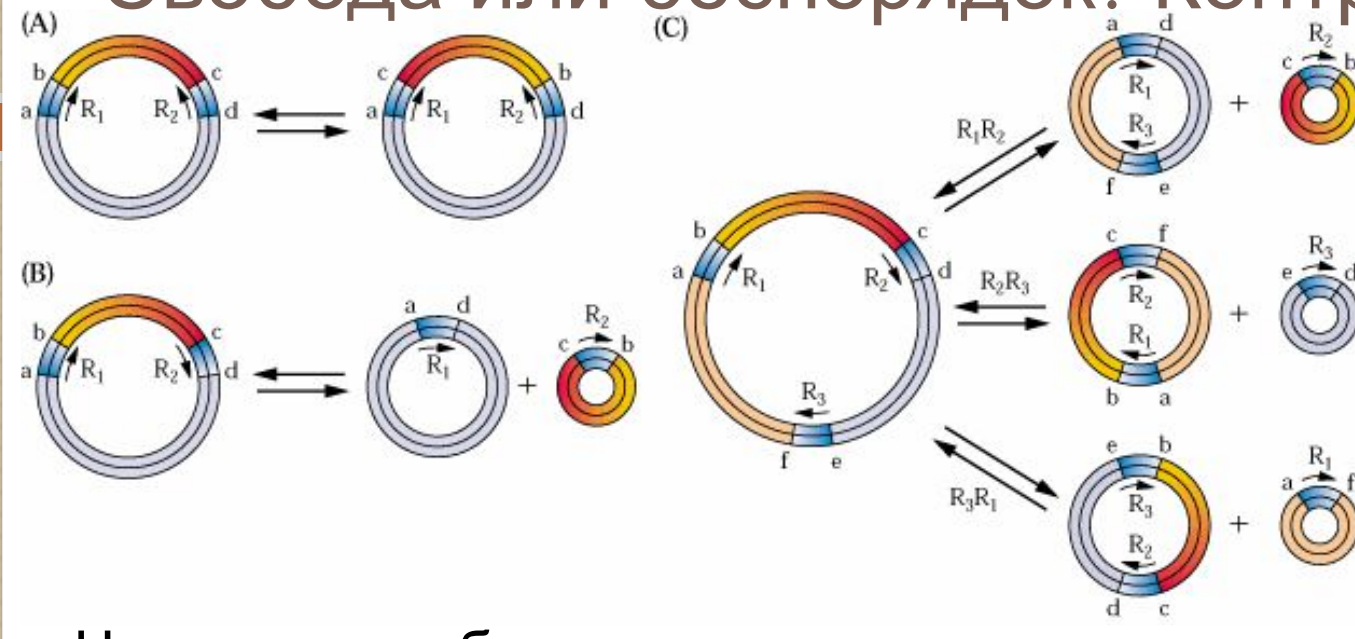


- около 50 генов, из них около 20 - «рабочих» и около 30 - «домашнего хозяйства».
- от 200 до 2000 кб
- частые рекомбинации
- структура нестабильная
- наследуется по материнской линии
- гены эволюционируют очень медленно

Геном митохондрий растений значительно больше генома животных митохондрий. Например, у арабидопсиса в 20 раз больше, чем у человека. В нем также гораздо больше генов - примерно в 7 раз больше, чем в митохондриях человека.

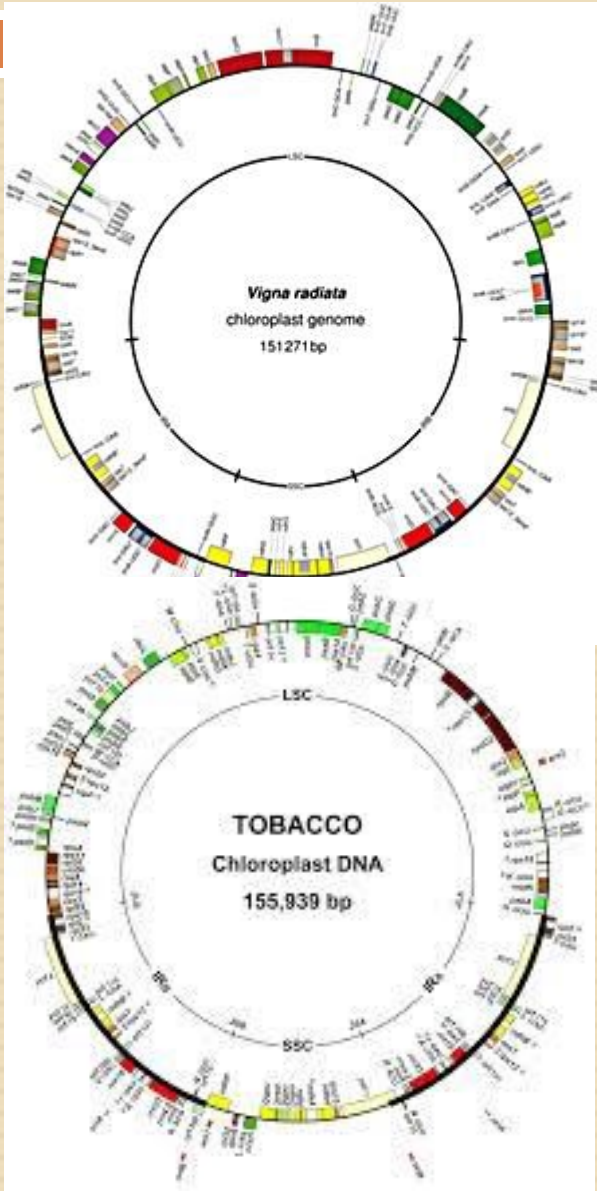
Размер митохондриального генома растений сильно варьирует, даже внутри одного семейства иногда в 5-10 раз, естественно, за счет повторов и «мусора».

Свобода или беспорядок? Контроль ядра?



- Частые рекомбинации приводят к существованию мтх генома в форме множества колец разной величины.
- Какое преимущество даёт эта «митохондриальная свобода»?
- Предполагают, что это приводит к специализации разных «субпопуляций митохондрий», в том числе в отдельной клетке, которые могут различаться по форме и активности.
- Ядро ограничивает число копий мтх генома некоторыми разумными рамками.

Пластидный геном



- гены организованы в форме оперонов
- есть интроны
- кольцевая хромосома
- около 100 генов
- размер: от 130 до 160 кб
- стабильная структура
- эволюционирует очень медленно
- наследуется только по материнской линии
- рекомбинации очень редки

У разных растений, за редким исключением, структура генома примерно одинакова. Она состоит из большого и малого однокопийных участков, разделенных инвертированными повторами, которые содержат гены хлоропластных рРНК. Повторы отсутствуют у голосеменных и некоторых бобовых растений.

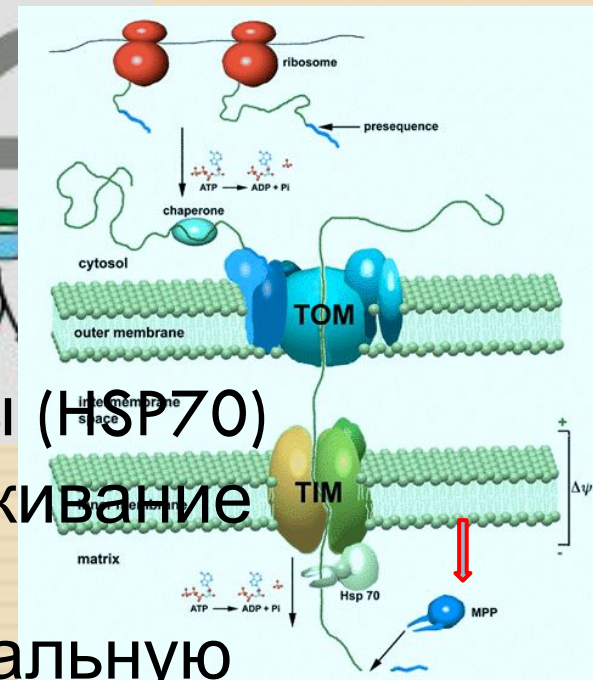
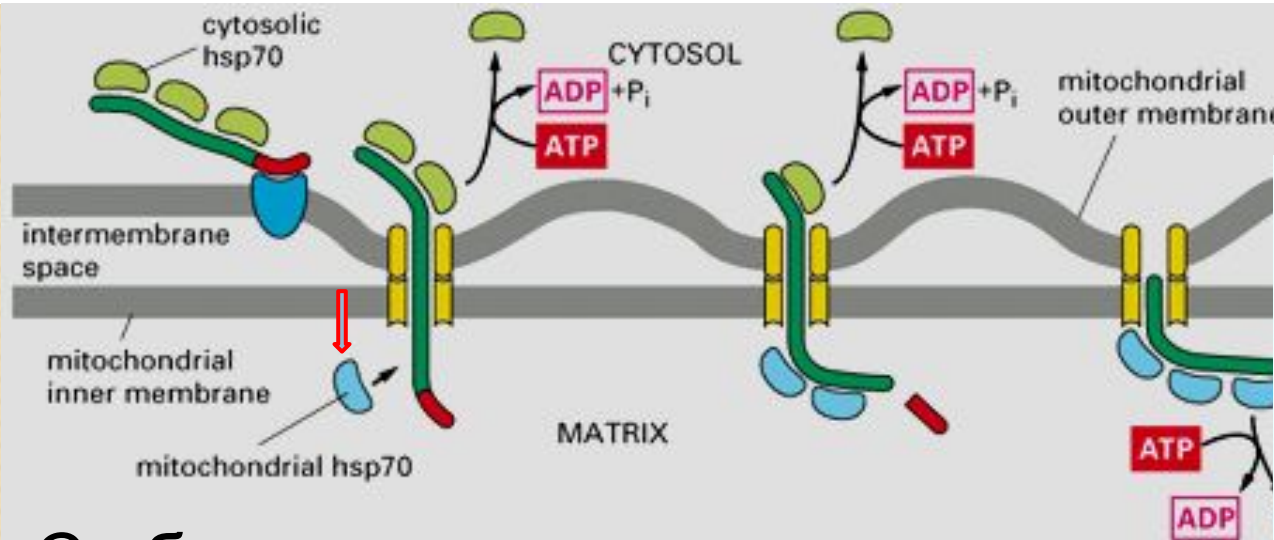
Митохондрии... что интересно?

- Нестабильный геном вследствие постоянных рекомбинаций
- Постоянное взаимодействие с ядром: импорт и... экспорт?
- Цитоплазматическая мужская стерильность
- Биохимические отличия: фотодыхание, ярко выраженная синтетическая функция (поставка углеродных скелетов), альтернативные компоненты ЭТЦ.
- Обмен метаболитами с пластидами (в т.ч. НАДФН)
- РНК-полимераза фагового типа кодируется в ядре (ядерный контроль транскрипции)

Про мембраны митохондрий

- **Внешняя мембрана.** Проницаема для веществ с молекулярной массой до 10 000 через *порины* (наспецифичные каналы)
- Преобладают насыщенные жирные кислоты. Мало белков.
- Разрушается при набухании митохондрий.
- **Внутренняя мембрана.** Непроницаема для ионов. Транспорт контролируется белками-переносчиками.
- Преобладают ненасыщенные жирные кислоты (90%), в составе есть кардиолипин.
- Высокое содержание белка.

Как белки импортируются в МТХ



- С обеих сторон участвуют шапероны (HSP70)

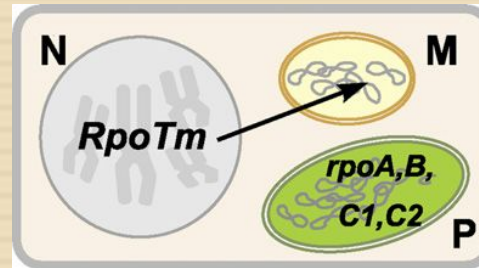
- Транслоказы обеспечивают перетаскивание полипептидов

- На входе пептидаза отщепляет сигнальную последовательность.

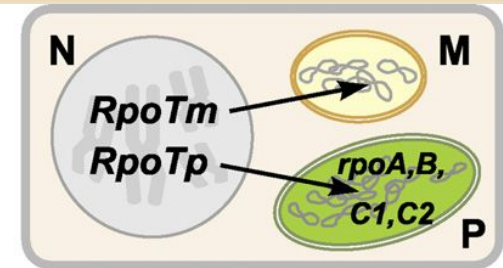
- MPP (mitochondrial processing peptidase) у растений является частью цитохромного комплекса.

РНК полимеразы в свете ЭВОЛЮЦИИ

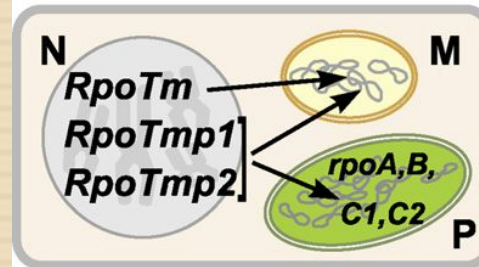
- Наличие «фаговых» РНК полимераз с ядерным кодированием демонстрирует контроль ядра над синтезом белка в двумембранных органеллах.
- У всех растений они импортируются в МТХ, у всех высших также в пластиды.
- В пластидах есть и свои, «бактериальные» РНК-полимеразы.



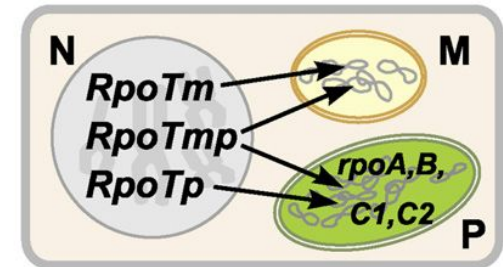
Algae, Selaginella



Monocots (cereals)

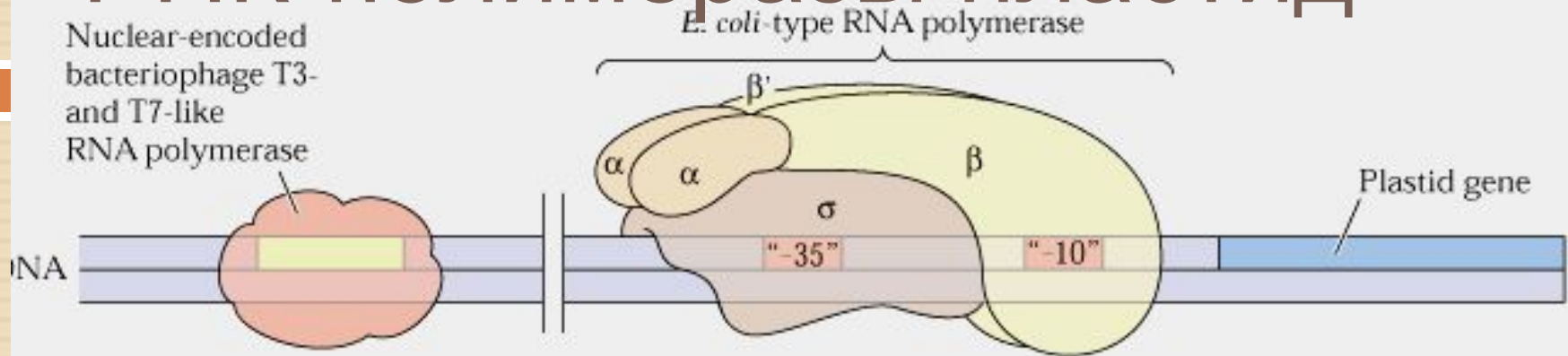


Physcomitrella



Arabidopsis, Nicotiana

РНК-полимеразы пластид



- **Гены, которые обслуживает ядерная РНК-полимераза.**
Гены, имеющие нестандартные промоторы. Такие промоторы свойственны лишь немногим генам пластид. Важно, что таким промотором снабжен *rif*-оперон, который содержит гены собственной пластидной РНК-полимеразы.
- **Гены, которые обслуживает пластидная РНК-полимераза.**
Гены, имеющие стандартные эубактериальные промоторы. К этой группе относятся почти все гены, обеспечивающие процесс фотосинтеза.
- **Гены, которые успешно распознаются обеими РНК-полимеразами.**
Имеют универсальные промоторы. К этой группе относится большинство генов «домашнего хозяйства» пластид.

