

# Органеллы эукариотической клетки

- **Ядро** *содержит основную часть генома и является местом синтеза ДНК и РНК*
- **Эндоплазматический ретикулум** *место синтеза большинства липидов клетки, а также большинства белков, предназначенных для других органелл или секреции*
- **Аппарат Гольджи** *место сортировки и модификации белков и липидов, получаемых от эндоплазматического ретикулума*
- **Митохондрии** *энергетические станции клетки, основное место синтеза АТФ.*
- **Пероксисомы** *место многих окислительных процессов*
- **Лизосомы (для растительных клеток – литические вакуоли)** *место компартментации литических ферментов.*

*Помимо этих органелл растительная клетка содержит*

- **пластиды**
- **вакуоли.**

## Классификация органелл

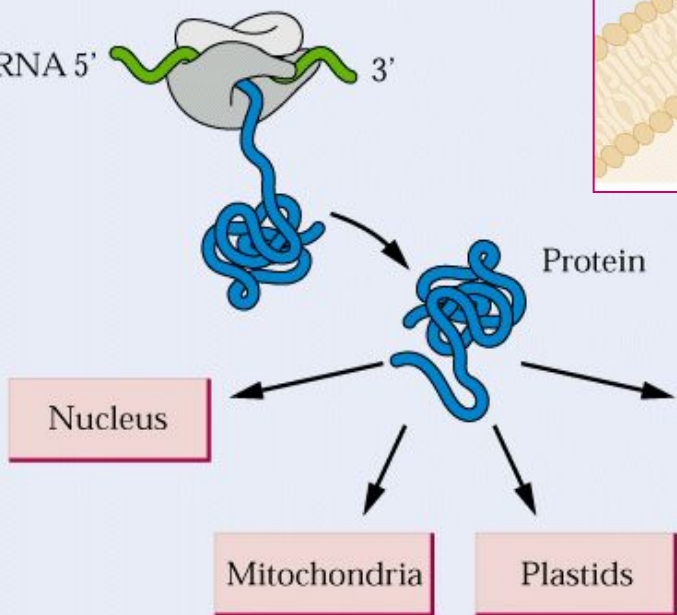
- **Ядро и цитозоль** *связаны между собой ядерными порами, являются топологически едиными, но выполняют разные функции*
- **Митохондрии**
- **Пластиды** *(только для растительной клетки)*
- **Пероксисомы**
- **Эндоплазматическая мембранная система клетки**  
*остальные мембранные органеллы – ЭР, аппарат Гольджи, вакуоли (только для растительных клеток), лизосомы (для животных клеток), транспортные везикулы.*

# Два пути сортировки белков: цитоплазматический и секреторный

(A) Free ribosomes in cytosol

Cytosol

mRNA 5' 3'



(B) Membrane-bound ribosomes

Cytosol

mRNA

5'

3'

Signal peptide

Protein

Lumen of endoplasmic reticulum

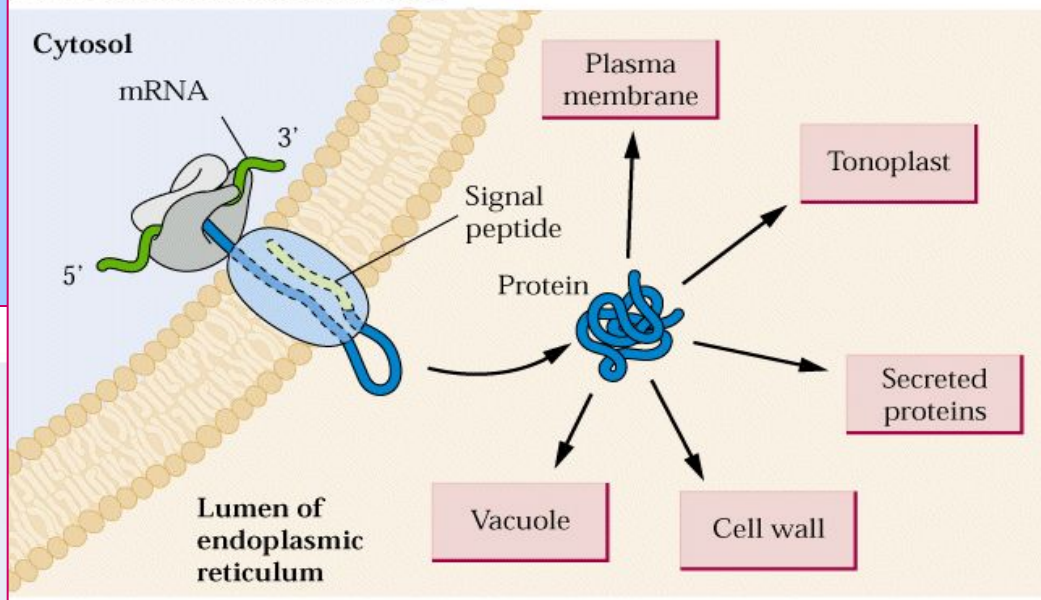
Plasma membrane

Tonoplast

Secreted proteins

Vacuole

Cell wall



# Сигналы сортировки белков в разные компартменты

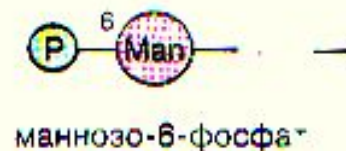
**1** сигнальный пептид секреторного пути



**2** сигнальный пептид ЭР-белков



**3** сигнальная группа белков



**4** стоп-транспортный сигнальный пептид мембранных белков



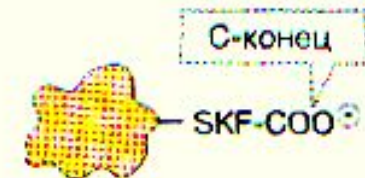
**5** сигнальный пептид митохондриальных белков



**6** сигнальный пептид ядерных белков



**7** сигнальный пептид белков пероксисом



**8** сигнальный пептид белков секреторной везикулы



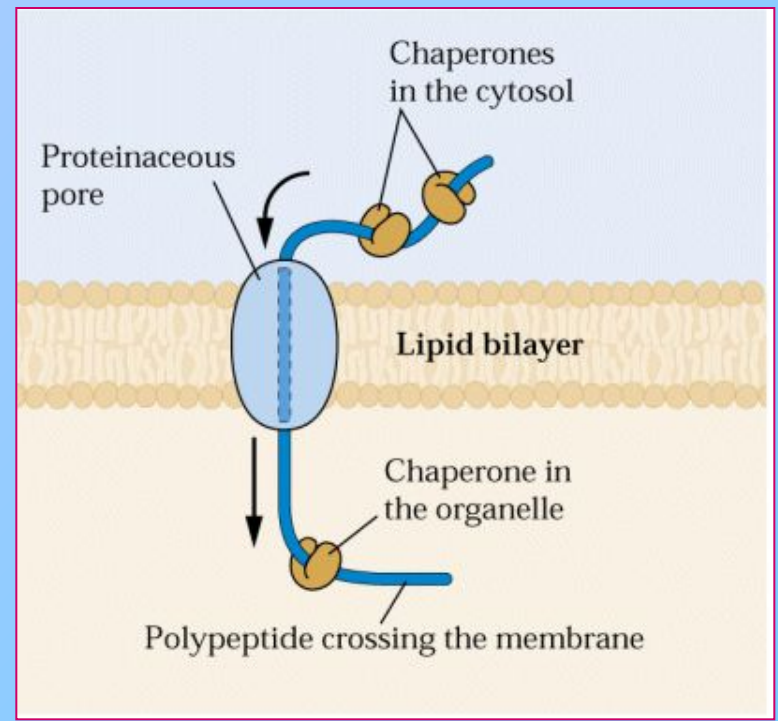
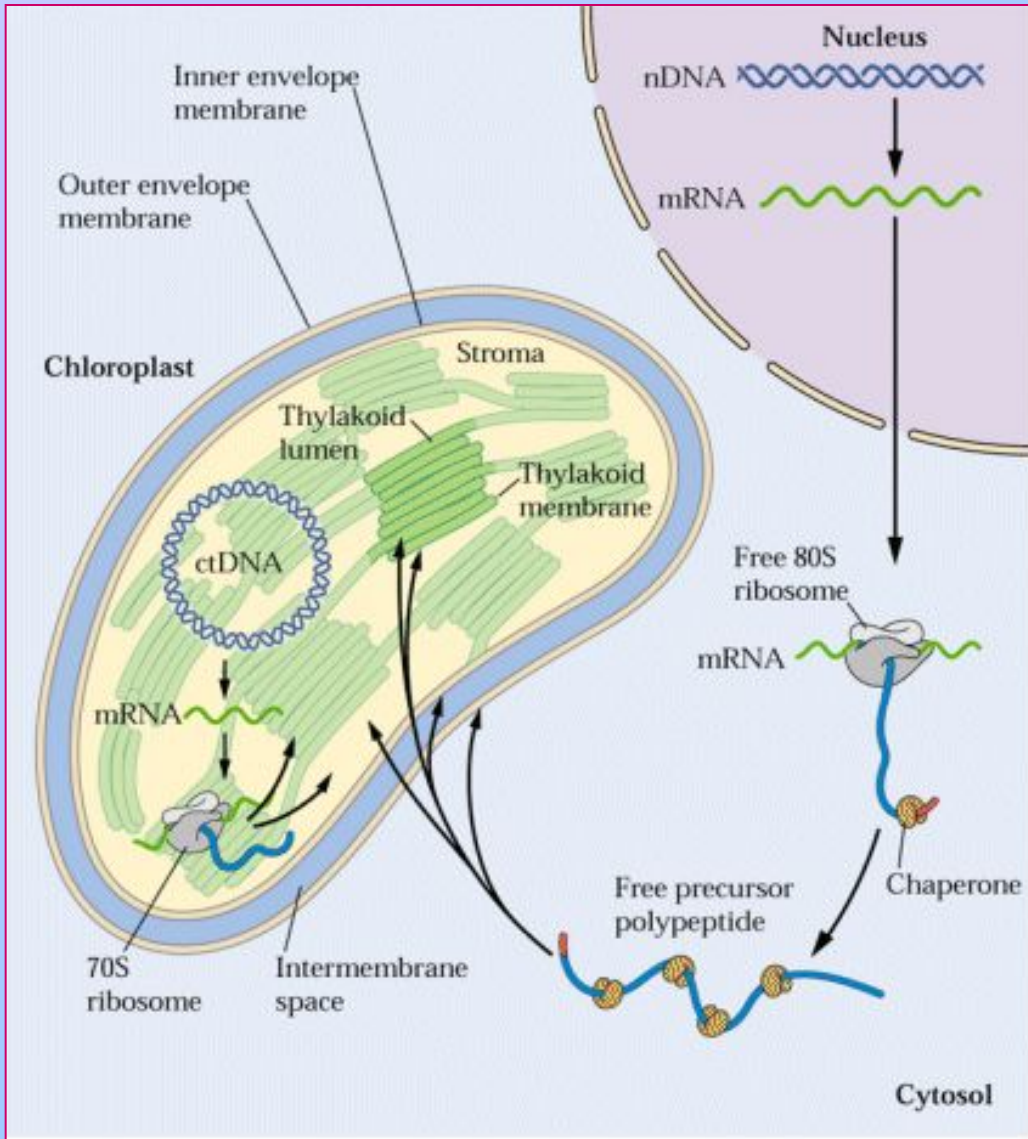
**Б. Сигналы для сортировки белков**

# Сигнальные последовательности транспорта белков в растительной клетке

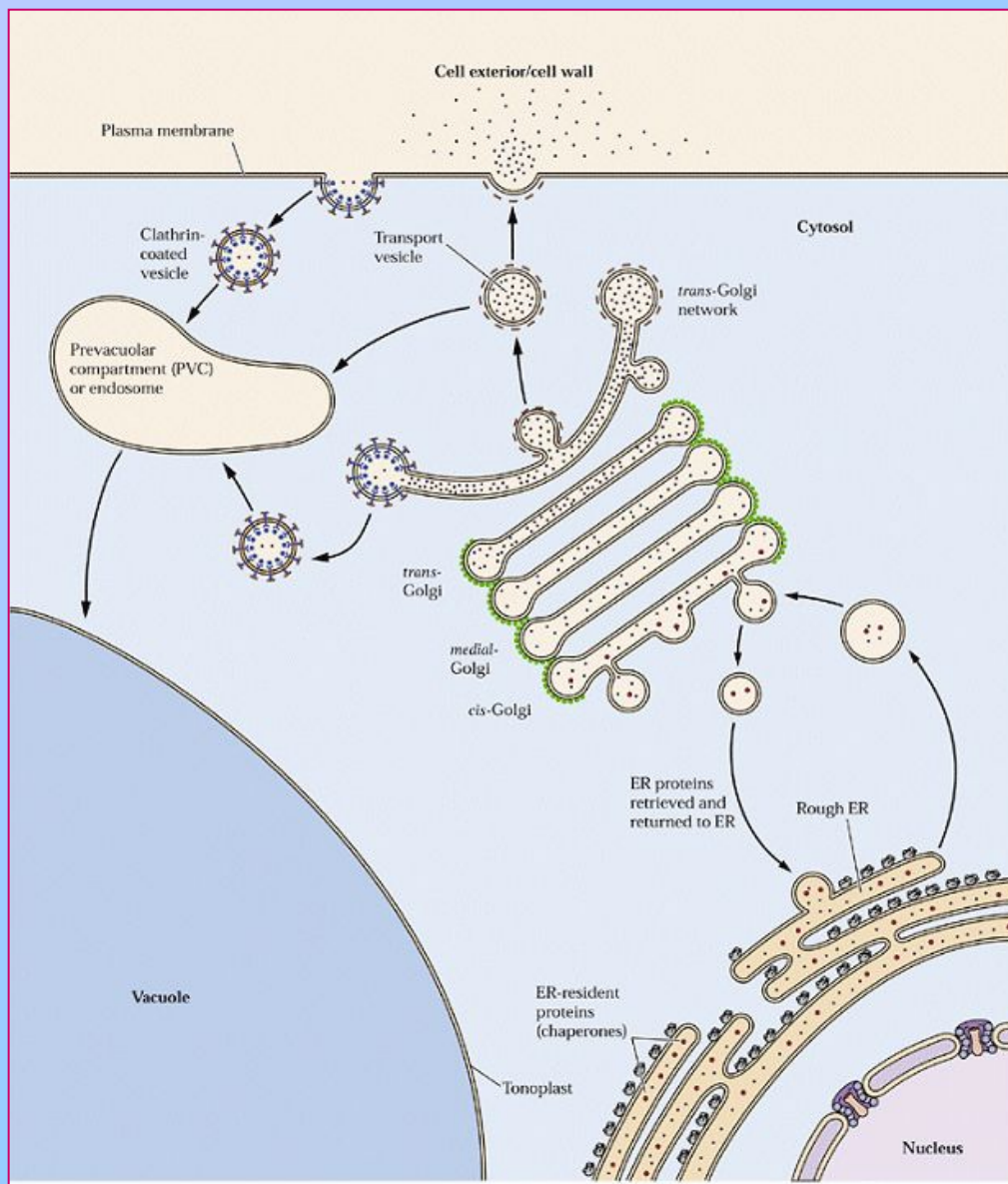
Целевая органелла	Сигнальная последовательность	Характеристика
Хлоропласты: строма	Н-концевой лидерный пептид («стромальный»)	Последовательность из 40-50 аминокислот
Хлоропласты: люмен и мембраны тилакоидов	Два последовательных N-концевых лидерных пептида	Первый пептид - «стромальный», второй – «люменальный»
Митохондрии: матрикс	Н-концевой пресиквенс	формирует положительно заряженную амфипатическую $\alpha$ -спираль.
Митохондрии: внутренняя мембрана, межмембранное пространство	Два последовательных N-концевых пресиквенса	Первый пресиквенс - как для белков матрикса, второй состоит из остатков гидрофобных аминокислот
Пероксисомы	Сигналы пероксисомальной локализации PTS1 и PTS2	PTS1 – С-концевой трипептид – Ser-Lys-Leu PTS2 локализован на N-конце.
Ядро	Сигналы ядерной локализации NLS. Не отщепляются после переноса белка в ядро	NLS типа 1: Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys. NLS типа 2: две последовательности, разделенные спейсером NLS типа 3: Lys-Ile-Pro-Ile-Lys
Сигнальный пептид секреторного пути	Н-концевой лидерный пептид	10-15 остатков гидрофобных аминокислот, формирующих $\alpha$ -спираль.
ЭР	Сигнал локализации в ЭР	С-концевой тетрапептид KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu)
Вакуоль.	Сигналы локализации в вакуолях: NTPP, CTPP, внутрибелковый сигнал.	NTPP - N-концевой сигнал: Asn-Pro-Ile-Arg CTPP – С-концевой сигнал.



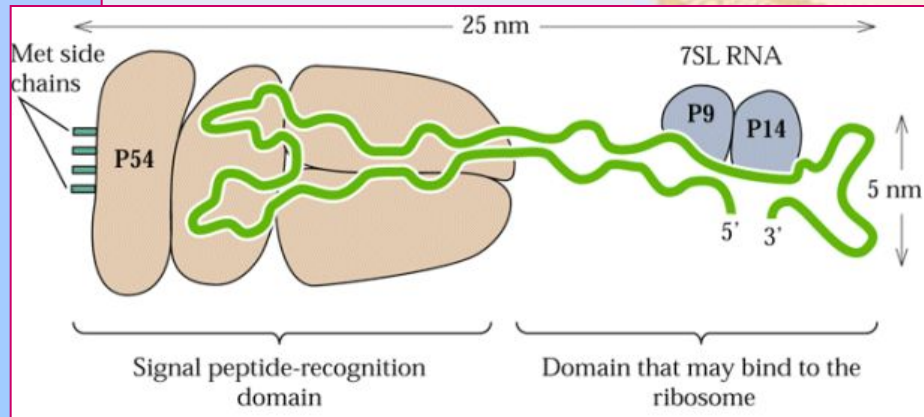
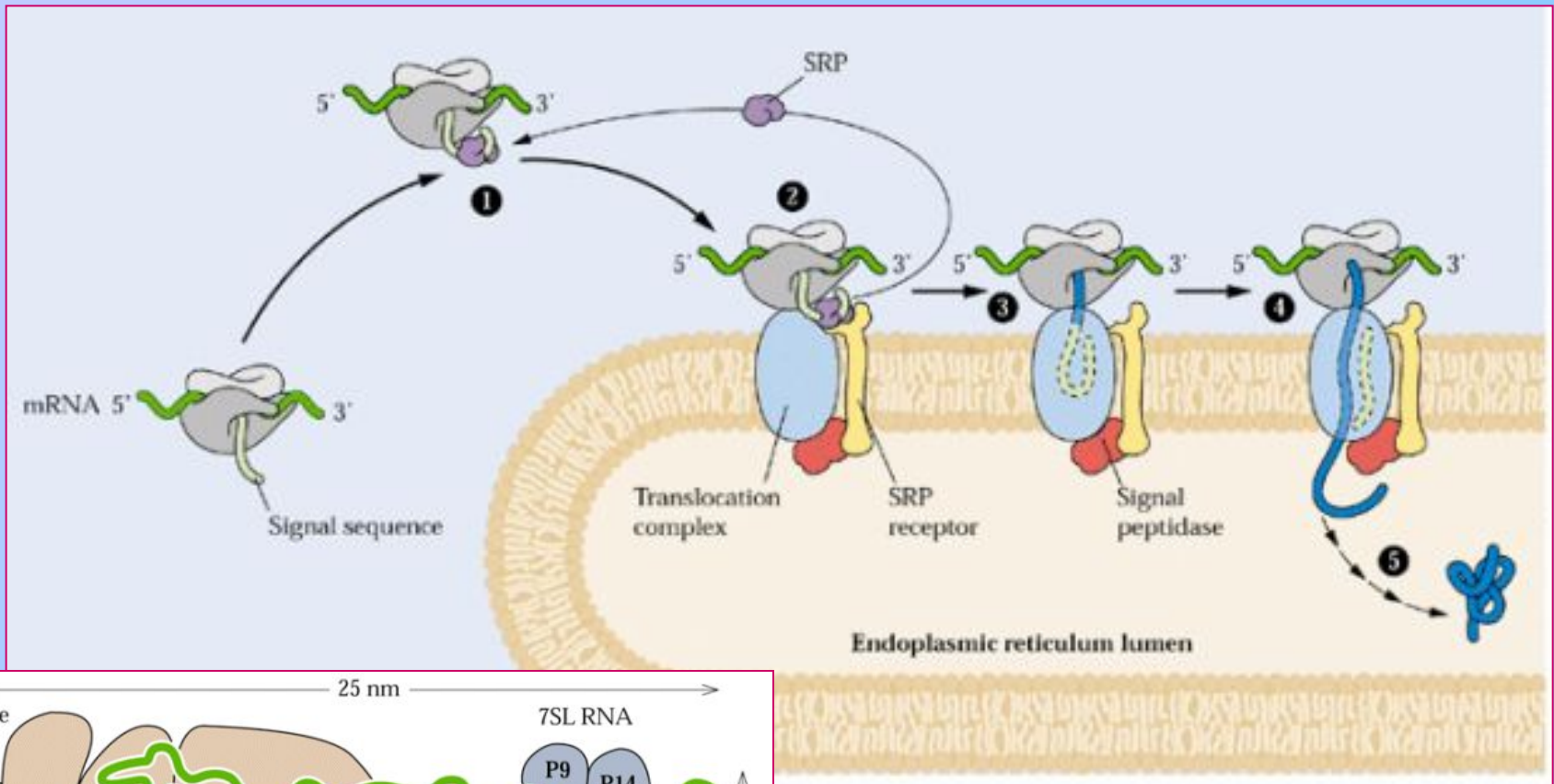
# Транспорт ядерно-кодируемых белков в хлоропласт



