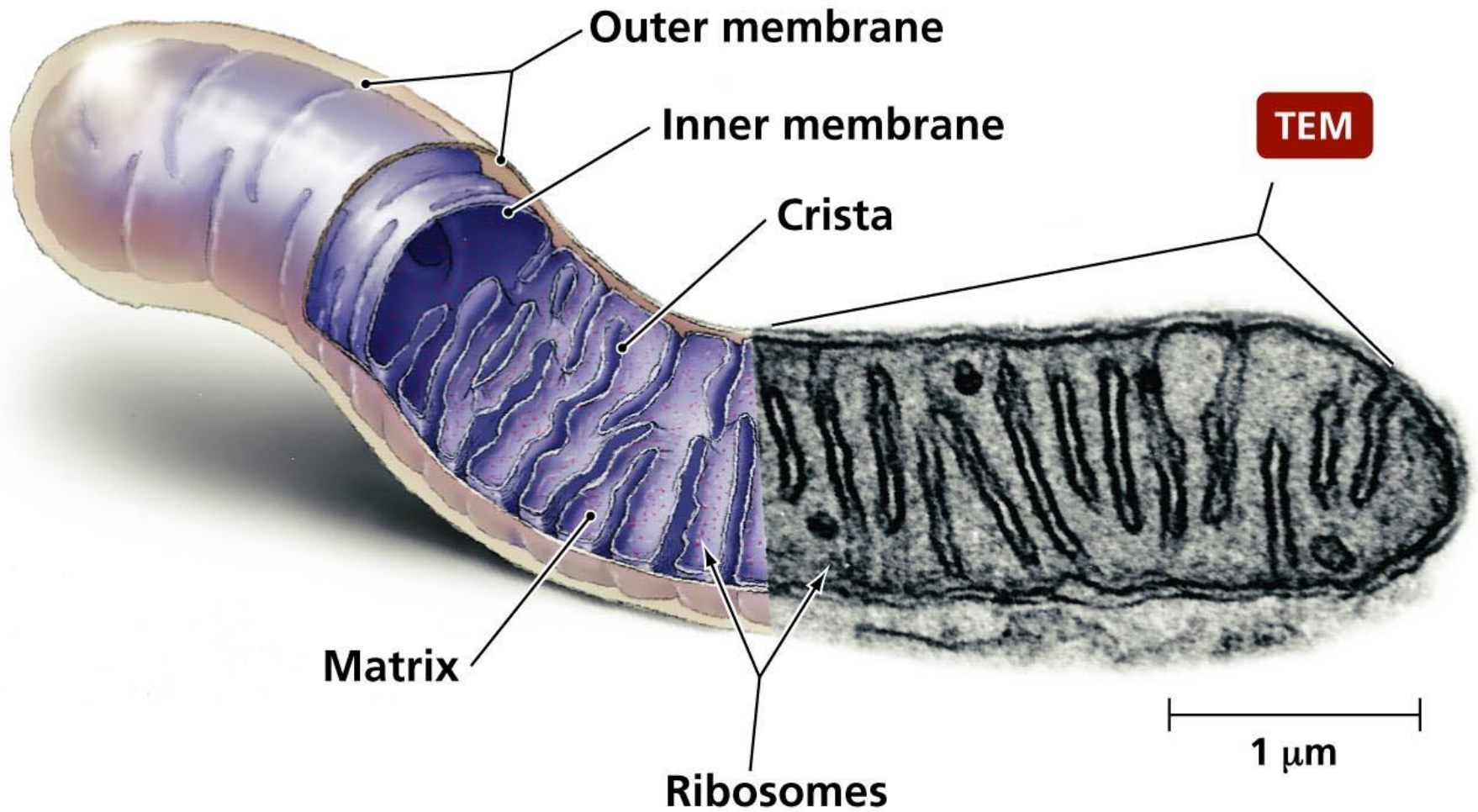


## Лекция 2:

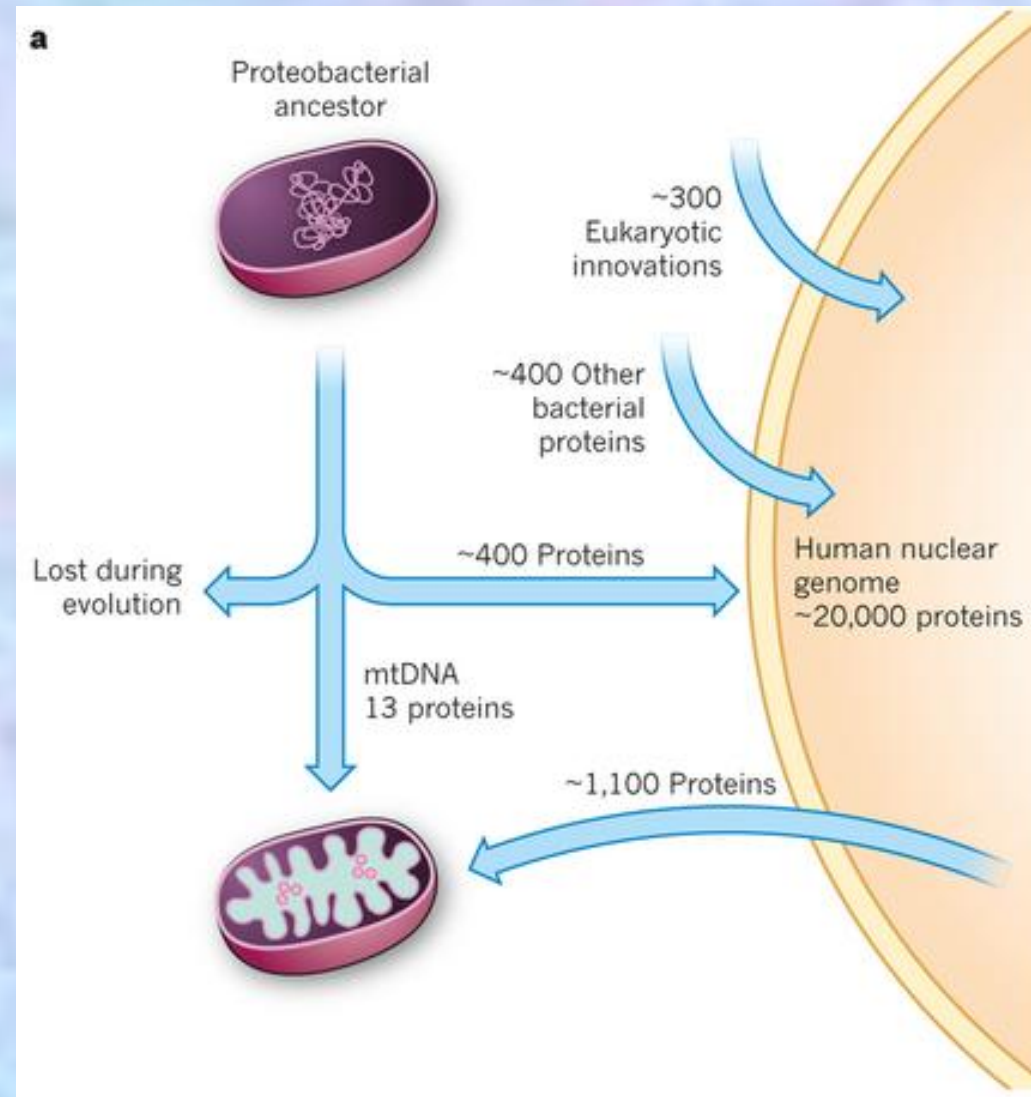
- Митохондриальный протеом
  - Структура мтДНК
- Генетика митохондрий



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

# Митохондрии произошли от $\alpha$ -протеобактерий:

- Часть белков эндосимбионта до сих пор функционирует в митохондриях (ферменты окислительного фосфорилирования, компоненты рибосом)
- Часть белков потеряна в ходе эволюции.
- Добавились новые белки (белки системы митохондриального импорта)





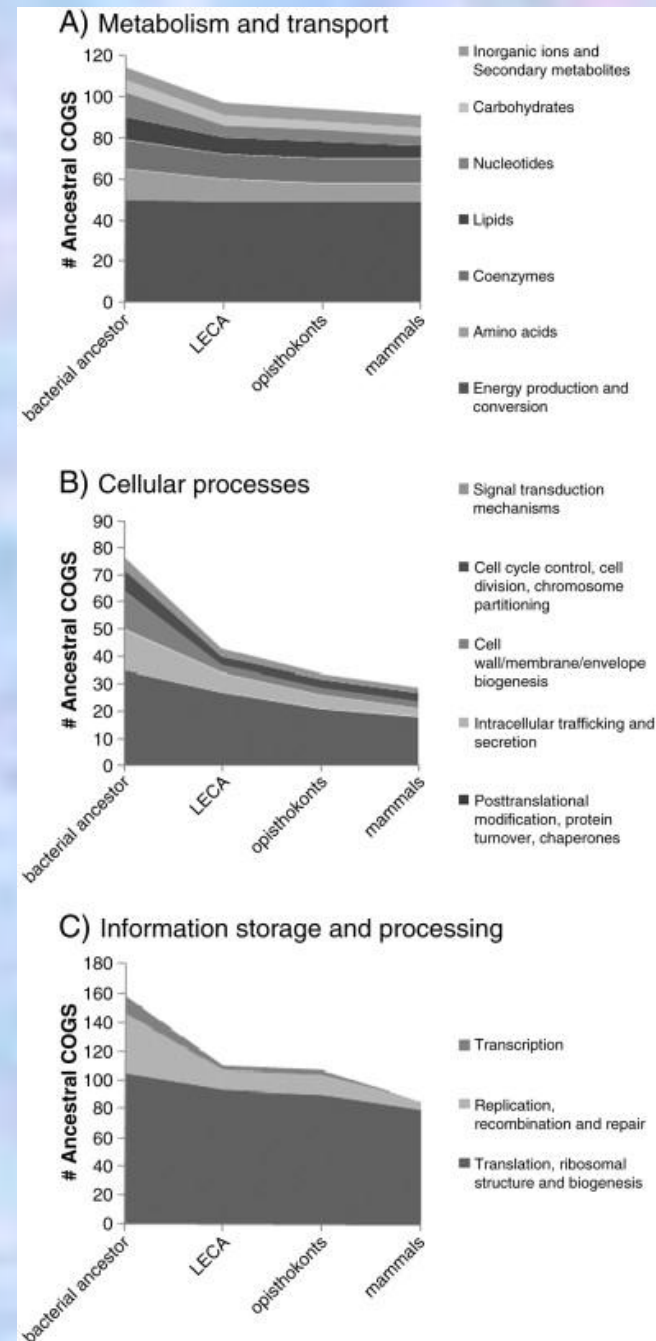
# Потеря белков митохондрией в ходе эволюции в основном происходила на ранних этапах:

- Из 370 белков бактериального предка 161 не найдены в митохондриях Млекопитающих.
- Из 161 потерянного белка 115 (71%) не найдены ни в одном организме => потеря произошла еще до дивергенции эукариот.

Ортологичная группа (COG): совокупность всех потомков данного предкового гена.

LECA – last eukaryotic common ancestor

Opisthokonts – общий предок грибов и многоклеточных животных



## Потеря белков митохондрией:

- Часть белков потеряна полностью в связи с потерей функции (ферменты, ответственные за синтез компонентов клеточной стенки)
- Часть белков локализованы и функционируют в других клеточных компартментах, поскольку их гены перенесены в ядро => их продукты могут выполнять свои функции не в митохондриях (ферменты биосинтеза гема частично работают в митохондриях, другая часть ферментов участвует в биосинтезе жирных кислот вне митохондрии)

# Потерянные бактериальные белки часто заменялись другими неортологичными белками

Например, DNA polymerase  $\gamma$ , POLRMT и TWINKLE имеют высокую гомологию с ферментами T3/T7 фагов.