Кто регулирует АФК?

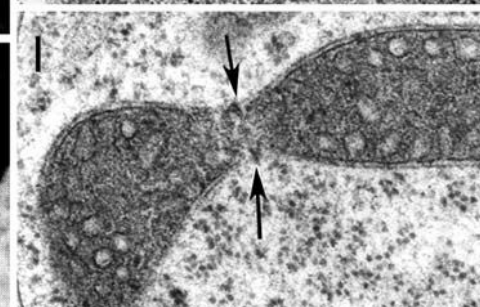
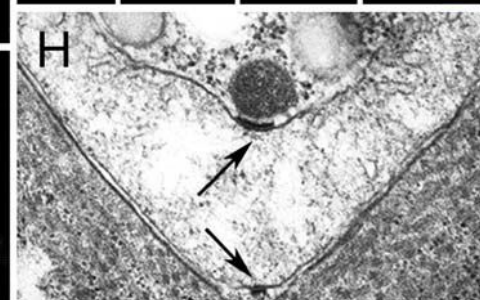
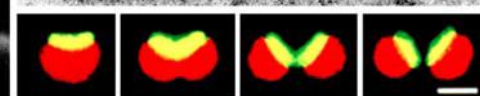
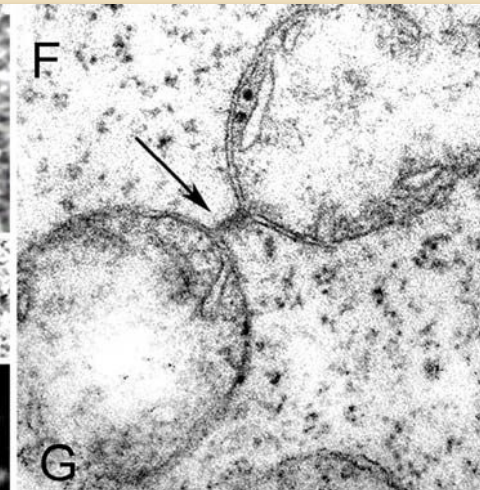
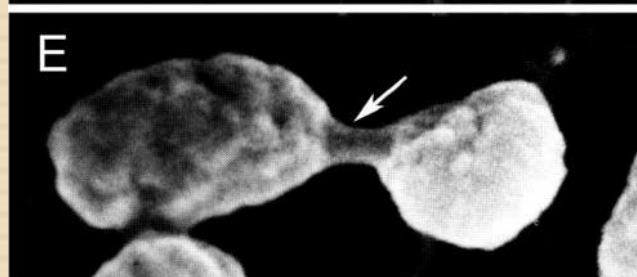
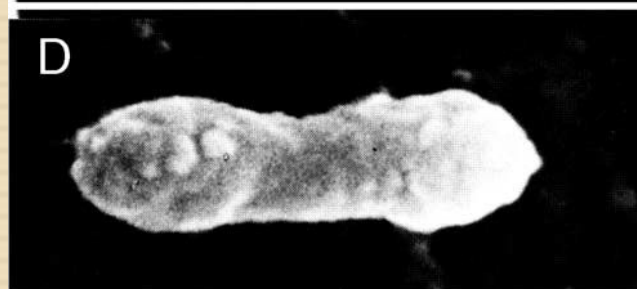
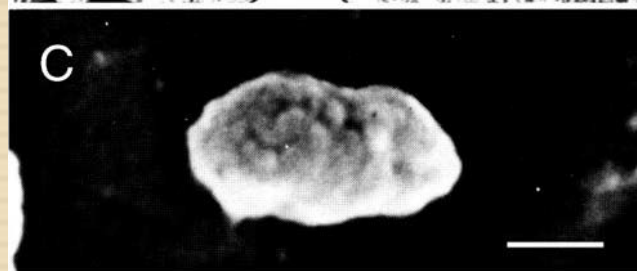
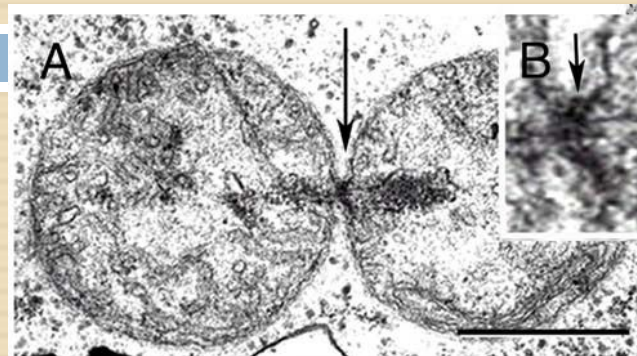
- Митохондрии являются сенсорами редокс-статуса клетки
- Митохондрии - одно из основных мест образования АФК
- Митохондрии могут эффективно модулировать уровень АФК
- Одним из способов регуляции является экспрессия гена альтернативной оксидазы (в ядре) в ответ на стресс

Митохондрии динамичны и «общительны»

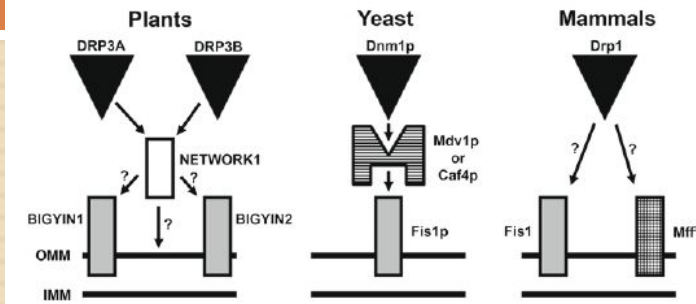
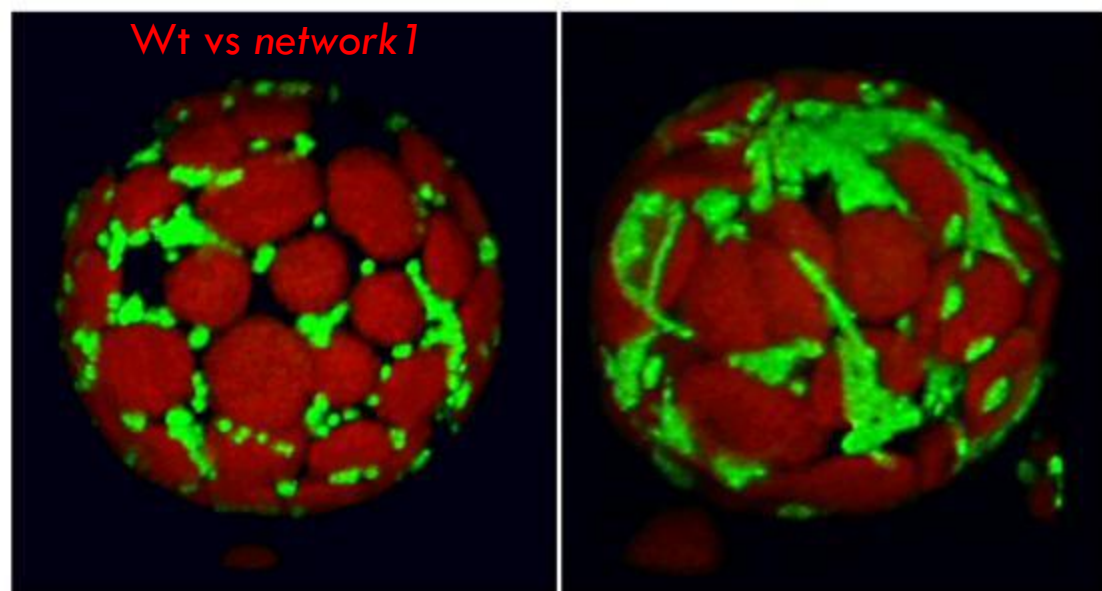
- Считается, что «нестехиометричность» генома (т.е. его неравномерное распределение между митохондриями) может служить причиной их слияний и делений
- А для слияний и делений необходима подвижность, которая обеспечивается цитоскелетом.

Деление митохондрий

- Митохондрии делятся – факт. Это наблюдали многие.
- Деление происходит по «бактериальному сценарию», однако...
- ...этот процесс находится под контролем...



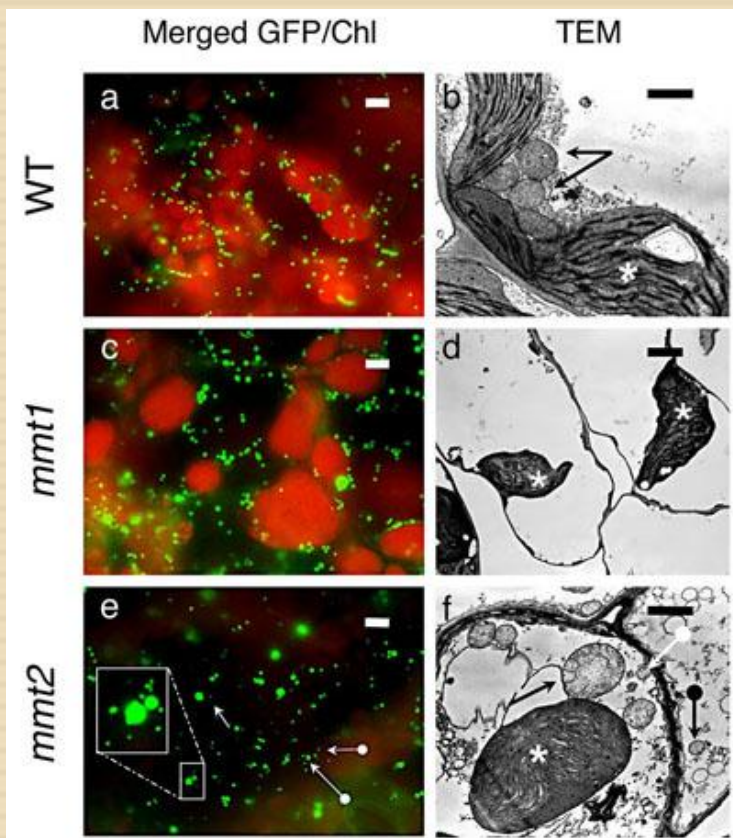
Анализ мутантов показал...



- В делении участвуют *динамины* – семейство ГТФаз с многочисленными функциями типа «слияния и отпочковывания» (14 у *A.th.*)
- Часть белков (как минимум 2: DRP3A и DRP3B) механически вовлечены в процесс деления
- Ещё 2 белка с другой структурой: BIGYN1,2 – локализованы в наружной мтх мембране
- Все 4 белка также нужны для деления пероксисом
- NETWORK1 – первый специфичный для растений белок мтх деления – локализован на наружной мембране
- По-видимому, он отвечает за «подсадку» DRP3A и DRP3B на наружную мембрану