## Секреторный путь транспорта белков: общая схема

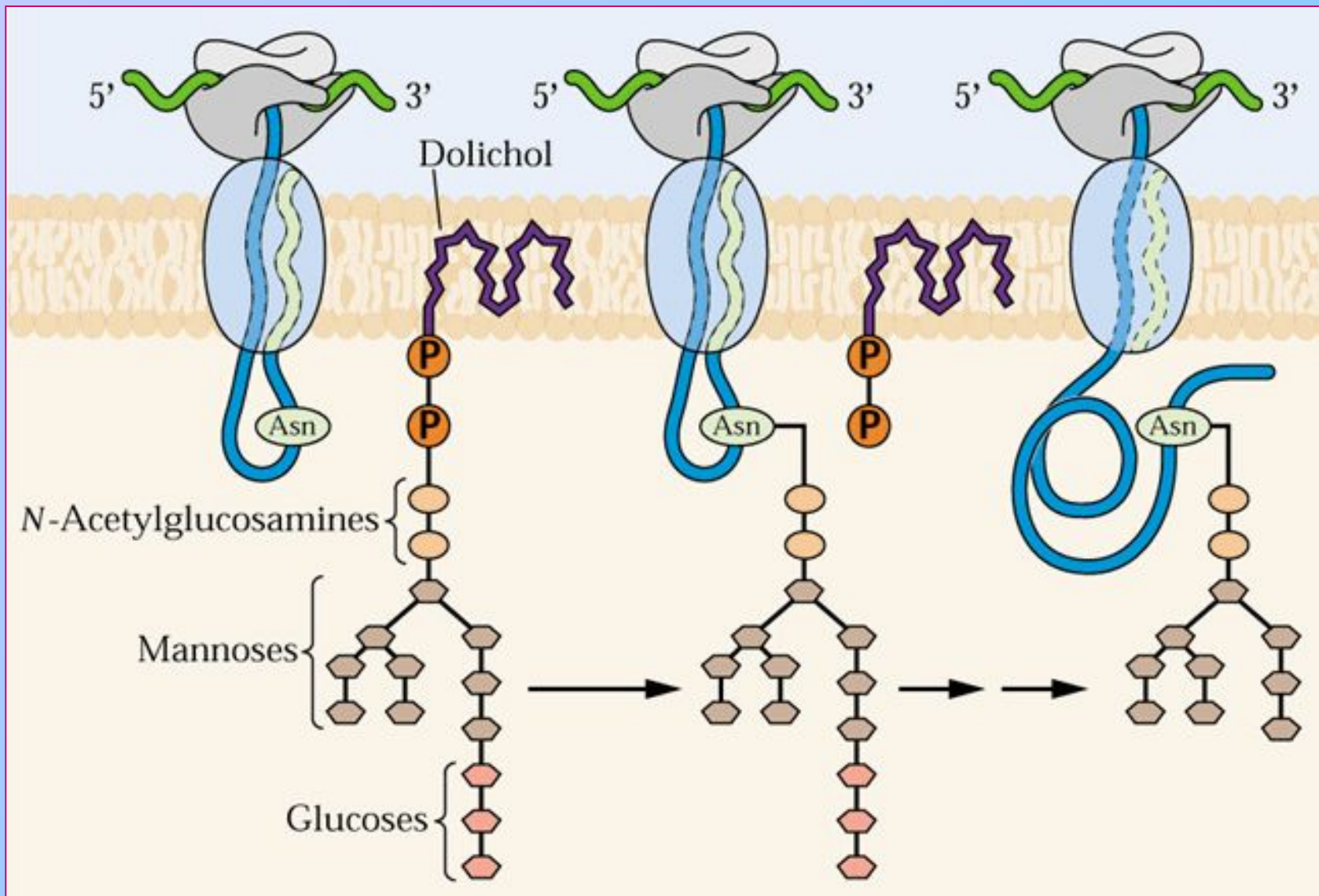


# Секреторный путь транспорта белков: транспорт в ЭР





# Секреторный путь транспорта белков: гликозилирование в ЭР



## Клеточная стенка – это не «деревянная тюрьма» для несчастной клетки...

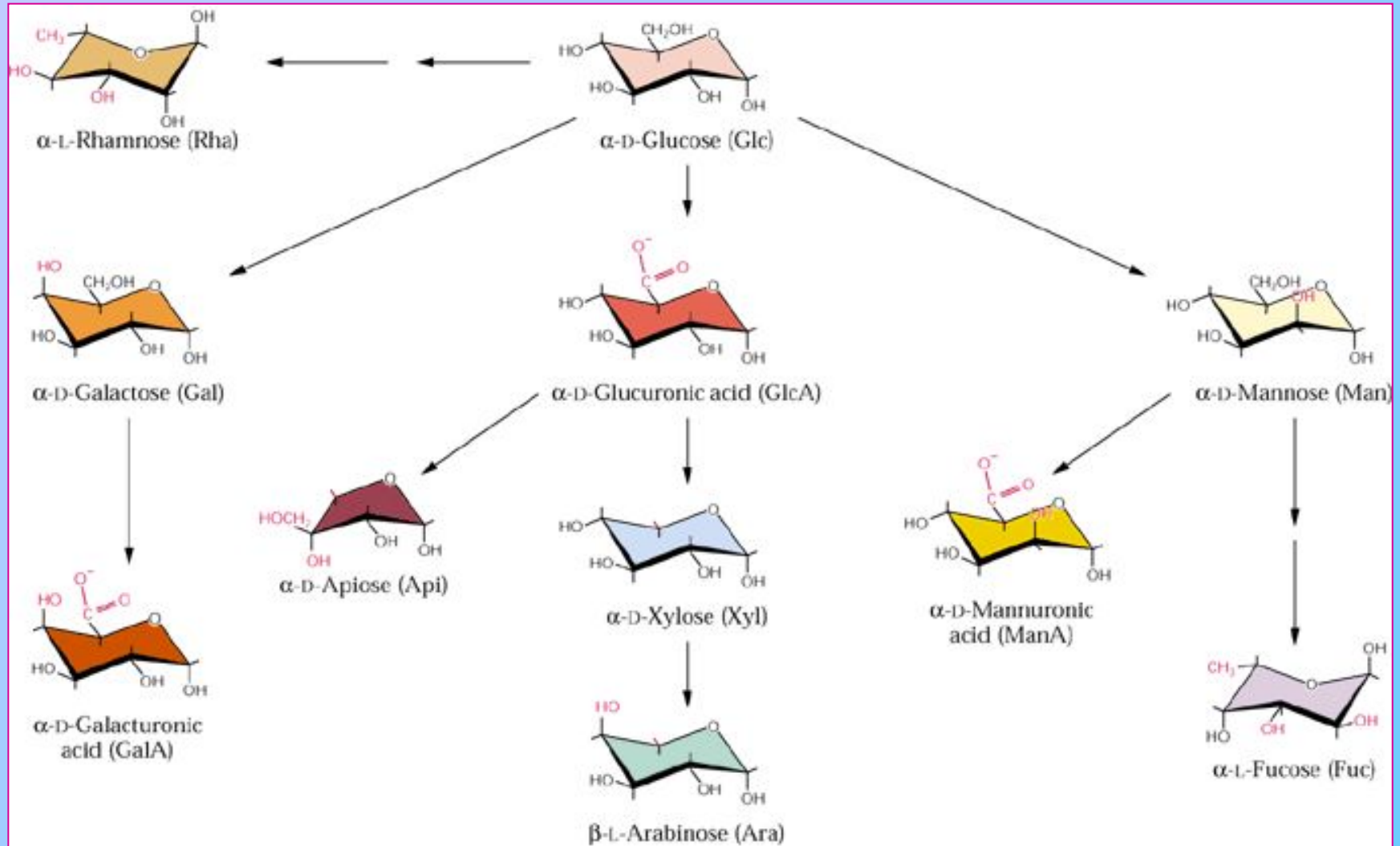
**С помощью клеточной стеки клетка решает массу своих проблем:**

- создание формы – внешний каркас
- водный баланс
- рост растяжением
- защита
- транспорт веществ
- сигнальные функции.

По современным представлениям, стенка растительной клетки – функциональная структура, тонко организованный сложный комплекс разнообразных полисахаридов, белков и ароматических веществ.

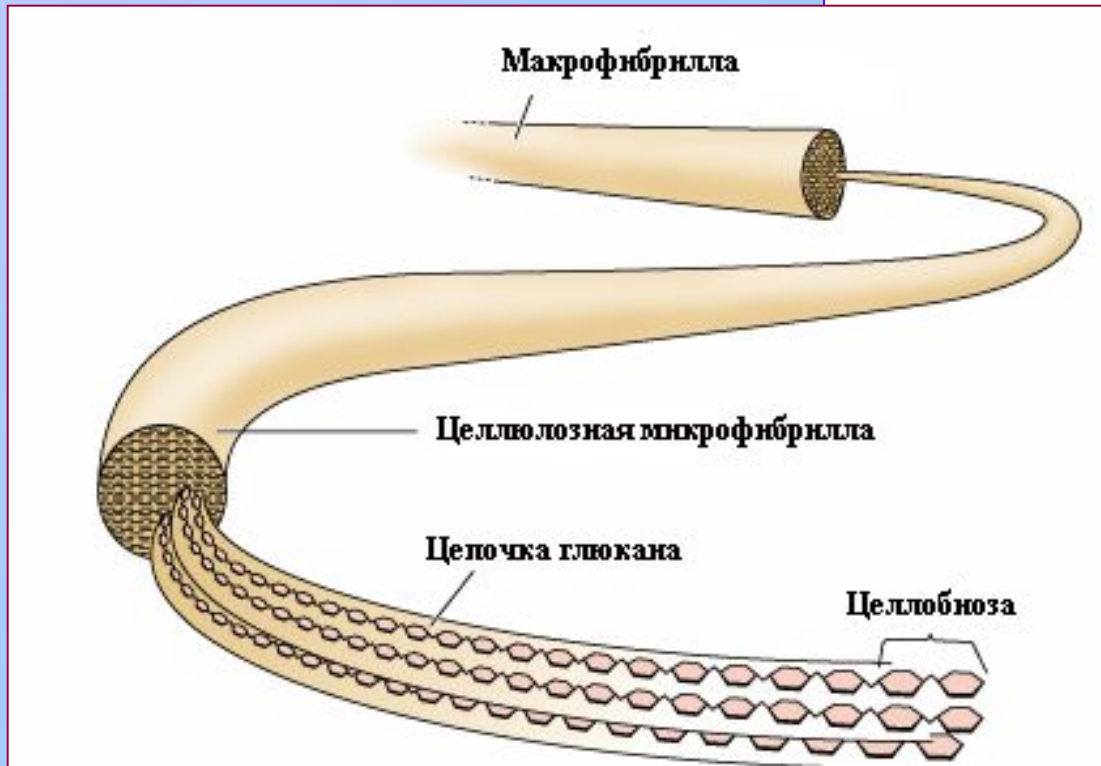
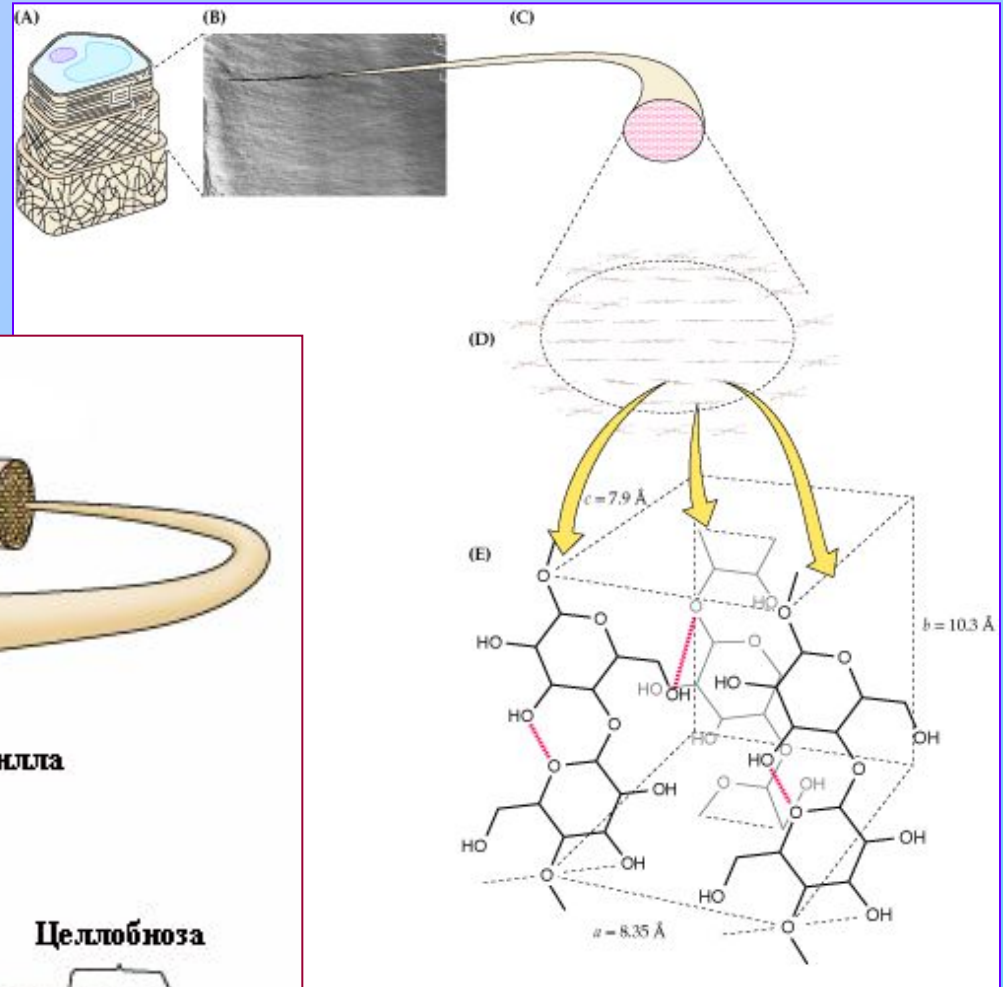
Часто представляет собой три взаимодействующих, но независимых сети полимеров.

# Полисахариды клеточной стенки построены всего из 11 сахаров



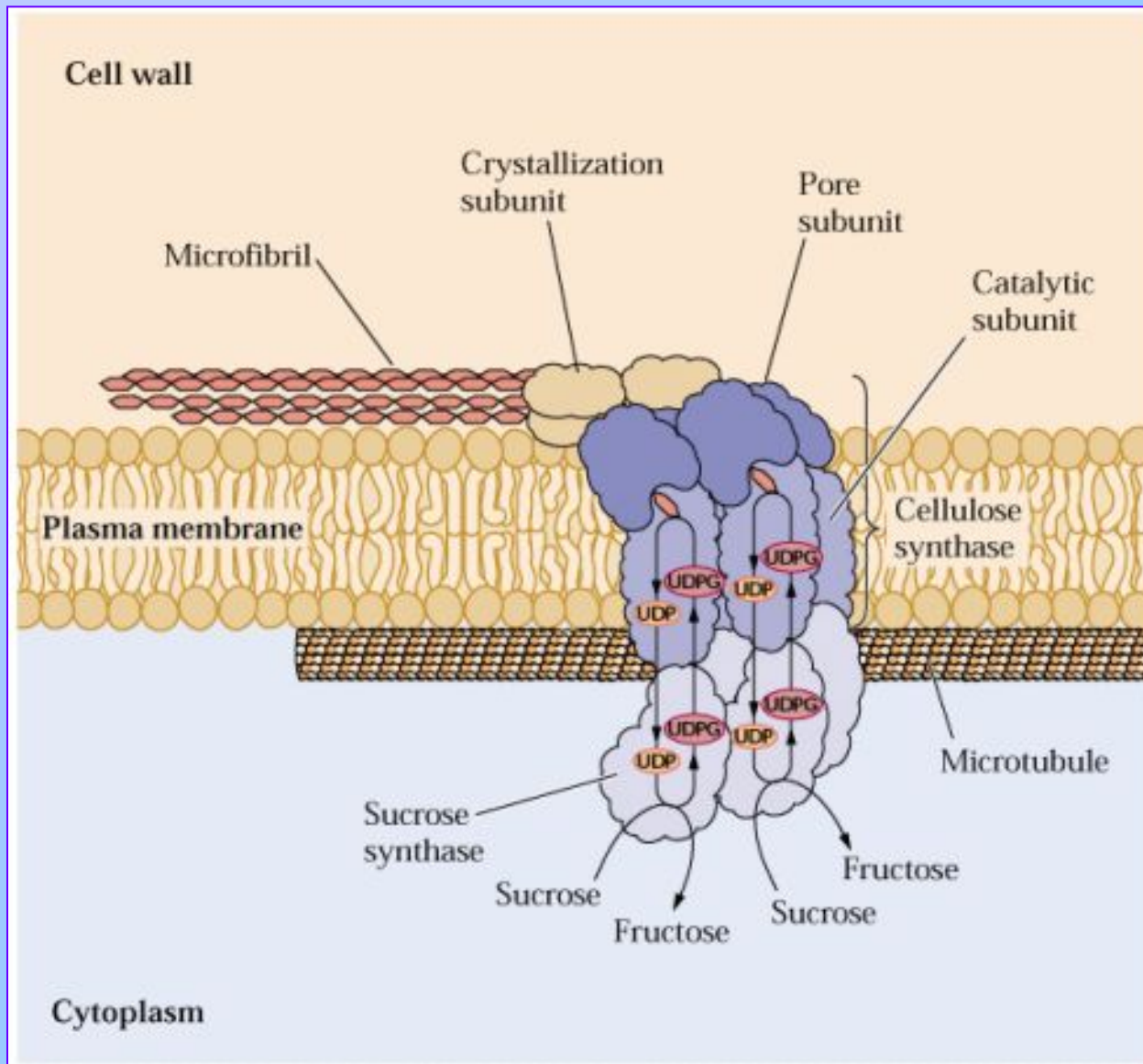
# Строение микрофибрилл целлюлозы

«Ядро» - ~50 цепочек целлюлозы, кристаллическая область, 3 x 5 нм.  
Вокруг «ядра» - паракристаллическая область - еще ~50 цепочек, но рыхло и H<sub>2</sub>O в целом ~4.5 x 8,5 нм

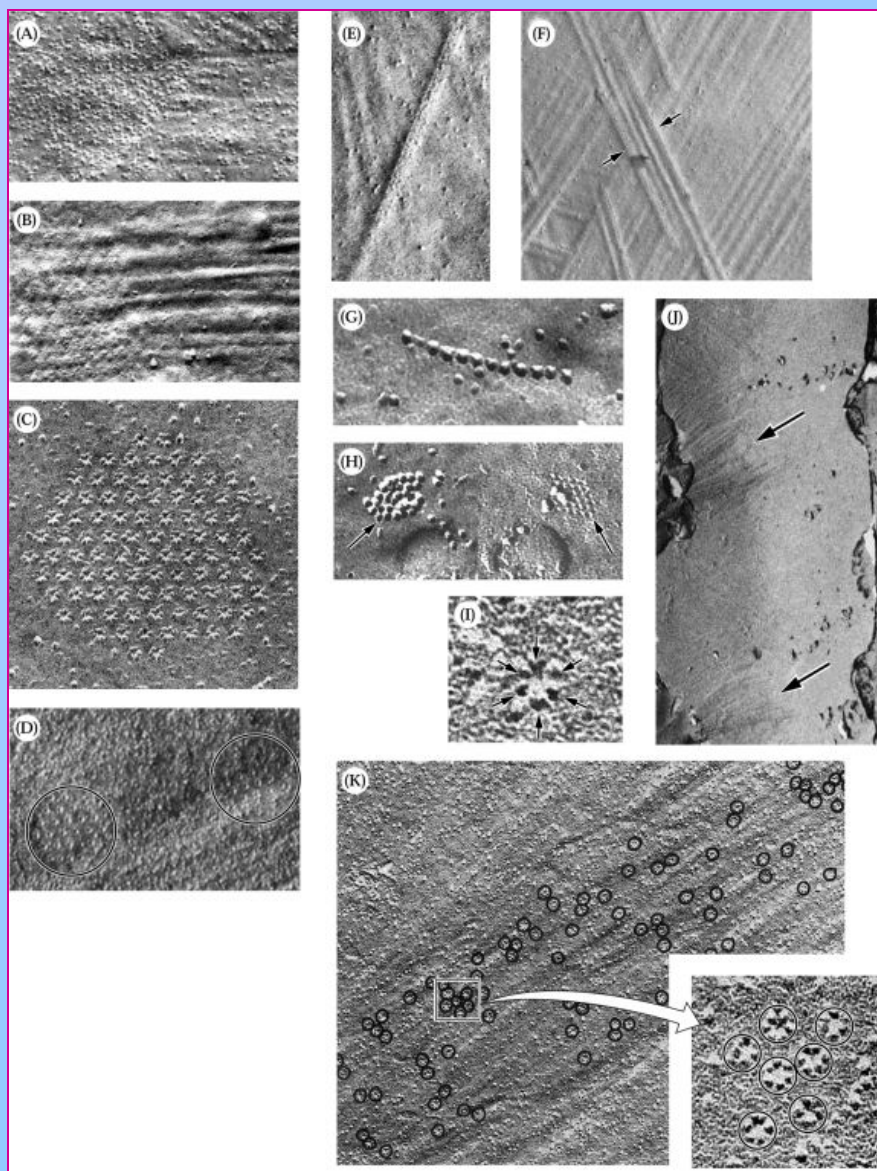




# Строение целлюлозо-синтазы



# Электронные фотографии КС с целлюлозо-синтазой



# Сшивочные гликаны (cross-linking glycans)

**Ксилогликаны  
(XyGs)**

**Глики со  
смешанной  
связью  
(злаки)**

**Глюкуроно-  
арабиноксиланы  
(GAXs)**

**Фуко-ХуGs**

XXXG : XXFG

(двудольные,  
некоммелиноидн.)

**Арабино-ХуGs**

AXGG, XAGG, AAGG

Пасленовые, мята

**Коммелиноидные**

Ara: O-3, GlcA: O-2

**Некоммелин.**

Ara, GlcA: O-2

**Нерегулярные ХуGs**

(коммелиноидные)

**Обозначения:**

**G:** Gl

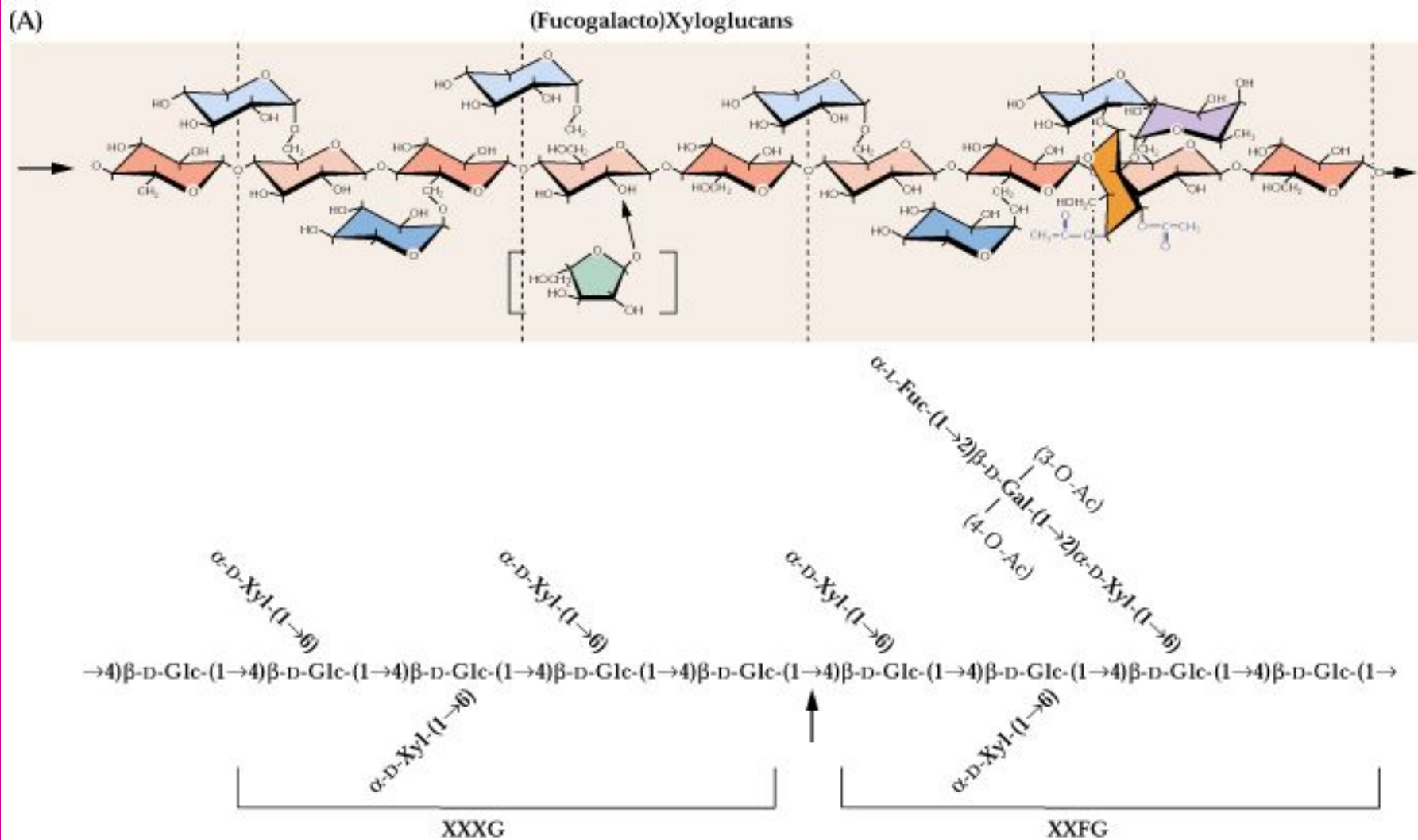
**X:** Gl-Xyl

**L:** Gl-Xyl-Gal

**F:** Gl-Xyl-Gal-Fuc

**A:** Gl-Xyl-Ara

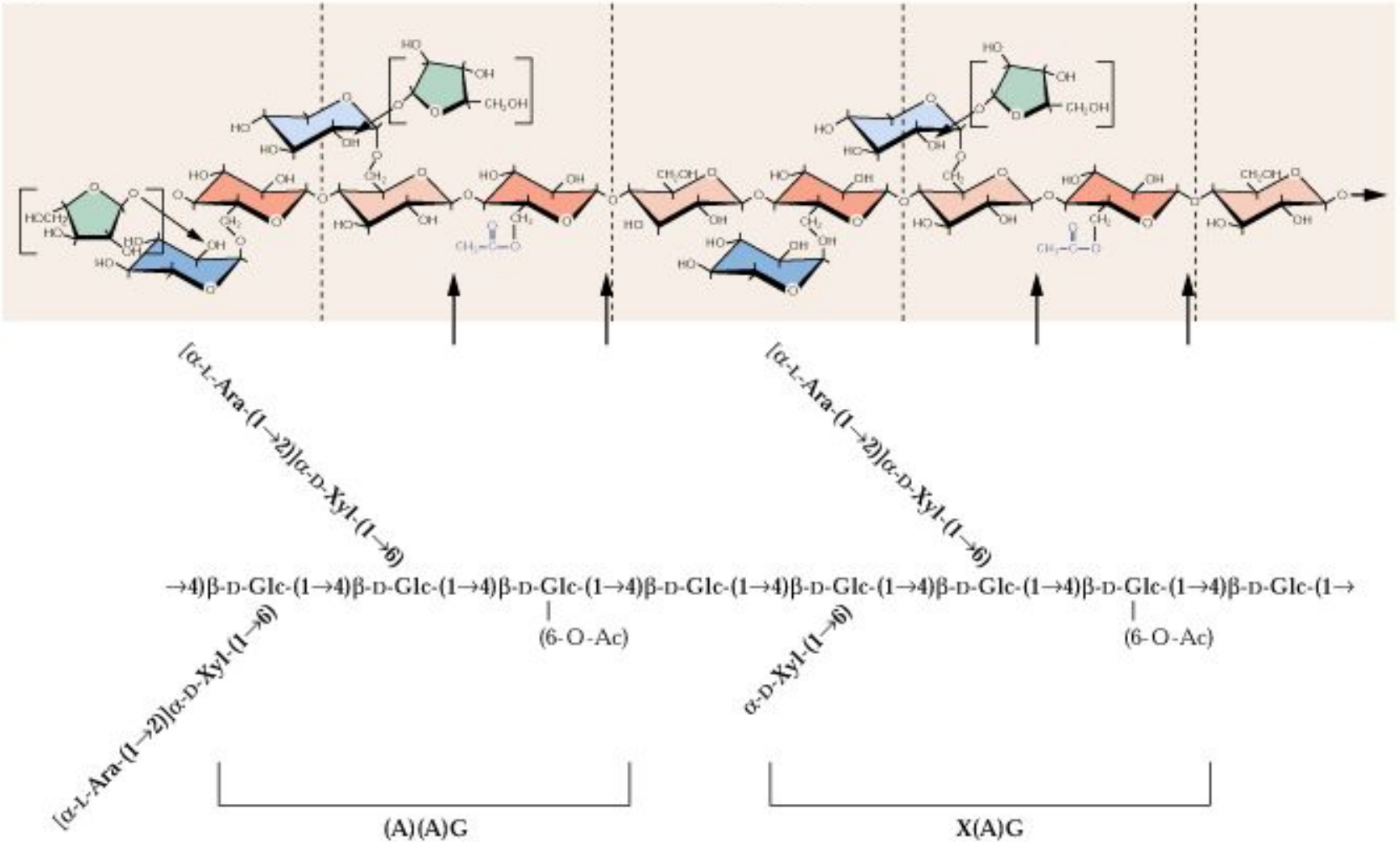
# Гемицеллюлозы: ксилоглюкан двудольных (фуко-галакто-ХуGs) (XXXG : XXFG ~ 50 : 50)