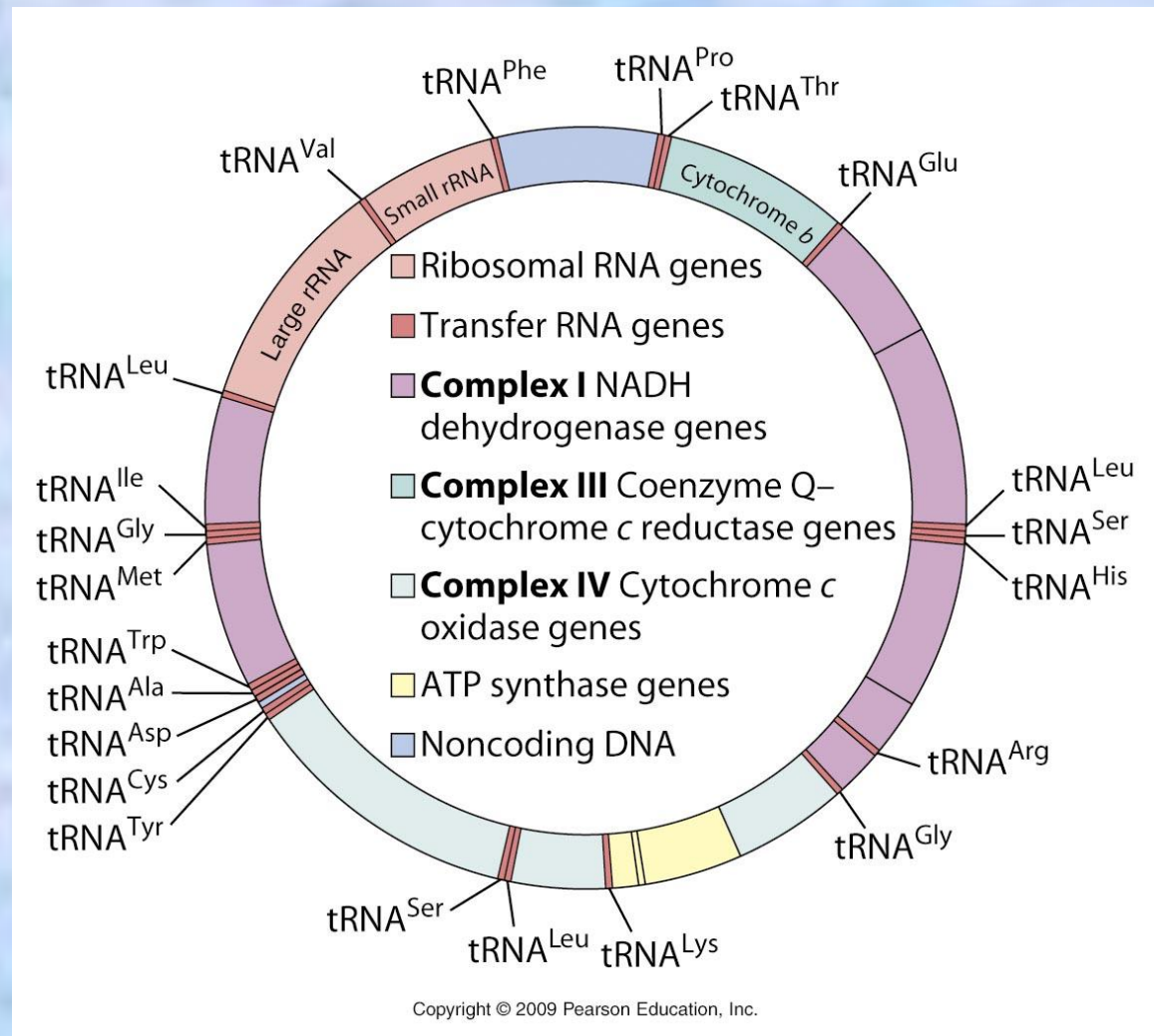
| COG     | Bacterial gene name | Function                           | Human gene | EC number | Origin of the new protein |
|---------|---------------------|------------------------------------|------------|-----------|---------------------------|
| COG1138 | ccmE                | Cytochrome C biogenesis            | HCCS       | -         | LECA [8]                  |
| COG0592 | dnaN                | DNA polymerase processivity factor | POLG2      | -         | Metazoa [41]              |
| COG0587 | dnaE                | DNA polymerase                     | POLG       | 2.7.7.7   | Opisthokonts [78]         |
| COG0847 | dnaQ                | 3-5 exonuclease                    | POLG       | 3.1.13    | Opisthokonts [78]         |
| COG1651 | dsbA                | Protein disulfide isomerase        | CHCHD4     | 5.3.4.1   | LECA [103]                |
| COG0492 | trxB                | Thioredoxin reductase              | TXNRD2     | 1.8.1.9   | Metazoa                   |
| COG0358 | dnaG                | DNA primase                        | POLRMT     | 2.7.7.-   | LECA [104]                |
| COG0751 | glyS                | Glycyl-tRNA aminoacyltransferase   | GARS       | 6.1.1.14  | LECA [17]                 |
| COG0752 | glyQ                |                                    |            |           |                           |
| COG0805 | tatC                | Protein translocation              | BCS1L      | -         | LECA [105]                |
| COG1826 | tatA                |                                    |            |           |                           |
| COG0272 | ligA                | DNA ligase                         | LIG3       | 6.5.1.2   | Filozoa [106]             |
| COG0202 | rpoA                | RNA polymerase                     | POLRMT     | 2.7.7.6   | LECA [104]                |
| COG0164 | rnhB                | Ribonuclease                       | RNASEH1    | 3.1.26.4  | Metazoa [107]             |
| COG1158 | Rho                 | Transcription termination          | MTERF      | -         | LECA [108]                |
| COG0782 | greA                | Transcription elongation           | TEFM       | -         | Metazoa [42]              |
| COG0691 | smpB                | Recycling stalled ribosomes        | mtRF1?     | -         | Vertebrates [96]          |
| COG0625 | Gst                 | Glutathione-S-transferase          | GSTK1      | 2.5.1.18  | Metazoa [109]             |
| COG0305 | dnaB                | Replicative helicase               | TWINKLE    | 3.6.1.-   | LECA [78]                 |



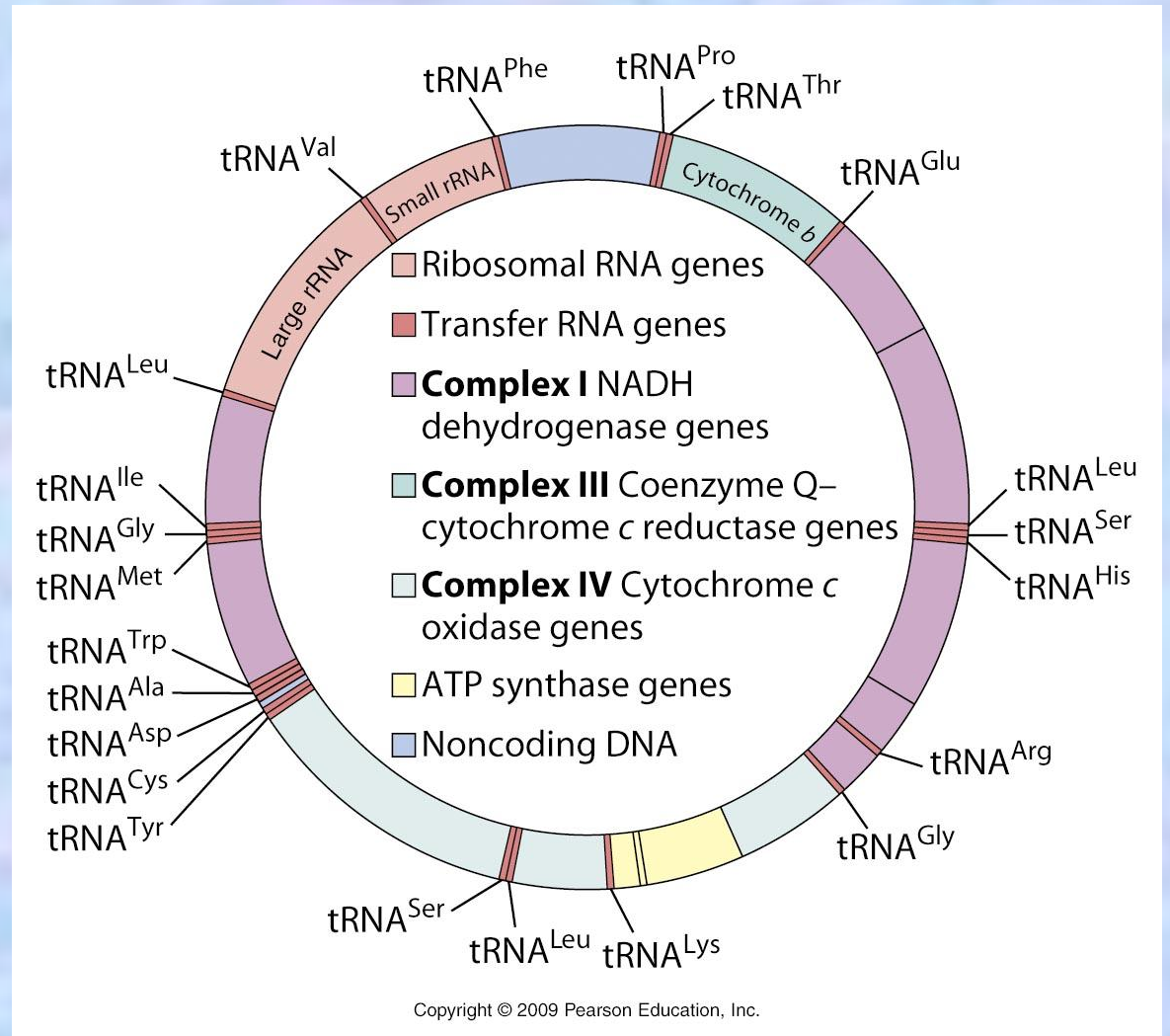
# Перенос бактериальных генов из митохондриального генома в ядерный

Одна из гипотез: перенос происходит из-за высокой частоты мутаций в связи с близостью дыхательной цепи.

Ортологичные гены у разных видов организмов могут находиться в разных геномах – митохондриальном или ядерном.



Все белки,  
необходимые для  
митохондриальной  
репликации,  
транскрипции и  
трансляции,  
расположены в  
ядерном геноме.





Для репликации и экспрессии мт генома, в котором сохранились всего несколько генов, необходима сложная ферментативная система.

## Почему в мтДНК вообще остались какие-то гены? Почему не все гены перенеслись в ядро?

- Гидрофобным белкам трудно транспортироваться в митохондрии от места их синтеза  
В мт ДНК остались гены двух самых гидрофобных из всех митохондриальных белков – субъединицы 1 цитохром с оксидазы и цитохрома b
- Из-за разницы в генетическом коде трудно переместить некоторые гены в ядро
- Регуляция экспрессии генов митохондрий важна для контроля обмена веществ. На эту экспрессию могут непосредственно влиять компоненты дыхательной цепи, а также электрохимический потенциал.

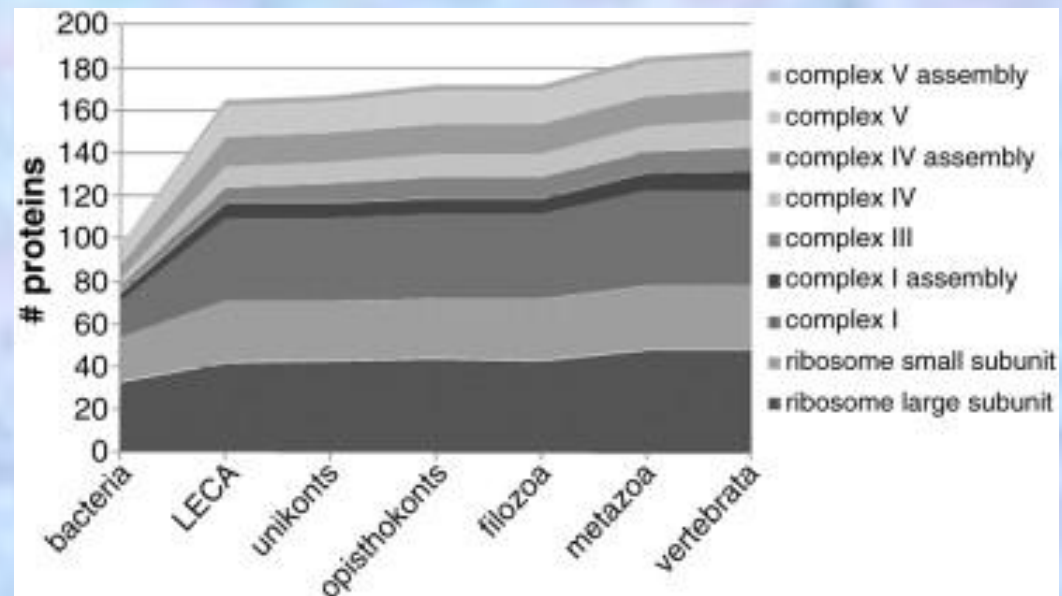
# В ходе эволюции происходило увеличение числа субъединиц в больших мультиферментных митохондриальных комплексах

## Почему новые субъединицы добавлялись в комплексы?

- Это может компенсировать мутации в старых субъединицах

В единственном комплексе, гены всех компонентов которого локализованы в ядре – комплексе II - не менялось число субъединиц

- Новые субъединицы участвуют в регуляции работы комплексов



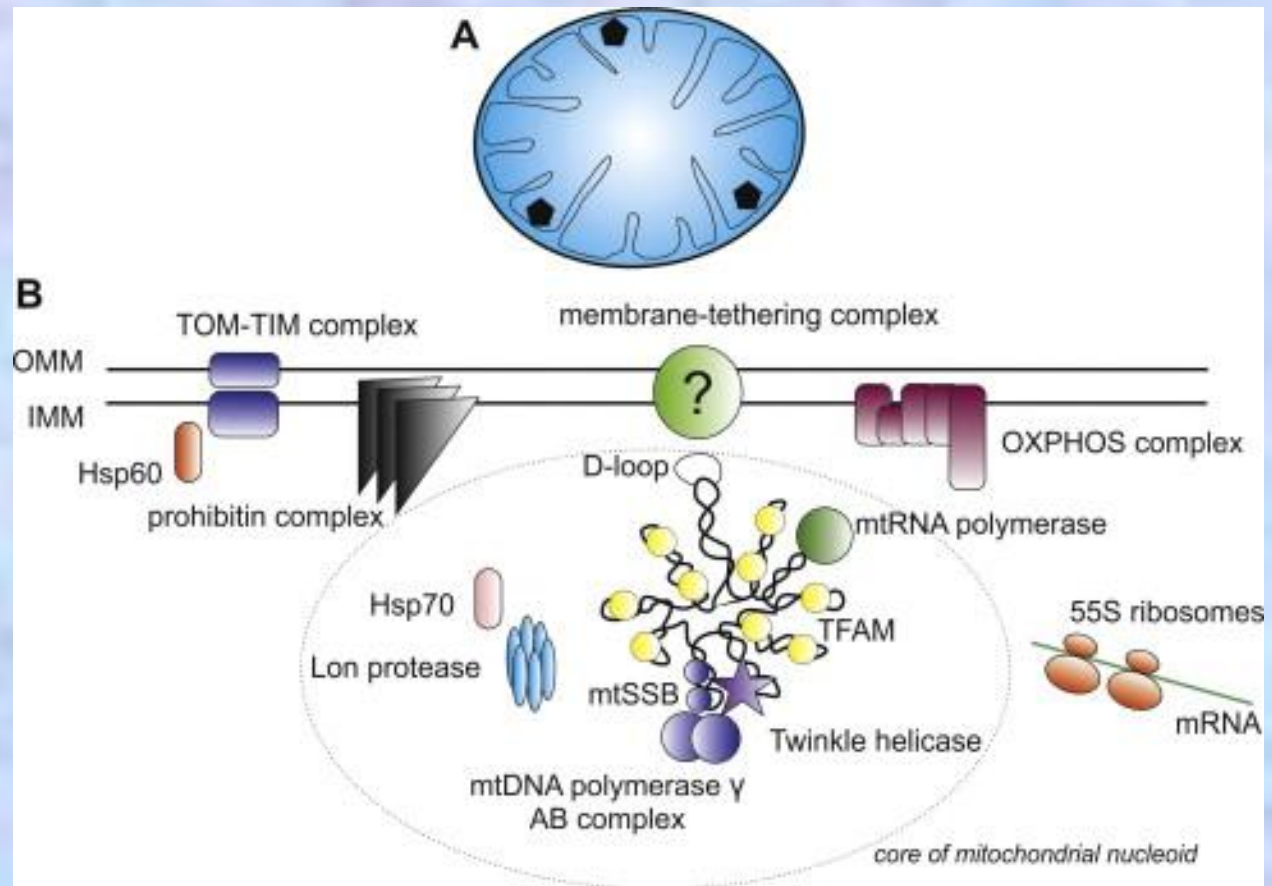
PMID: 22902511

1. **Митохондрии произошли от  $\alpha$ -протеобактерий**
2. **Часть белков эндосимбионта до сих пор функционирует в митохондриях**
  - Большая часть предковых генов перенесена в ядерный геном
  - В геноме митохондрий человека осталось закодировано 13 белков
3. **Часть белков эндосимбионта потеряна в ходе эволюции**
  - Потеря белков митохондрией в основном происходила на ранних этапах эволюции
  - Некоторые утраченные белки заменены неортологичными
4. **В митохондриальный протеом в ходе эволюции добавились новые белки**
  - В связи с возникновением новых функций у митохондрий по сравнению с бактериальным предком
  - В ходе эволюции происходило увеличение числа субъединиц в больших мультиферментных митохондриальных комплексах