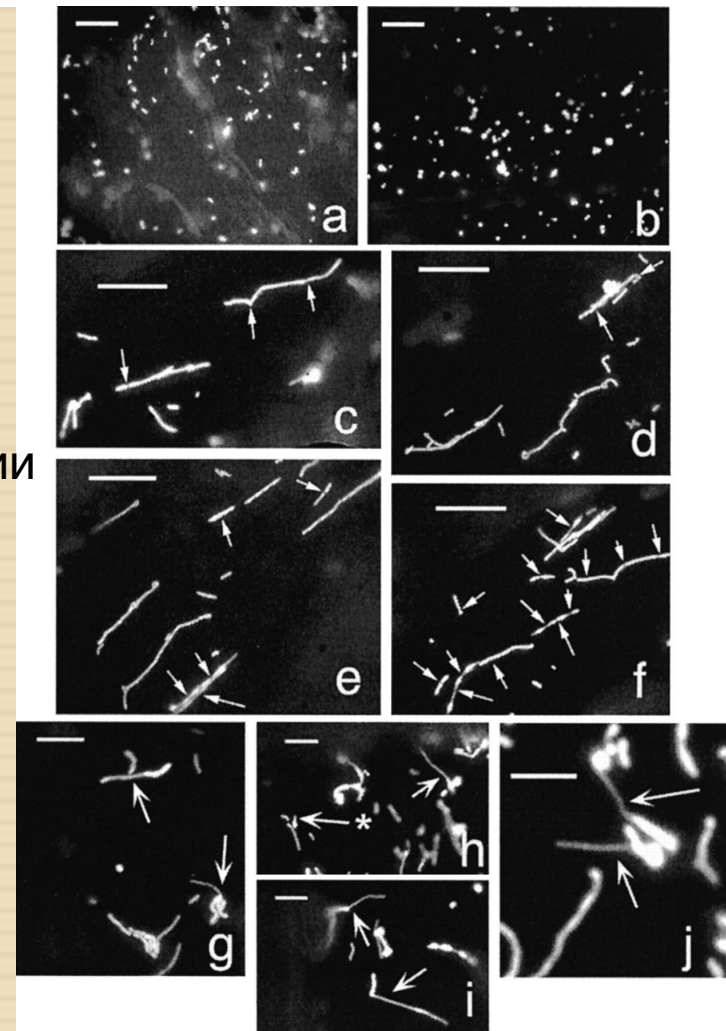
Мутанты по делению

В фенотипе наблюдаем либо увеличение размеров митохондрий, либо слияние их в



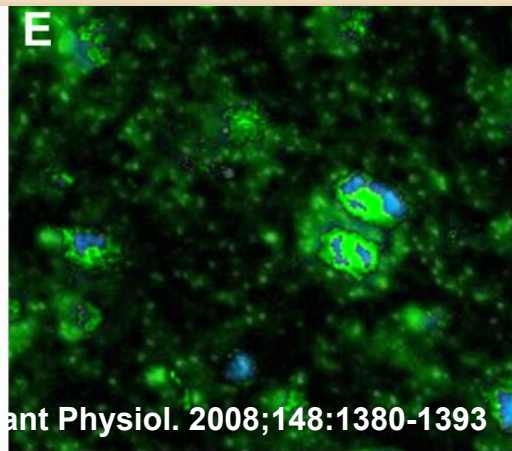
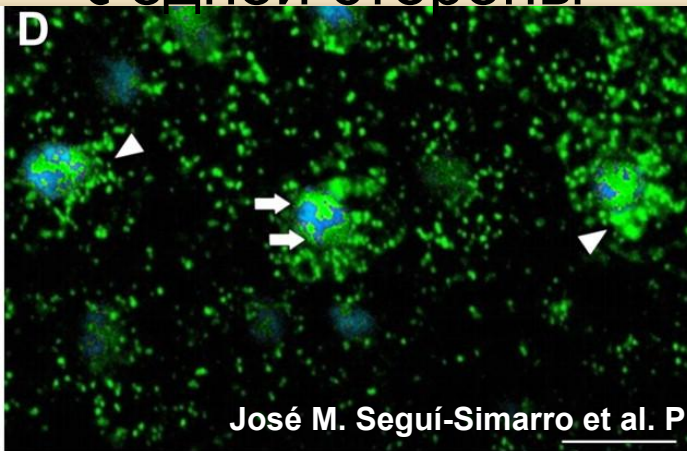
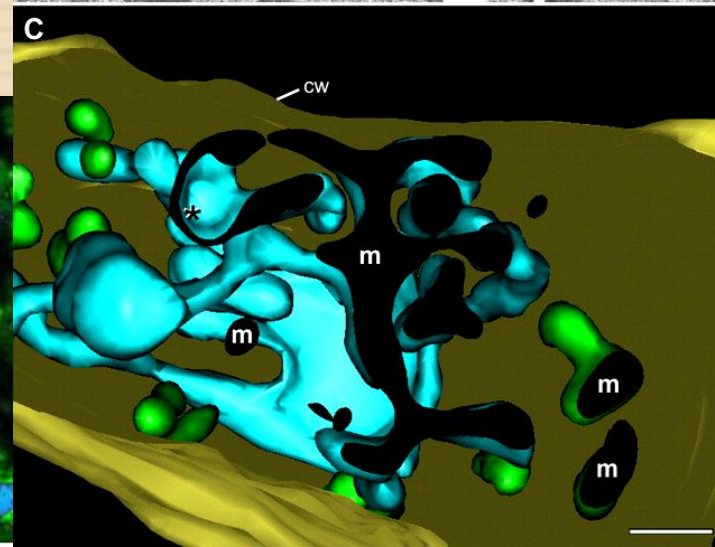
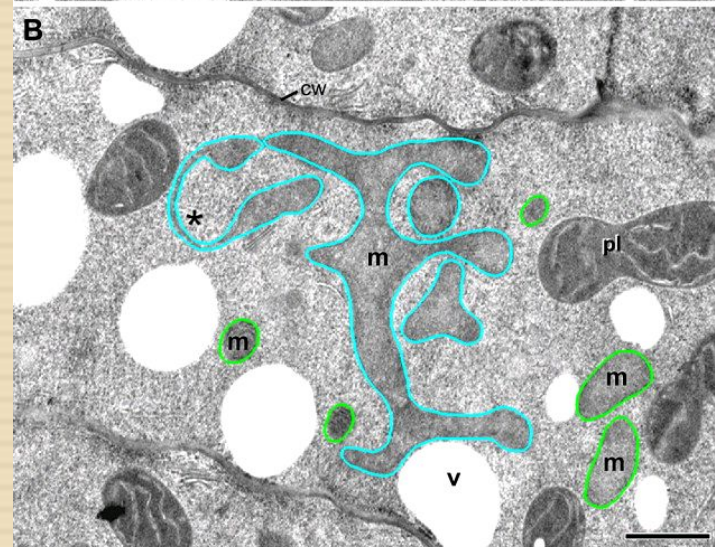
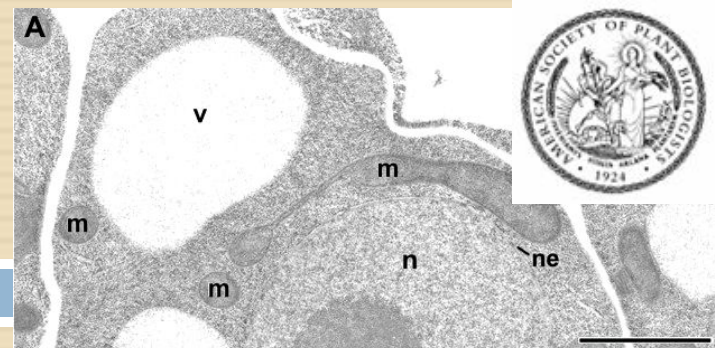
Длинные
трубчатые
МИТОХОНДРИИ

Матриксулы –
длинные
выросты мтх,
которые
«собирались
поделиться»



Мтх в интерфазе

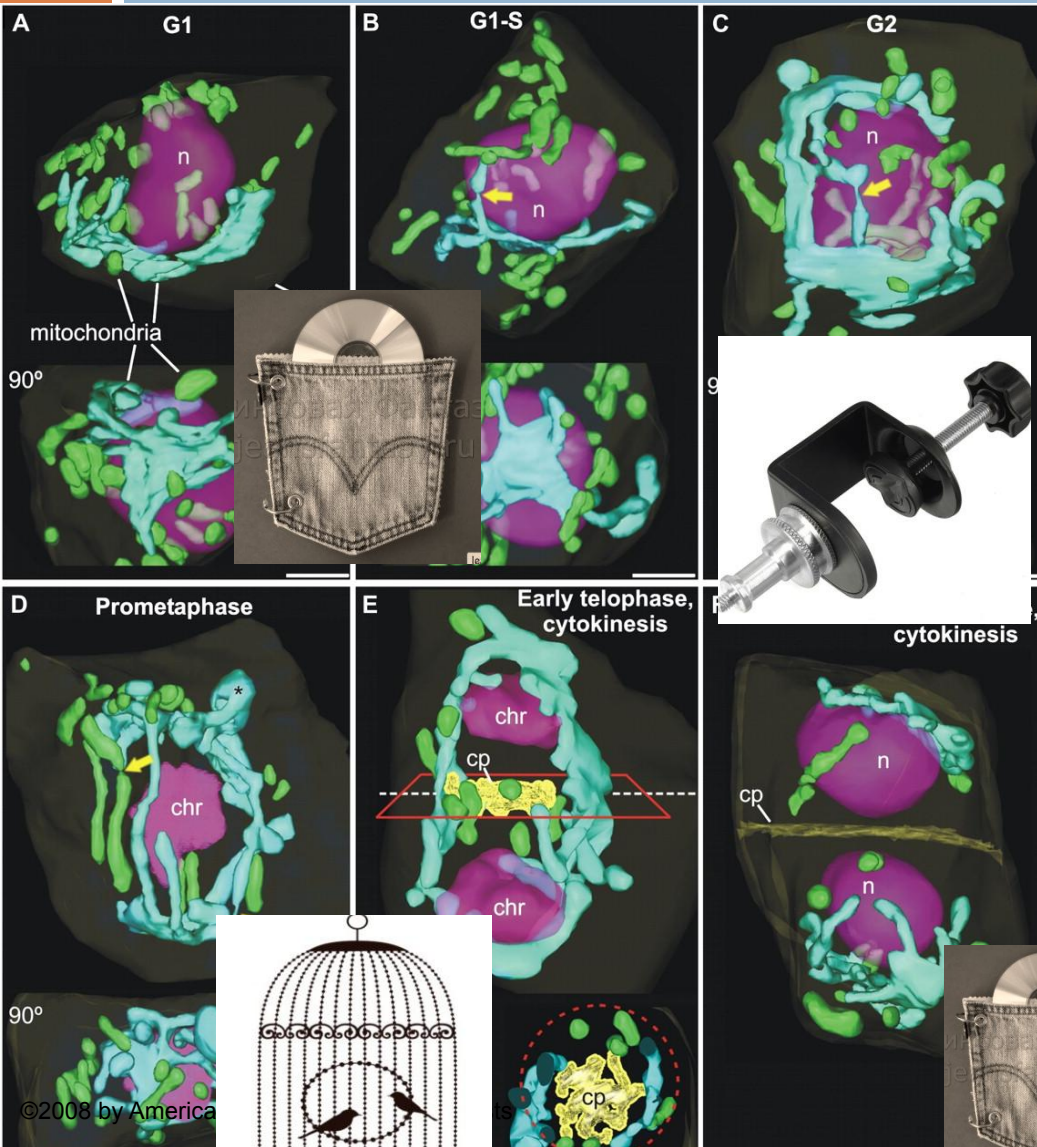
- Сканирующая лазерная микроскопия (CSLM) и 3D-СЭМ позволили наблюдать динамику хондриома в клеточном цикле
- В G1 и S часть мтх плавает свободно на периферии, а вторая часть слита в структуру «с щупальцами», охватывающую ядро с одной стороны



Митохондрии в клеточном

ЦИКЛЕ

José M. Seguí-Samartín et al. *Innate Physiol.* 2008;148:1380

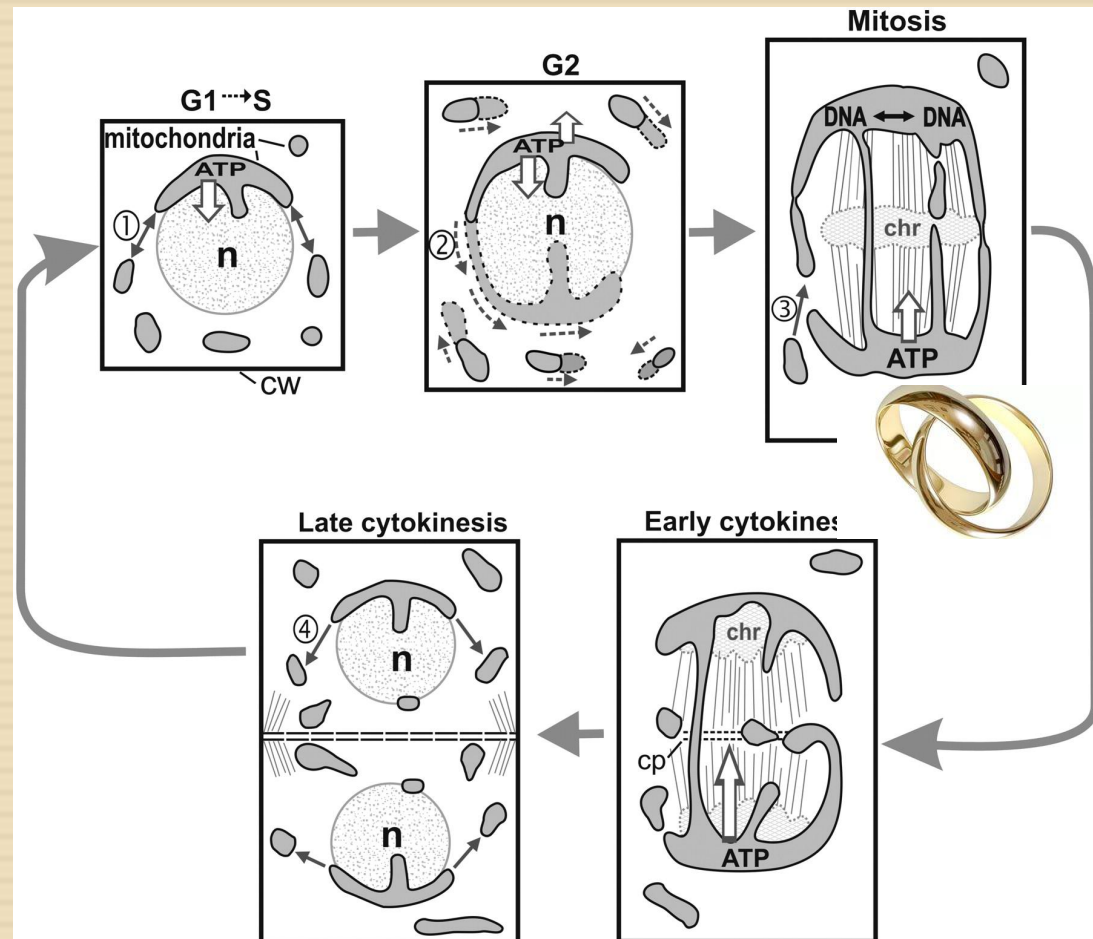


- В G2 гигантский митохондриальный «карман» растёт, окружая ядро с обеих сторон, образуется «зажим» ...
- В прометафазе 60% маленьких мтх сливаются с ним, образуя «клетку» вокруг веретена

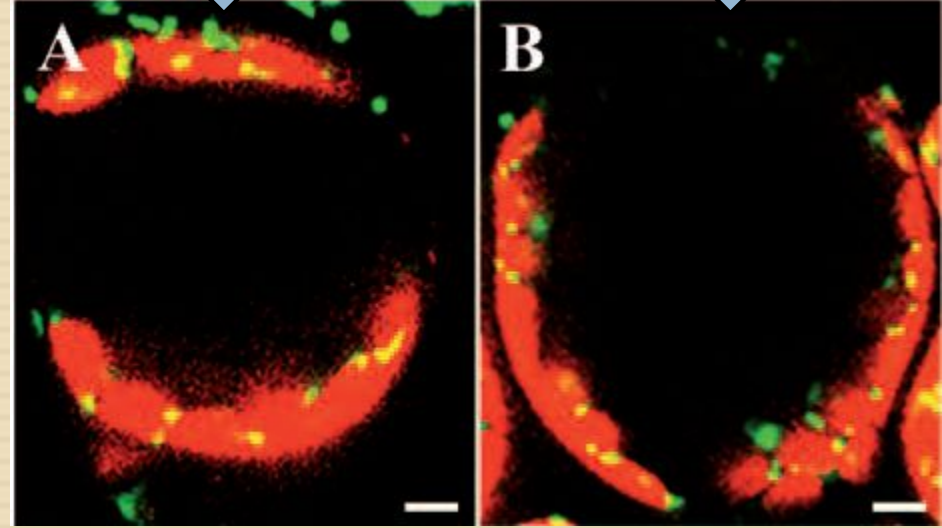
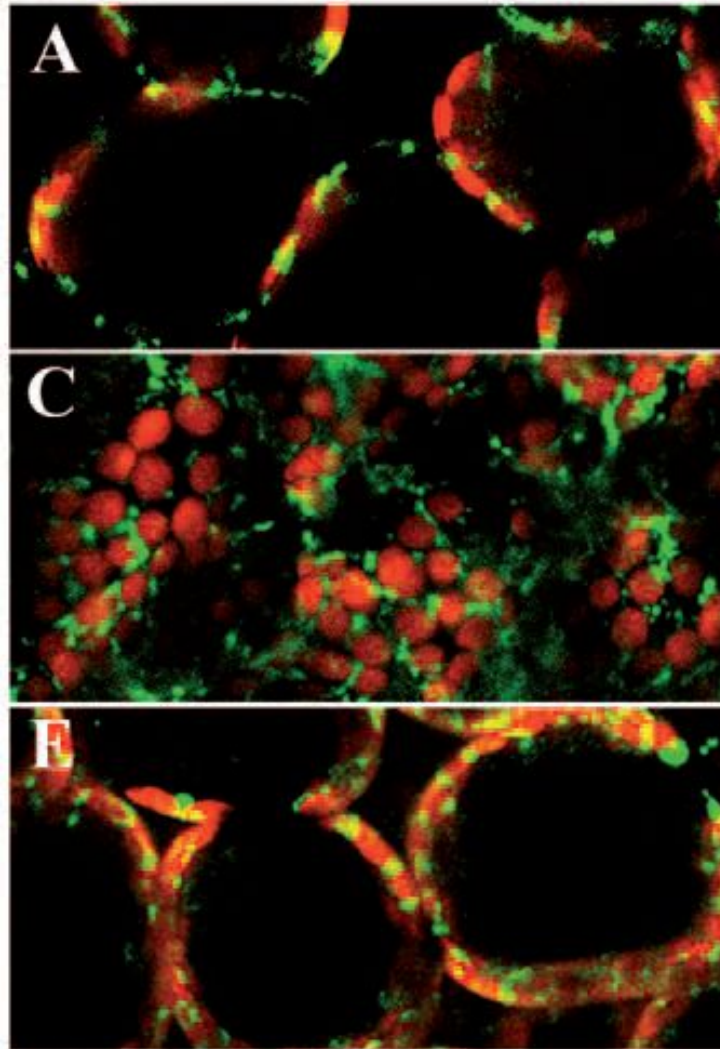


Зачем так сложно?