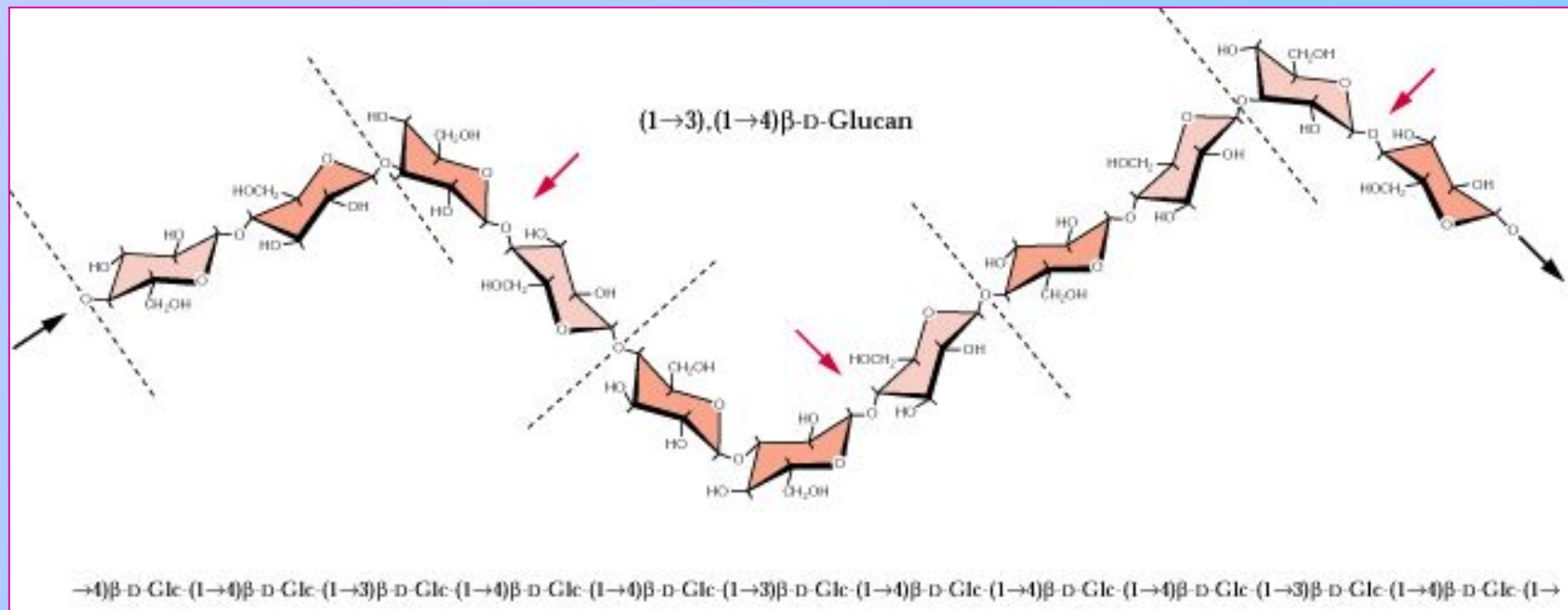
# Гемицеллюлозы: ксилоглюкан двудольных (арабино-ХуGs пасленовых и мяты)

(B) Solanaceous (arabino)xyloglucans

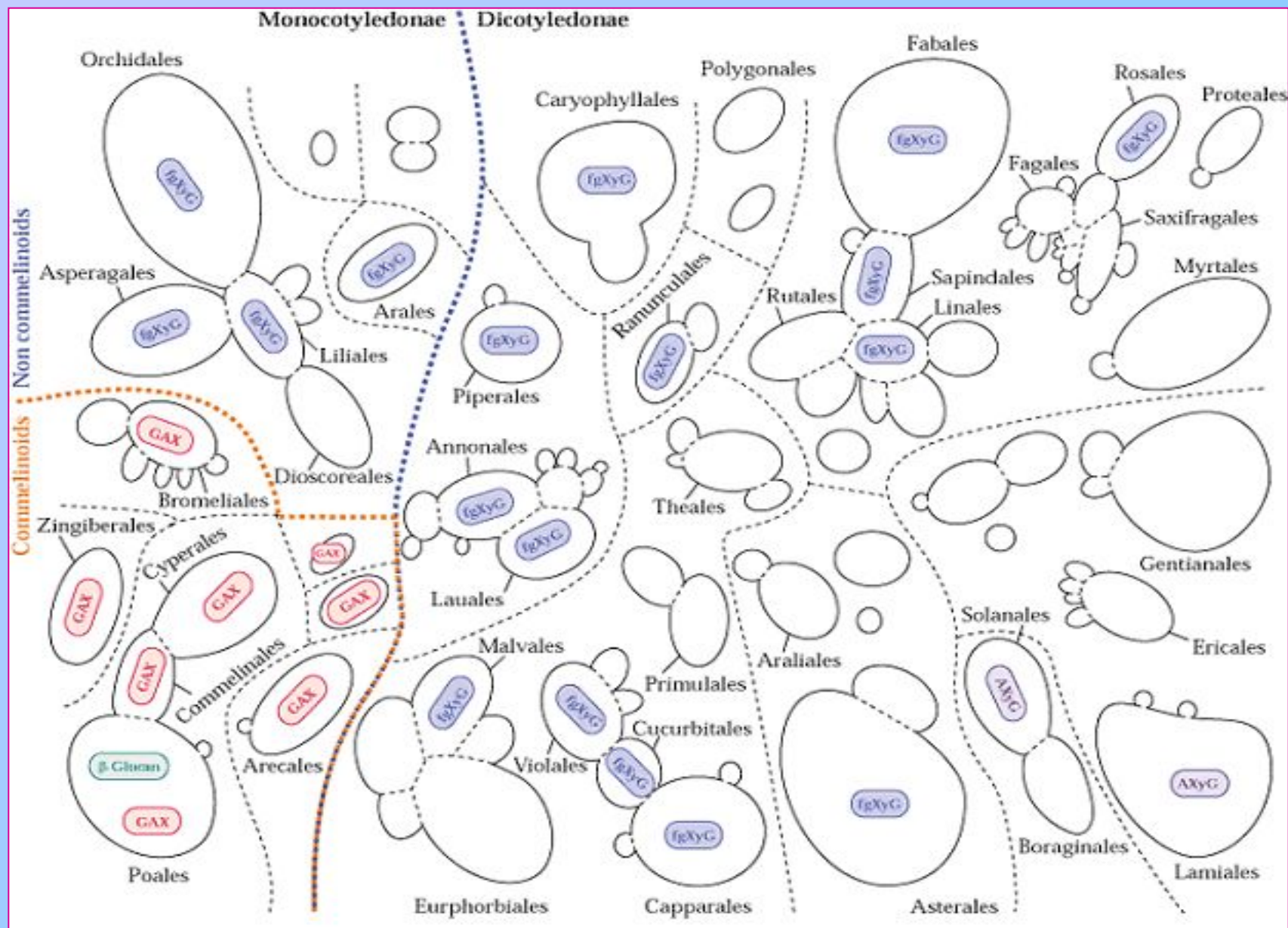




## Гемицеллюлозы: глюкан злаковых



# Состав гемицеллюлоз у представителей разных таксонов





# Пектины

Галактуронаны

Рамногалактуронаны

Гомогалактуронаны

Ксилогалактуронаны

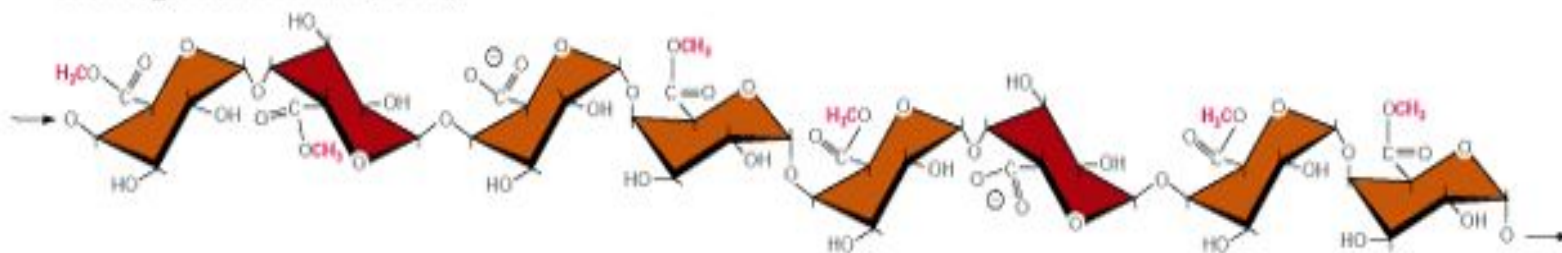
Рамногалактуронаны I

Рамногалактуронаны II

# Пектины: галактоктуронаны (гомо- и ксило-галактуронаны)

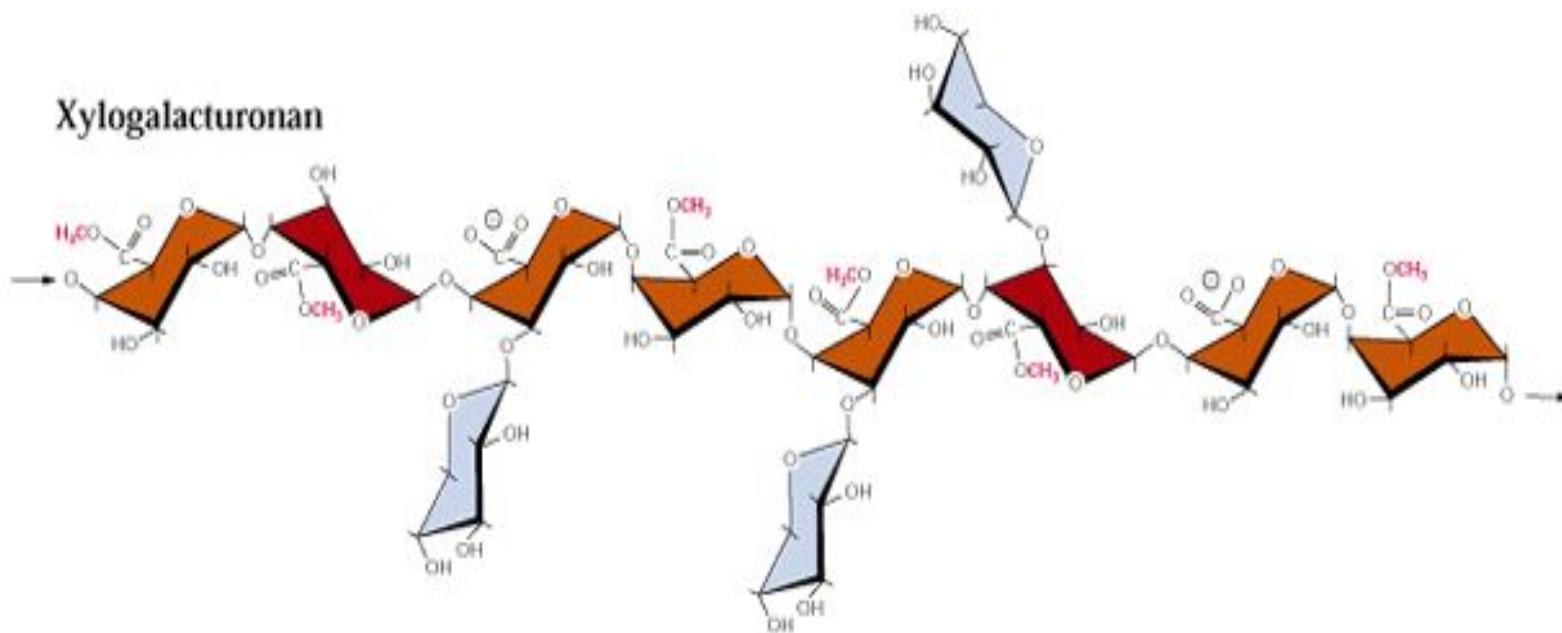
Homogalacturonan (HGA)

(A)

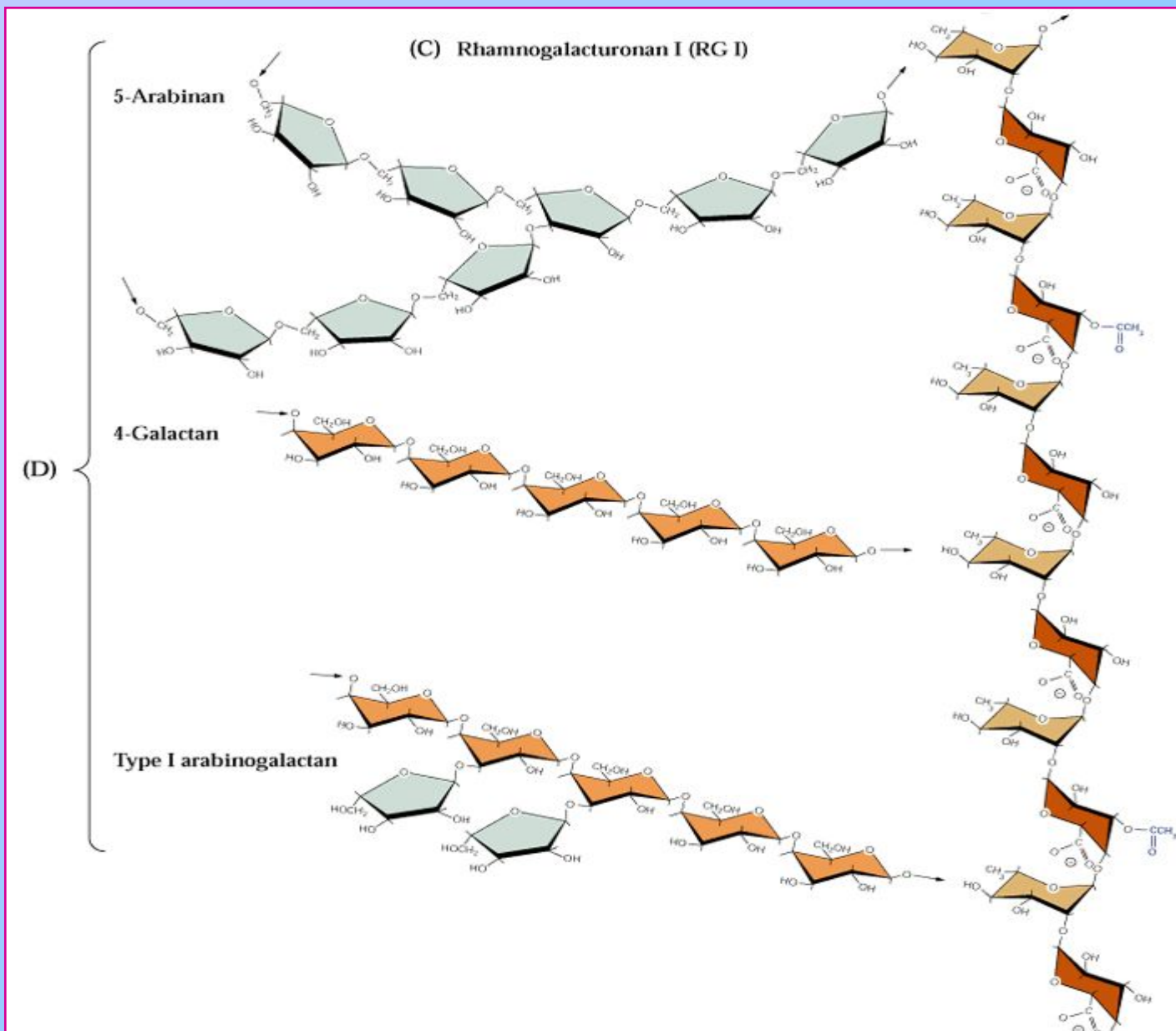


Xylogalacturonan

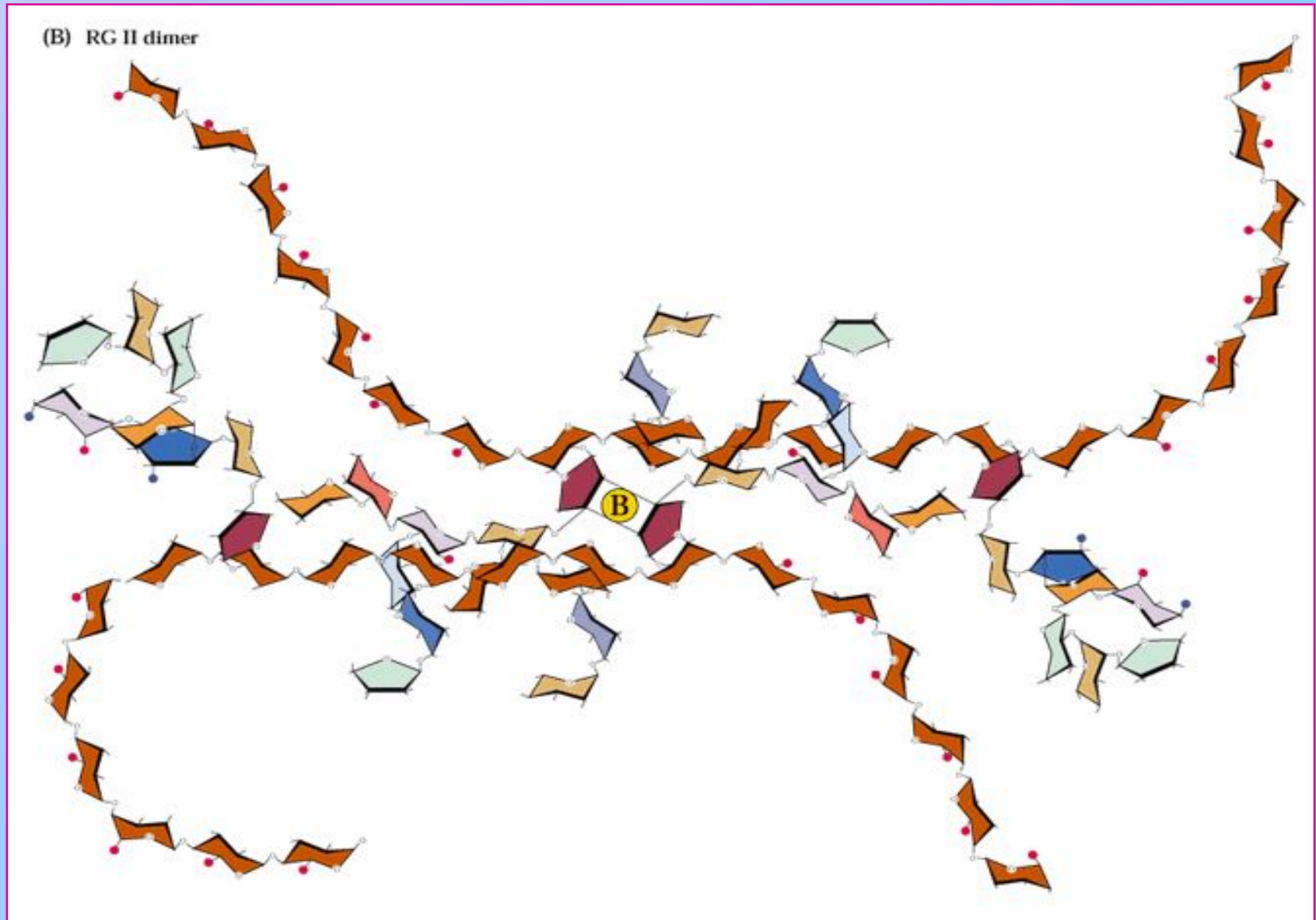
(B)



**Пектины: рамногалактуронаны I гетерополимер: линейная цепь из чередующихся остатков GalA и Rha с различными боковыми фрагментами)**



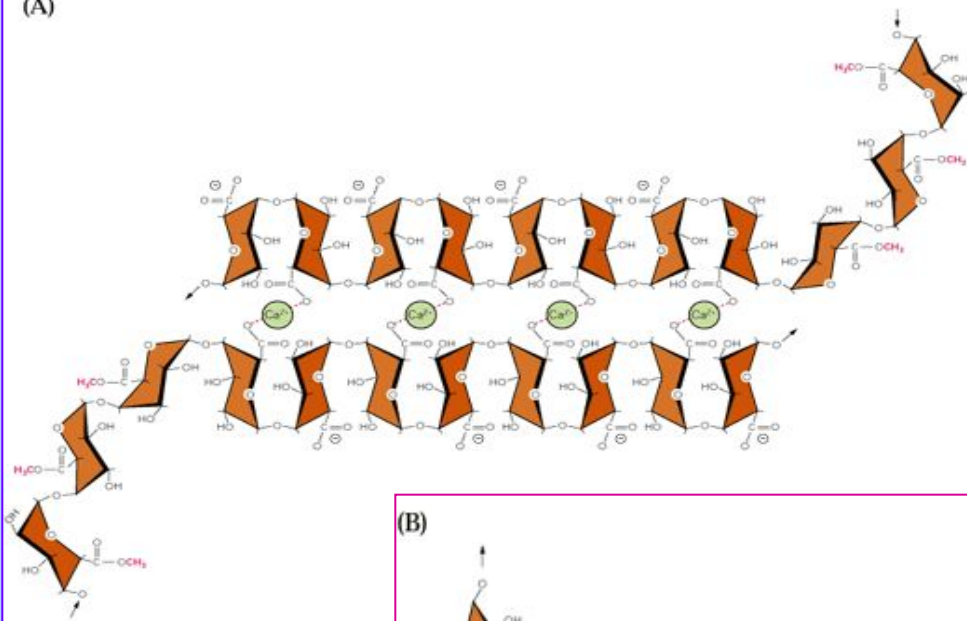
**Пектины: димер рамногалактуронана II**  
(мономеры RGII 4200kDa связаны диэфирными связями остатками апиозы через бор)