# МтДНК организована в ДНК-белковые комплексы – нуклеоиды.

- Нуклеоид содержит 1-10 копий мтДНК и белки, участвующие в репликации и транскрипции ДНК.
- Соматические клетки млекопитающих содержат 1000-10.000 молекул мтДНК.



The influence of ATP-dependent proteases on a variety of nucleoid-associated processes *Journal of Structural Biology*  
Volume 179, Issue 2, August 2012, Pages 181–192  
L'uboš Ambroa, Vladimír Pevalaa, Jacob Bauera, Eva Kutejová

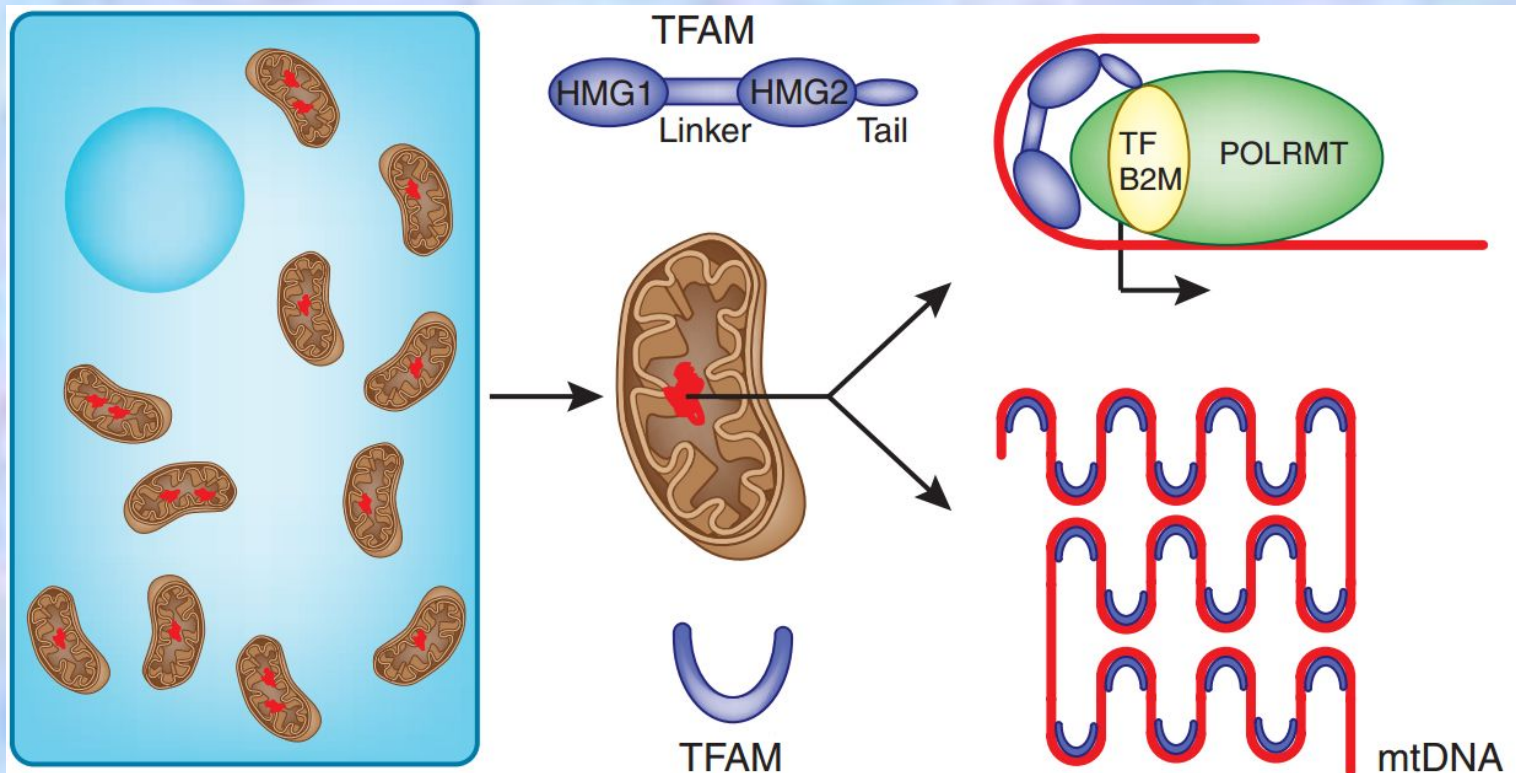
| Protein        | Gene  | Nucleoid directed purification - shotgun approach |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   | Nucleoid directed purifications<br>Single bands analysis |                       |                       |                                   | Mitochondrion associated proteins purifications |                 |                                |               |              |
|----------------|---|---|------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|---|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------------------|---|-----------------|--------------------------------|---------------|--------------|
|                |   | Wang & Bogenhagen<br>2006 [53]                    |            | Bogenhagen et al.<br>2008 [36] |                               | He et al., 2012 [18]        |                             |                             |                            |                            |   | Bogenhagen et al.  |                       |                       |                                   | He et al.                                       |                 |                                |               |              |
|                |   | α-TFAM IP   | α-mtSSB IP | Nucleoprotein complex - X1 #1  | Nucleoprotein complex - X2 #2 | TFAM-FLAG-StrepII TAP IP #1 | TFAM-FLAG-StrepII TAP IP #2 | TFAM-FLAG-StrepII TAP IP #3 | SSB-FLAG-StrepII TAP IP #1 | SSB-FLAG-StrepII TAP IP #2 | ATAD3B-FLAG-StrepII SILAC - only StrepII IP | ATAD3A-FLAG-StrepII SILAC - only StrepII IP              | Nucleoprotein complex | Nucleoprotein complex | Nucleoprotein complex - high salt | α-PDP3B IP                                      | α-M19 (mtR1) IP | Cokerf14 - FLAG-strepII TAP-IP | FLAG-mtRBF IP | ICT1-FLAG IP |
| NP_003192.1    | TFAM  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001243439.1 | mtSSB   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_003312.3    | EFTu  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_619520.1    | DEAH box polypeptide 30-2                         |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_000173.2    | Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_005026.3    | mtRNA polymerase                                  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_005403.2    | Serine hydroxymethyltransferase                   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_573566.2    | LRP130  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001164006.1 | AAA-ATPase  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_060979.2    | LRRC59  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_002625.1    | Prohibitin 1                                      |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001138303.1 | Prohibitin 2                                      |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_002684.1    | mtDNA polymerase γ A                              |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_009146.2    | mtDNA polymerase γ B                              |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001143.2    | ANF2  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001627.2    | ANF3  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_006651.2    | CtpX caseinolytic protease X homolog              |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_068602.2    | Twinkle   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_000174.1    | Trifunctional enzyme subunit beta                 |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_005336.3    | HSP 70  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_004784.2    | Lon protease                                      |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_003162.2    | SUV3-like helicase                                |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_057104.2    | TFB1M   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_071761.1    | TFB2M   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001909.3    | Branched chain ketoacid dehydrogenase subunit E2  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_005138.3    | DNAJ homolog subfamily A member 3 (TID1)          |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001164014.1 | Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5        |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_056399.1    | PDIIP3B   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_443195.1    | DNA topoisomerase 1, mitochondrial                |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_008911.1    | Mterf   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_060850.2    | DEAD box 28                                       |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_006787.2    | AFG3 ATPase family gene 3-like 2                  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_057026.3    | MTERF domain containing 1                         |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_647473.1    | YME 1-like isoform 1                              |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_114127.3    | ATPase family, AAA domain containing 3B           |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_115689.1    | C4orf14   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001092.1    | β-actin   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_060422.4    | Pentatricopeptide repeat-containing protein 3     |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001536.1    | Peptidyl-tRNA hydrolase ICT1, mitochondrial       |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_443082.2    | CRIF1   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_004125.3    | MTHSP75   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_001922.2    | PDC-E2  |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_002464.1    | Myosin, heavy chain 9, non-muscle                 |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_115716.1    | Mitochondrial nucleoid factor 1 (M19)             |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_620132.1    | mitochondrial ribosome recycling factor isoform 1 |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| NP_003625.2    | NIPSNAP   |   |            |                                |                               |                             |                             |                             |                            |                            |   |  |                       |                       |                                   |   |                 |                                |               |              |
| -              | 39S ribosomal proteins (~50 total)                |   |            | 8                              | 4                             | 8                           | 3                           | 5                           | 2                          | 8                          | 20  | 39   |                       |                       |                                   |   | 1               | 40                             | 38            |              |
| -              | 28S ribosomal proteins (~31 total)                |   |            | 6                              | 4                             | 18                          | 12                          | 12                          | 12                         | 4                          | 15  | 30   |                       |                       |                                   |   | 23              | 28                             | 25            |              |

PMID:24076128



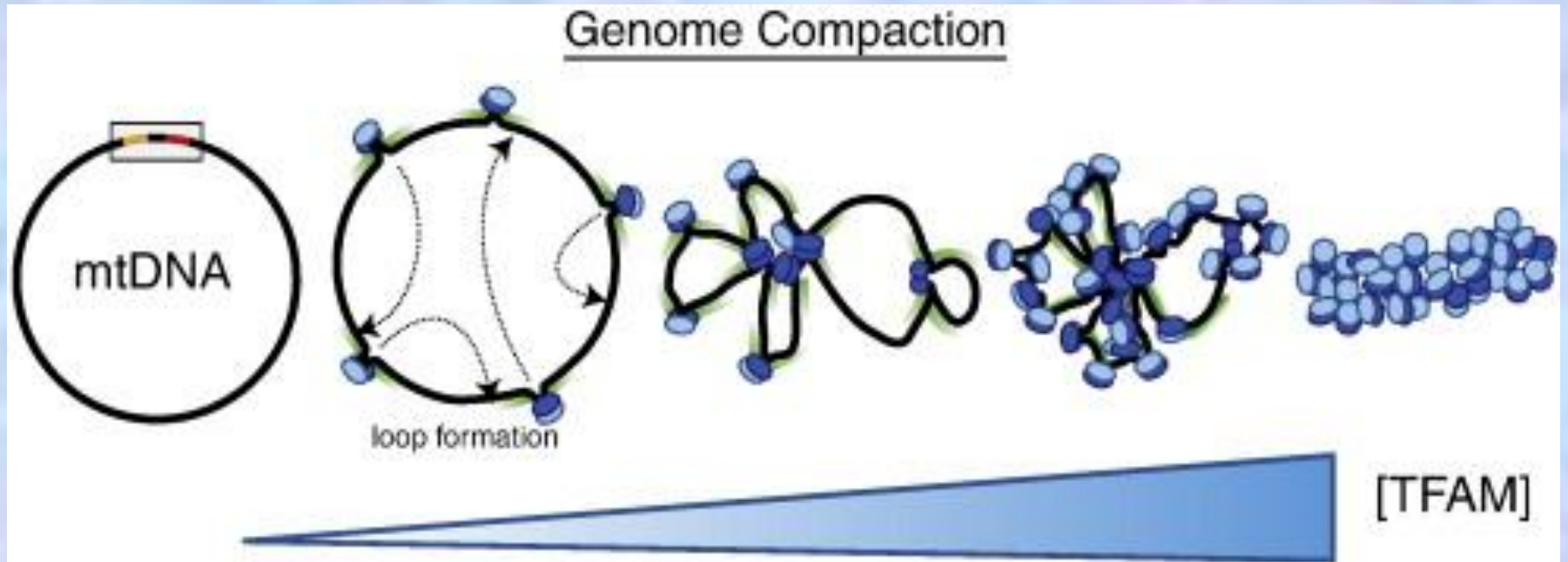
TFAM (mitochondrial transcription factor A) участвует в пространственной организации нуклеоида:

Имеет гомологию с ДНК-связывающими белками HMG (high mobility group), которые участвуют в пространственной организации ядерного хроматина.





TFAM (mitochondrial transcription factor A)  
участвует в пространственной организации  
нуклеоида.