- Сейчас предполагают, что сложная динамика хондриома тесно связана с «геномной свободой», т.е. слияние мтх нужно для обмена колечками ДНК.
- Кроме того, крупная структура помогает «направлять» АТФ на нужды ядра (S, M) и веретена (M) в меристематических клетках

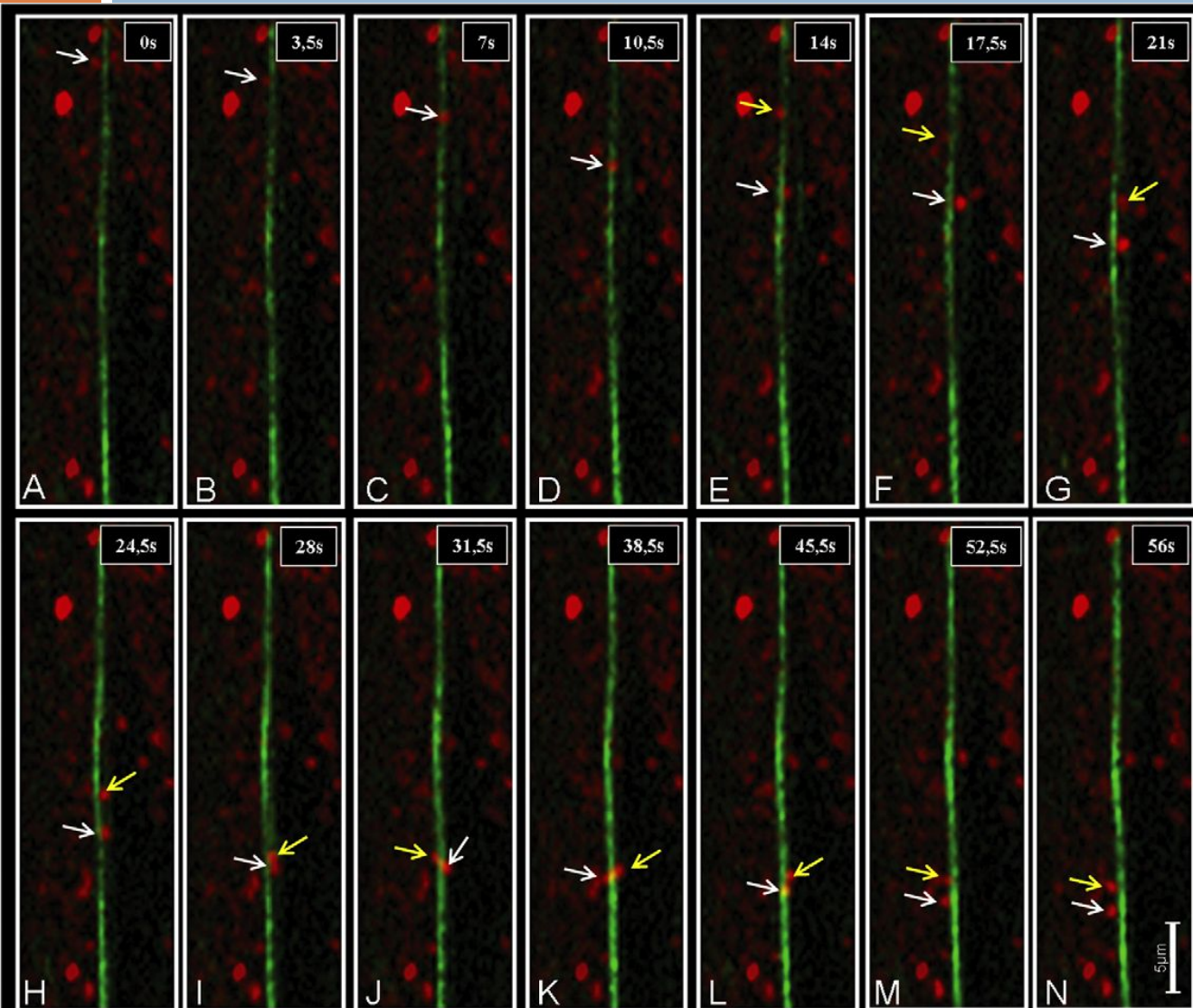


Митохондрии и свет



- МТХ в ответ на свет движутся вместе с хлоропластами.
- Они с ними связаны?

Подвижность МТХ



Митохондрии очень подвижны, передвигаются в основном по МФ (миозины).

Средняя скорость около 0,5 $\mu\text{m}/\text{c}$, в корневых

волосках до 10 $\mu\text{m}/\text{c}$.

D. Logan, *Genetics in Cell & Developmental Biology* 21 (2010) 550–551

Митохондрии-убийцы

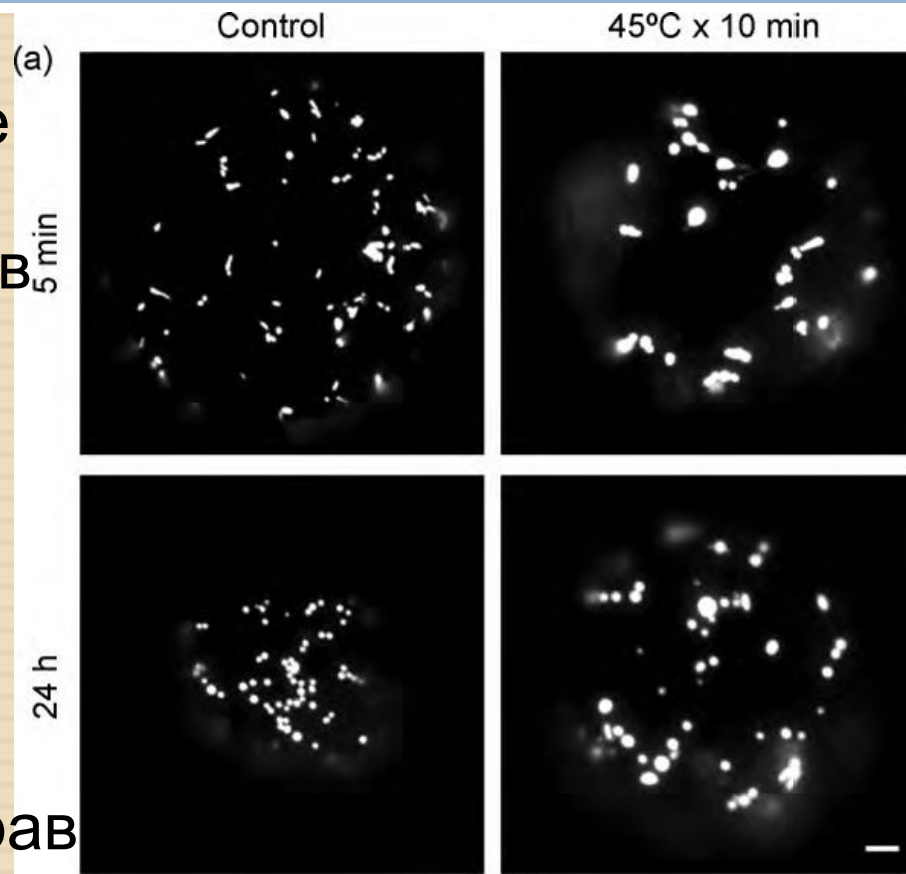
- У животных и грибов мтх активно участвуют в апоптозе

- У растений канонического апоптоза нет, но участие мтх в программируемой клеточной гибели (ПКГ) уже показано

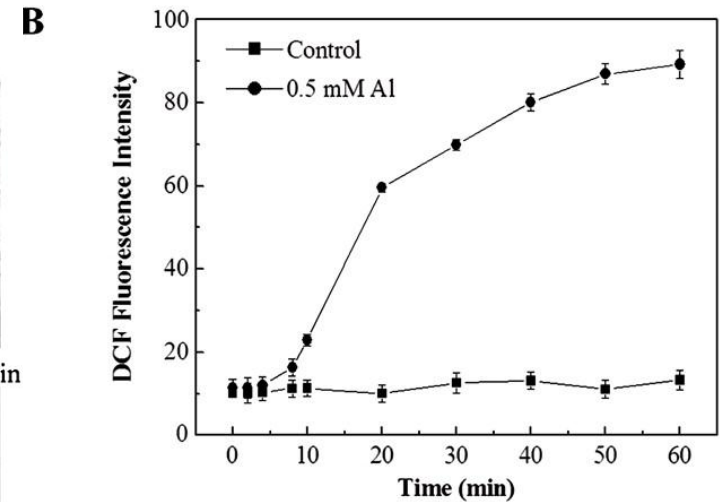
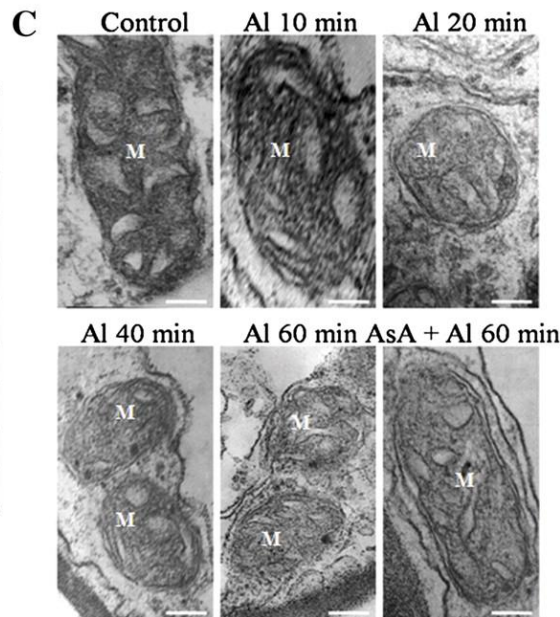
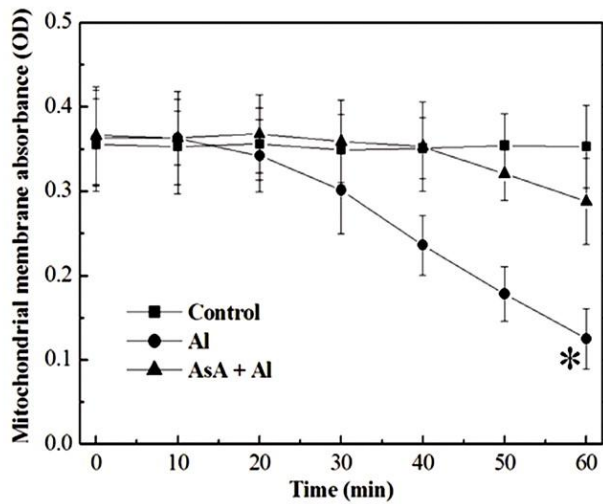
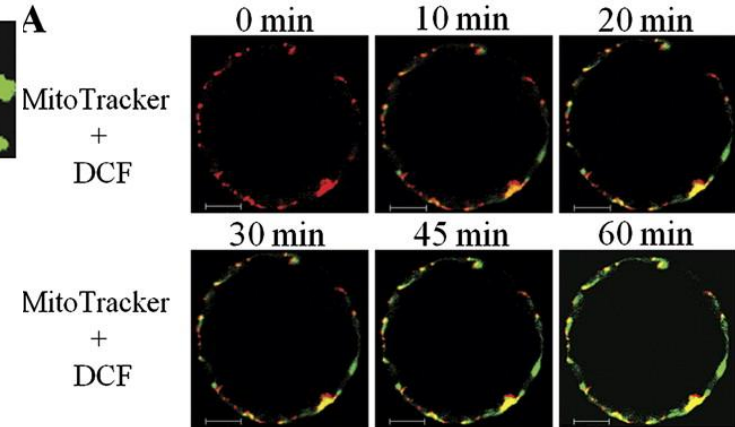
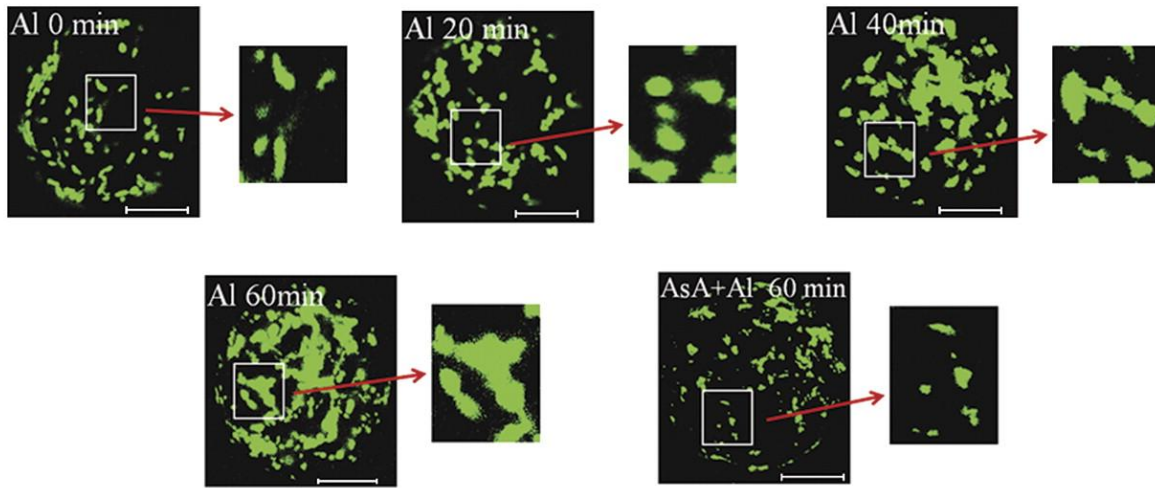
- Они разбухают, наружная мембрана становится проницаемой

- Выходит цитохром с, запускается ПКГ...

- Процесс можно прервать, убрав АФК, заблокировав Са каналы или снизив проницаемость наружной мембраны (циклоспорин А).