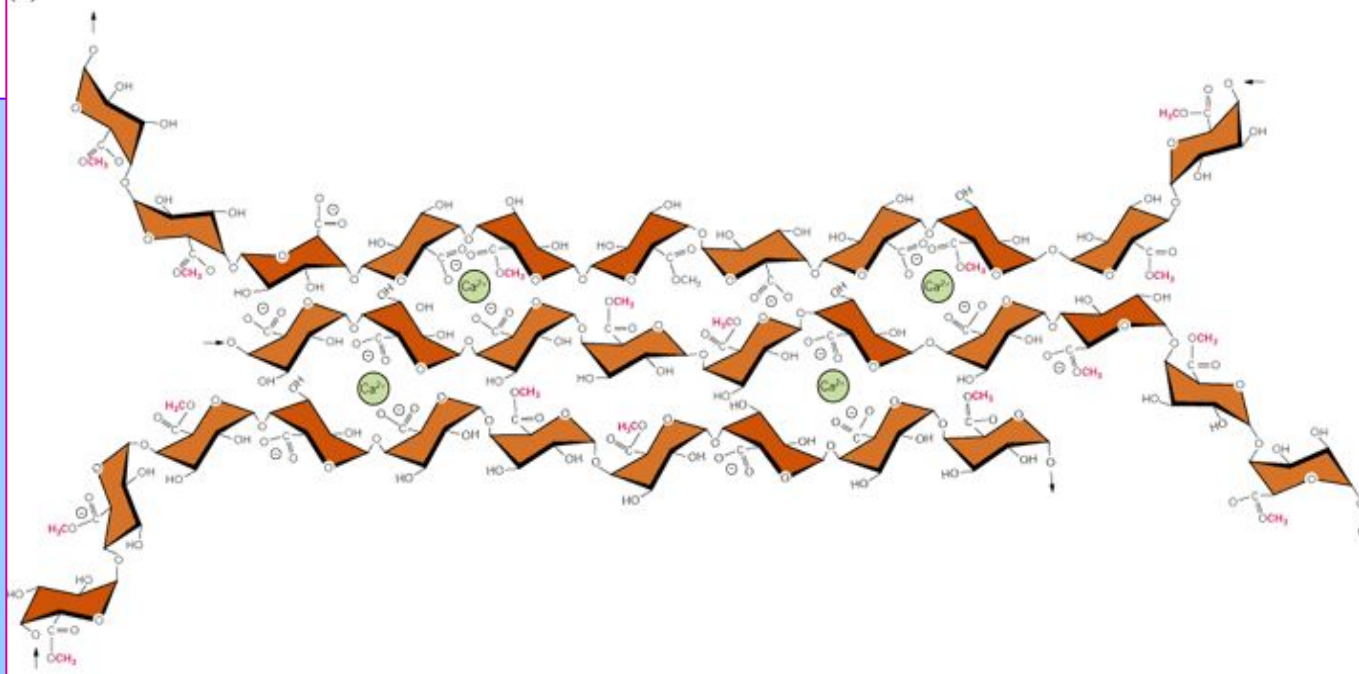
## «Замковые зоны» пектиновой сети

(A)

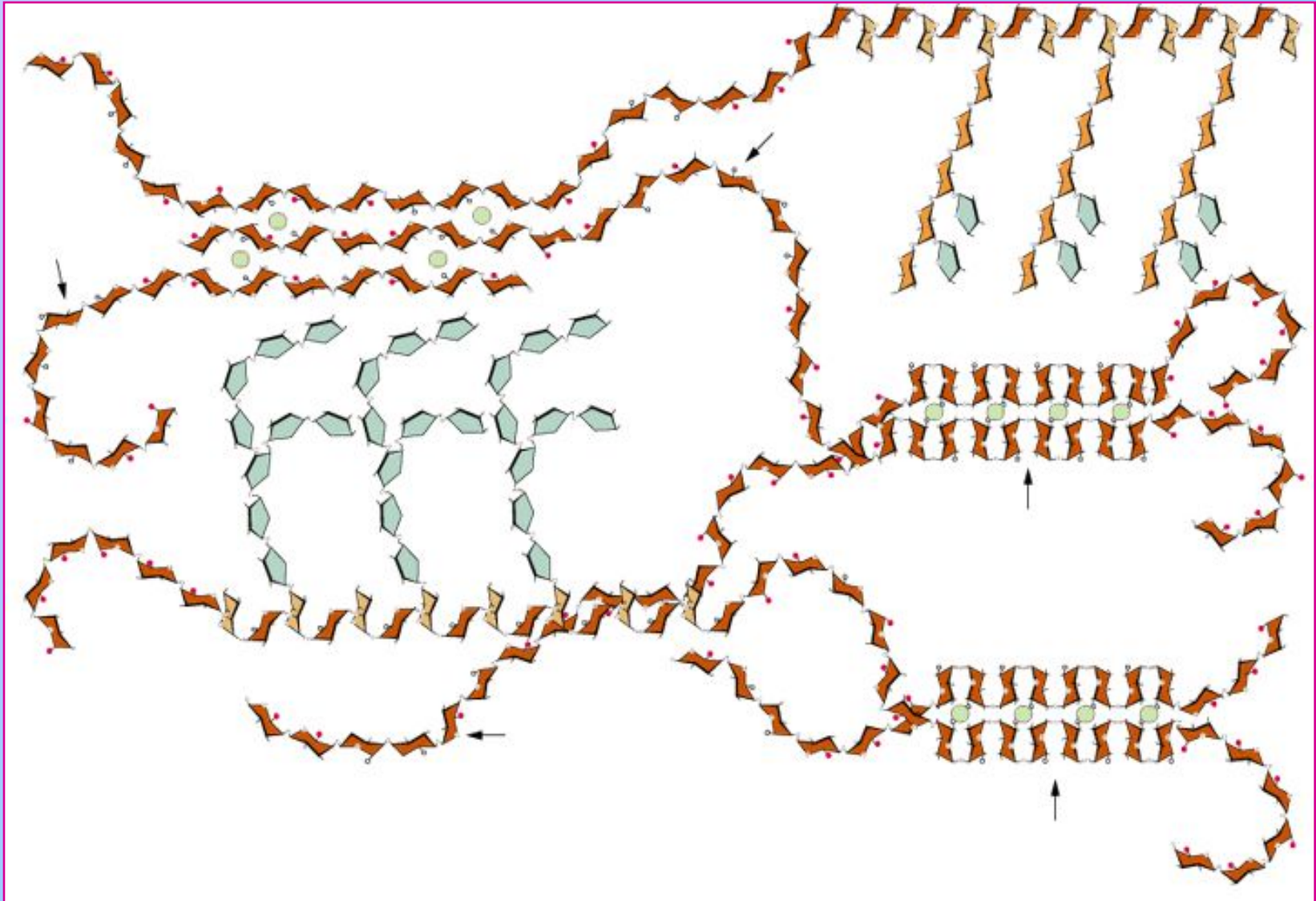


Синтез пектинов – В АГ в метоксилированном виде. Пектин-метил-эстераза (PME) избирательно отщепляет Met.

(B)



**Пектины:** зоны «Ca<sup>2+</sup>-застежек» и количество нейтральных боковых цепочек RGI регулируют размер пор клеточной стенки

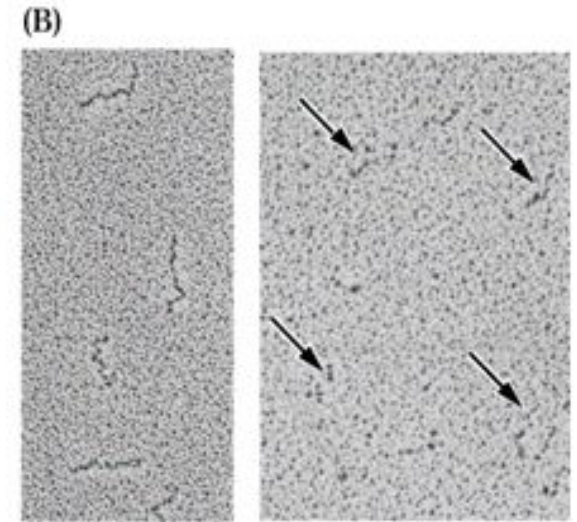
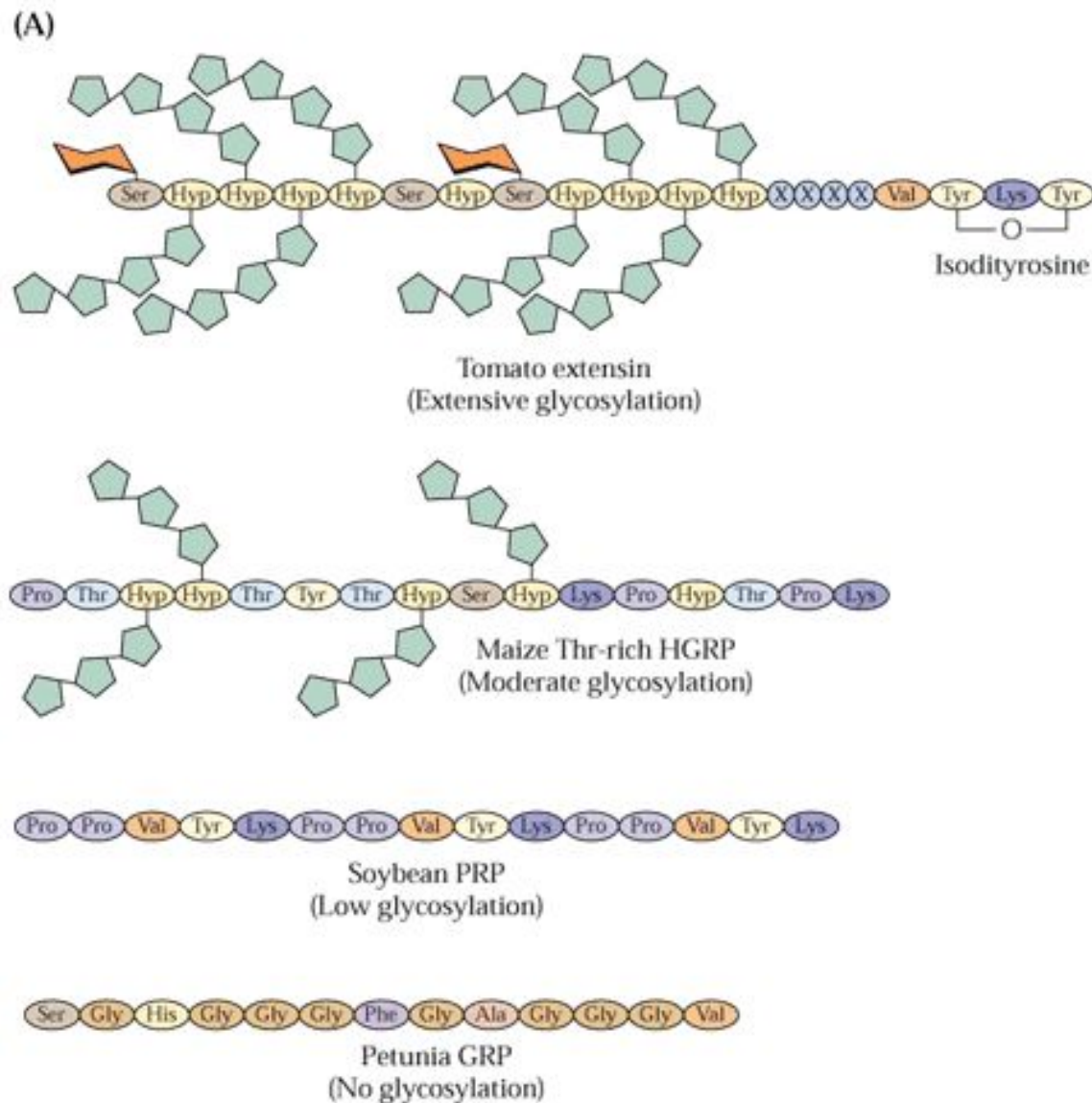


## Пектины: функциональная сеть клеточной стенки

### **Функции пектинов:**

- **определяют размер пор КС**
- **определяют поверхностный заряд КС**
- **адгезионные свойства КС**
- **ионнообменные свойства КС**
- **формирование срединной пластинки**
- **фиксирование ферментов КС**
- **депо Са<sup>2+</sup>**

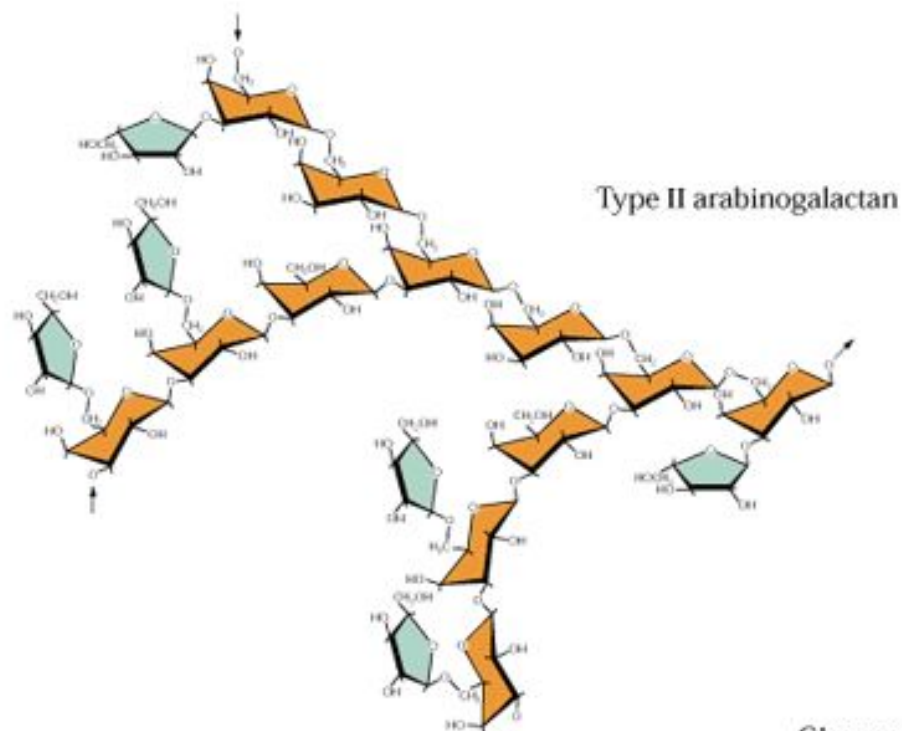
# Структурные белки клеточной стенки: HGRPs, PRPs, GRPs (гидроксипролин-, пролин- и глицин- обогаченные)



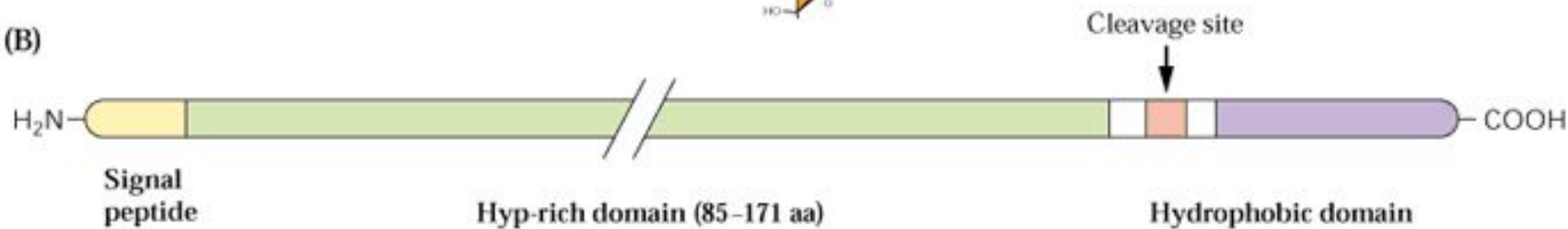


# Структурные белки клеточной стенки: AGPs (арабино-галактановые белки - протеогликаны).

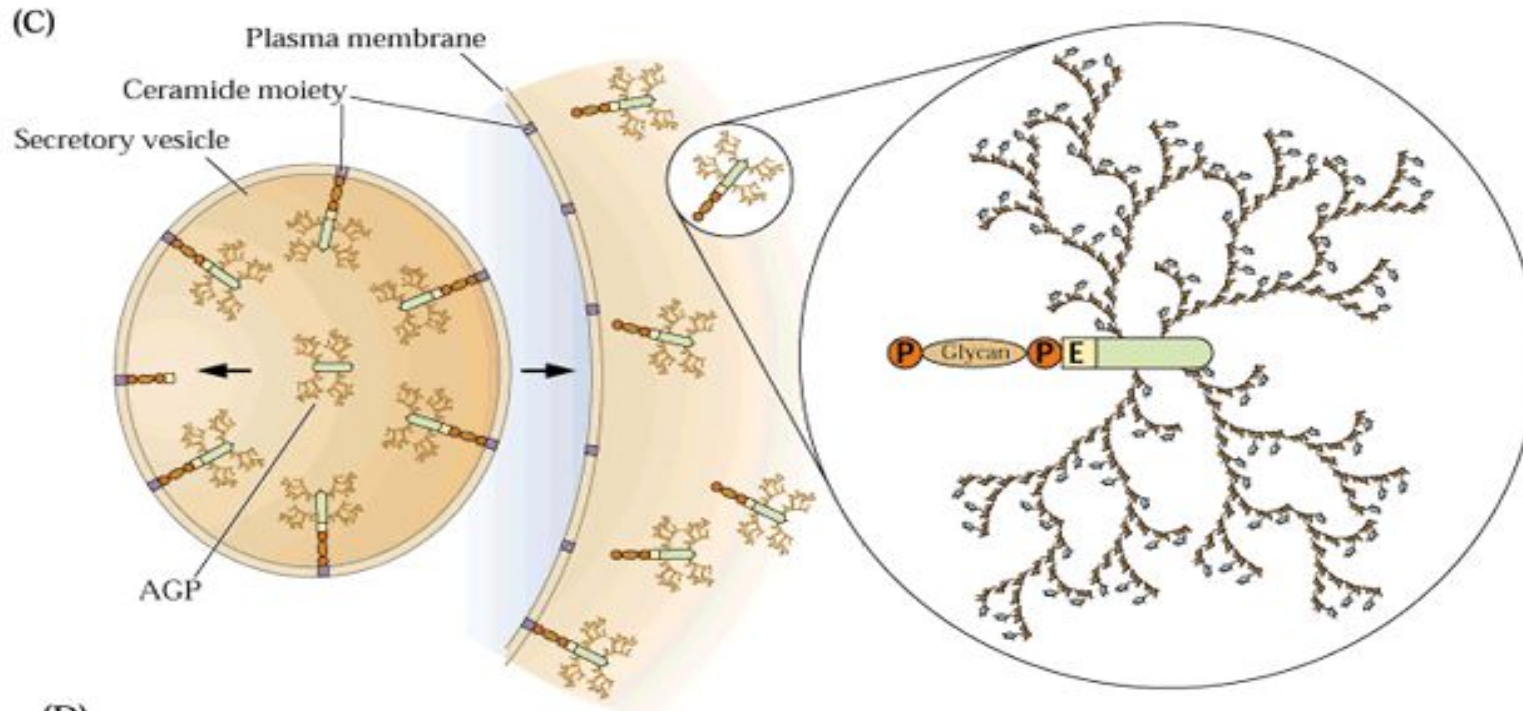
(A)



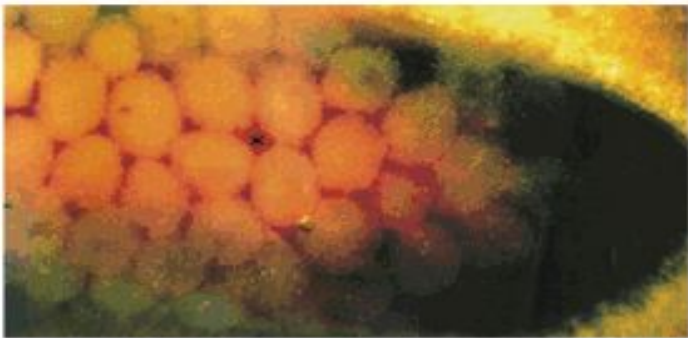
(B)



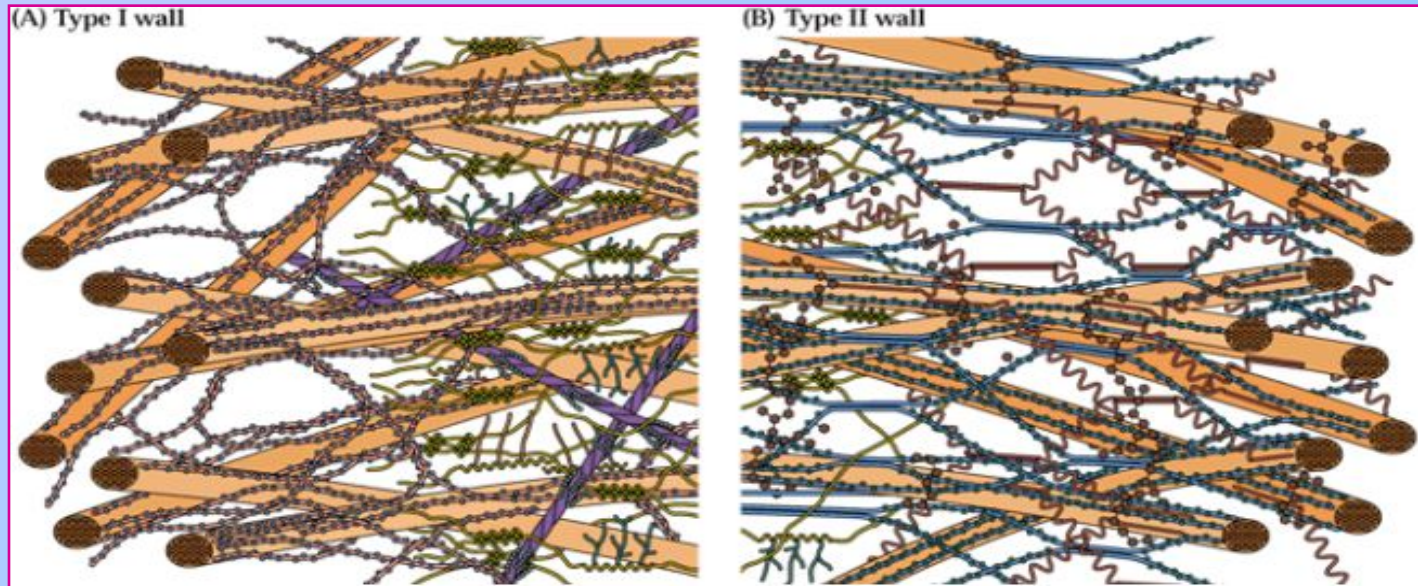
## Структурные белки клеточной стенки: AGPs (арабино-галактановые белки - протеогликаны).