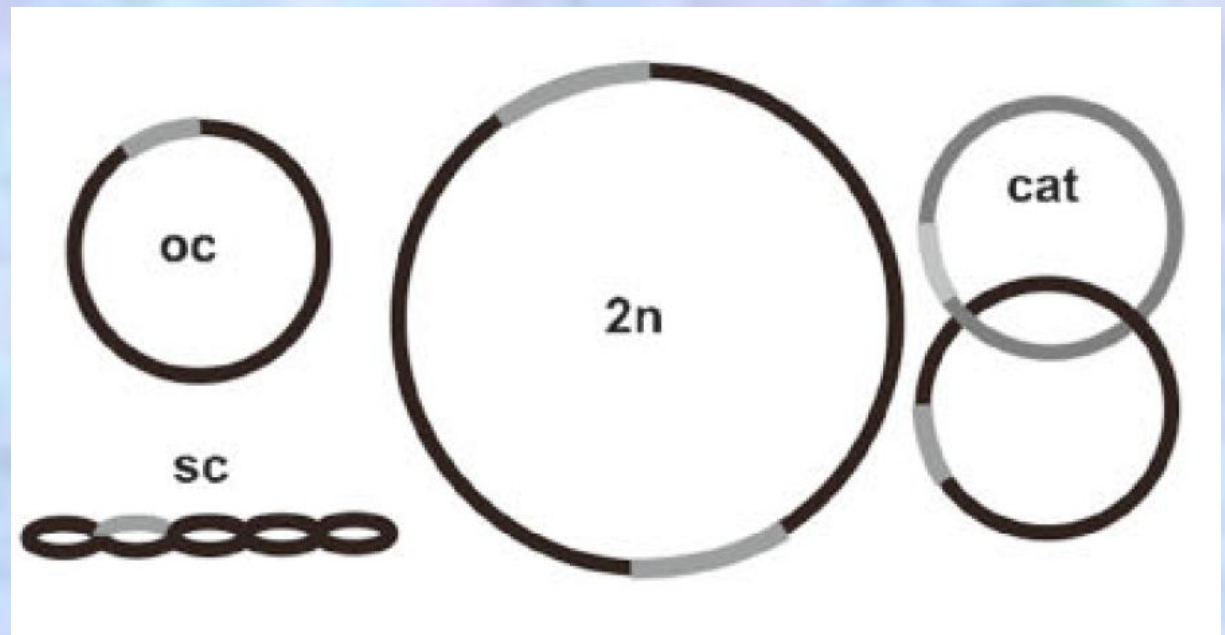
PMID: 22465614

# В клетках млекопитающих показано наличие мтДНК в нескольких формах:

- Open circle
- Supercoiled circle

Эти две формы составляют большинство у многоклеточных животных

- Head-to-tail circular dimer



PMID: 21290399

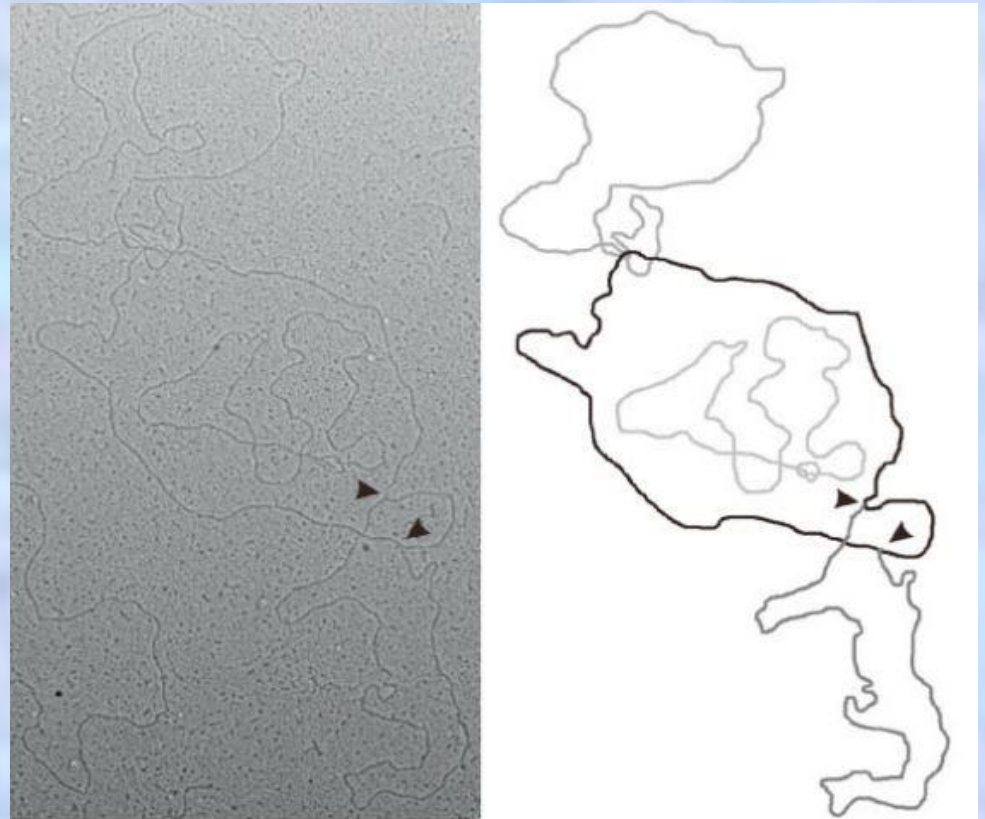
## • Catenane

Их количество  
значительно варьирует:  
10% у мыши, более 30%  
в клетках человека  
линии НЕК.

У мыши не обнаружено  
катенанов из более чем  
4-х молекул ДНК.

В человеческих  
клеточных линиях  
встречаются катенаны  
из 8-ми молекул ДНК.

У человека количество  
катенанов коррелирует с  
числом копий мтДНК.

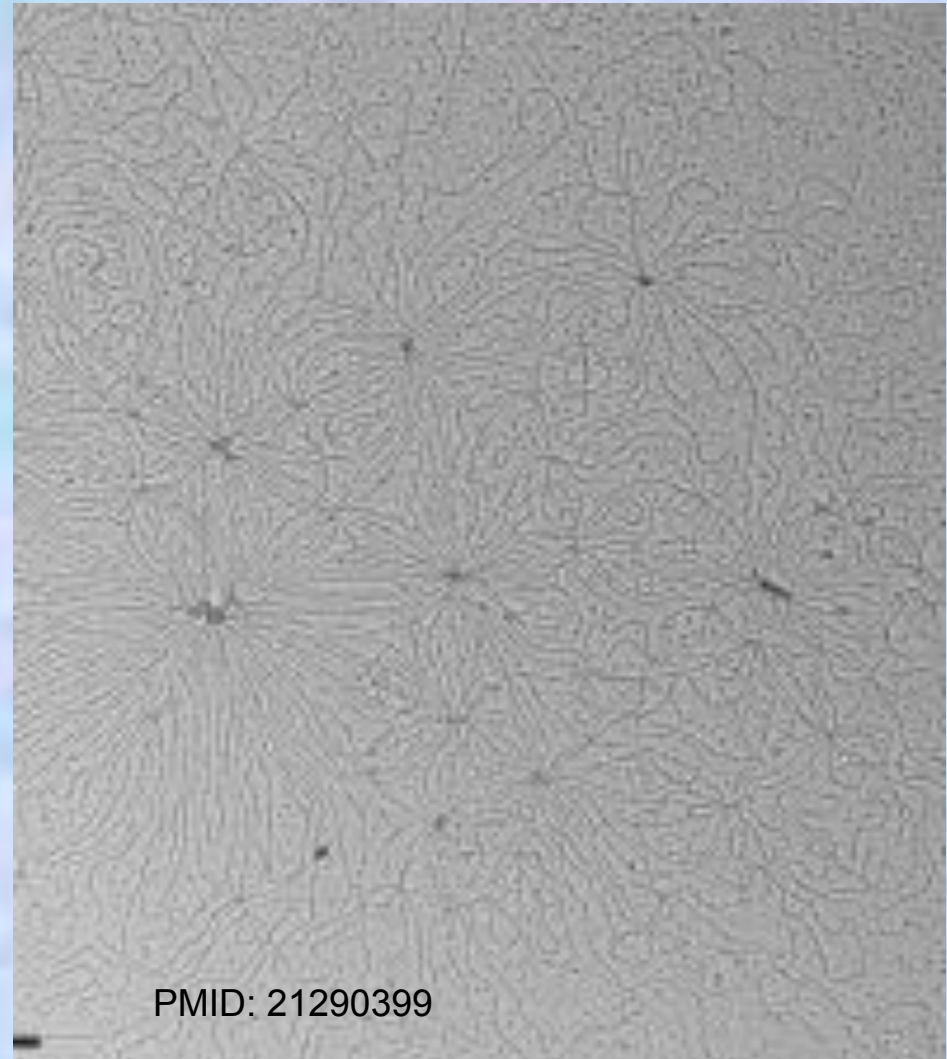


PMID: 21290399



# мтДНК в сердечной мышце взрослого человека организована в многомерную сеть, содержащую множество молекул.

- Так же организована мтДНК у некоторых растений, малярийного плазмодия и некоторых грибов: линейные геномы, соединенные Head-to-tail формируют многомерную сеть, в которой постоянно происходит репликация и рекомбинация.
- Структуры, образованные при рекомбинации, найдены также в мозге человека и мыши, но не обнаружены в других тканях.
- МтДНК из сердца крысы, мыши, кролика, а также человеческих младенцев не образует сети, а имеет нормальную кольцевую двуцепочечную структуру.



# 1. мтДНК Млекопитающих организована в ДНК-белковые комплексы – нуклеоиды

- В одной клетке около 1000 нуклеоидов
- TFAM (mitochondrial transcription factor A) участвует в пространственной организации мтДНК в нуклеоидах

## 2. В клетках Млекопитающих мтДНК имеет разные формы:

- Open circle
- Supercoiled circle
- Head-to-tail circular dimer
- Catenane, в тканях человека их количество коррелирует с числом копий мтДНК
- мтДНК в сердечной мышце взрослого человека организована в многомерную сеть, содержащий множество линейных геномов.

# Генетический код в мтДНК несколько отличается от универсального

## Митохондриальный генетический код

## Универсальный генетический код

|   |           | Second letter |            |            |                  |  |
|---|-----------|---------------|------------|------------|------------------|--|
|   |           | U             | C          | A          | G                |  |
| U | UUU } Phe | UCU } Ser     | UAU } Tyr  | UGU } Cys  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | UUC } Leu |               | UAC } Stop | UGC } Trp  |                  |  |
|   | UUA } Leu |               | UAA } Stop | UGA } Trp  |                  |  |
|   | UUG } Leu |               | UAG } Stop | UGG } Trp  |                  |  |
| C | CUU } Leu | CCU } Pro     | CAU } His  | CGU } Arg  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | CUC } Leu |               | CAC } Gln  | CGC } Arg  |                  |  |
|   | CUA } Leu |               | CAA } Gln  | CGA } Arg  |                  |  |
|   | CUG } Leu |               | CAG } Gln  | CGG } Arg  |                  |  |
| A | AUU } Ile | ACU } Thr     | AAU } Asn  | AGU } Ser  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | AUC } Ile |               | AAC } Lys  | AGC } Ser  |                  |  |
|   | AUA } Met |               | AAA } Lys  | AGA } Stop |                  |  |
|   | AUG } Met |               | AAG } Lys  | AGG } Stop |                  |  |
| G | GUU } Val | GCU } Ala     | GAU } Asp  | GGU } Gly  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | GUC } Val |               | GAC } Glu  | GGC } Gly  |                  |  |
|   | GUA } Val |               | GAA } Glu  | GGA } Gly  |                  |  |
|   | GUG } Val |               | GAG } Glu  | GGG } Gly  |                  |  |

|   |           | SECOND LETTER |            |            |                  |  |
|---|-----------|---------------|------------|------------|------------------|--|
|   |           | U             | C          | A          | G                |  |
| U | UUU } Phe | UCU } Ser     | UAU } Tyr  | UGU } Cys  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | UUC } Leu |               | UAC } Stop | UGC } Trp  |                  |  |
|   | UUA } Leu |               | UAA } Stop | UGA } Stop |                  |  |
|   | UUG } Leu |               | UAG } Stop | UGG } Trp  |                  |  |
| C | CUU } Leu | CCU } Pro     | CAU } His  | CGU } Arg  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | CUC } Leu |               | CAC } Gln  | CGC } Arg  |                  |  |
|   | CUA } Leu |               | CAA } Gln  | CGA } Arg  |                  |  |
|   | CUG } Leu |               | CAG } Gln  | CGG } Arg  |                  |  |
| A | AUU } Ile | ACU } Thr     | AAU } Asn  | AGU } Ser  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | AUC } Ile |               | AAC } Lys  | AGC } Ser  |                  |  |
|   | AUA } Met |               | AAA } Lys  | AGA } Arg  |                  |  |
|   | AUG } Met |               | AAG } Lys  | AGG } Arg  |                  |  |
| G | GUU } Val | GCU } Ala     | GAU } Asp  | GGU } Gly  | U<br>C<br>A<br>G |  |
|   | GUC } Val |               | GAC } Glu  | GGC } Gly  |                  |  |
|   | GUA } Val |               | GAA } Glu  | GGA } Gly  |                  |  |
|   | GUG } Val |               | GAG } Glu  | GGG } Gly  |                  |  |