Митохондрии-убийцы AsA – аскорбиновая к-та

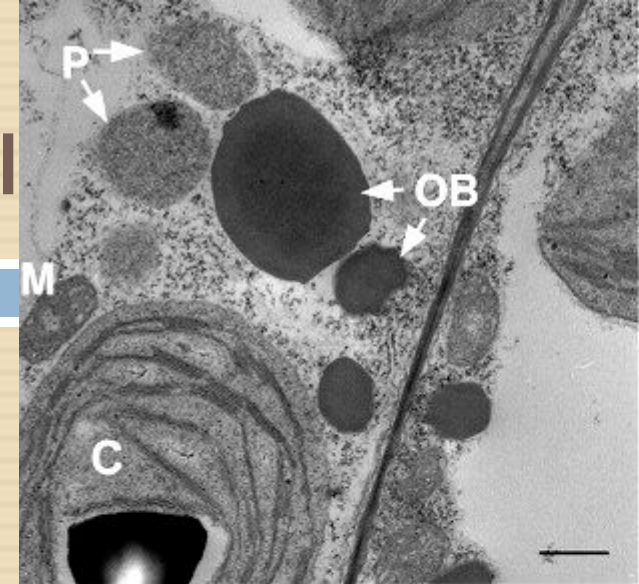
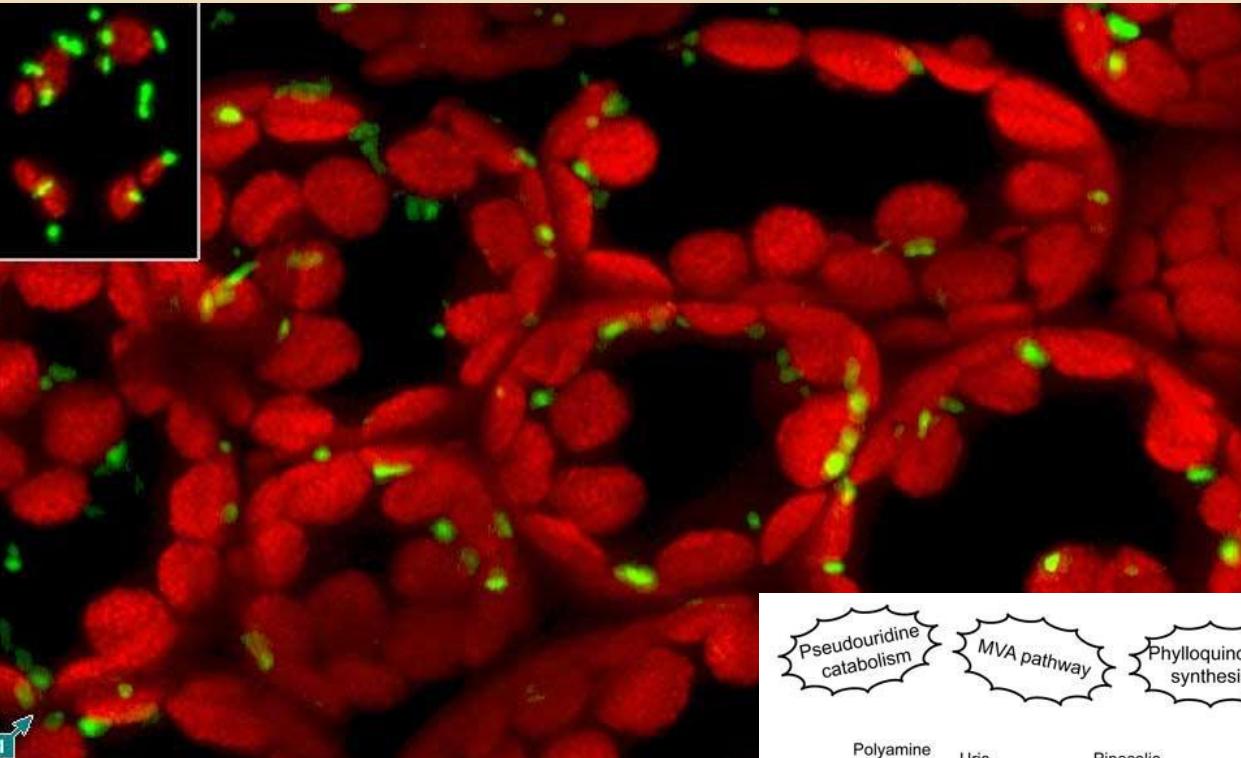


Li, Xing J. *Exp. Bot.* 2011.62(1):331-43

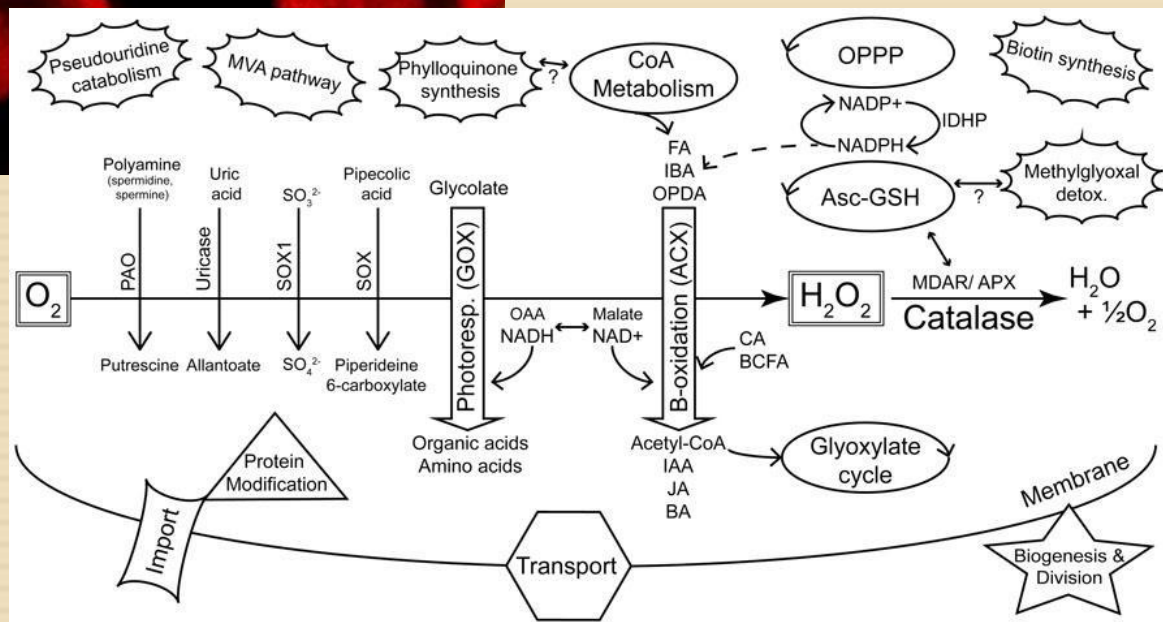
Пероксисомы – загадочные и отважные

- Пероксисомы – одномембранные органеллы с диаметром 0,1-1 $\mu\text{м}$.
- *Основные функции:*
 - ❖ липидный метаболизм (β -окисление ЖК)
 - ❖ элиминация АФК (в основном H_2O_2).
- *Дополнительные функции:*
 - ❖ Фотодыхание (взаимод-е с мтх и пластидами)
 - ❖ Глиоксилатный цикл
 - ❖ Биосинтез жасмоновой к-ты
 - ❖ Сигналинг при патоген-индуцированном ответе
- Около 130 ядерных генов связаны с работой пероксисом (для сравнения, у человека и дрожжей – 85 и 61, соответственно)
- Это указывает на особое значение этих органелл у растений

Маленькие и сложные



- В пероксисомах много оксидаз (\downarrow), генерирующих H_2O_2 ,
- Ликвидация АФК с помощью каталазы и других ферментов



Размножение пероксисом

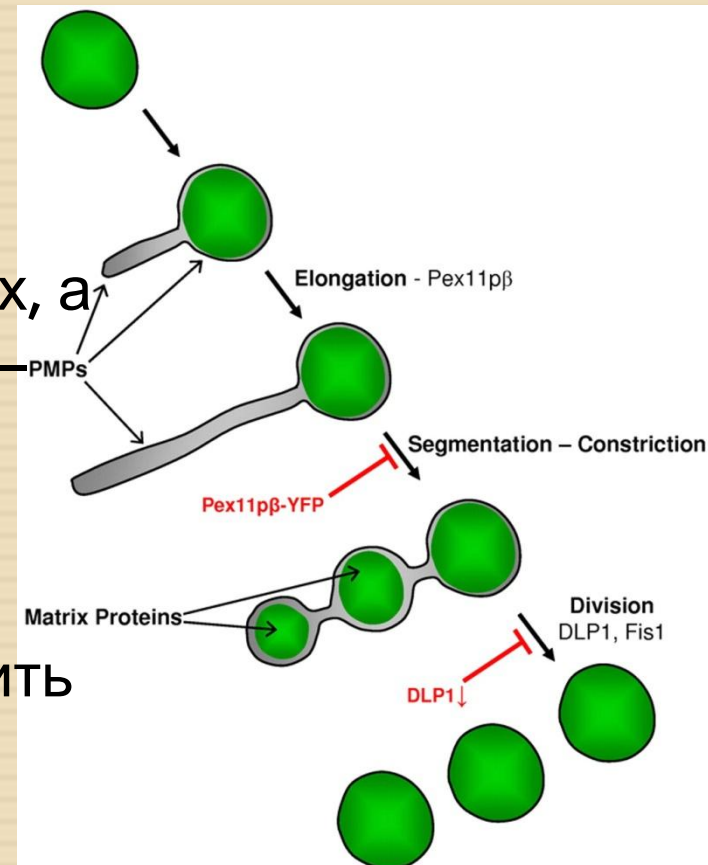
- Могут образовываться *de novo* из субдоменов ЭПР, но также размножаются делением

- **Pex11p** обеспечивает удлинение, необходимое для деления

- **DRP** (dynamin-related protein) – общий участник для деления пероксисом и МТХ, а также сортировки вакуолярных белков обеспечивает собственно разделение мембран.

- DRP – цитоплазматические белки, и их посадку на мембрану должны обеспечить другие участники деления.

- **BIGYN** (ортолог FIS) – ещё один общий



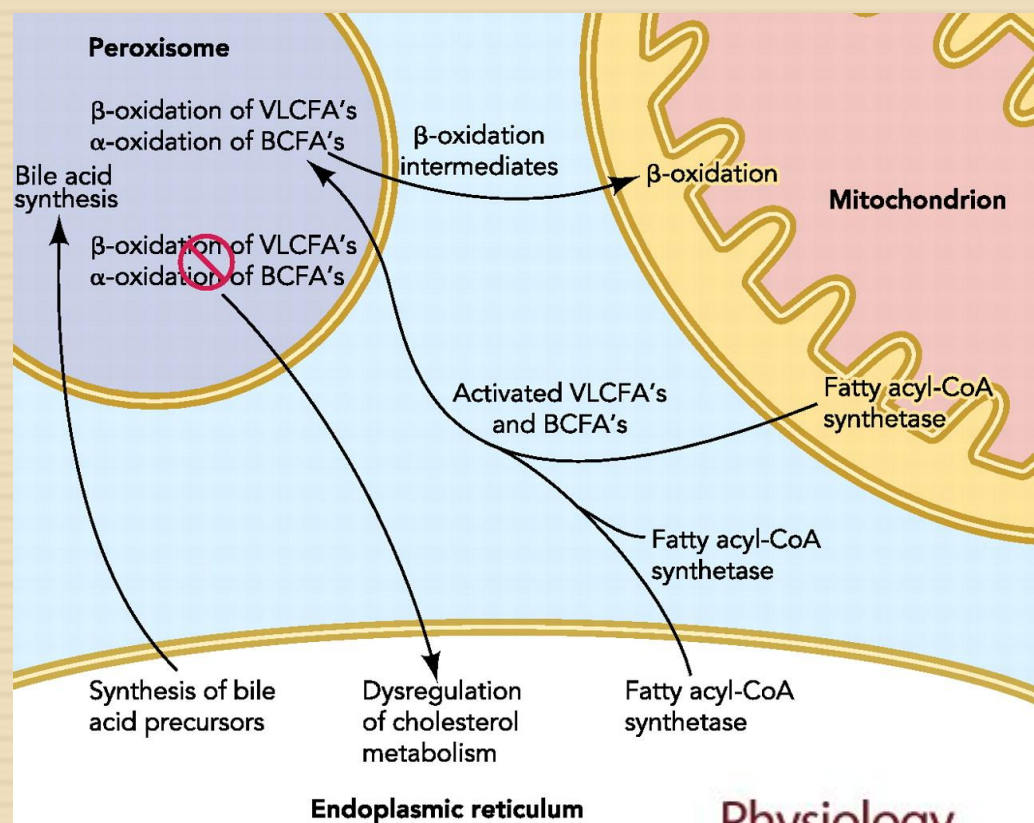
Сходство или совпадение?

Fred D. Mast et al. Physiology 2010;25:347-356

Почему механизмы деления пероксисом и митохондрий так похожи? Ведь эти органеллы не родственны.

Предполагаемая причина: координация делений двух органелл позволяет синхронизировать увеличение их числа и сохранять функциональный контакт в процессе деления:

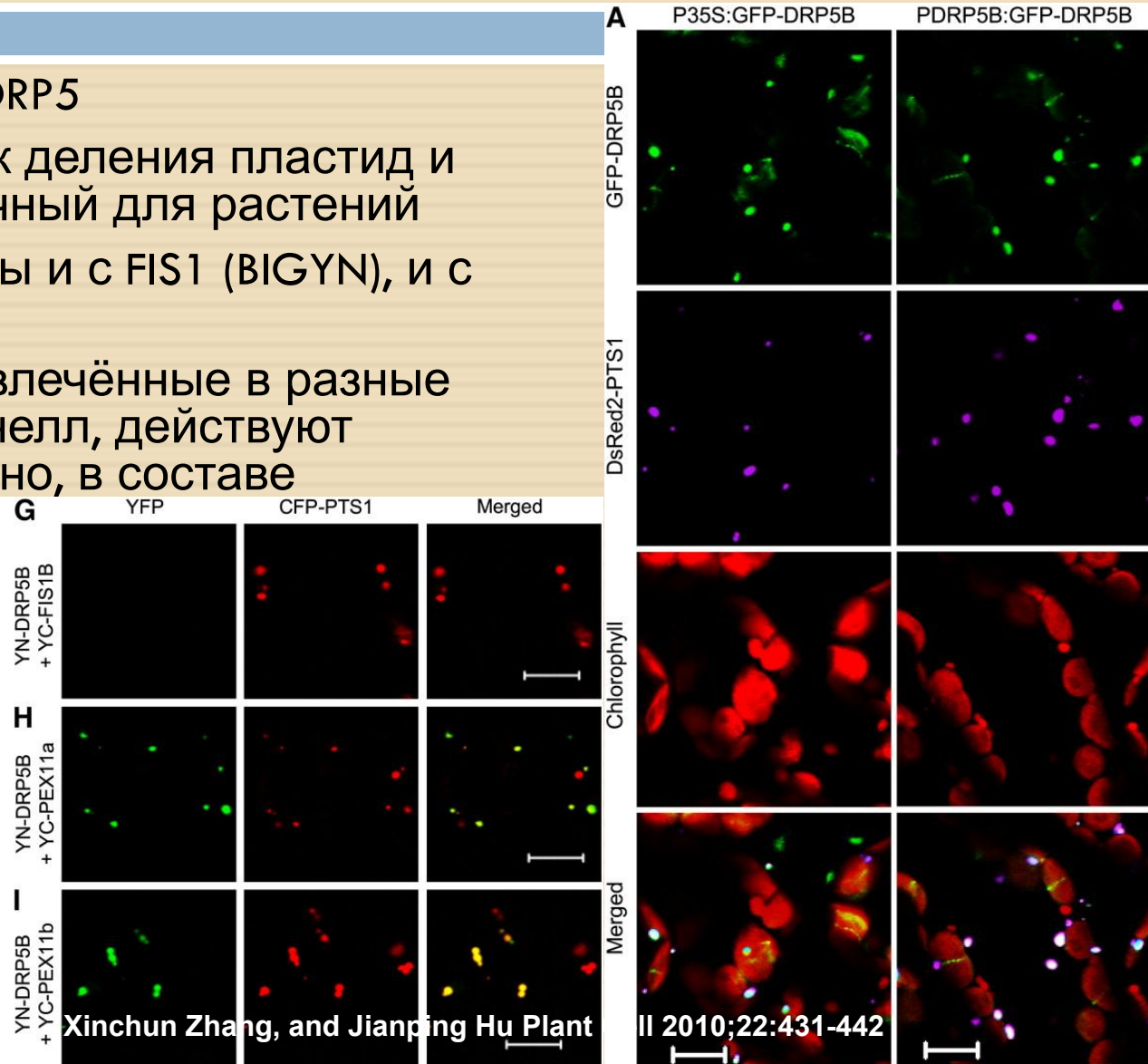
«Вместе работаем – вместе делимся».