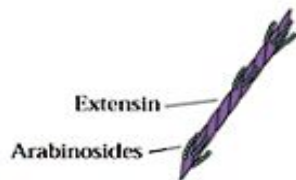
(D)



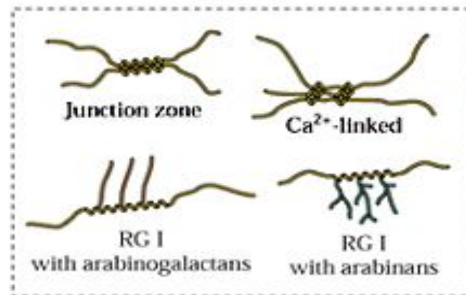
# Трехмерная модель двух типов клеточной стенки: тип I (двудольные) и тип II (коммелиноиды)



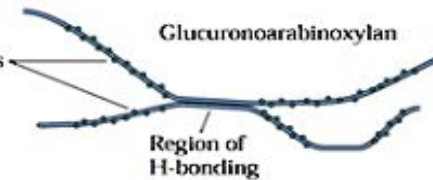
Key:



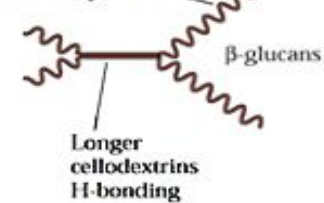
Pectins



Arabinose-rich runs that open pores

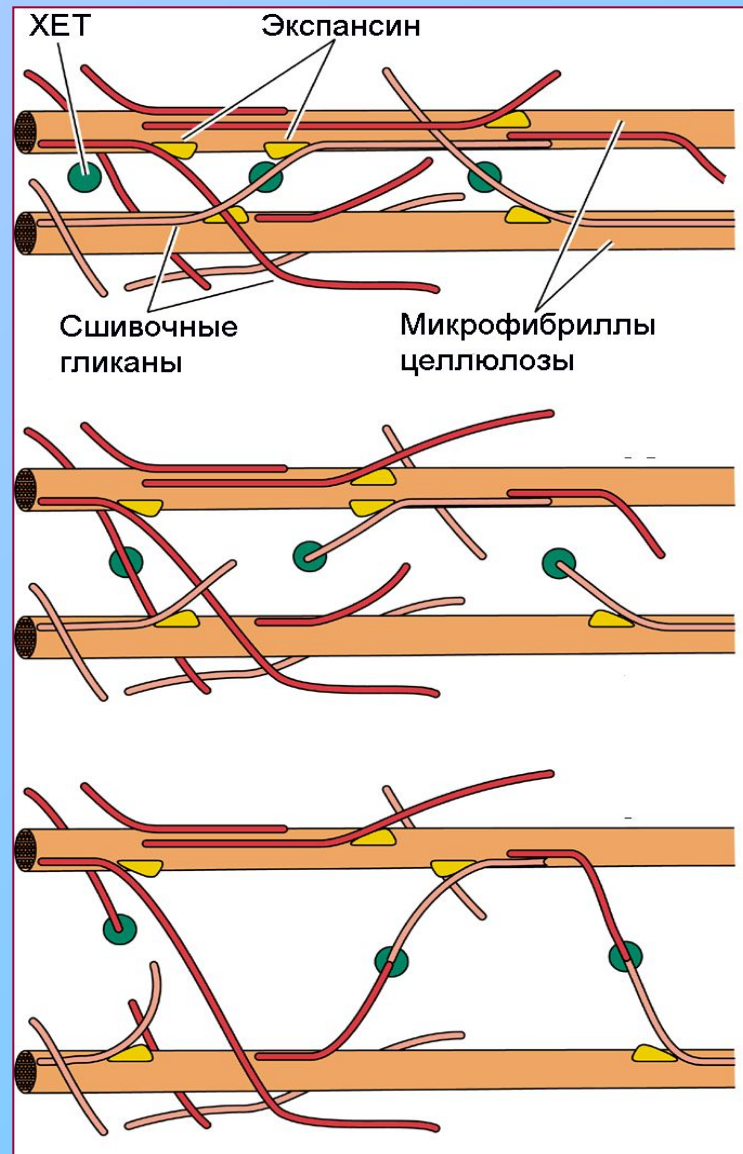
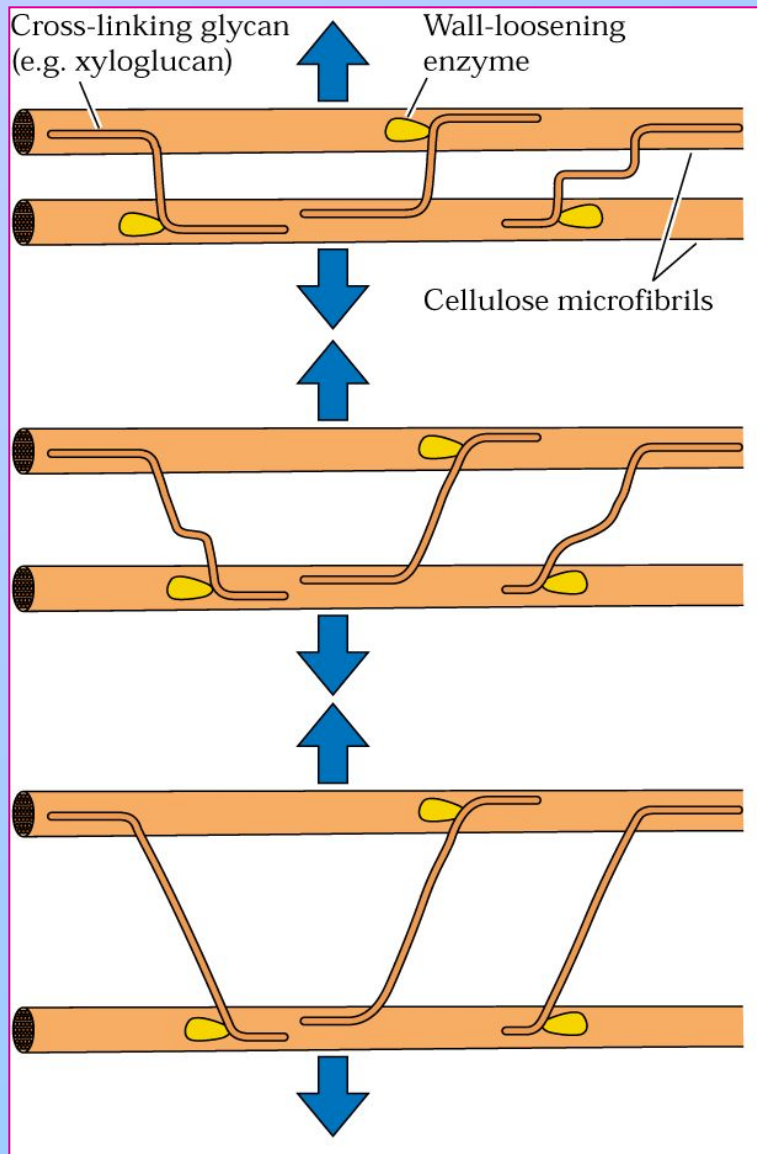


Cellotriosyl- and cellotetraosyl-rich





# Возможное участие ХЕТ (ксилоглюкан-эндотрансгликозилазы) и экспансина в росте клеток растяжением

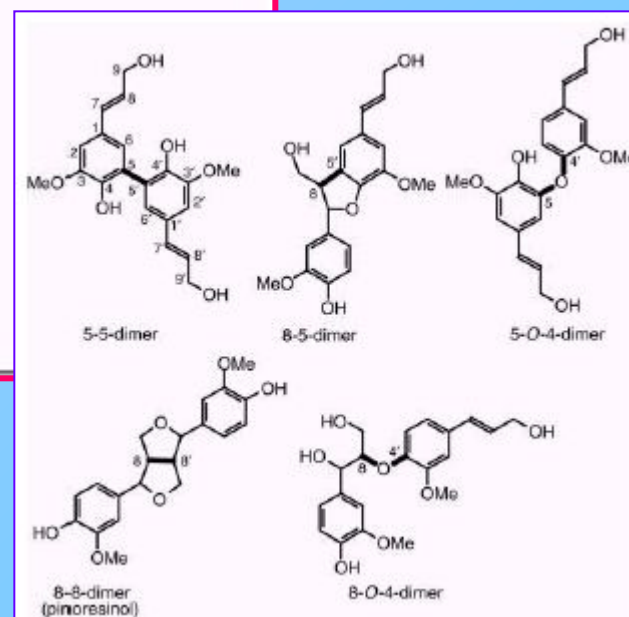
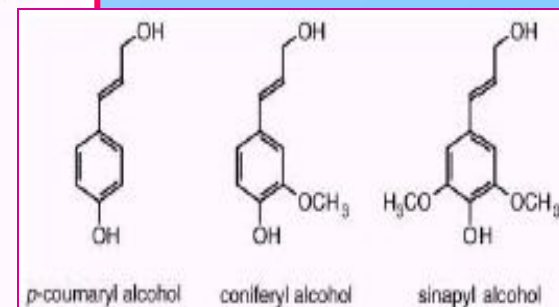
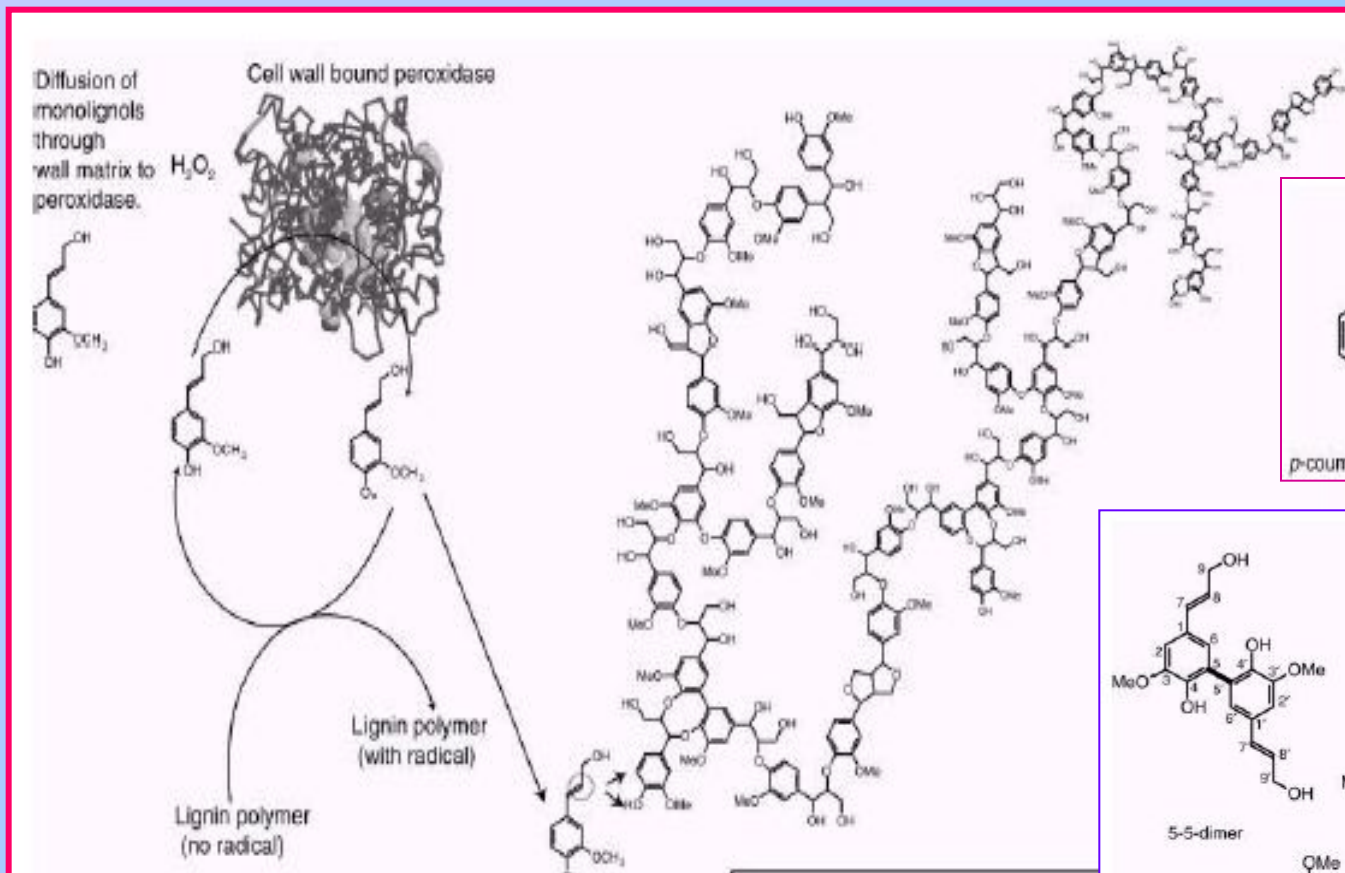




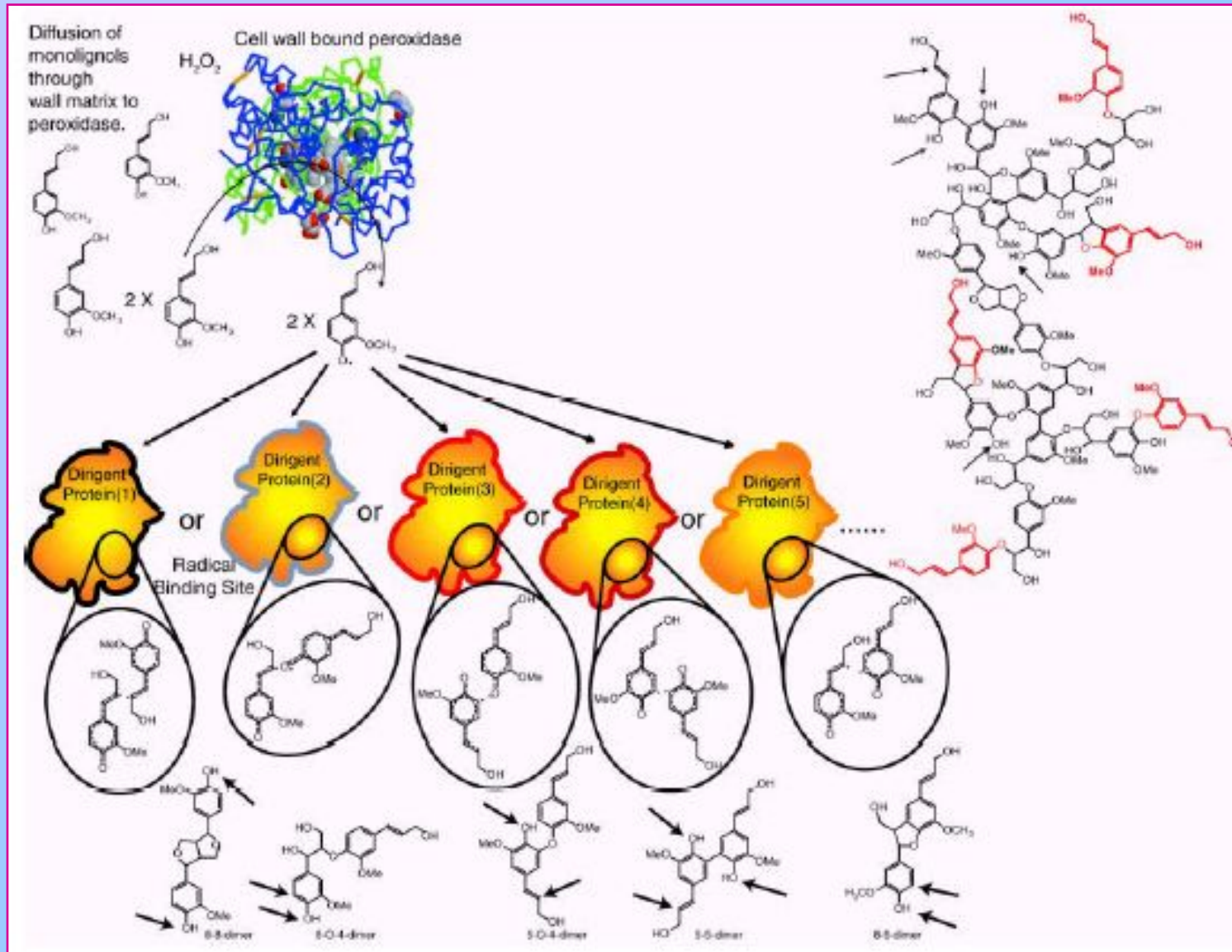


# Образование лигнина:

окислительная конденсация фенолпропаноидов случайным образом.



# Образование лигнинов: целенаправленная конденсация мономеров.



## Некоторые особенности плазмалеммы

### Структурные: зависимость состава от типа клетки

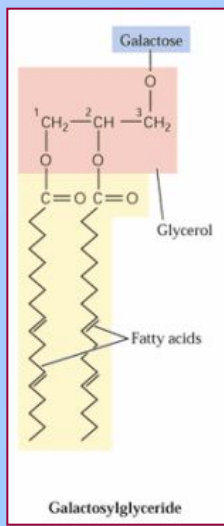
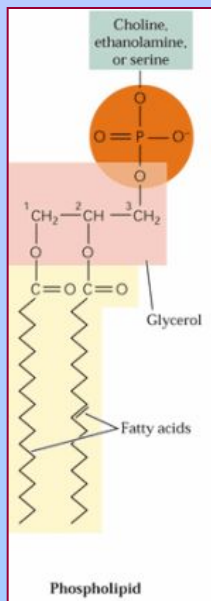
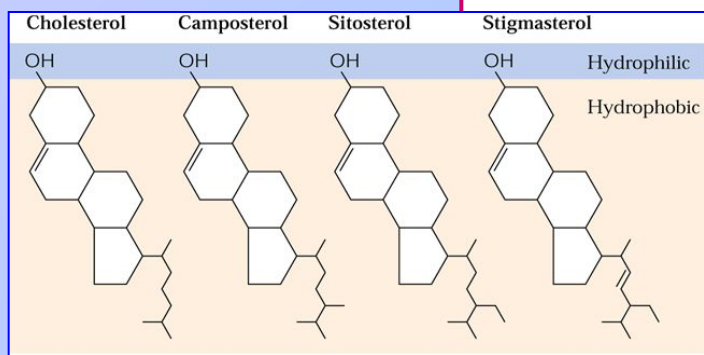
- основные ЖК: пальмитиновая (16:0), олеиновая (18:1,  $\Delta^9$ ), линолевая (18:2,  $\Delta^{9,12}$ ); линоленовая (18:3,  $\Delta^{9,12,15}$ ); стеариновой (18:0) практически нет, арахидоновой (18:4) у семенных растений нет.
- другая схема десатурации ЖК – от  $\Delta^9$  к  $\omega$ -концу ( $\Delta^{12}$ ,  $\omega^3$ )
- обычно очень мало холестерина – вместо него фитостерины (сито-, стигма- и кампестерин) – в том числе в виде гликозидов и ацилов.
- наличие особых белков: контакты с КС (прежде всего арабиногалактановых), синтез и аранжировка КС

### Функциональные:

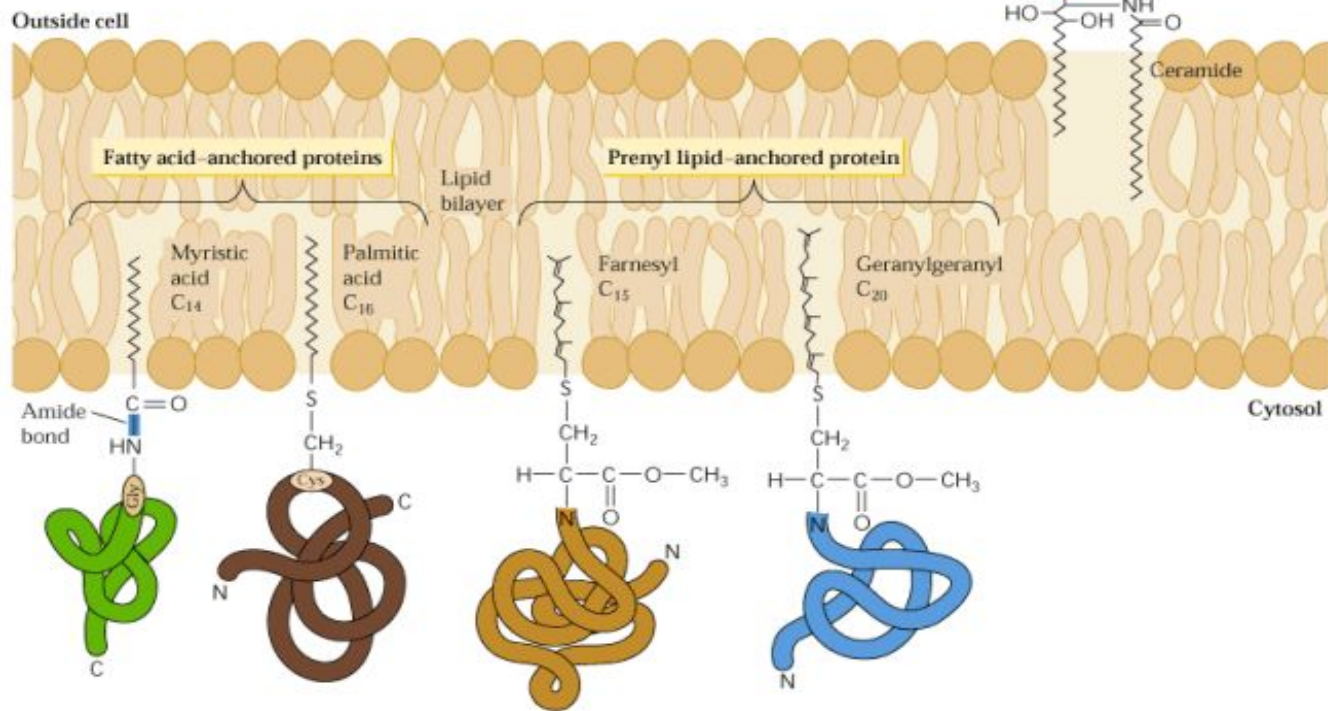
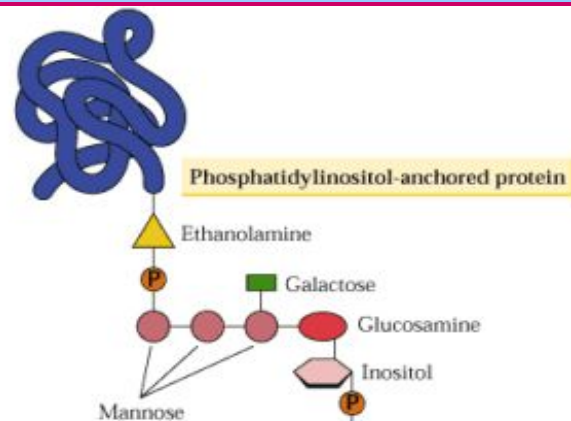
- $\Delta\Psi \sim 100 - 250\text{mV}$  – выше, чем у животной клетки
- протонная энергетика ( $\text{H}^+$ -АТФ-за р-типа)
- формирование плазмодесм
- нахождение под постоянным «давлением» за счет тургора.



# Фитостерины, диацилглицериды и варианты «заякоривания» белков в мембранах



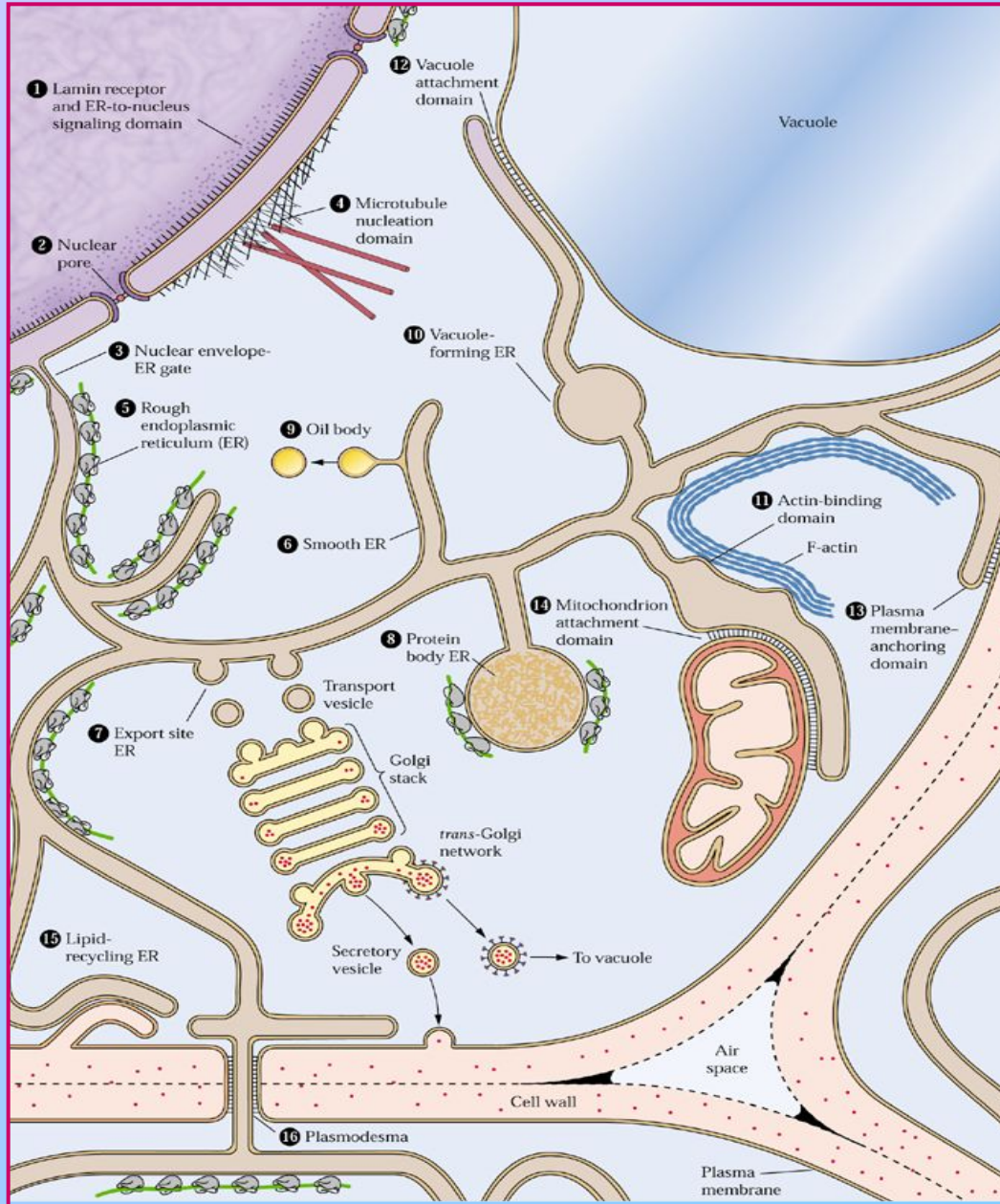
**Фосфолипиды**  
(плазмалемма)  
**Гликозилглицериды**  
(пластиды)



## Функции плазмалеммы

1. *Контроль поглощения и секреции веществ*
2. *Запасание и использование энергии.*
3. *Размещение и обеспечение работы ферментов.*
4. *Рецепторные функции.*
5. *Сигнальные функции.*