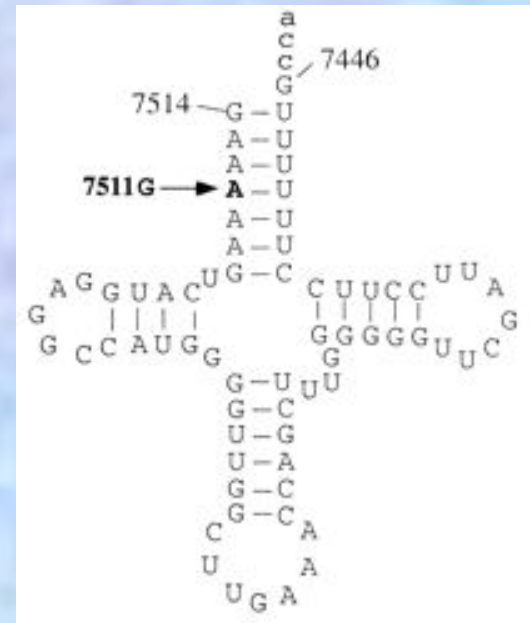
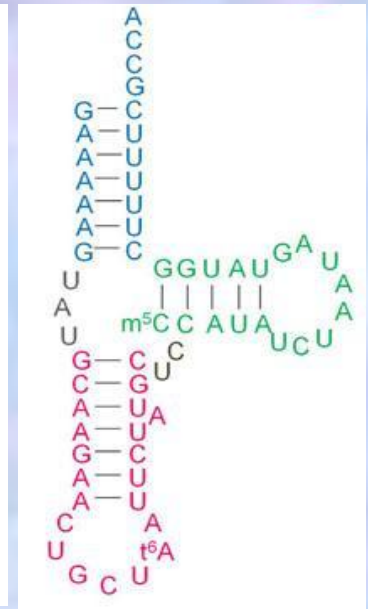


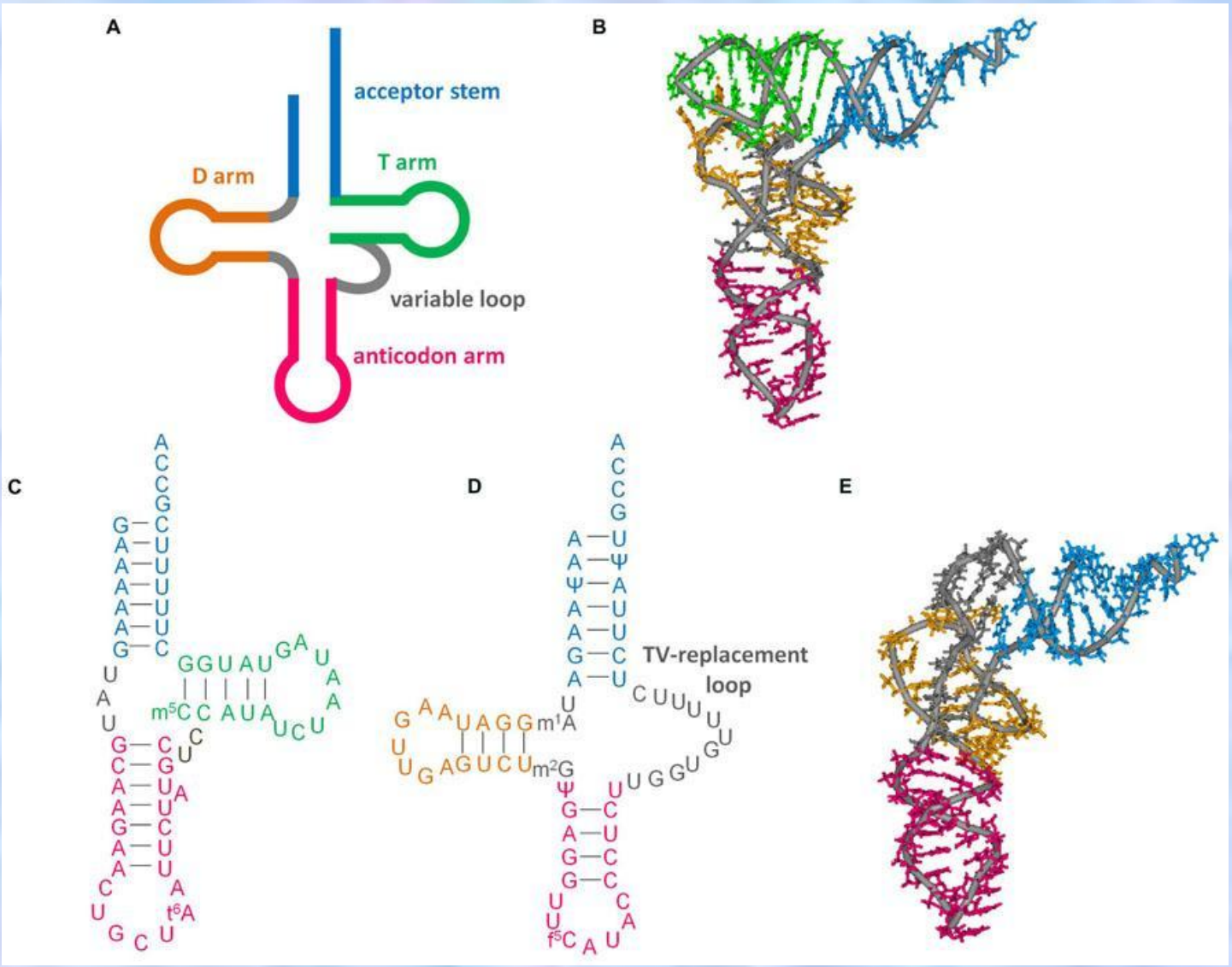
• Для каких тРНК в мт геноме по 2 гена?

|              |   | Second letter                                 |                                      |  |  |                  |  |
|--------------|---|---|--------------------------------------|--|--|------------------|--|
|              |   | U   | C                                    | A  | G  |                  |  |
| First letter | U | UUU } Phe<br>UUC }<br>UUA } Leu<br>UUG }      | UCU }<br>UCC } Ser<br>UCA }<br>UCG } | UAU } Tyr<br>UAC }<br>UAA Stop<br>UAG Stop | UGU } Cys<br>UGC }<br><b>UGA Trp</b><br>UGG Trp          | U<br>C<br>A<br>G |  |
|              | C | CUU }<br>CUC } Leu<br>CUA }<br>CUG }          | CCU }<br>CCC } Pro<br>CCA }<br>CCG } | CAU } His<br>CAC }<br>CAA } Gln<br>CAG }   | CGU }<br>CGC } Arg<br>CGA }<br>CGG }                     | U<br>C<br>A<br>G |  |
|              | A | AUU } Ile<br>AUC }<br><b>AUA Met</b><br>AUG } | ACU }<br>ACC } Thr<br>ACA }<br>ACG } | AAU } Asn<br>AAC }<br>AAA } Lys<br>AAG }   | AGU } Ser<br>AGC }<br><b>AGA Stop</b><br><b>AGG Stop</b> | U<br>C<br>A<br>G |  |
|              | G | GUU }<br>GUC } Val<br>GUA }<br>GUG }          | GCU }<br>GCC } Ala<br>GCA }<br>GCG } | GAU } Asp<br>GAC }<br>GAA } Glu<br>GAG }   | GGU }<br>GGC } Gly<br>GGA }<br>GGG }                     | U<br>C<br>A<br>G |  |

PMID:22369973

PMID:24822055





D-arm-lacking tRNA (bovine mt tRNA<sup>Ser</sup>(GCU)

T-arm-lacking tRNA (*Ascaris suum* mt tRNA<sup>Met</sup>)

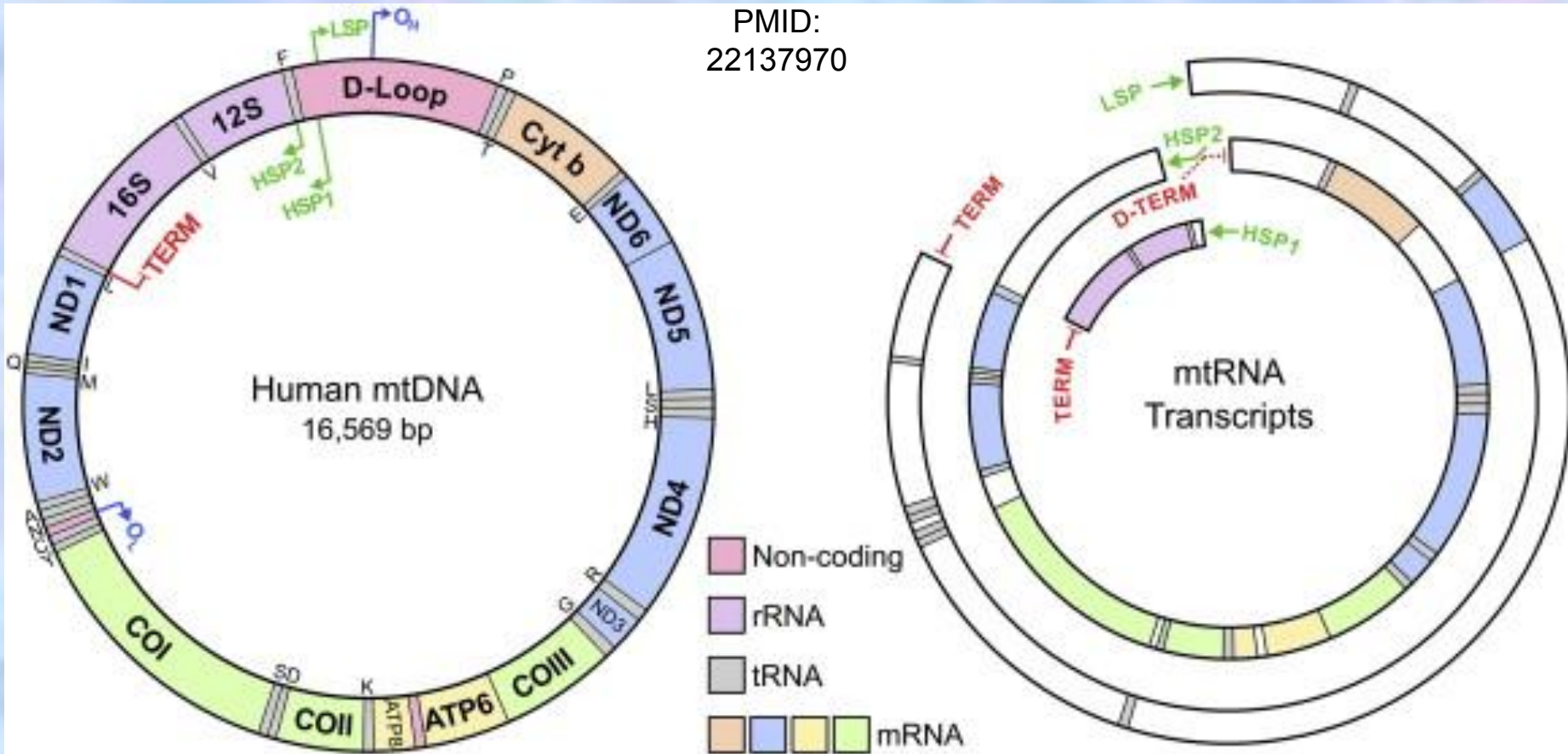
## Некоторые кодоны редки или отсутствуют в мтДНК:

Из 111 геномов:

- в не менее, чем 76 нет одного или более кодонов (в среднем отсутствует 1.6 кодонов)
- В 101 хотя бы 1 кодон встречается менее трех раз (в среднем 4.3 кодона)



PMID:  
22137970



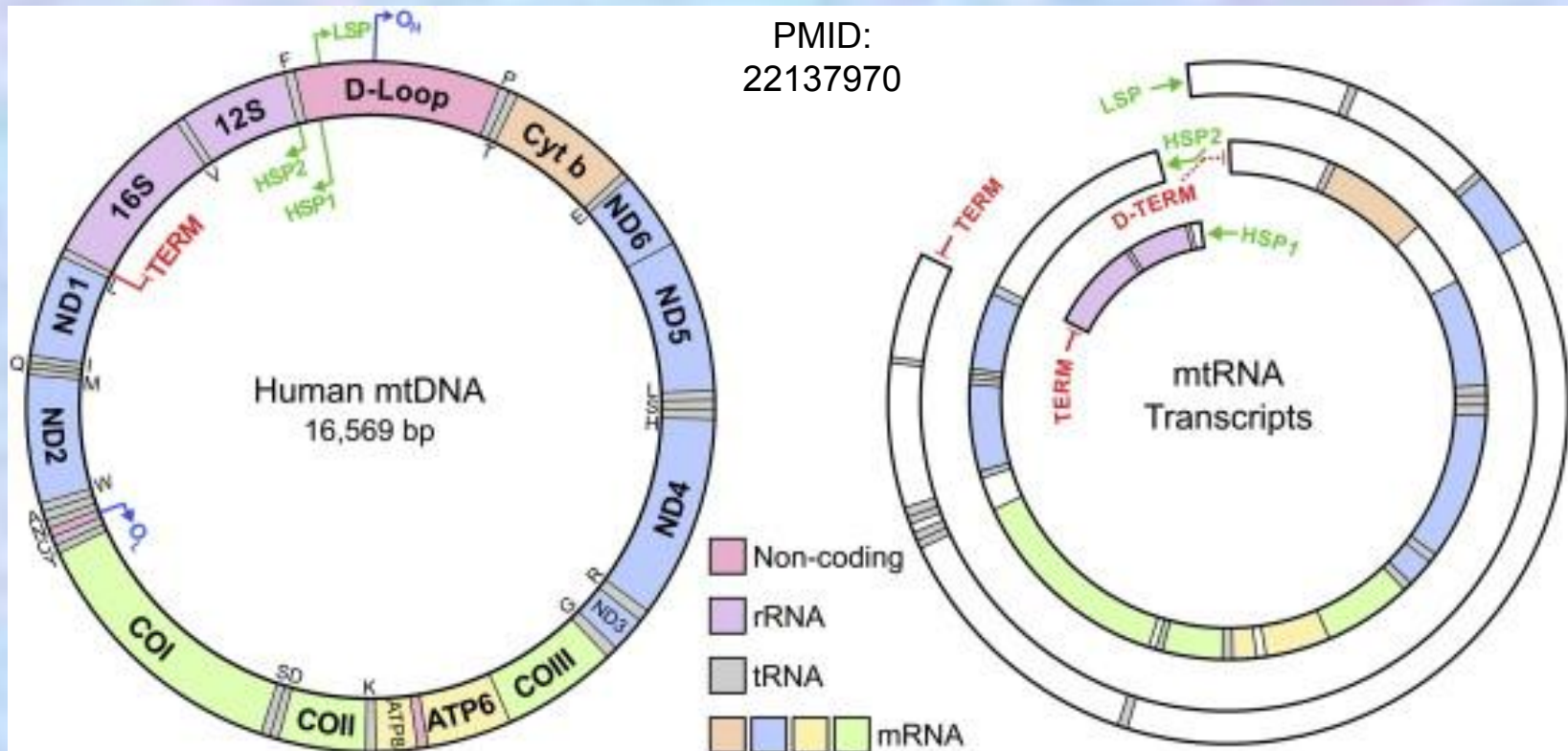
Мт ДНК кольцевая двуцепочечная молекула. Её цепи называются **L (light)** и **H (heavy)** из-за разницы в плавучей плотности в градиенте хлористого цезия.