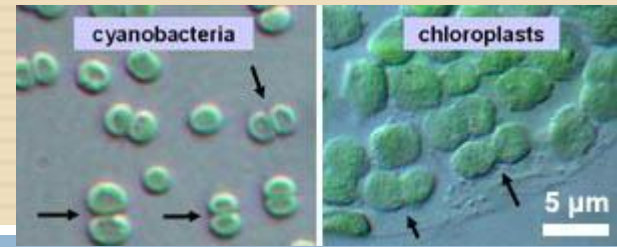
Physiology

И пластиды тоже...

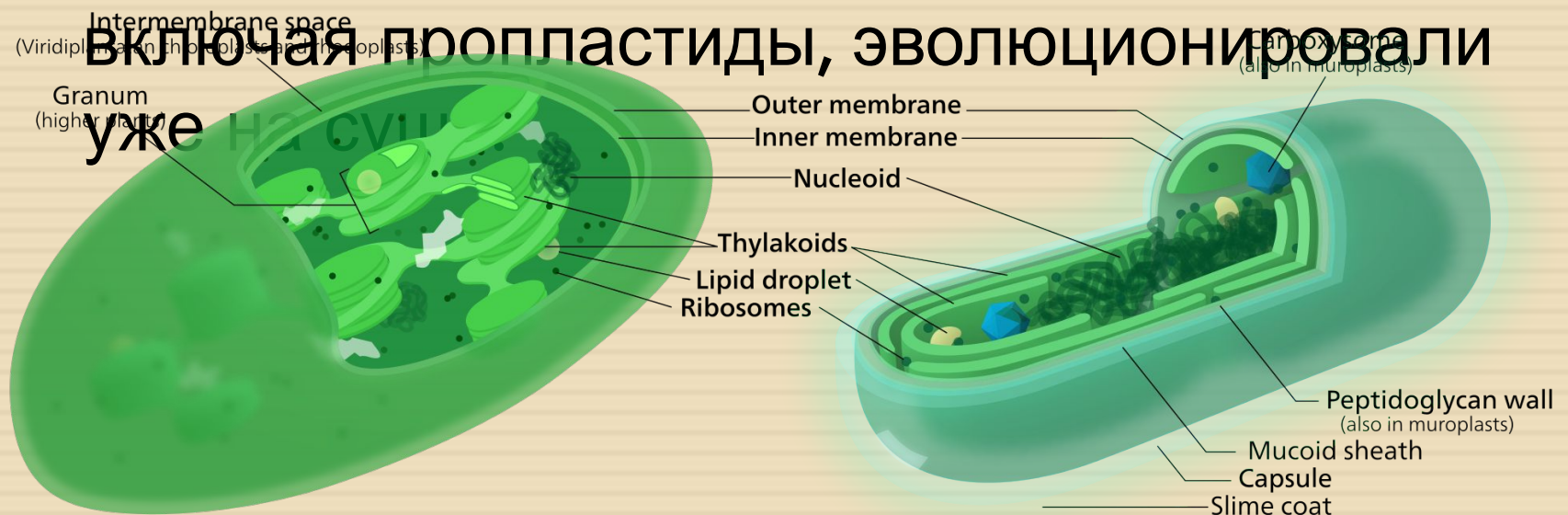
- Недавно был открыт DRP5
- Это динамин, участник деления пластид и пероксисом, специфичный для растений
- Он образует комплексы и с FIS1 (BIGYN), и с PEX11...
- Похоже, что белки, вовлечённые в разные «фазы» деления органелл, действуют кооперативно (возможно, в составе мультифункциональных комплексов)
- Кстати, деление пероксисом активируется светом.
- Оказалось, что светочувствительным геном является PEX11b



Пластиды. Начало.

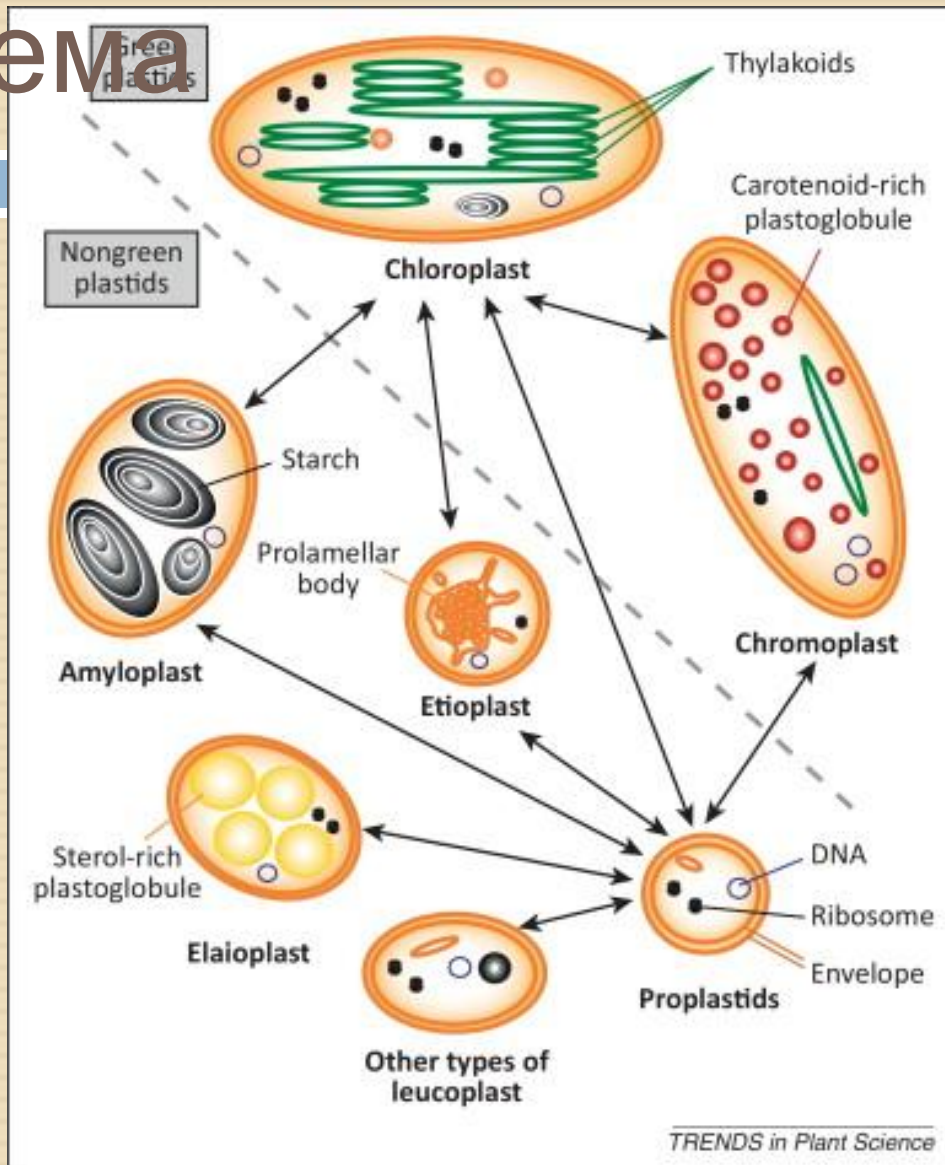
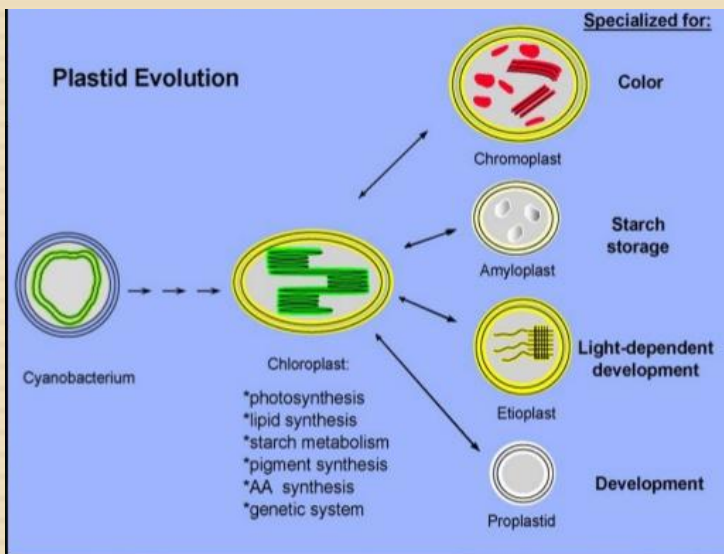


- *Самыми первыми были цианобактерии...*
- **Первыми пластидами были хлоропласты. У одноклеточных водорослей только они и есть.**
- **Считают, что остальные типы пластид, включающая пропластиды, эволюционировали**

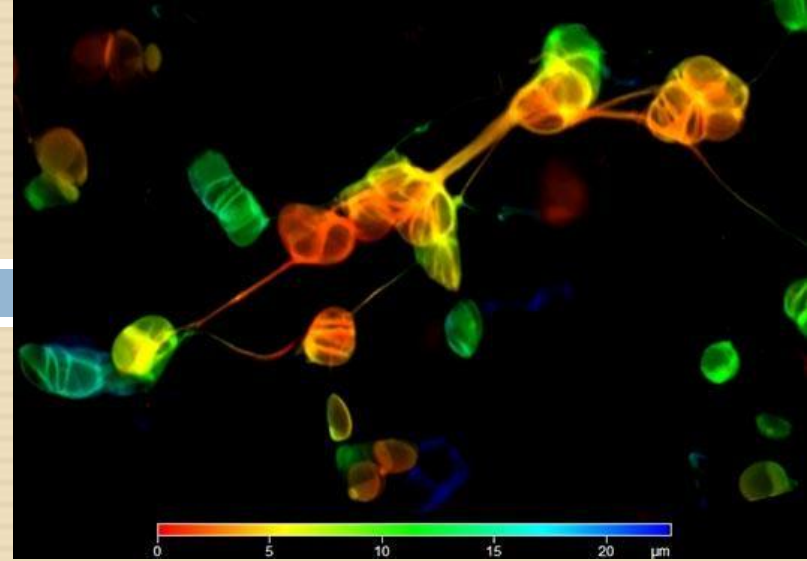


Пластидная система

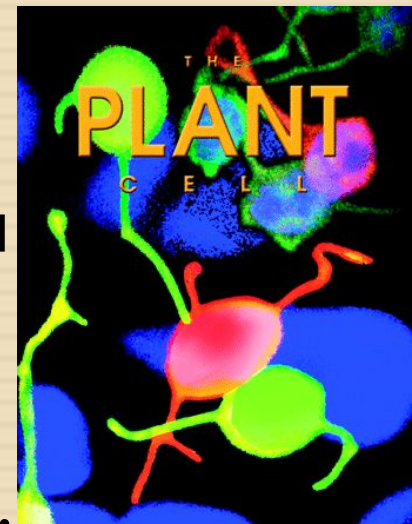
- Фотосинтез
- Гравитропизм
- Восстановление неорганических субстратов (NO_2)
- Окрашивание каротиноидами
- Запас крахмала
- Запас железа (фитоферритин)
- Синтез изопреноидов



Хлоропласты



- Типичные хлоропласты линзовидной формы, 5-10 μm в диаметре, 2-4 μm в толщину.
- Типичная клетка листа содержит 20-100 х/п.
- Состав внутренней мембраны особенный: она содержит галактолипиды, каротиноиды и белки «цианобактериального» происхождения
- Наружная мембрана типична для эукариот.



Хлоропласт

- Строма содержит примерно 50% хлоропластных белков, а также пластоглобулы, ДНК

- Липиды тилакоидов образует единое пространство, топологически эквивалентное ММП

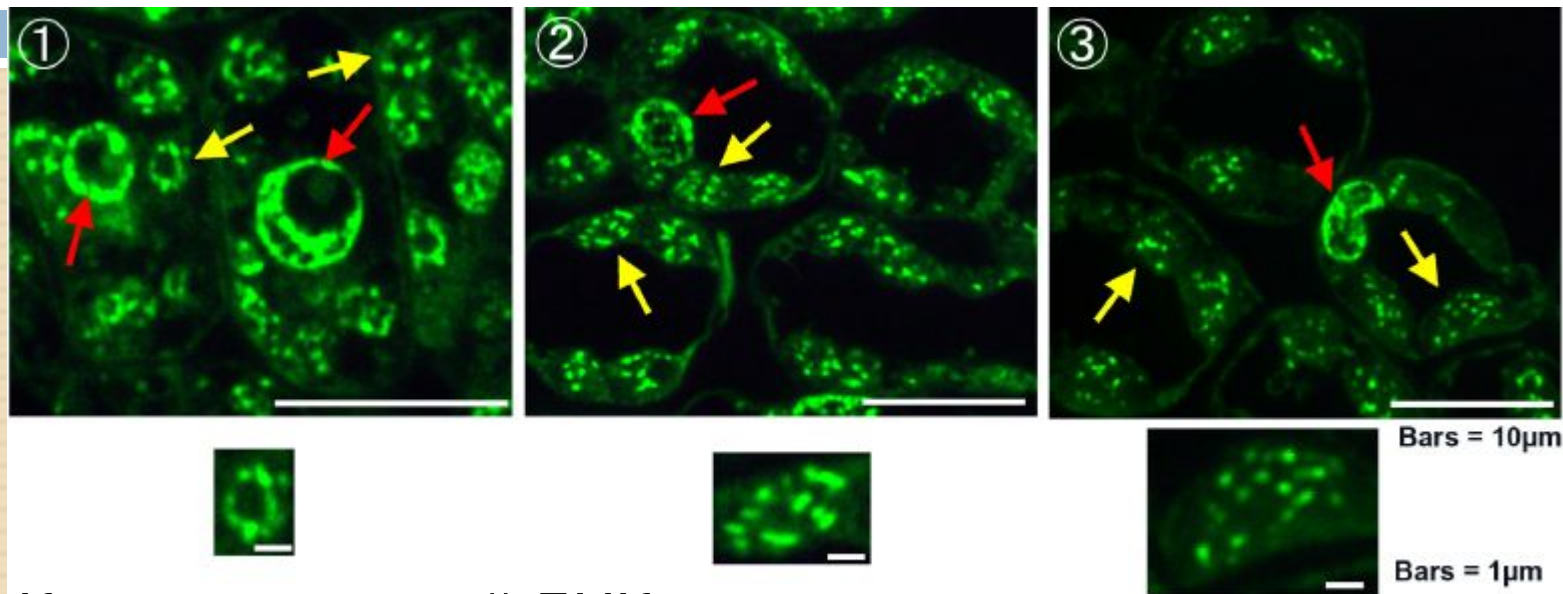
- Тилакоиды собираются в граны

- ФС II локализуется в местах стэкинга, ФС I – на краях тилакоидов, обращённых к строме