# Функциональные участки растительного ЭР

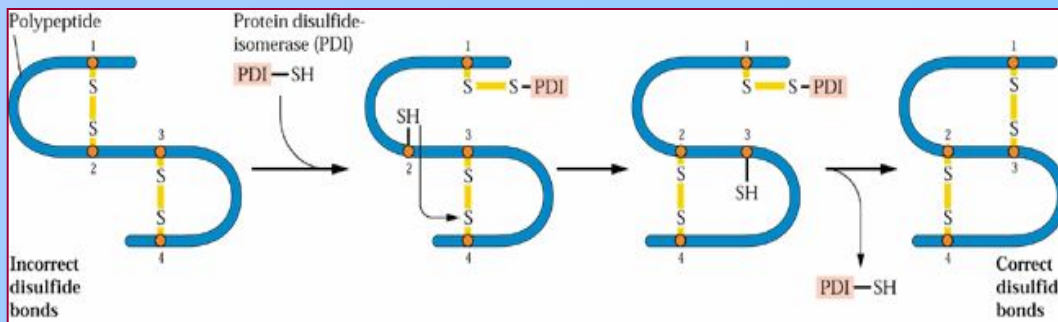
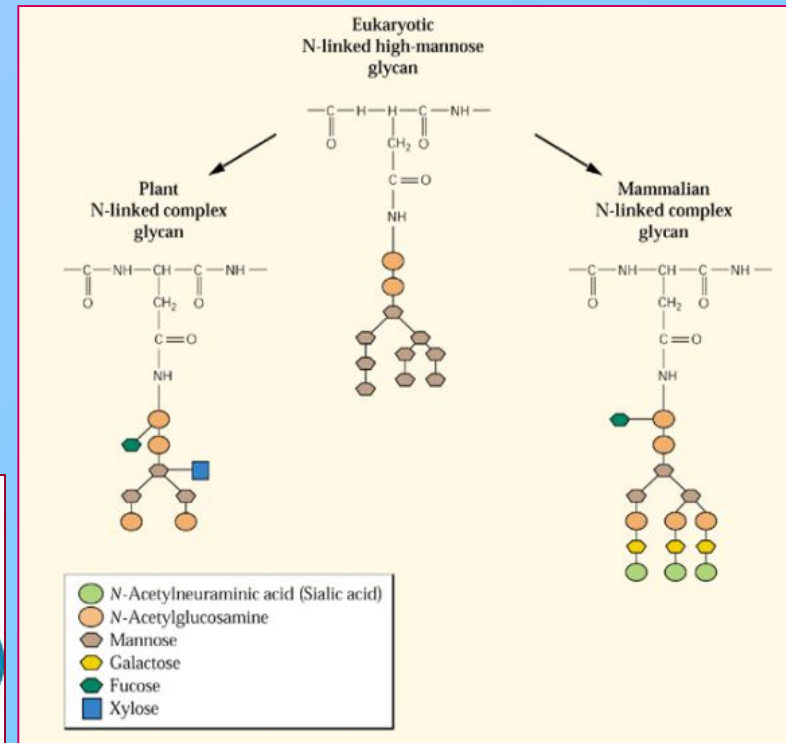
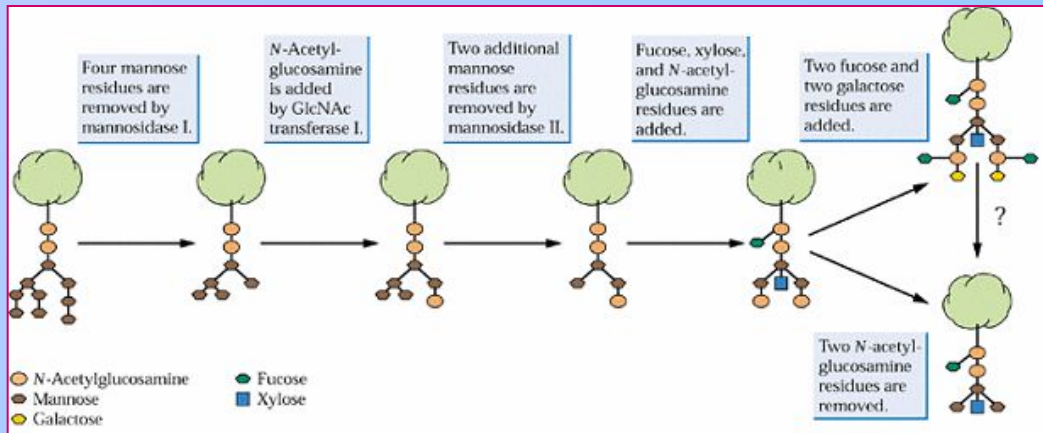


- Помимо «классических» областей ЭР шероховатого (5) и гладкого (6) ЭР, в растительных клетках выделяют:
- зону “шлюза” между ЭР и оболочкой ядра (3);
  - область фиксации актиновых филаментов (11);
  - области формирования белковых (8) и масляных (9) тел;
  - область образования вакуолей (10);
  - области контактов с плазмалеммой (13), с вакуолью (12), с митохондриями (14);
  - область рециркуляции липидов цистерн ЭР (15);
  - область плазмодесм (16).



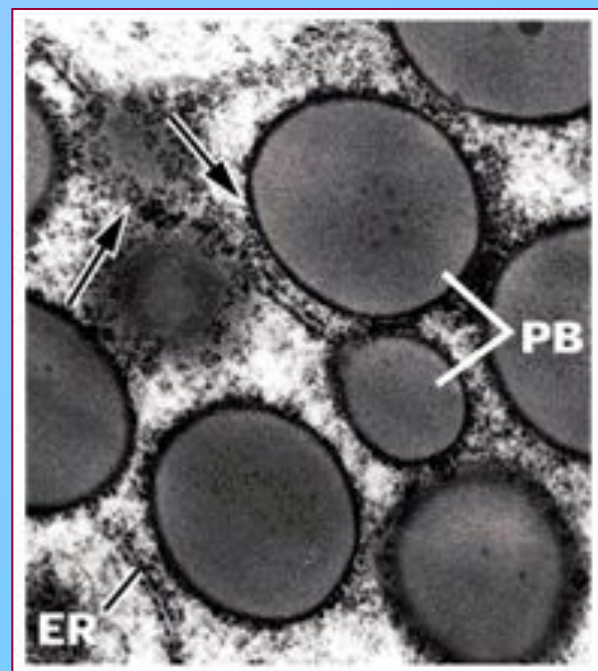
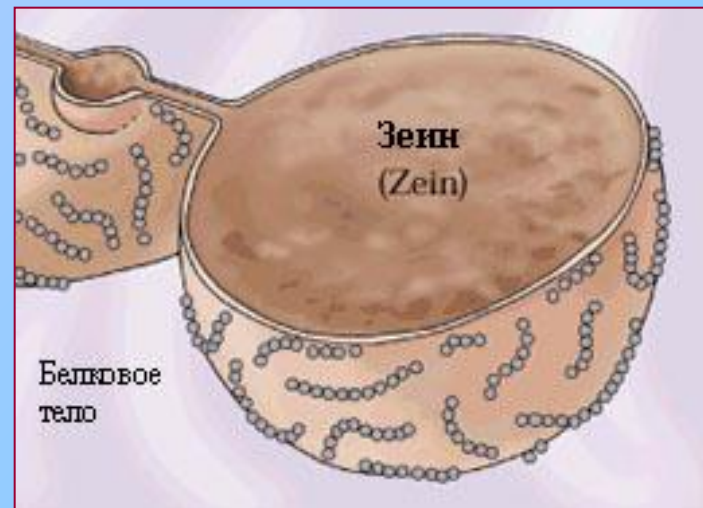
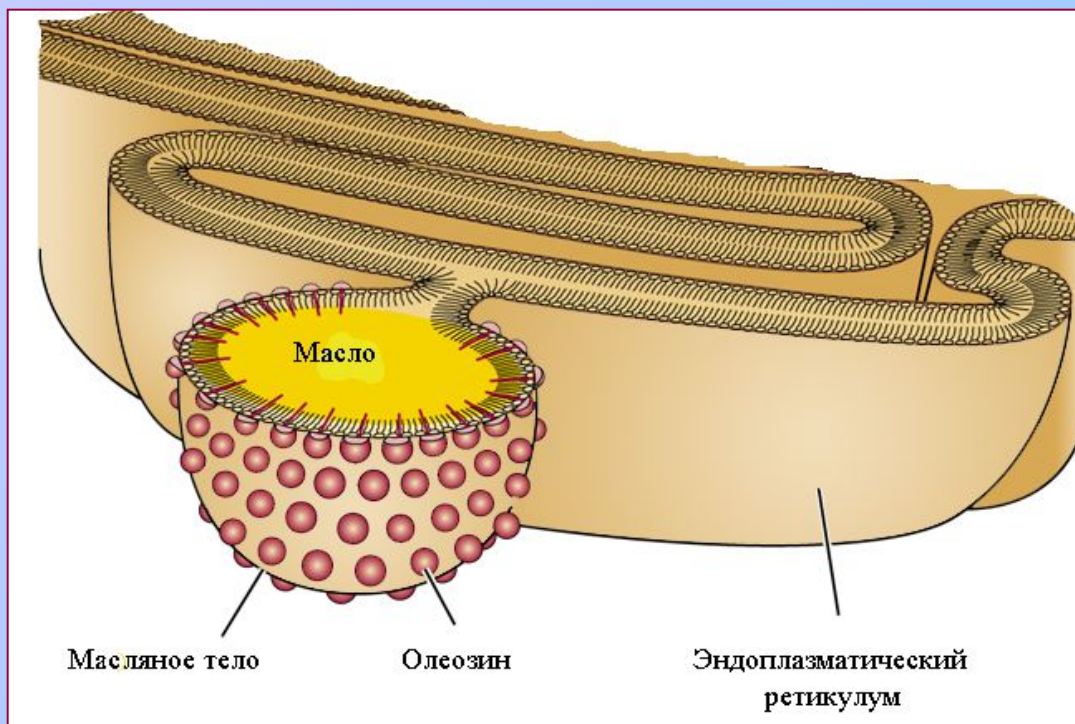
# Роль растительного ЭР в формировании «экспортных» белков

1. Модификация некоторых аминокислот (например, пролин → гидроксипролин, за счет работы пептидилпролин-гидроксилазы)
2. N-гликозилирование белков (при помощи шапернов кальнексина и кальретикулина)
3. Правильное сворачивание белков (пептидилпролин изомераза при помощи Вир – иммуноглобулин связывающего белка)
4. Формирование «правильных» дисульфидных связей (глутатион и дисульфид-изомеразы)
5. Формирование олигомерных белков при помощи шапернов
6. Дегградация белков или их возврат в цитозоль для дегградации.





## Формирование в ЭР масляных и белковых тел (проламины - зеин)



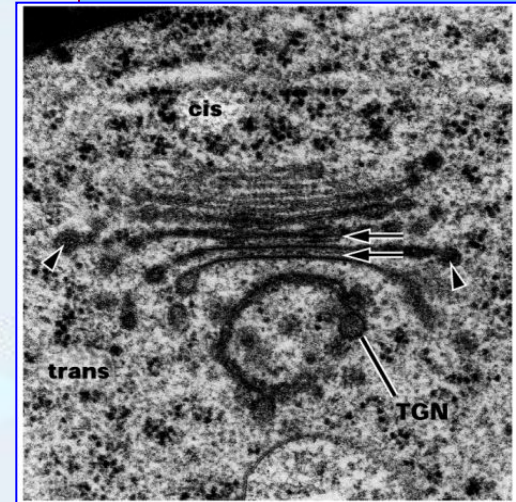
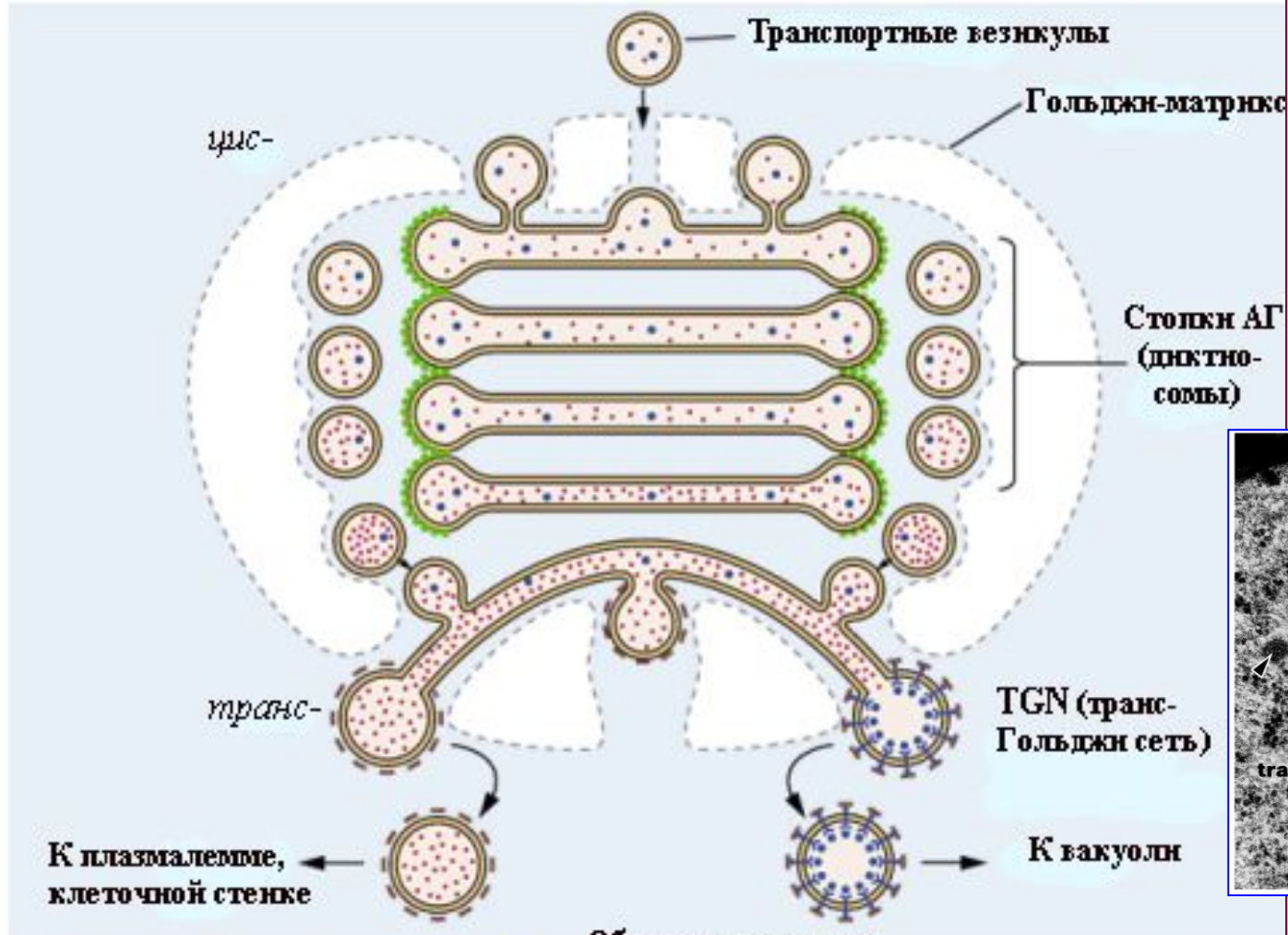
**Олеозины** - интегральные белки 16-25-кДа с «кнопко-подобной» структурой. «Острие» состоит из 72 гидрофобных остатков аминокислот в форме анти-параллельного  $\beta$ -скрученного домена, присоединенного обоими концами к «шляпке»

**Белковые тела, формирующиеся в эндосперме кукурузы.**

Стрелками показаны полисомы ЭР

# Структура растительного аппарата Гольджи

(A)

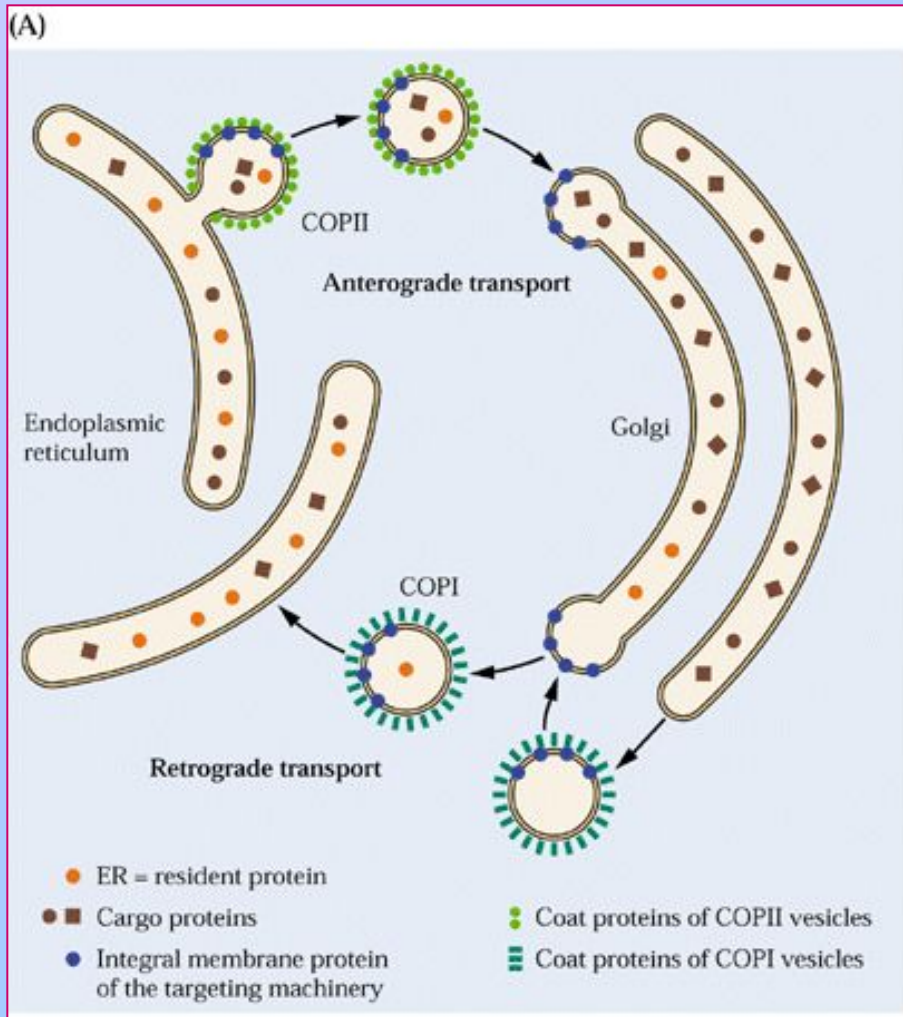


Оболочки везикул:

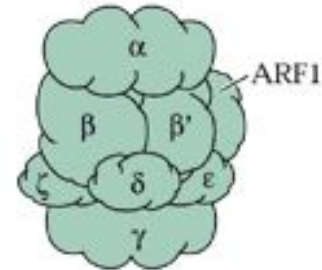
1. COP (белками оболочки - coat protein)
2. Везикулы без белкового покрытия
3. Клатринном (окрайленные везикулы)



## Везикулярный транспорт, типы везикул

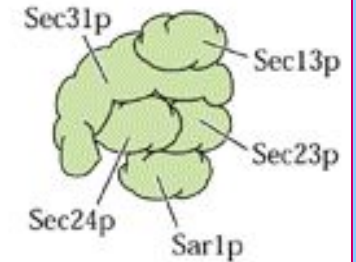


COPI/coatomer



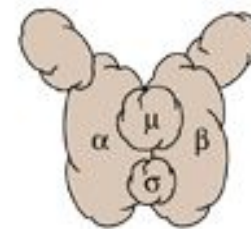
ER/Golgi, intra-Golgi pathways

COPII



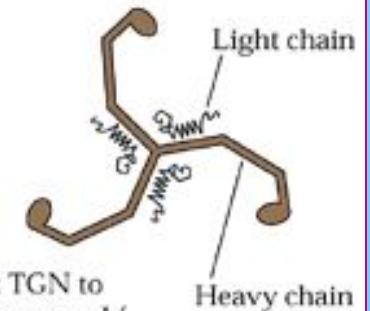
ER to Golgi pathway

API/2



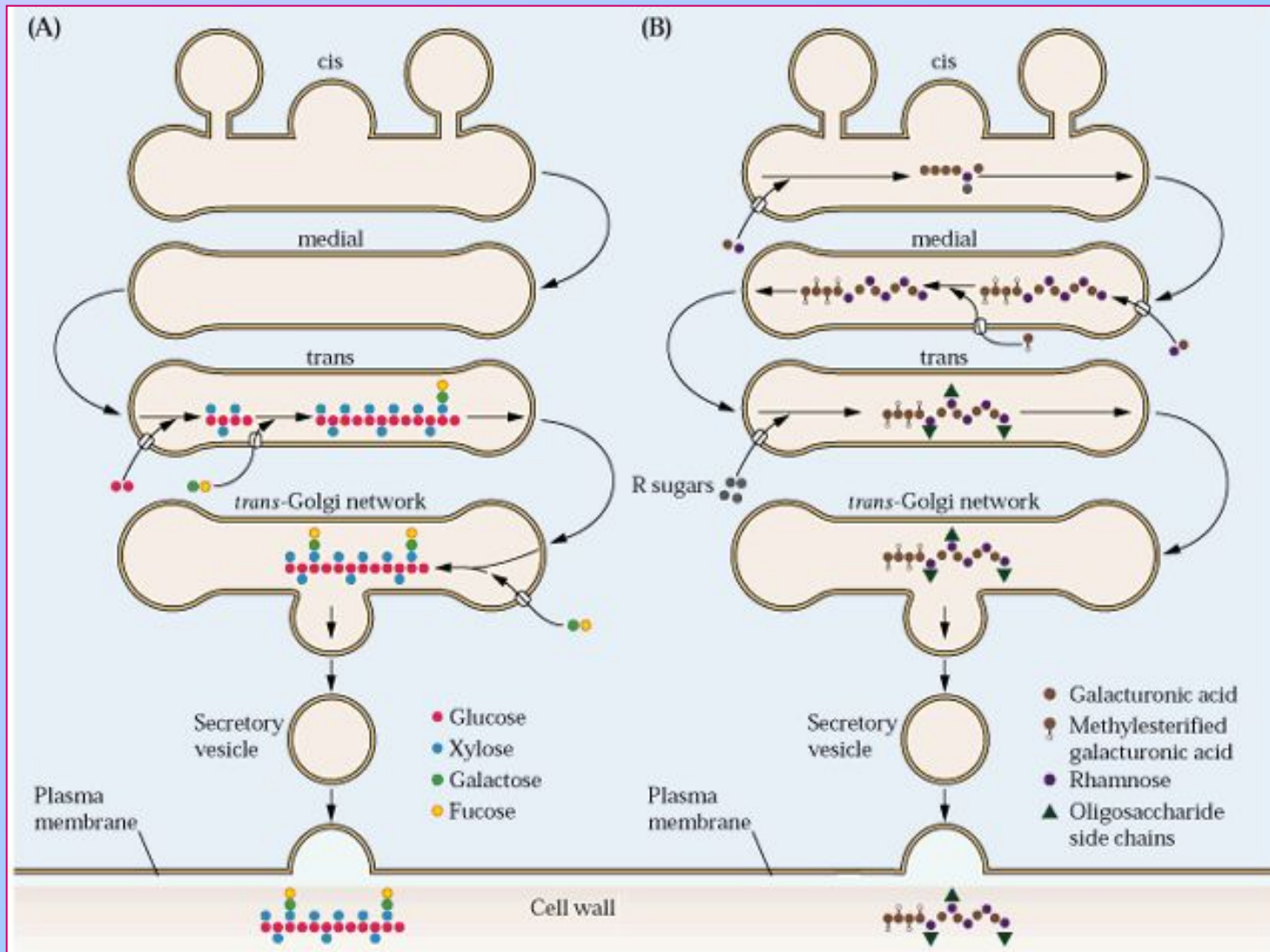
Post-Golgi; TGN to endosome (lysosomal/vacuolar pathway) and endocytosis

Clathrin



**COPII** – транспорт от ER к Гольджи, **COPI** – «ретроградный» транспорт - от Гольджи к ER  
**Окаймленные** - формирование превакулярного компартмента от *транс*-Гольджи или плазмалеммы (эндоцитоз). **Без белкового покрытия** – от *транс*-Гольджи к мембране (экзоцитоз), а также от превакулярного компартмента к литическим вакуолям.

# Синтез ксилоглюканов (А) и пектинов (В) проходит в разных компартментах АГ



До сих пор неясно как работает АГ.

Две модели:

**1. «Везикулы – челноки»**

Цистерны неподвижны, обмен веществами – везикулами.

**2. «Корабли на параде»**

Цистерны передвигаются от *цис*- к *транс*- полюсу АГ, везикулы обеспечивают обмен ферментами и ретроградный транспорт.



## Вакуоли – мультифункциональные органеллы

1. Цель «создания» вакуолей - «дешевый» способ увеличения клетки?