Н-цепь богата G, в L-цепи G значительно меньше

# Митохондриальный геном человека содержит 37 генов:

- На L-цепи – 8 тРНК + 1 мРНК
- На H-цепи – 2 рРНК + 14 тРНК + 9 мРНК (из них 2 бицистронных).

Гены мтДНК у животных не содержат интронов.



## 1. Мт ДНК кольцевая двуцепочечная молекула.

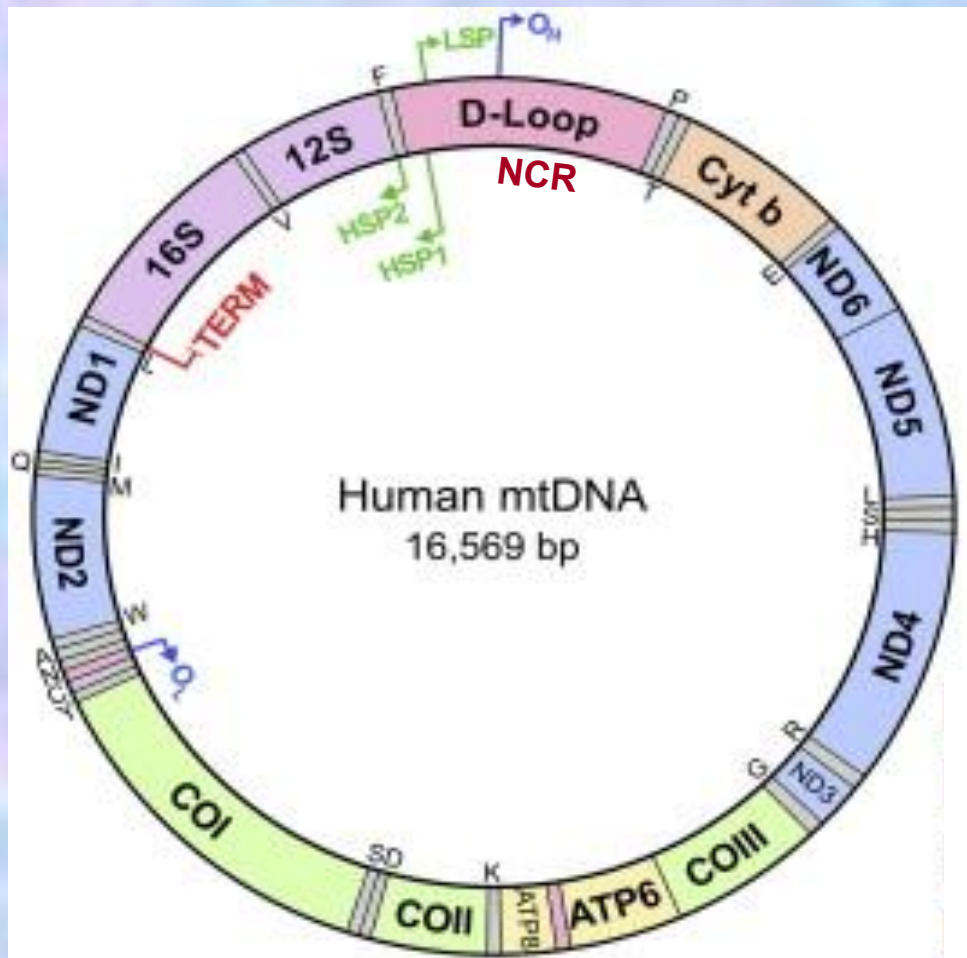
- Её цепи сильно отличаются по нуклеотидному составу и называются L (light) и H (heavy)
- Генетический код в мтДНК отличается от универсального
- Некоторые кодоны редки или отсутствуют в отдельных мтДНК

## 2. Митохондриальный геном человека содержит 37 генов:

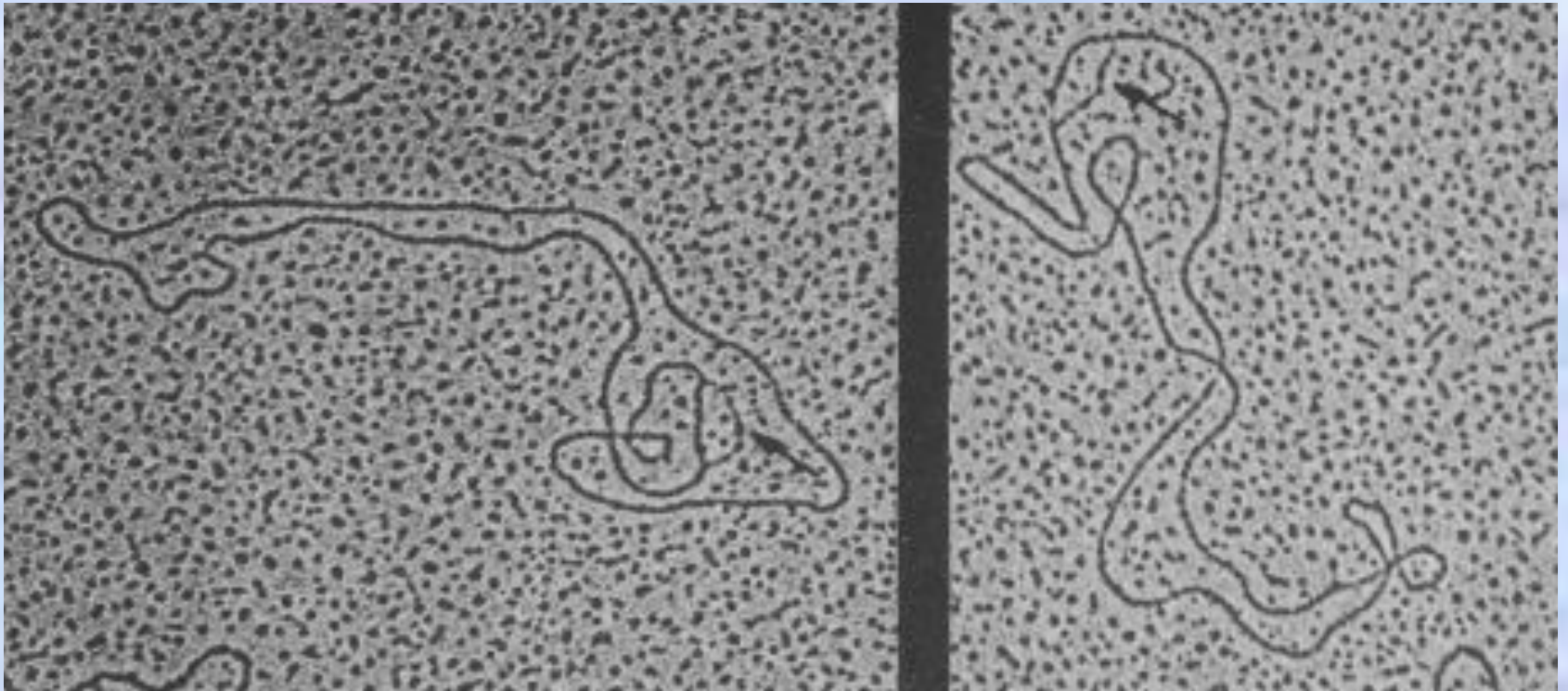
- 2 рРНК
- 22 тРНК
- 11 мРНК, кодирующие 13 белков.



# Регуляторные участки в мтДНК: D-loop

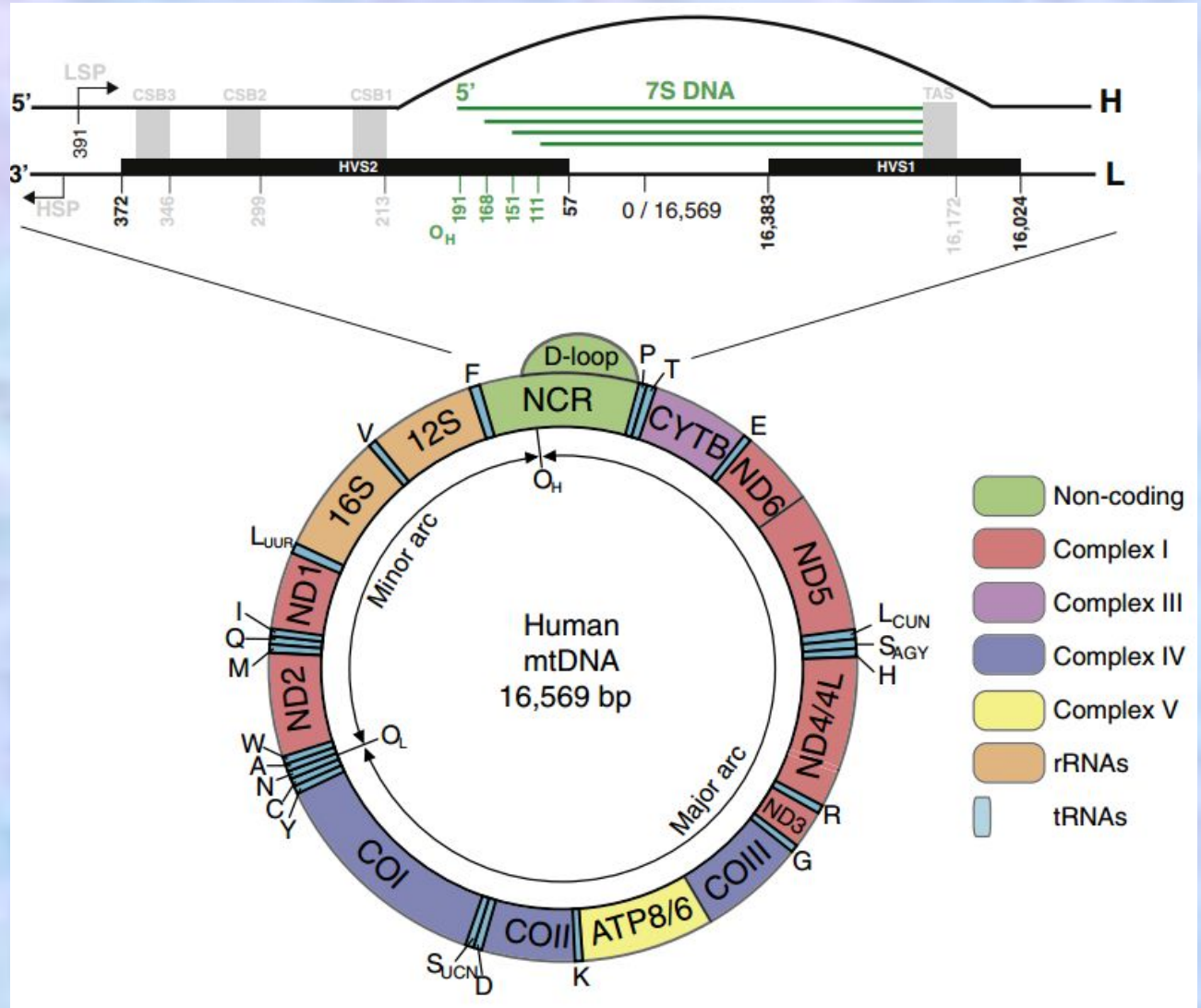


D-loop впервые обнаружен на ЭМ мтДНК мыши и цыпленка более 40 лет назад (Arnberg et al, 1971; Kasamatsu et al, 1971; Robberson et al, 1972)



В мт ДНК есть протяженный некодирующий участок NCR (non-coding region), расположенный между генами tRNA Pro и tRNA Phe.

В некоторых молекулах мтДНК присутствует оцДНК (650нт), которая гибридизуется с материнской L-цепью в районе NCR, при этом формируется трицепочечная структура, которая называется D-loop (displacement loop).