- Пластоглобулы – запасы липидов и белков



ДНК-динамика



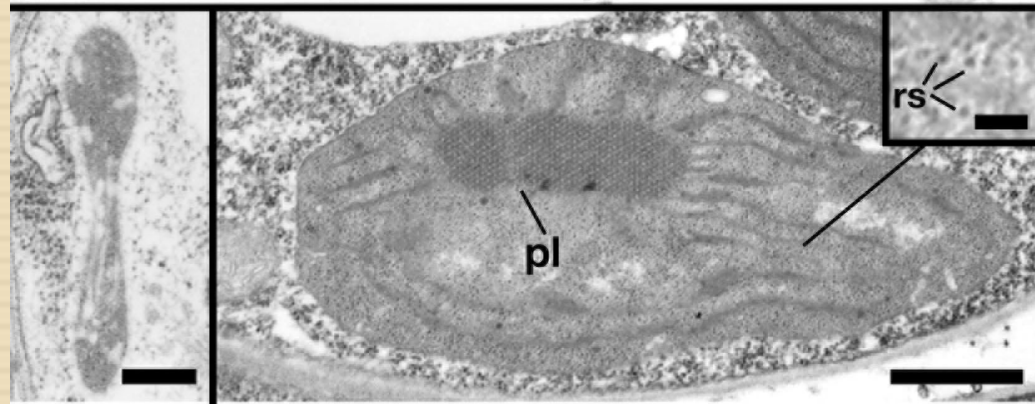
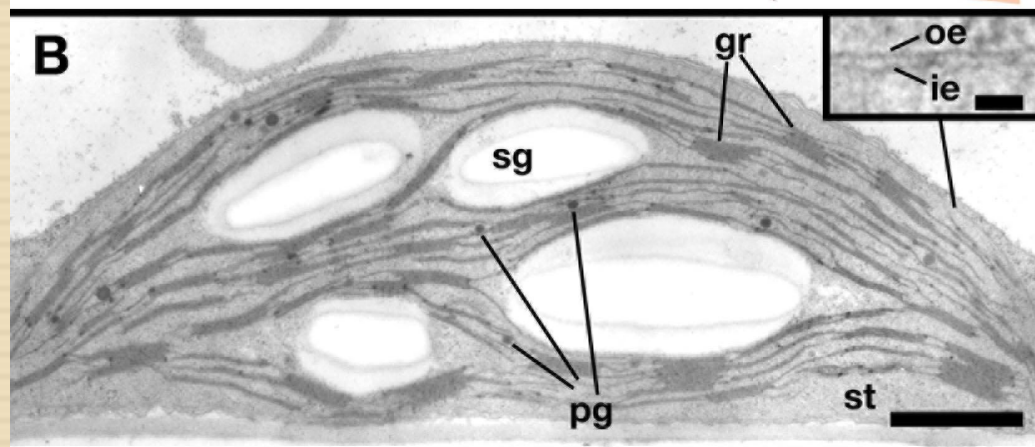
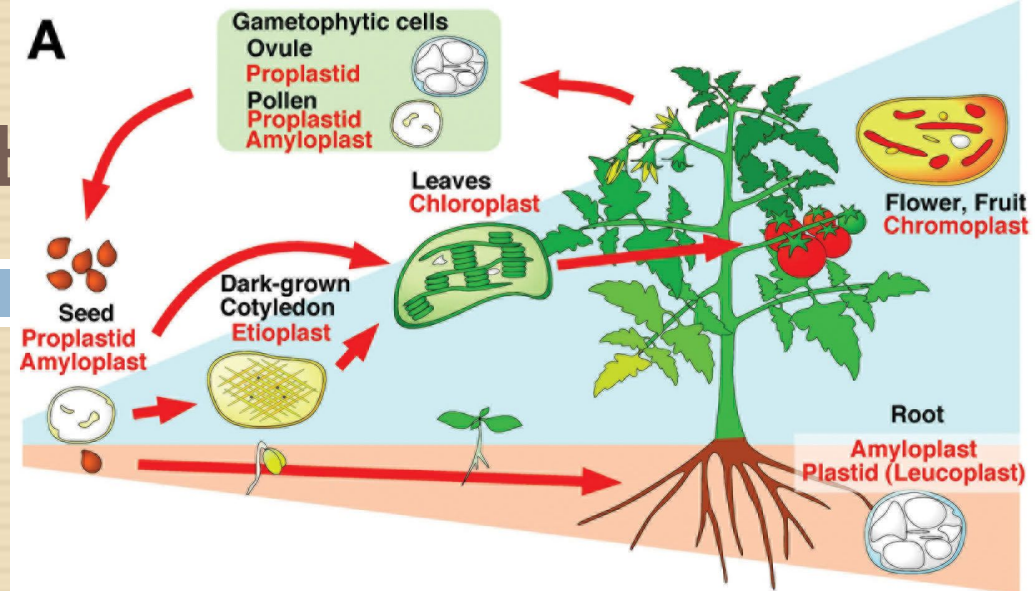
- Количество копий ДНК в зрелых хлоропластах очень велико. Каждый нуклеоид содержит в среднем 10 копий хромосомы.
- В процессе дифференцировки х/п кол-во копий возрастает в 5 раз
- При выделении ДНК из клетки хлоропластный геном составляет примерно 20%!
- Позднее, при старении, оно снижается (спорные данные)

Ещё немного о РНК-полимеразах

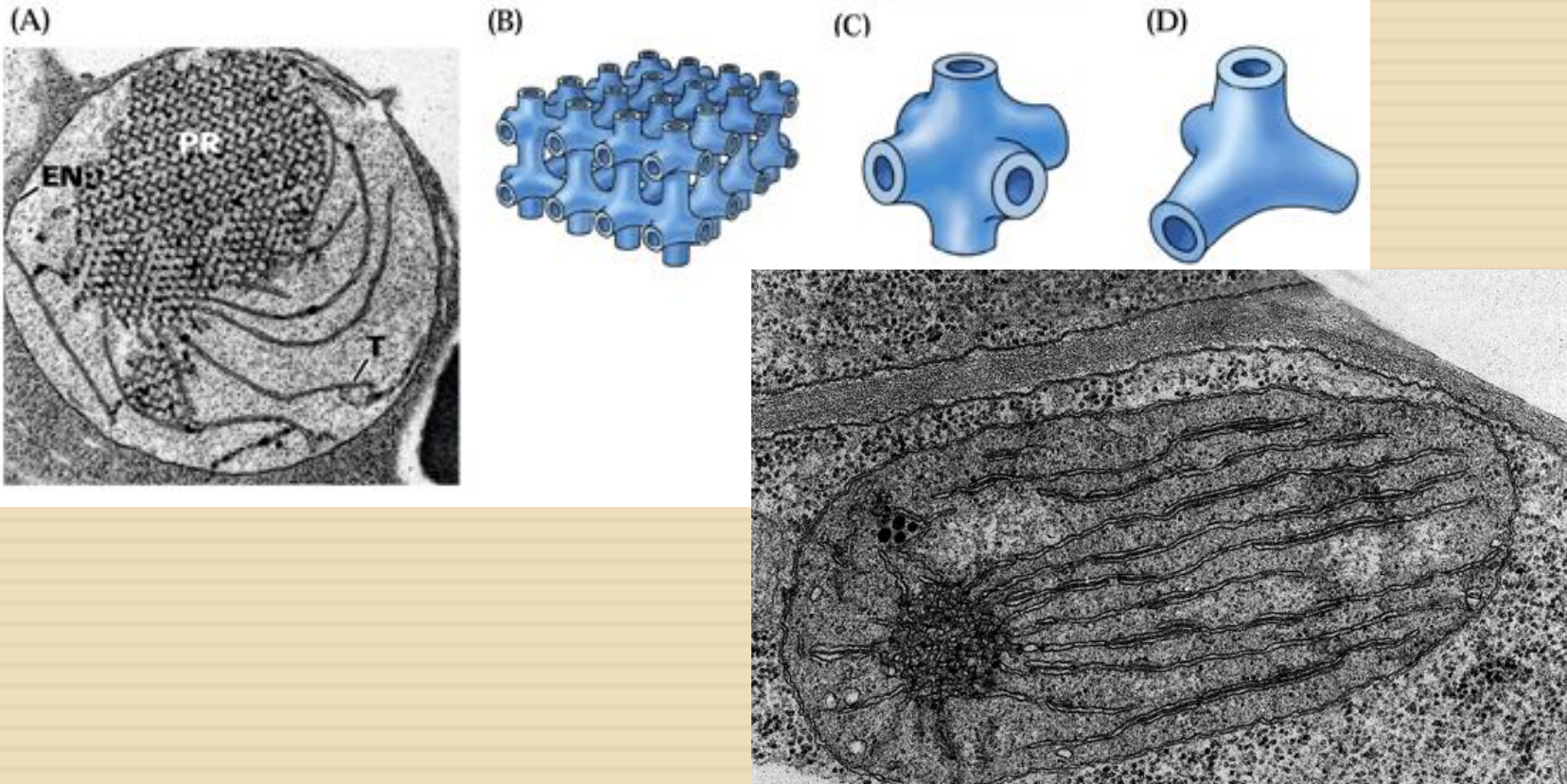
- Начало дифференцировки пропластиды в хлоропласт сопровождается активацией ядерной РНК-полимеразы (NEP)
- Она запускает транскрипцию генов пластидной РНК-полимеразы (PEP), а также генов домашнего хозяйства
- Таким образом, машина белкового синтеза в х/п готова
- Далее на свету при максимальной активности PEP синтезируются белки фотосистем и идёт сборка комплексов.
- После того, как за дело взялась PEP, регуляция транскрипции осуществляется с участием сигма-факторов (SIG). Их как минимум 6, и без них дифференцировка пластид не завершается, листья остаются бледными

Другие пластиды

- «Пластида» – от слова «пластичность»
- Пропластиды в 10-100 раз меньше хлоропластов, и в клетке их в 5 раз меньше



Этиопласты и их будущее

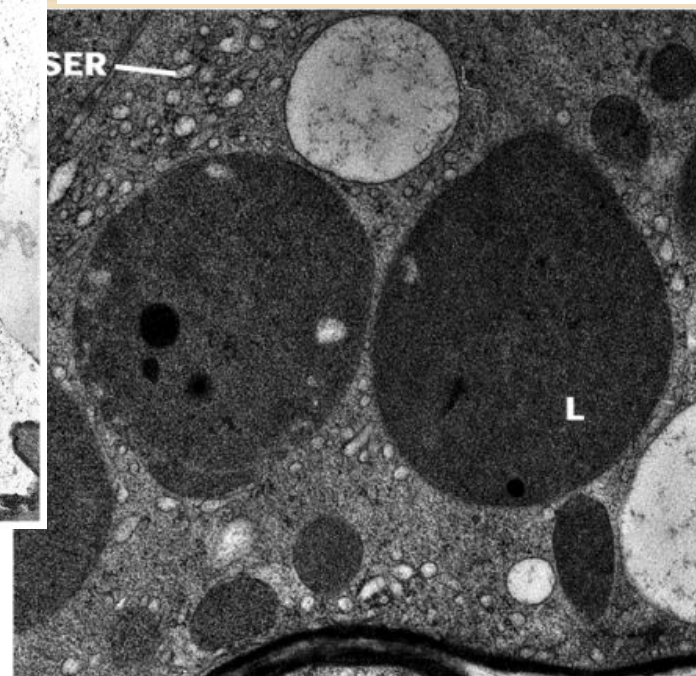
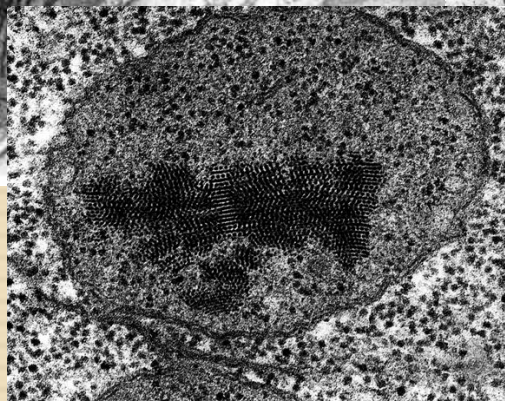
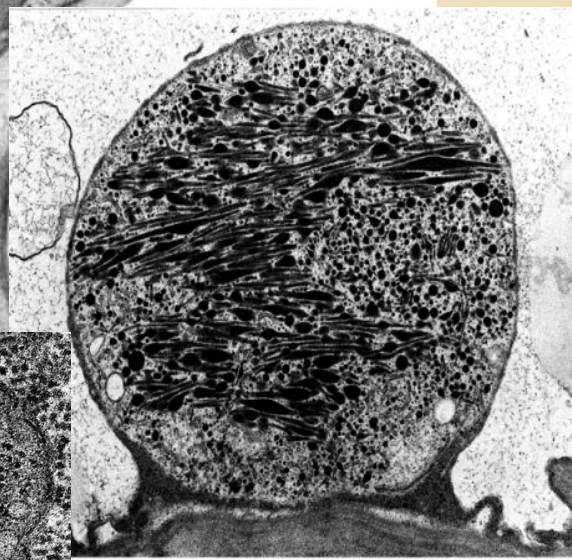
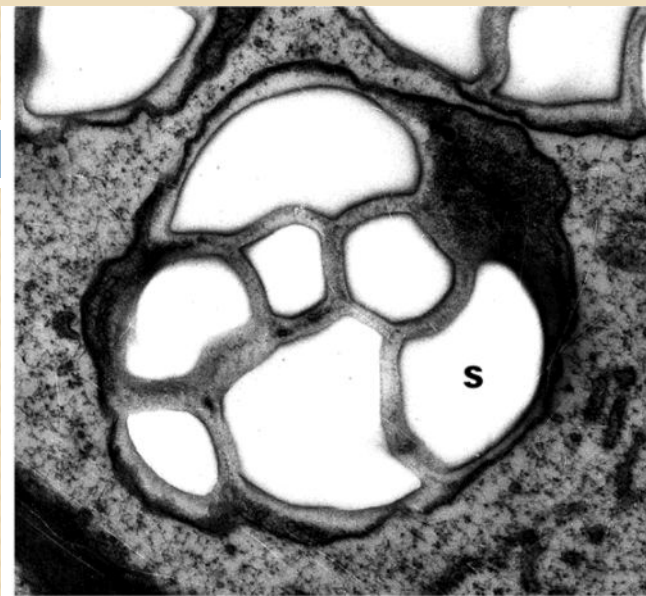
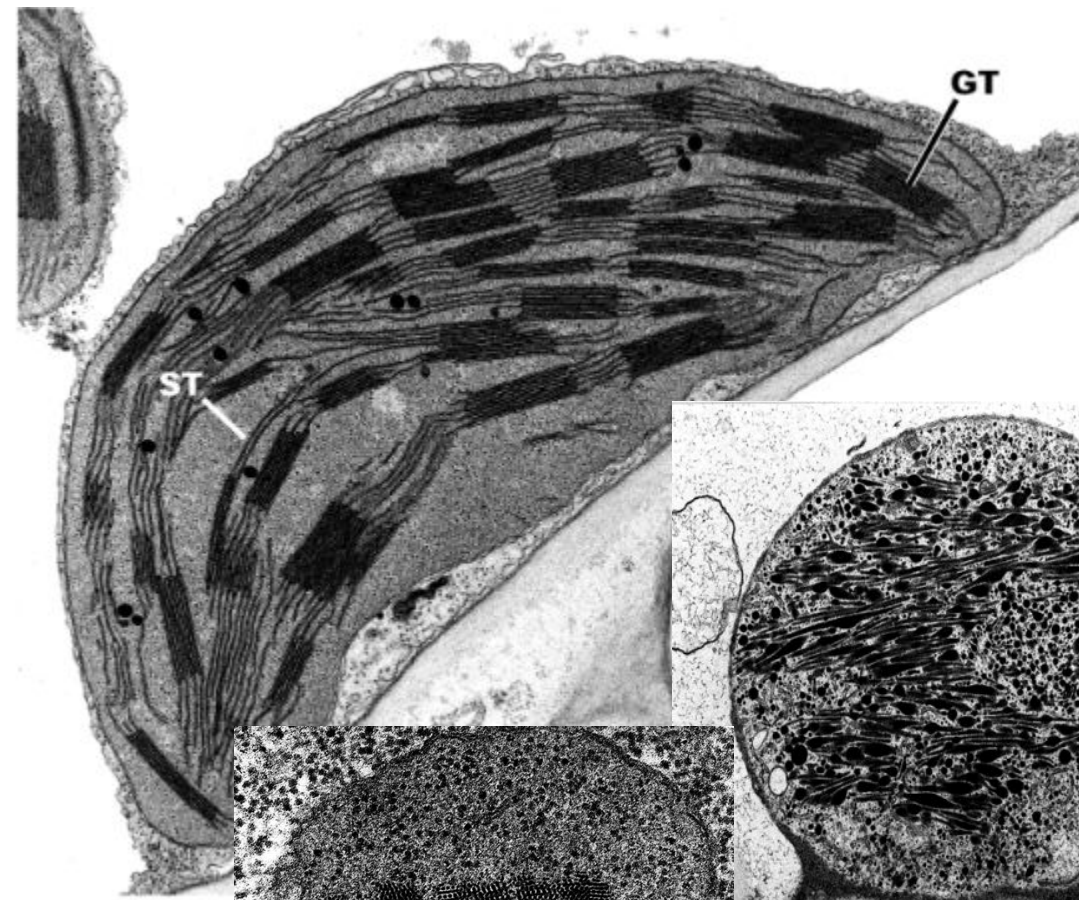