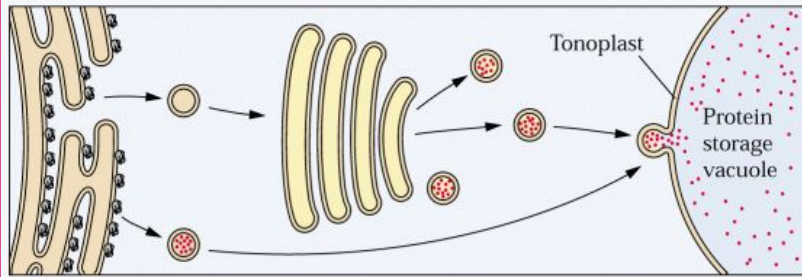
2. В клетке есть как минимум два типа вакуолей: запасные (с нейтральным рН) и литические (с кислым рН)

3. Функции вакуолей:

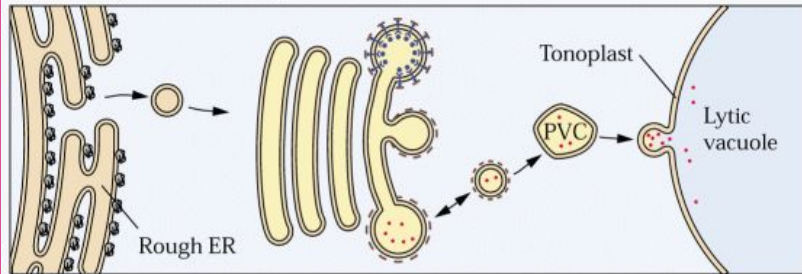
- **Хранение** (ионы, сахара, полисахариды, пигменты, аминокислоты, белки, вторичные метаболиты)
- **Лизис веществ** (в литических вакуолях - кислые гидролазы: протеазы, нуклеазы, гликозидазы, липазы)
- **Защита от патогенов и травоядных** (токсичные вещества – цианогенные гликозиды, кумарины и др., ферменты – хитиназы, глюканазы)
- **Пигментация** (водорастворимые пигменты – антоцианы, беталаины)
- **Изолирование и детоксикация токсичных веществ** (наличие белков-переносчиков из семейства ABC-транспортеров)
- **Регулирование рН и ионный гомеостаз**
- **Регулирование тургорного давления**

# Транспорт белков в вакуоли: варианты и сигналы

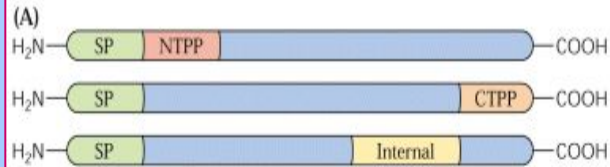
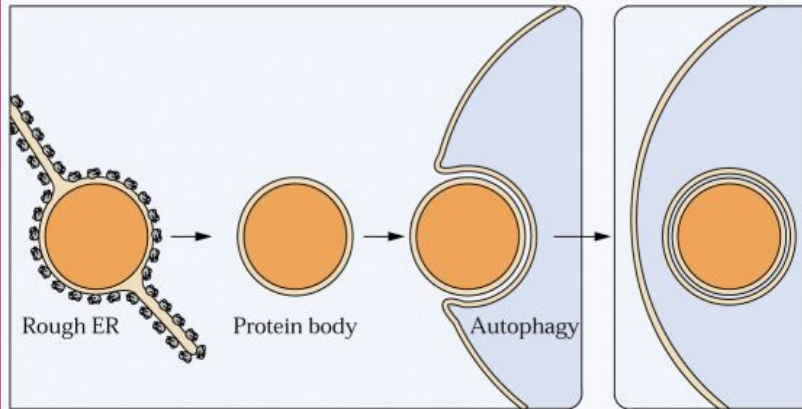
(A) Transport to PSV in dense vesicles



(B) Transport in CCV to lytic vacuoles



(C) Transport of prolamins by autophagy



(B) N-terminal propeptides (NTPP)

Sweet potato sporamin His Ser Arg Phe Asn Pro Ile Arg Leu Pro Thr Thr His Glu Pro Ala

Barley aleurain Ser Ser Ser Ser Phe Ala Asp Ser Asn Pro Ile Arg Pro Val Thr Asp Arg Ala Ala Ser Thr Leu Glu

C-terminal propeptides (CTPP)

Barley lectin Val Phe Ala Glu Ala Ile Ala Ala Asn Ser Thr Leu Val Ala Glu

Tobacco chitinase Asn Gly Leu Leu Val Asp Thr Met

Tobacco β-1,3-glucanase Val Ser Gly Gly Val Trp Asp Ser Ser Val Glu Thr Asn Ala Thr Ala Ser Leu Val Ser Glu Met

Tobacco AP24 Glu Ala His Pro Asn Phe Pro Leu Glu Met Pro Gly Ser Asp Glu Val Ala Lys

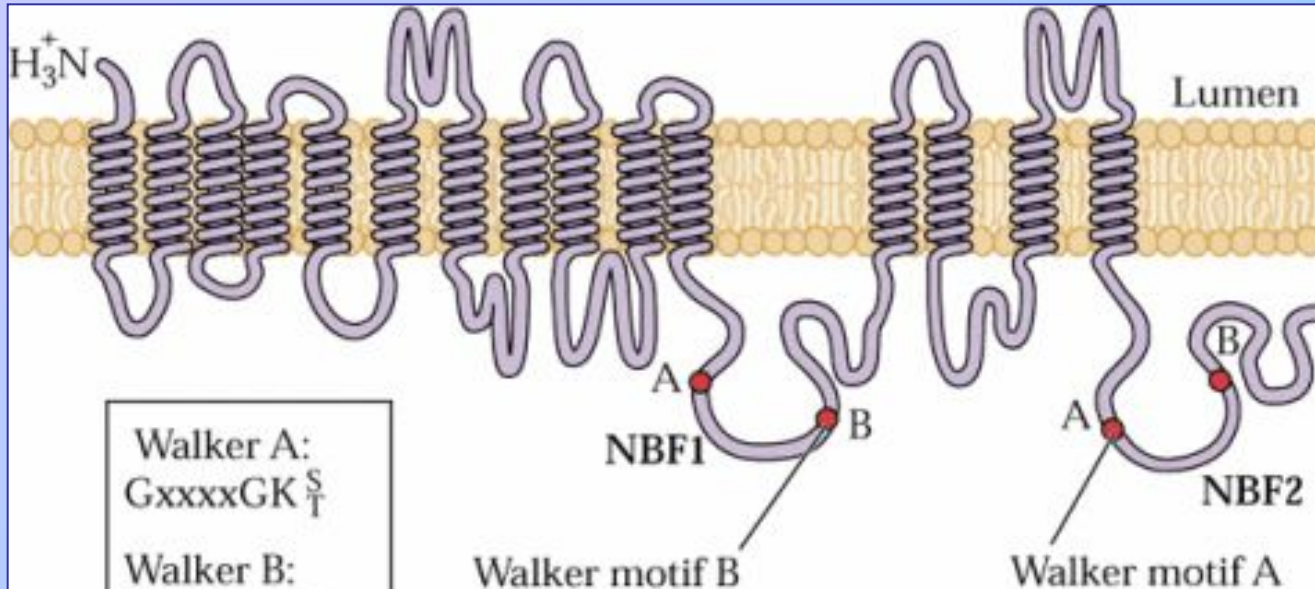
Вакуоли – единственные органеллы, формирующиеся *de novo*

PSV – запасаящая белки вакуоль

CCV – клатрин-покрытые везикулы

PVC – превакуолярный компартмент

## Транспорт веществ в вакуоли – АВС-транспортеры



Модель АВС-транспортера MRP2 у *Arabidopsis*.

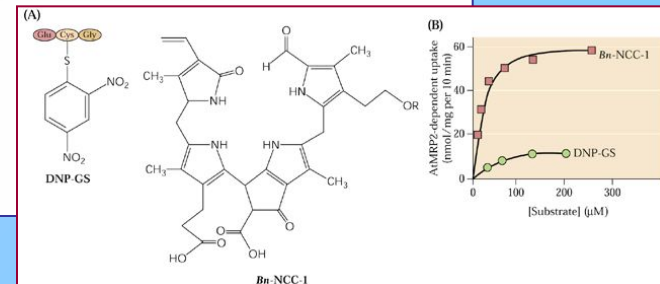
NBF – nucleotide-binding folds

Walker A:  
GxxxxGK<sub>S</sub>T

Walker B:  
R<sub>K</sub>xxxGxxxL  
followed by 3 hydrophobic residues

Walker motif B

Walker motif A



**АВС – АТФ-binding cassette, используют для транспорта АТФ, т.е. АТФ-зы..**

**Многие ксенобиотики транспортируются в вакуоль после гликозилирования.**

**Флавоноиды и ряд других соединений – в виде конъюгатов с глутатионом**

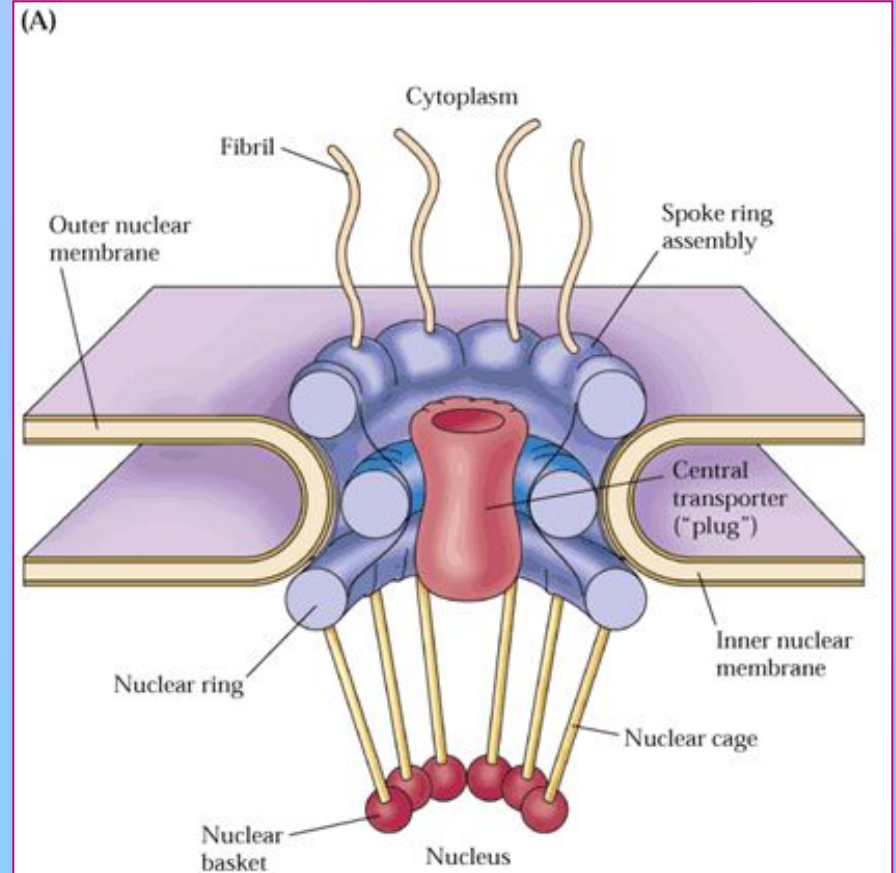
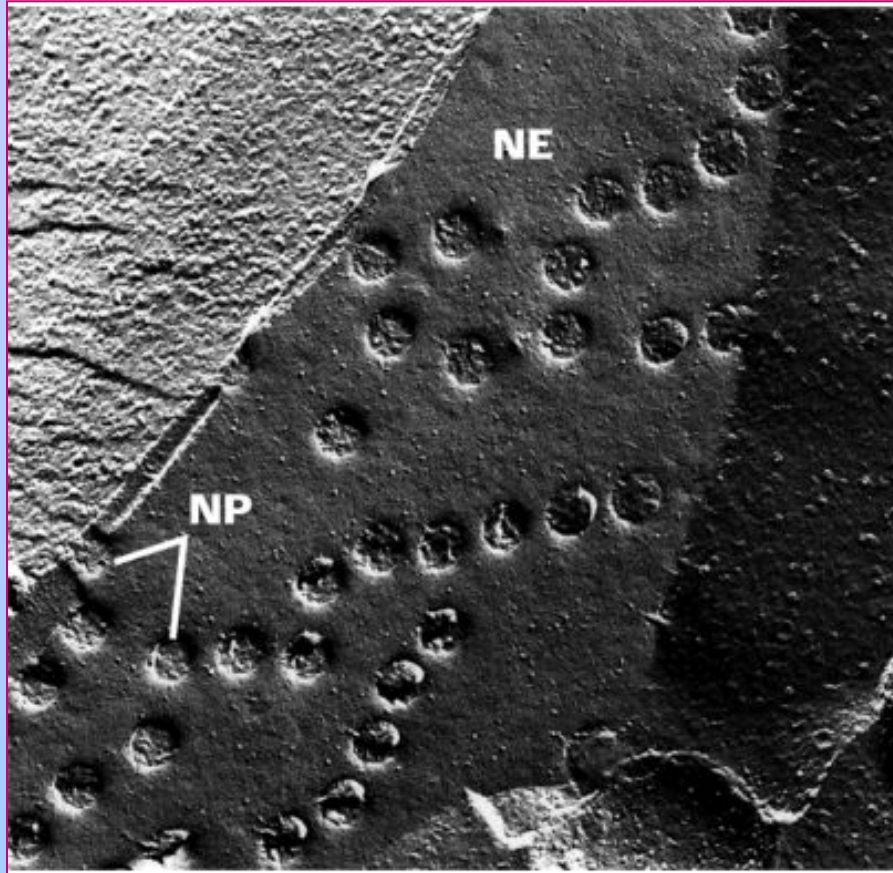
**Ряд соединений (например, линейные тетрапироллы после развала хлорофиллов) –**

**в «чистом» виде..**

**У *Arabidopsis* ряд изоформ АВС-транспортеров. MRP1 транспортирует только GS-конъюгаты, MRP2 - GS-конъюгаты и продукты катаболизма хлорофиллов.**

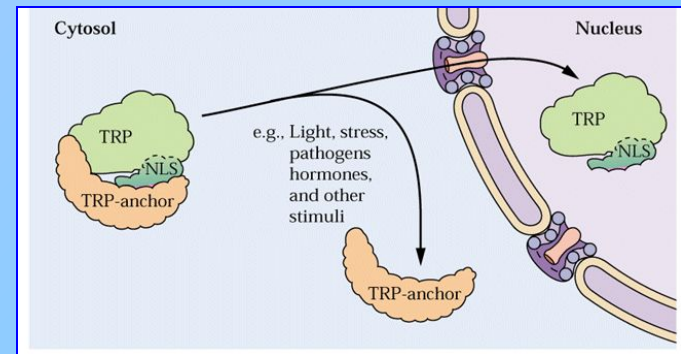
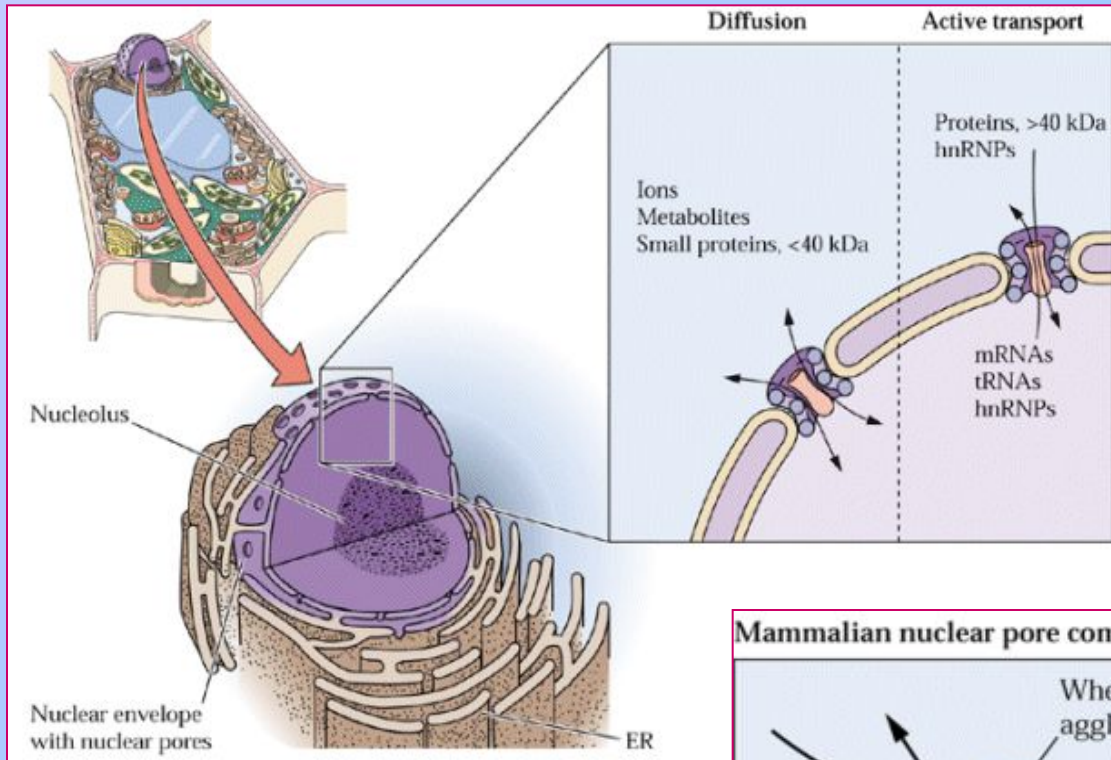


# Структура ядерных пор

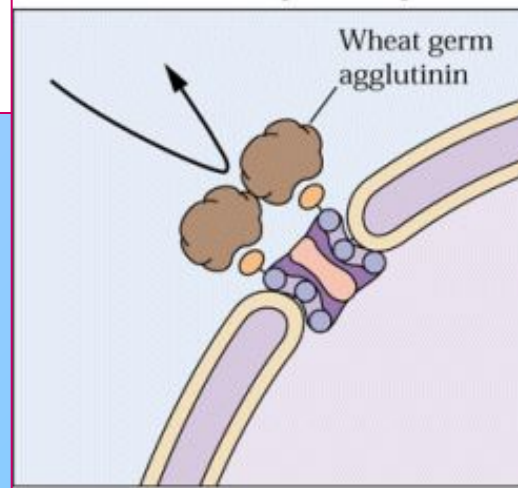




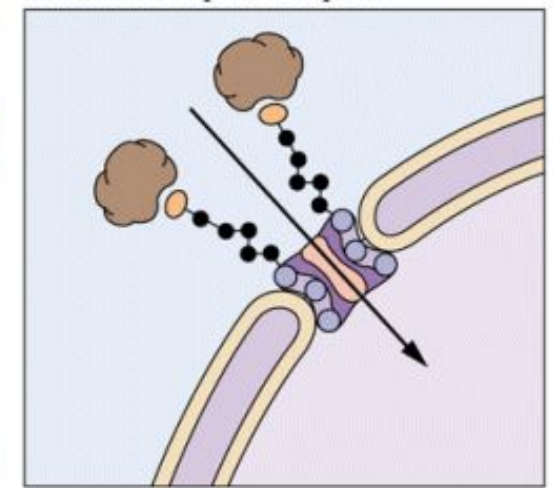
# Ядерные поры – пропускные фильтры.



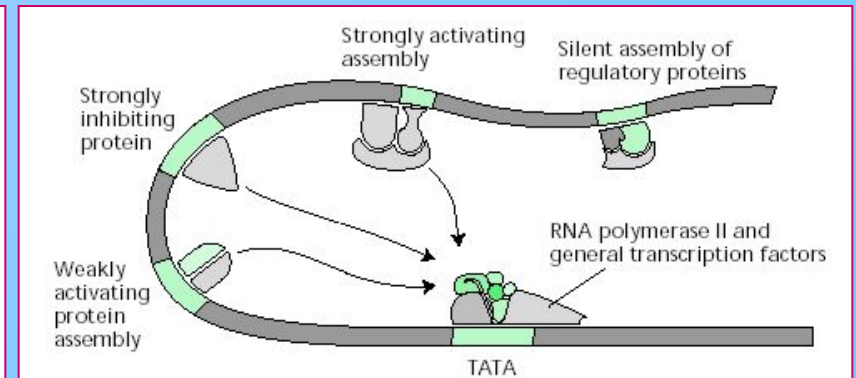
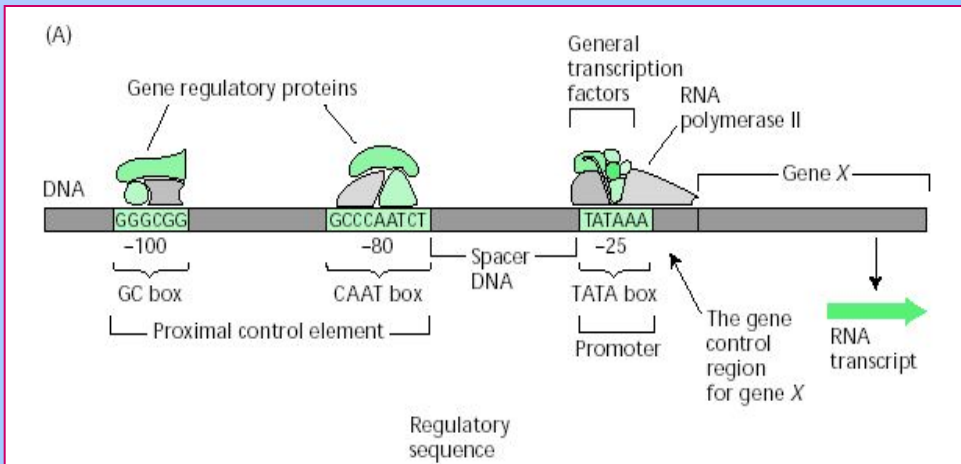
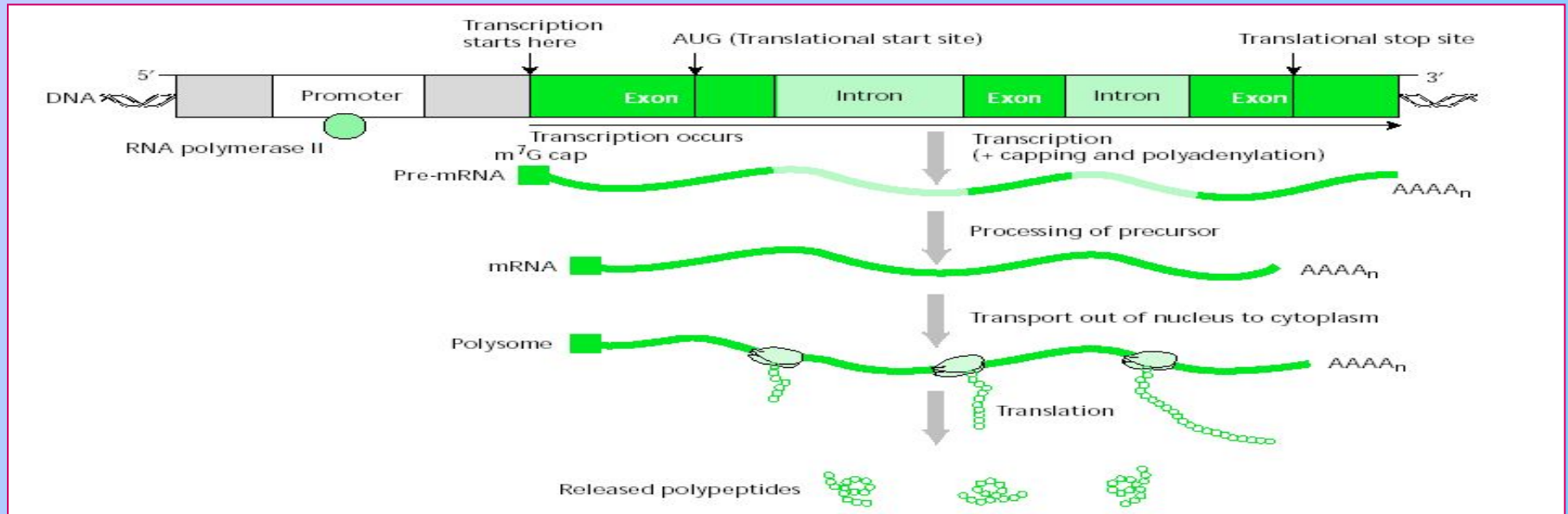
Mammalian nuclear pore complex



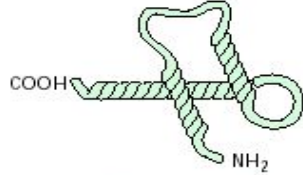
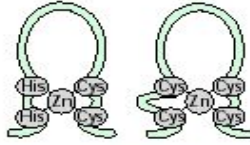
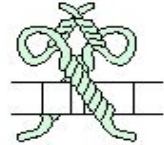
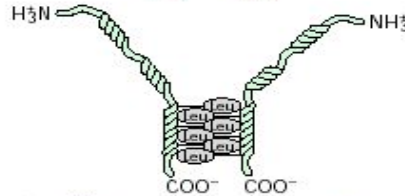
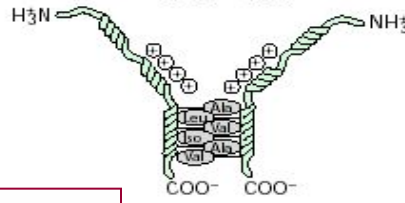
Plant nuclear pore complex