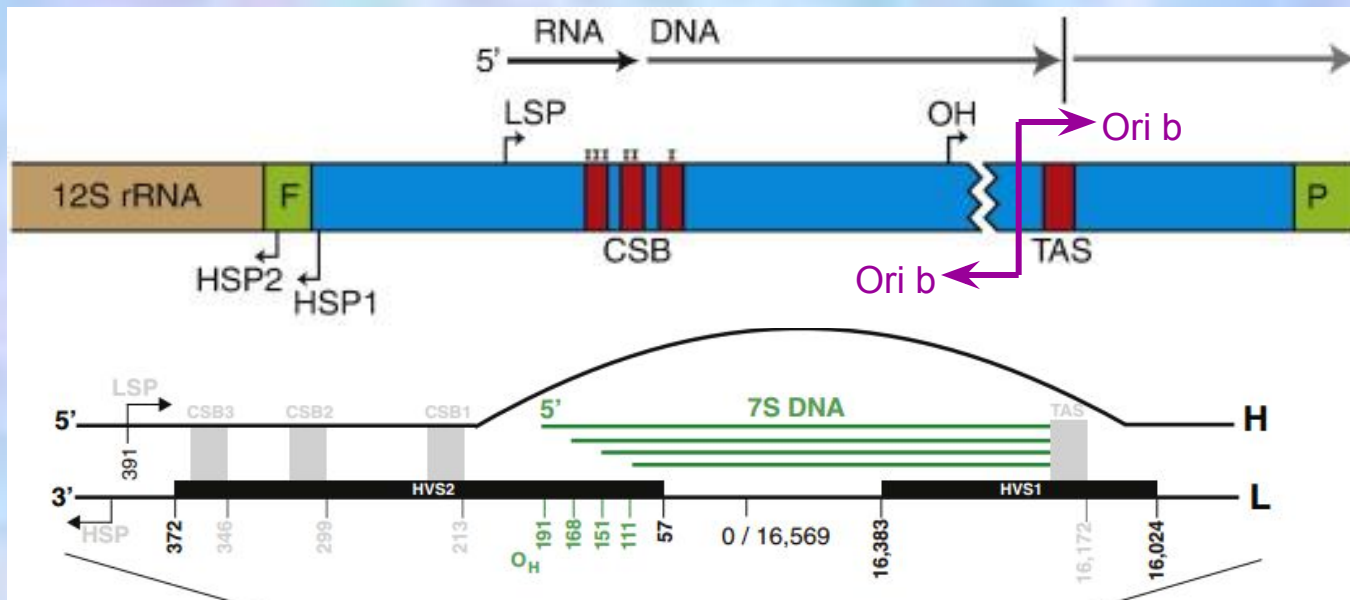


D-loop содержится не во всех молекулах ДНК. Его содержание колеблется в широких пределах 1-95%.

Есть организмы, у которых D-loop не встречается – например, дрозофила.

### Frequencies of mtDNA genomes containing D-loops/7S DNA.

| Organism        | Cells/tissues                 |
|-----------------|-------------------------------|
|                 | % mtDNA with D-loop           |
| <i>Xenopus</i>  | Oocytes: 80–95%               |
| <i>Xenopus</i>  | Oocytes 30–70%                |
|                 | Unfertilised eggs: 32–39%     |
|                 | HCG 'stimulated' eggs: 40–66% |
|                 | Tadpoles: 70–81%              |
| Mouse           | LA9 cells: 34–51%             |
|                 | LD cells: 42%                 |
| Mouse           | LA9 cells: 71%                |
|                 | LMTK cells: 82%               |
| Various mammals | Rabbit skeletal muscle: 1%    |
|                 | Rabbit heart: 40%             |
|                 | Mouse C2 myotubes: 5%         |
|                 | Mouse heart: 65%              |
|                 | Bovine heart: 12%             |
| Human           | HeLa cells: 5–12%             |
|                 | Human placenta: 55%           |
| Human           | HeLa cells: 33%               |
|                 | Normal skin fibroblasts: 14%  |



### NCR содержит регуляторные элементы:

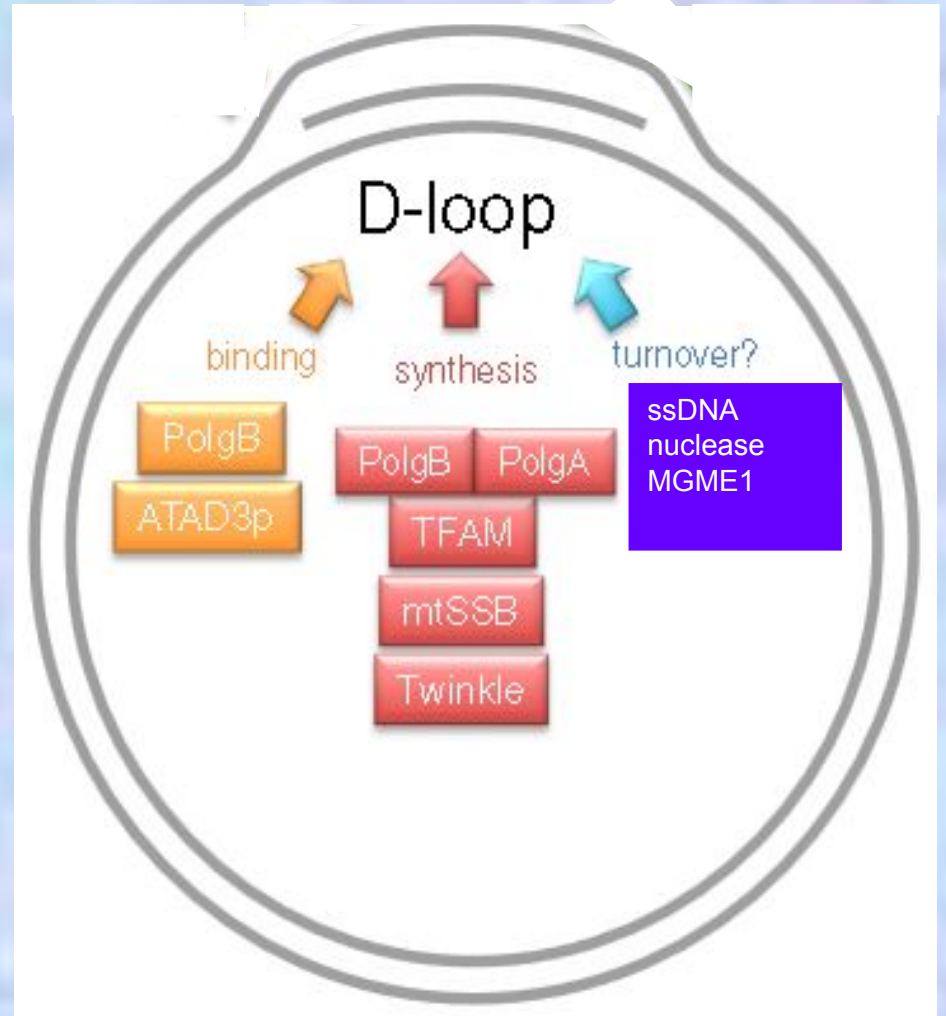
- Ориджин репликации  $O_H$  и дополнительные ориджины (ori b)
- Промоторы для обеих цепей LSP и HSP1
- Участки регуляции репликации CSB (conserved sequence blocks)
- Участок терминации репликации TAS (termination-associated sequence).  
Предположительно один из белков MTERF может связываться с TAS

Считается, что D-loop образован репликацией, иницированной в  $O_H$  и терминированной в TAS.

Образование D-loop:  
репликация с участием  
ДНК-полимеразы  $\gamma$   
(PolgA+PolgB), TFAM,  
mtSSB и Twinkle

Деградация D-loop:  
нуклеаза MGME1

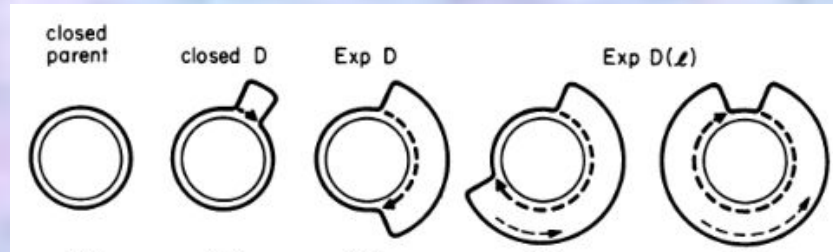
С D-loop связаны  
белки: PolgB и ATAD3p





# Предположительные функции D-loop:

1. D-loop - преждевременно терминированная Н-цепь, образованная при репликации (модель Strand displacement)



2. D-loop необходима для того, чтобы 2 вилки репликации могли разойтись
3. Третья цепь ДНК в области D-loop создает более открытую конформацию ДНК, делая её доступной для ферментов
4. Синтез и деградация D-loop может регулировать содержание нуклеотидов в митохондрии, а этот фактор в свою очередь влияет на репликацию и другие процессы.
5. D-loop – элемент, необходимый для сборки нуклеоида и его связывания с внутренней мембраной через белок ATAD3p

1. NCR содержит регуляторные элементы:

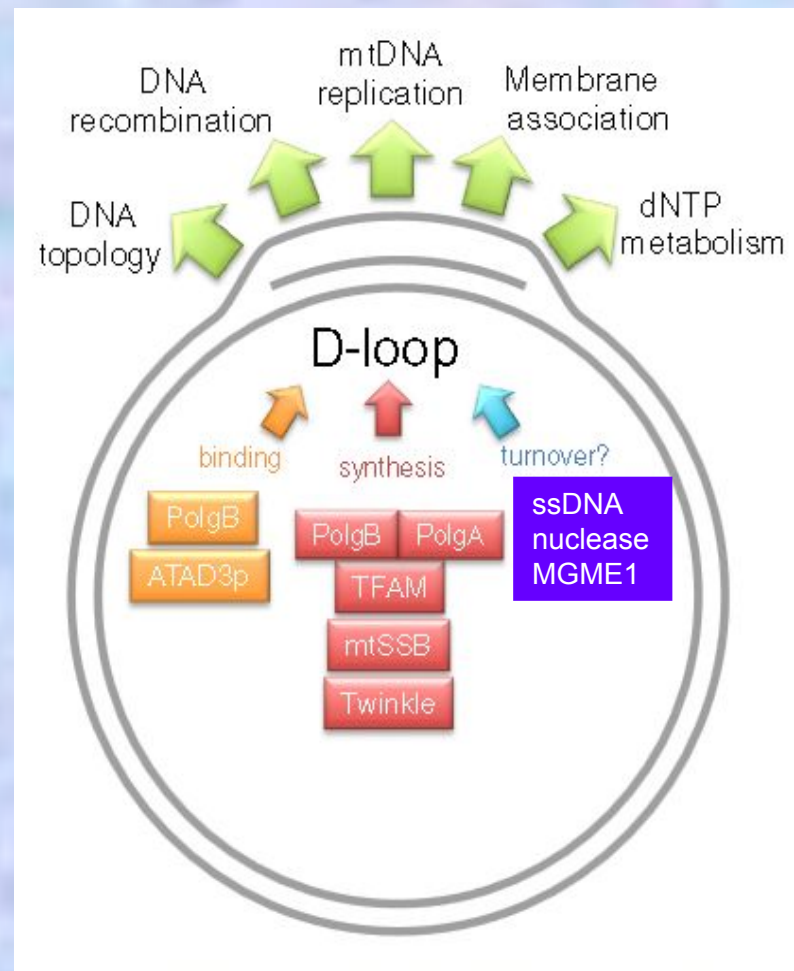
- ориджин репликации  $O_H$ , промоторы LSP и HSP1
- участки регуляции репликации CSB, участок терминации репликации TAS

2. В NCR некоторых мтДНК за счет образования 7S ДНК длиной около 650 нуклеотидов формируется трицепочечная структура, которая называется D-loop (displacement loop)

3. Считается, что D-loop образована репликацией, инициированной в  $O_H$  и терминированной в TAS

4. Функции D-loop неизвестны. Они могут быть связаны с:

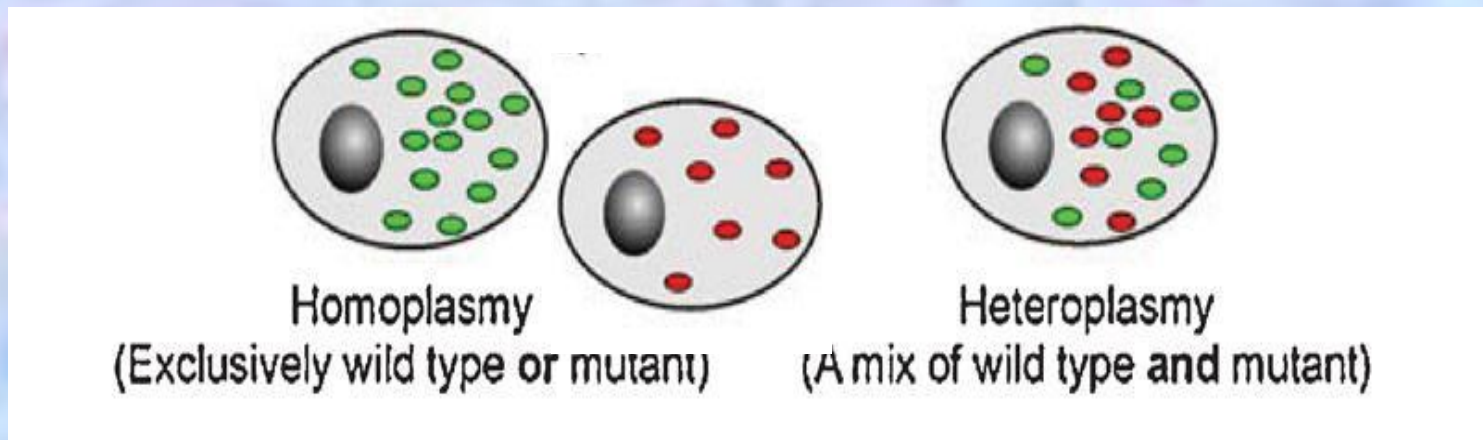
- регуляцией репликации
- рекомбинацией мтДНК
- образованием открытой конформации для доступа ферментов
- формированием нуклеоида и его ассоциацией с внутренней мембраной