- Этиопласты накапливают липиды для быстрой сборки тилакоидов в форме проламеллярных тел (75% липидов). Без света

Лейкопласты

- Лейкопласты - бесцветные пластиды, вовлеченные в синтез изопреноидов, прежде всего моно- и сесквитерпенов, содержащихся в эфирных маслах.
- Синтез этих соединений обычно происходит в специализированных клетках секреторных железок листьев и стеблей либо в секреторных каналах кожуры цитрусовых.

Портретная галерея



Обмен информацией

- Поток информации от ядра к х/п называют антеградным, и он включает в себя как строительные белки, так и регуляторные.
- Однако, чёткая скоординированность синтеза субъединиц в ядре и х/п требует обратной связи.

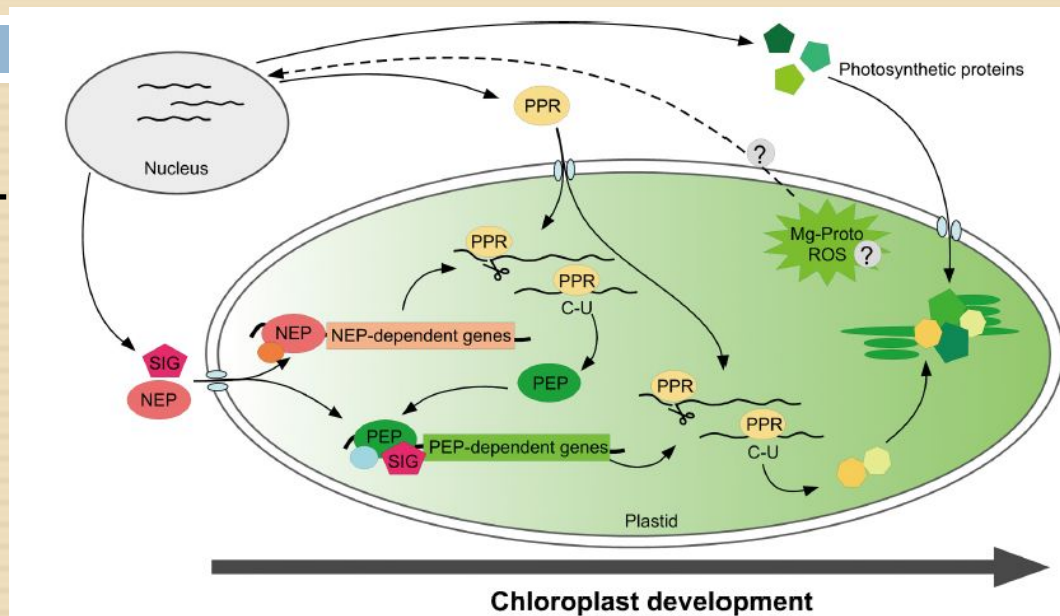
Ретроградный сигналинг

Сигнал о перевосстановленности и цепи снижает транскрипцию генов ФС и повышает – генов

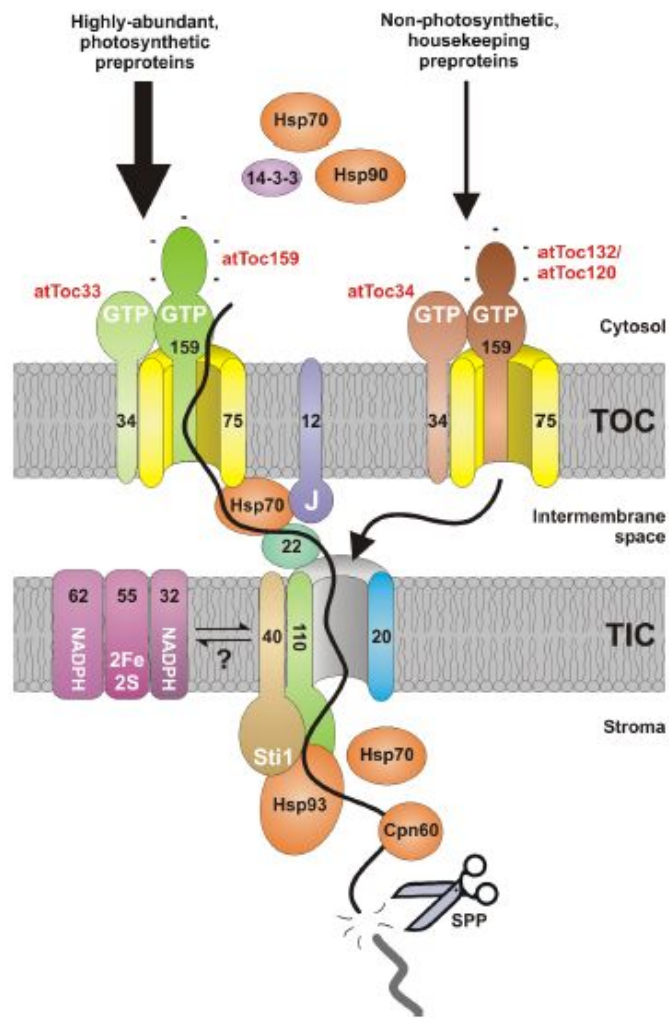
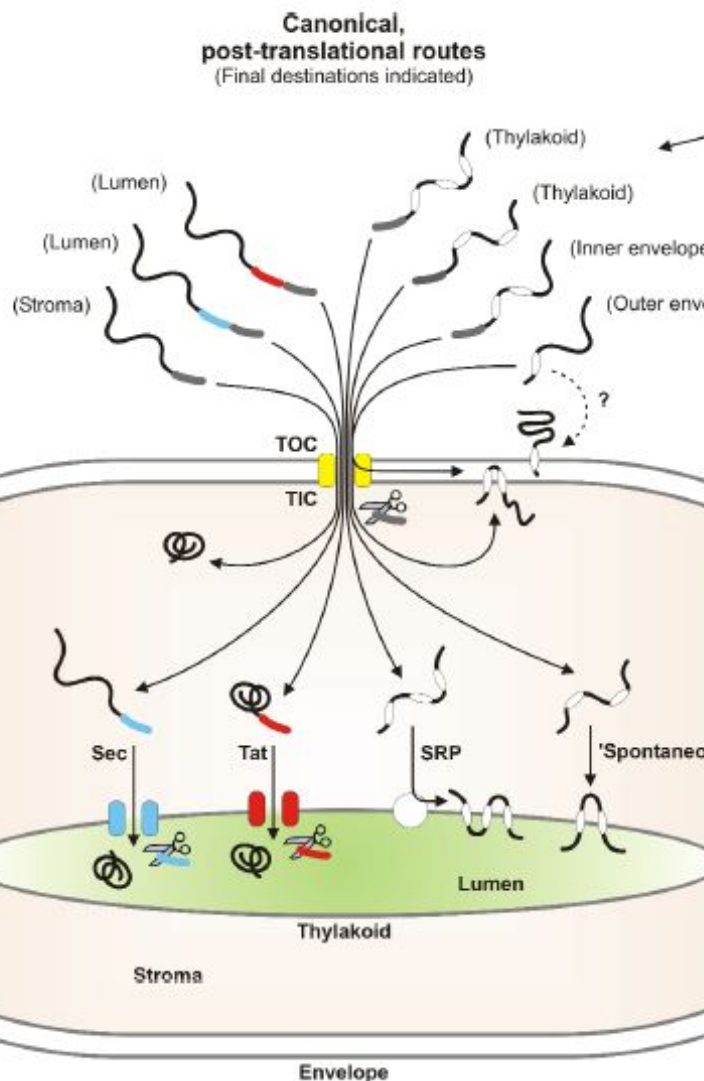
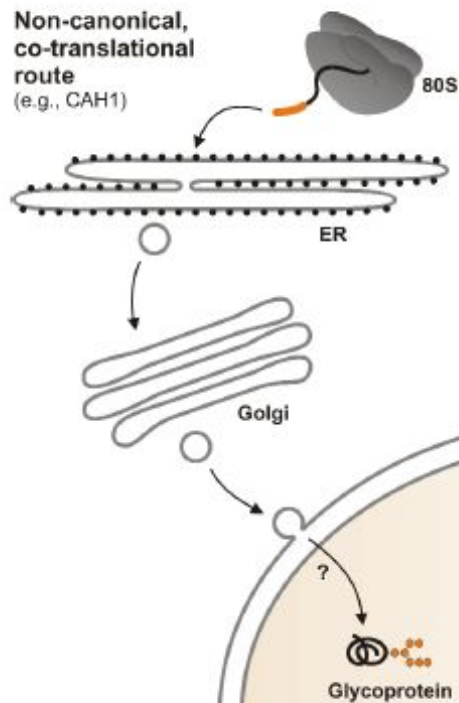
антиоксидантных

систем. X/p сообщает ядру о редокс-балансе ЭТЦ, накоплении АФК и нарушении пластидного синтеза белков и пигментов.

Оказалось, что ключевой интермедиат ретроградного сигналинга – предшественник хлорофилла Mg-протопорфирин IX



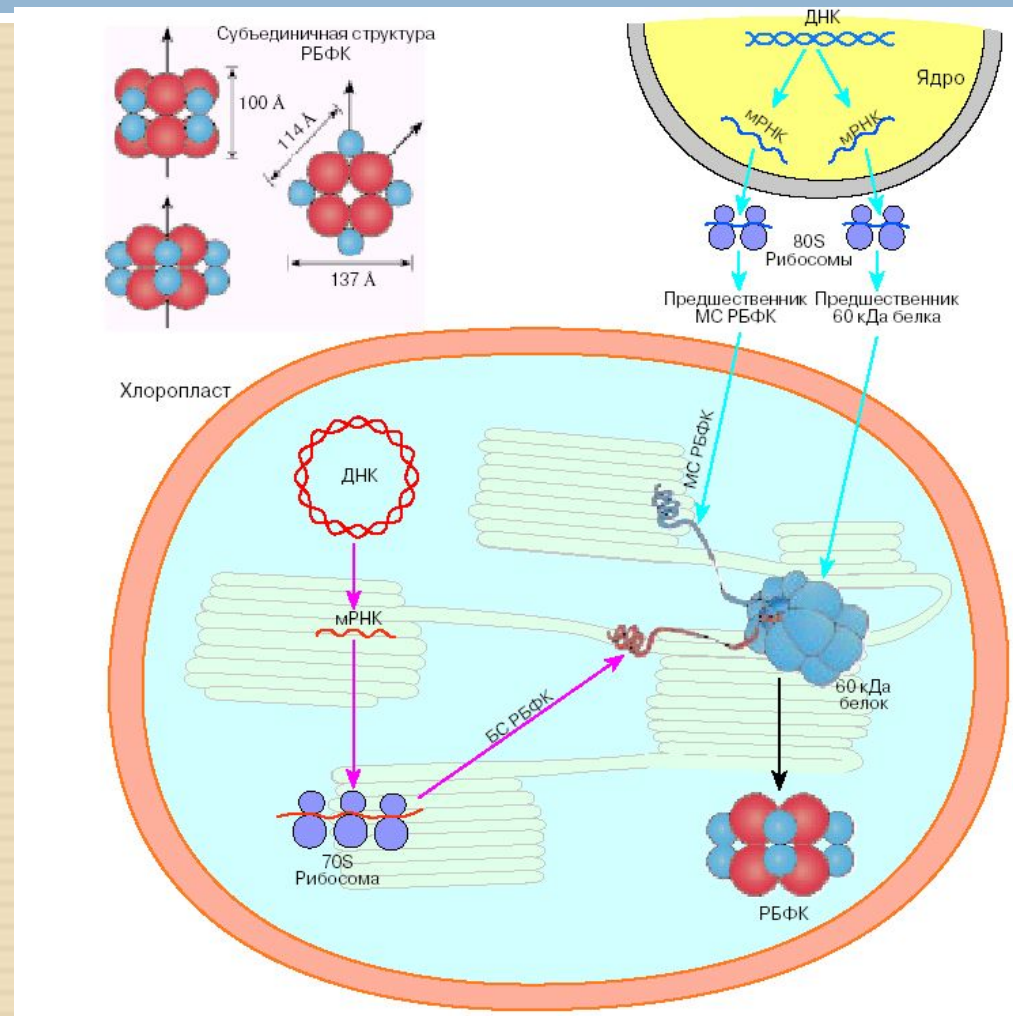
Импорт белков



- KEY**
- Transit peptide (TOC/TIC)
 - Signal peptide (ER)
 - Internal targeting sequence
 - Luminal targeting peptide (Sec)
 - Luminal targeting peptide (Tat)
 - Transmembrane domain

Двойное кодирование

- Большинство белковых комплексов х/п имеют двойное кодирование
- Самый известный пример – Рубиско. Большие субъединицы кодируются в х/п, малые – в ядре.



Деление пластид