# Генетика митохондрий

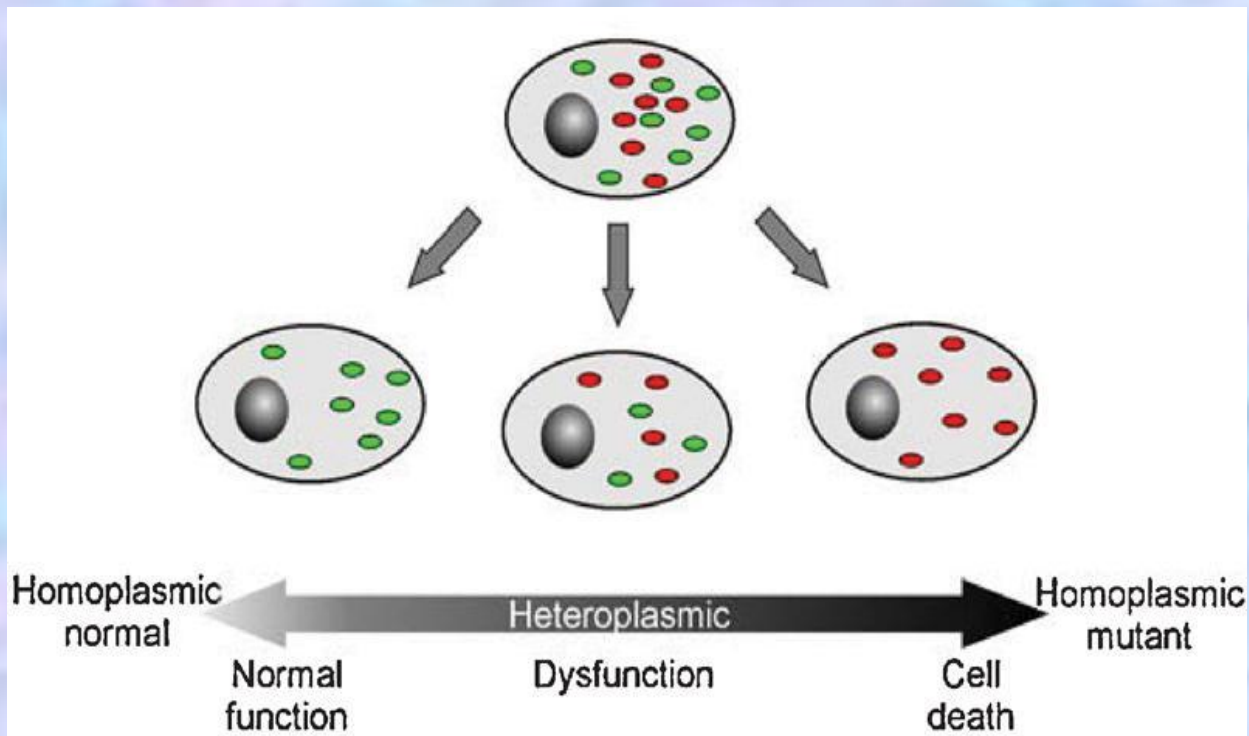
МтДНК подвержена мутациям.

- Гомоплазмия – ни в одной молекуле мтДНК нет мутаций ИЛИ во всех молекулах мтДНК присутствует мутация
- Гетероплазмия – мутация присутствует в НЕКОТОРЫХ молекулах мтДНК





МтДНК реплицируется в течение всего клеточного цикла, независимо от репликации в ядре, поэтому мутации в мтДНК при гетероплазмии накапливаются.



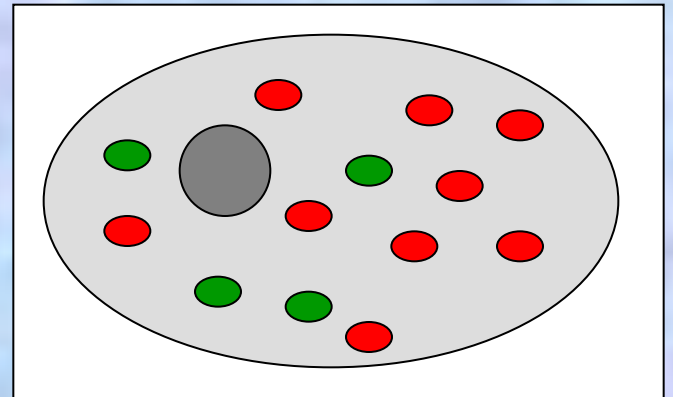
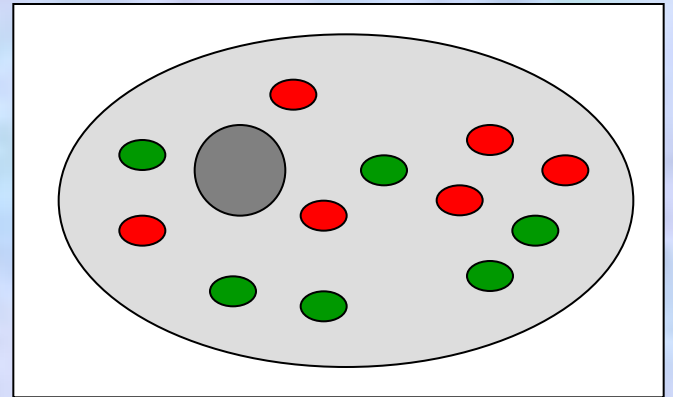
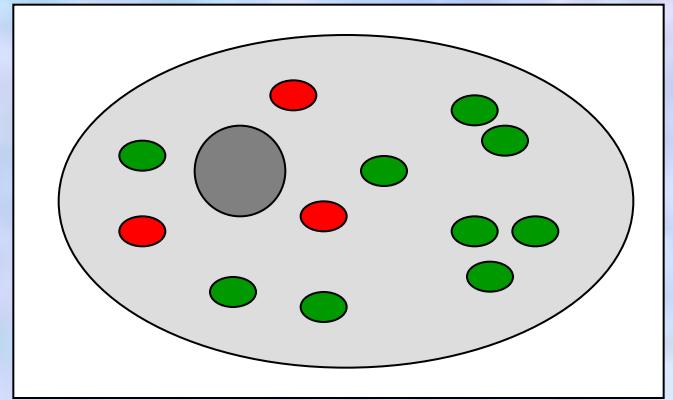
При делении клетки с гетероплазмией возникает мозаичное распределение ДНК с мутацией.

Пациенты с гетероплазмией часто имеют разный уровень содержания мутантной ДНК в разных органах и даже в клетках одного органа.

Дисфункция возникает при превышении определенного порога содержания мутантной мтДНК.

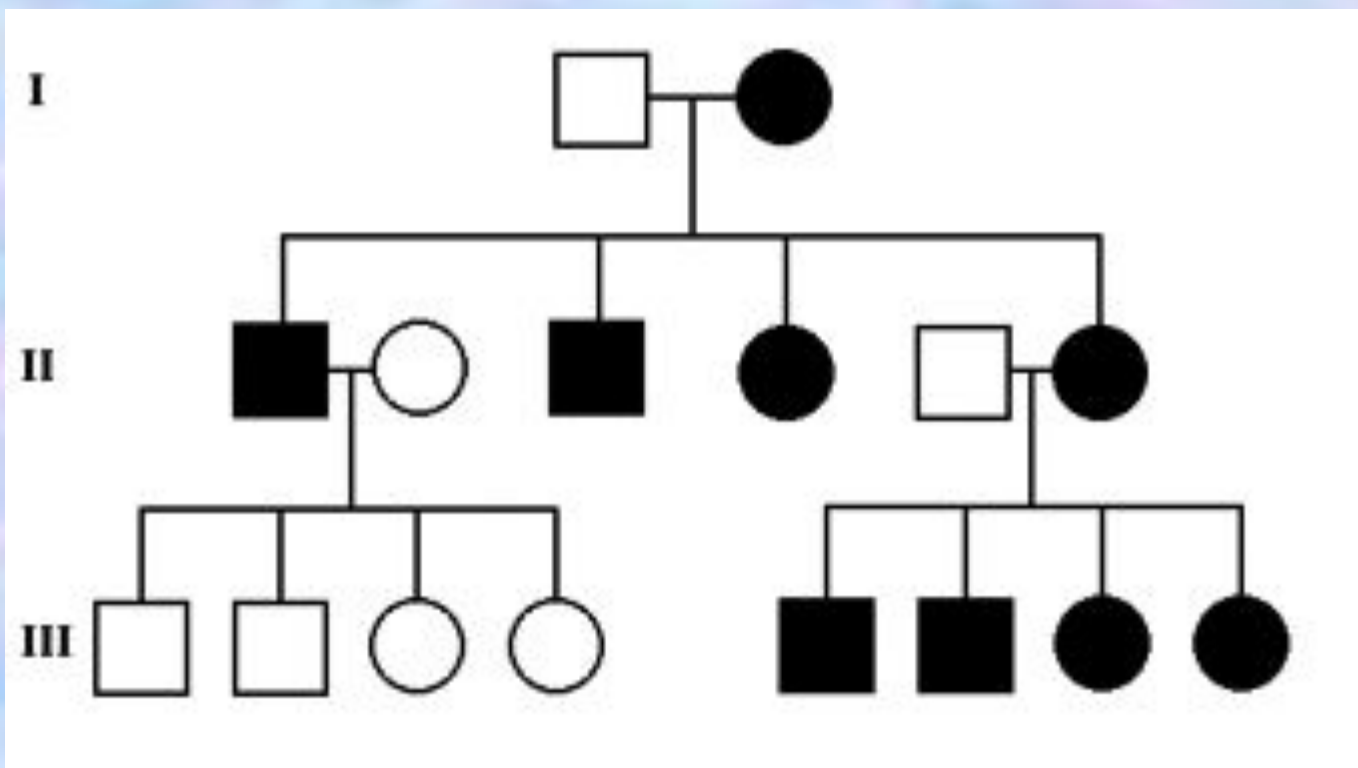
Этот порог различен при разных заболеваниях. В среднем заболевание проявляется, когда:

- 50-60% мтДНК несет делецию
- Более 90% тРНК несет мутацию



**Мт ДНК** передается только по материнской линии, т.к. мтДНК попадает в зиготу только из яйцеклетки, а мтДНК спермия деградирует в цитоплазме ооцита.

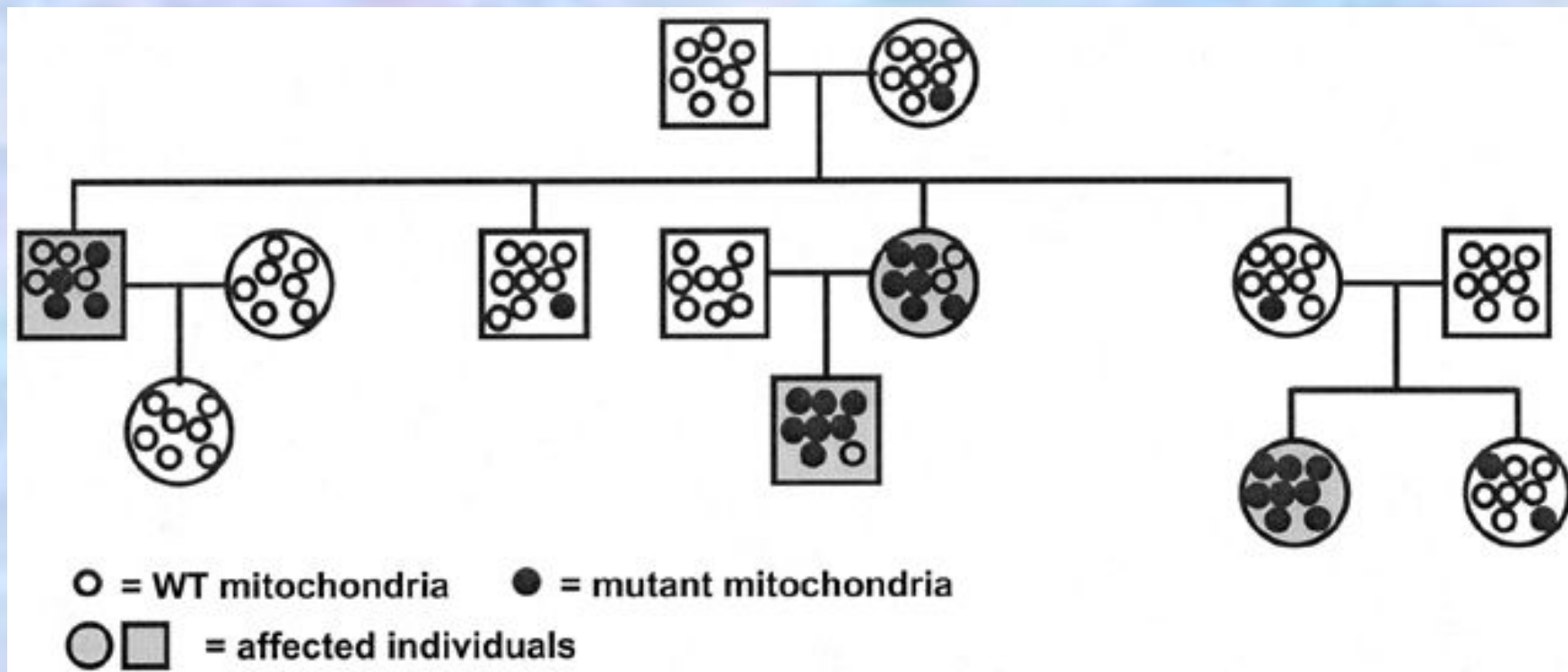
При гомоплазии все потомки больной матери будут также больными.



90% наследственной оптической нейропатии Лебера



Мать с гетероплазмией может передать потомству разный уровень мутантной мтДНК, а может вообще не передать мутацию.



10% нейропатий Лебера: вероятность передачи заболевания потомству неизвестна

1. МтДНК в клетке может присутствовать в двух состояниях: гомоплазмия и гетероплазмия.
2. Мутации в мтДНК при гетероплазмии накапливаются.
3. При делении клетки с гетероплазмией возникает мозаичное распределение ДНК.
4. Пациенты с гетероплазмией часто имеют разный уровень содержания мутантной ДНК в разных клетках.
5. Мт ДНК передается только по материнской линии.
6. При гомоплазмии все потомки больной матери будут также больными.
7. Мать с гетероплазмией может передать потомству разный уровень мутантной мтДНК, а может вообще не передать мутацию.