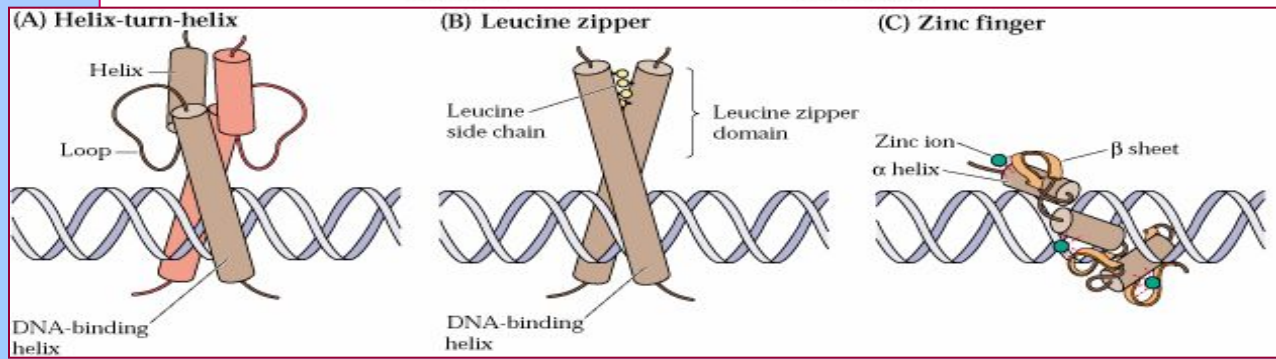


# Структура и регуляция работы эукариотического гена



# ДНК-связывающие мотивы факторов транскрипции (транс-факторов)

Name	Examples of proteins	Key structural features	Illustration
Helix-turn-helix	Transcription factors that regulate genes in anthocyanin biosynthesis pathway	Two $\alpha$ helices separated by a turn in the polypeptide chain; function as dimers	
Zinc finger	COP1 in <i>Arabidopsis</i>	Various structures in which zinc plays an important structural role; bind to DNA either as monomers or as dimers	
Helix-loop-helix	GT element-binding protein of phytochrome-regulated genes	A short $\alpha$ helix connected by a loop to a longer $\alpha$ helix; function as dimers	
Leucine zipper	Fos and Jun	An $\alpha$ helix of about 35 amino acids containing leucine at every seventh position; dimerization occurs along the hydrophobic surface	
Basic zipper (bZip)	Opaque 2 protein in maize, G box factors of phytochrome-regulated genes, transcription factors that bind ABA response elements	Variation of the leucine zipper motif in which other hydrophobic amino acids substitute for leucine and the DNA-binding domain contains amino acids	



## Факторы транскрипции растений (транс-факторы).

- **bZip (basic leucine zipper) – «лейциновая молния» (застежка).**

у растений узнают участок ДНК, содержащий ACGT, три варианта: Hex (CCACGTCA), G (CCACGTGG) или as1 (TGACGTAA) часто работают в виде димеров, в том числе гетеродимеров

- **HD - гомеодомен-содержащие белки**

у растений узнают участок ДНК, содержащий TCCT или GATC

- **MADS-белки (белки, содержащие MADS-бокс)**

у растений узнают участок ДНК, содержащий 10-нуклеотидный фрагмент CC(A/T)<sub>6</sub>GG. Работают в виде гомо- или гетеродимеров

- **HD-Zip (у арабидопсиса, морковки)**

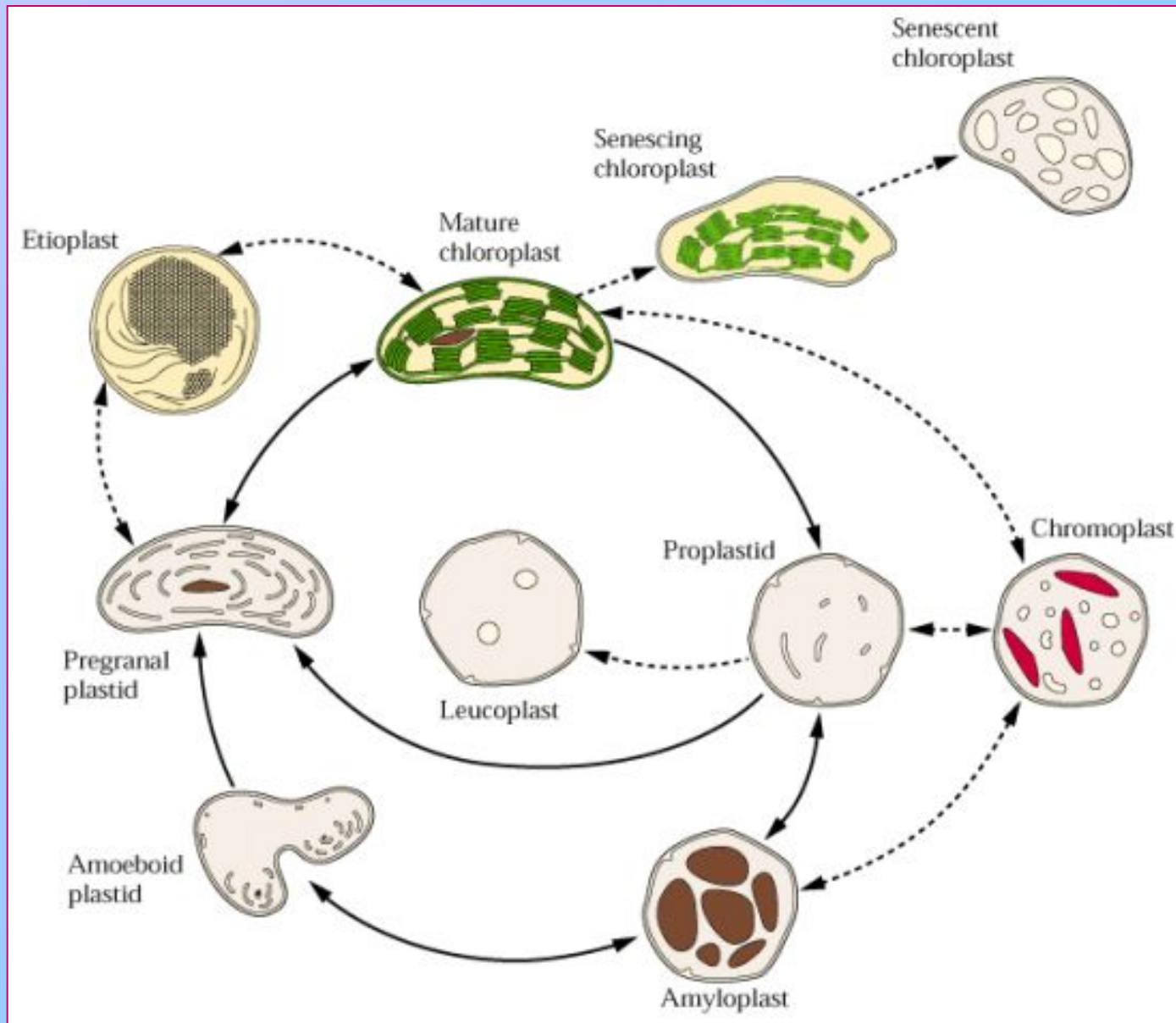
у растений узнают участок ДНК, содержащий 9 нуклеотидов  
CAAT(A/T)ATTG  
(G/C)



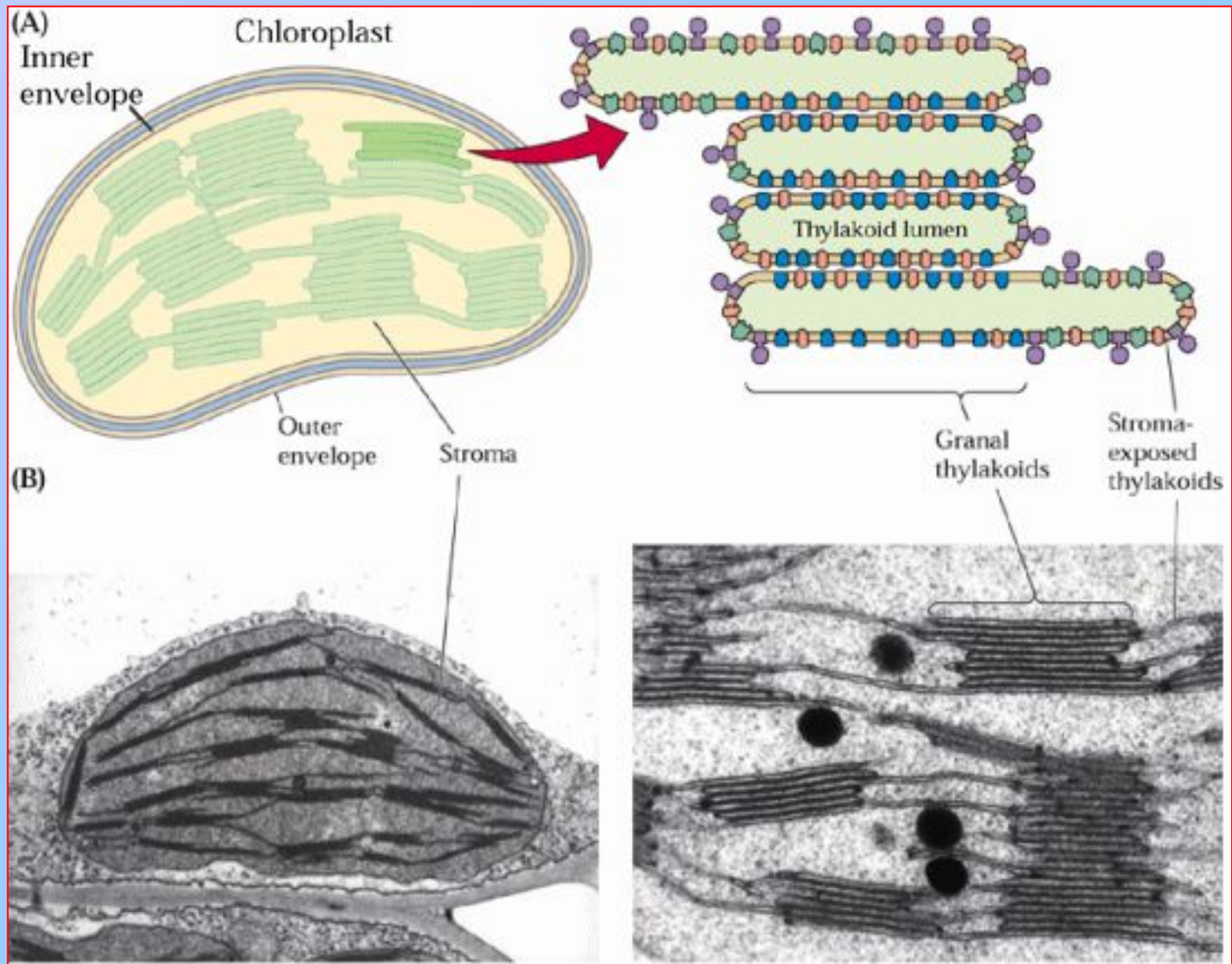
## Некоторые особенности ядерного генома растений

- **Размер:** от  $\sim 10^8$  тпн (*Arabidopsis*) до  $10^{10}$  (бобы) –  $10^{11}$  (*Fritillaria*) тпн
- **Большое количество повторов** – до 70% (горох).  
Низко- и средние – до 1000 копий, высоко- до 1 000 000 копий
- **Теломерная ДНК** (для растений: повторы TTTTAGGG) **есть не всегда**
- **Большое количество генов с высокой гомологией бактериальным** (до 50% по аминокислотному составу белка)
- **Более высокий уровень метилирования** (30% цитозинов генома пшеницы, у животных – не более 7%). Другая схема метилирования – не только CpG, но и CpXpG, возможно метилирование по A.
- **Измененные сигналы полиаденилирования** (часто их два – FUE: UUGUA, -80-190 нукл. от места поли-A, NUE: AAUAAA, - 40 н.
- **Codon usage:** разная эффективность использования разных триплетов  
Однодольные «предпочитают» ХХС/G, часто - ХСG и редко – ХТА (в сравнении с двудольными видами).
- **Два типа транспозонов:** ретротранспозоны (вероятно, остатки ретровирусов) и ДНК- транспозоны, преимущественно у с/х растений

# Взаимопревращения пластид контролируются ядерным геномом

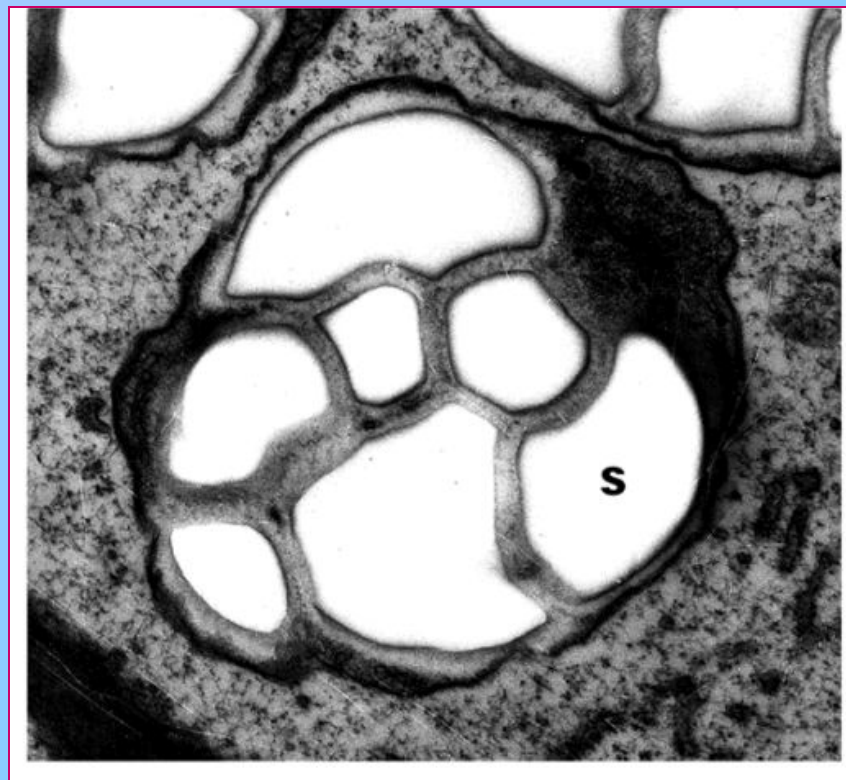
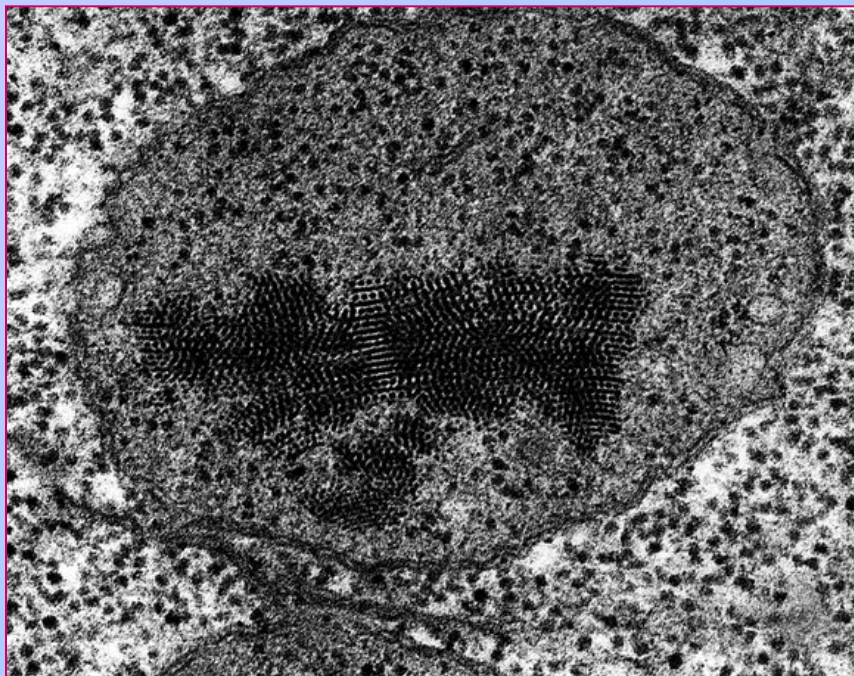


# Хлоропласт – «главный» представитель пластид



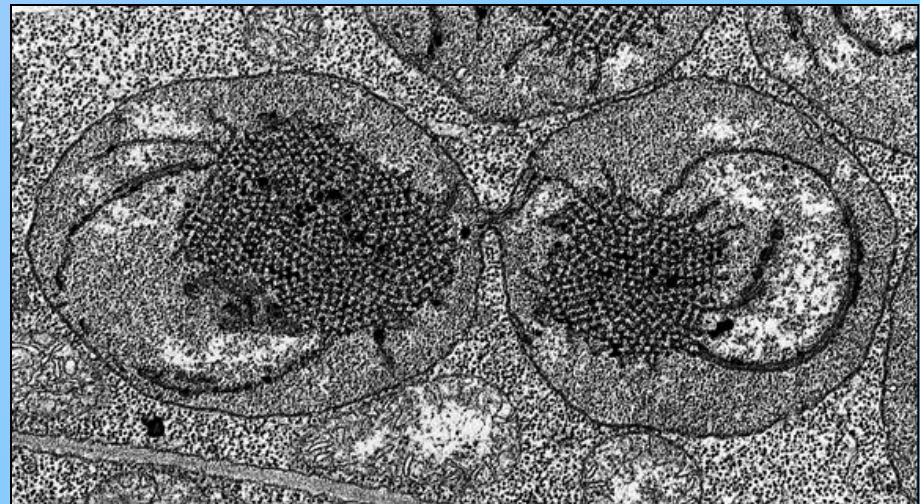
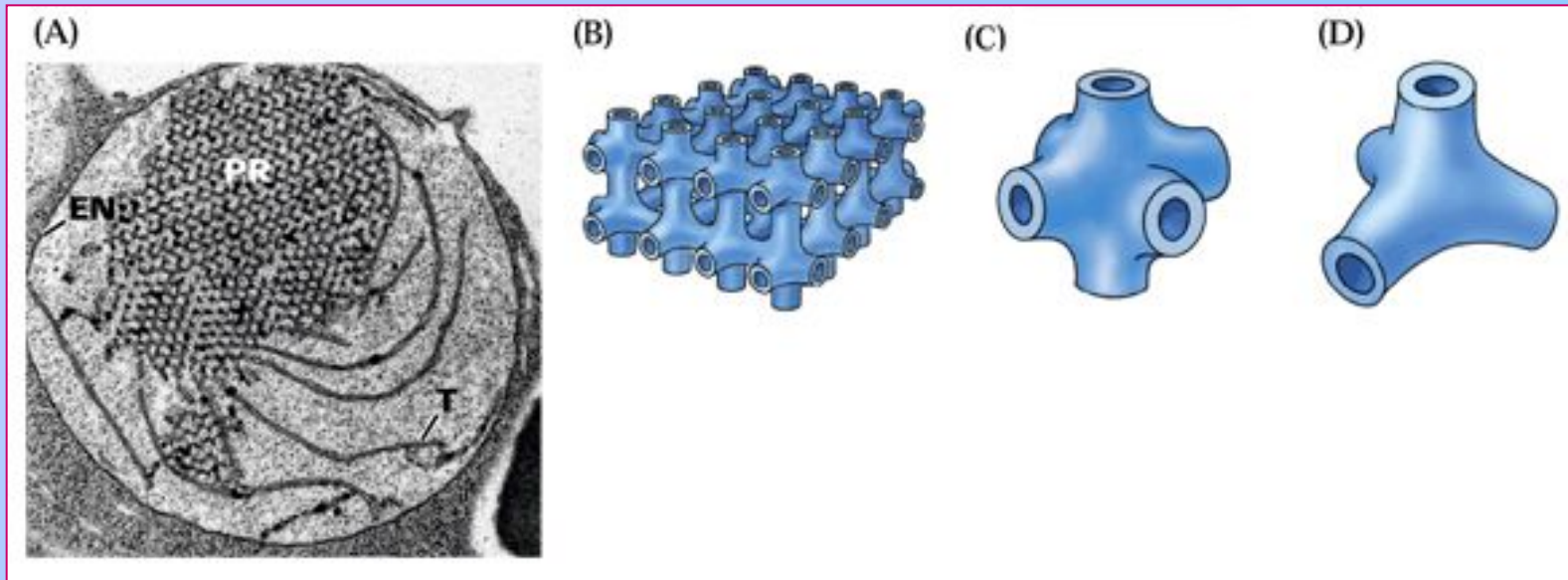


# Фитоферритин в пропластидах мезофилла сои, амилопласт

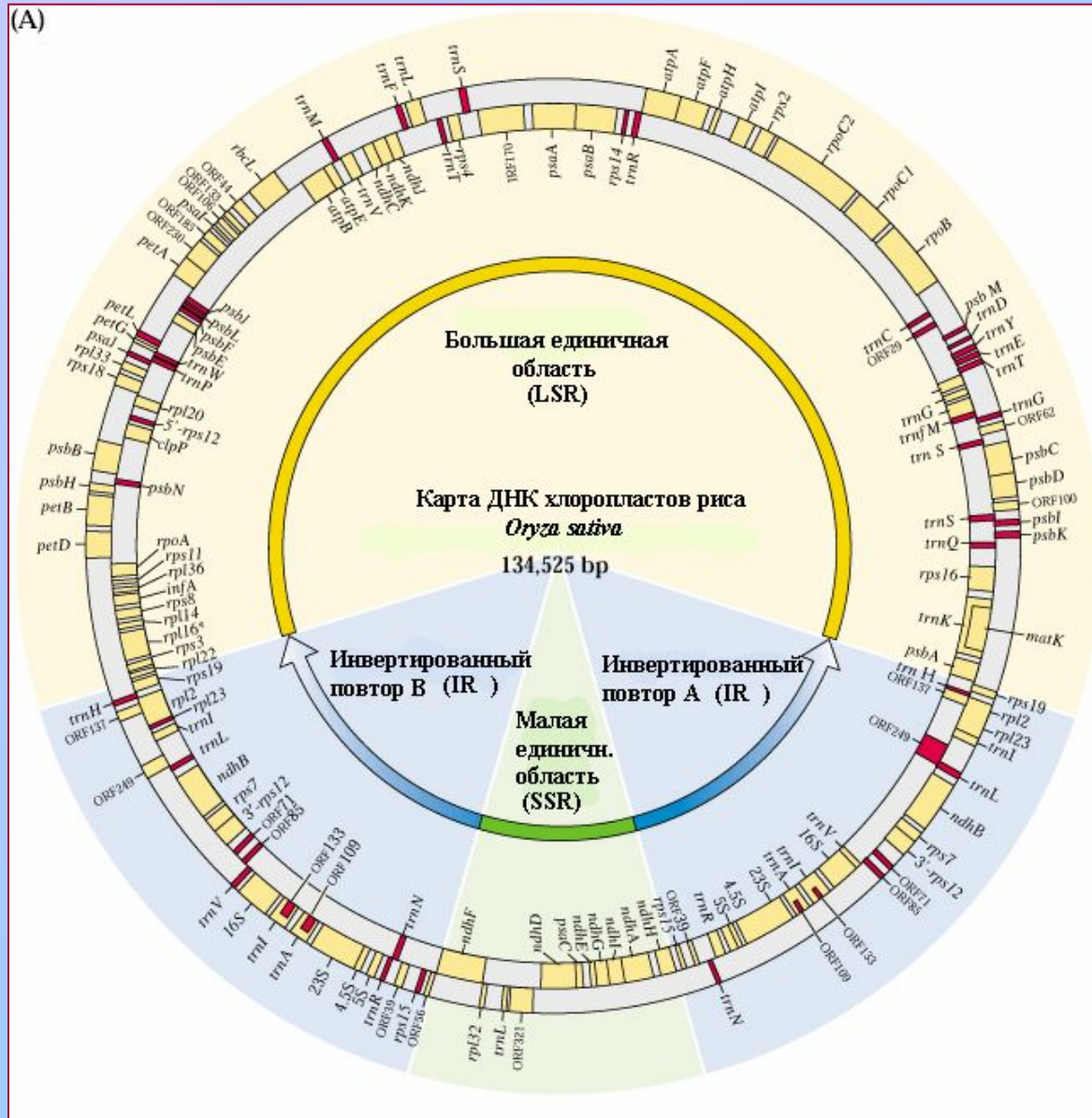




# Этиопласт: структура проламеллярного тела, формирование хлоропласта



# Структура хлоропластного генома риса.



Два типа генома:

- с двумя IR размером (обычно около 20 kb).

Почти все покрытосеменные

- без IR.

Многие голосеменные, горох, бобы.

Вариации размера:

от 89 kb – сифоновая зеленая водоросль *Codium fragile*

до 400 kb - *Acetabularia*

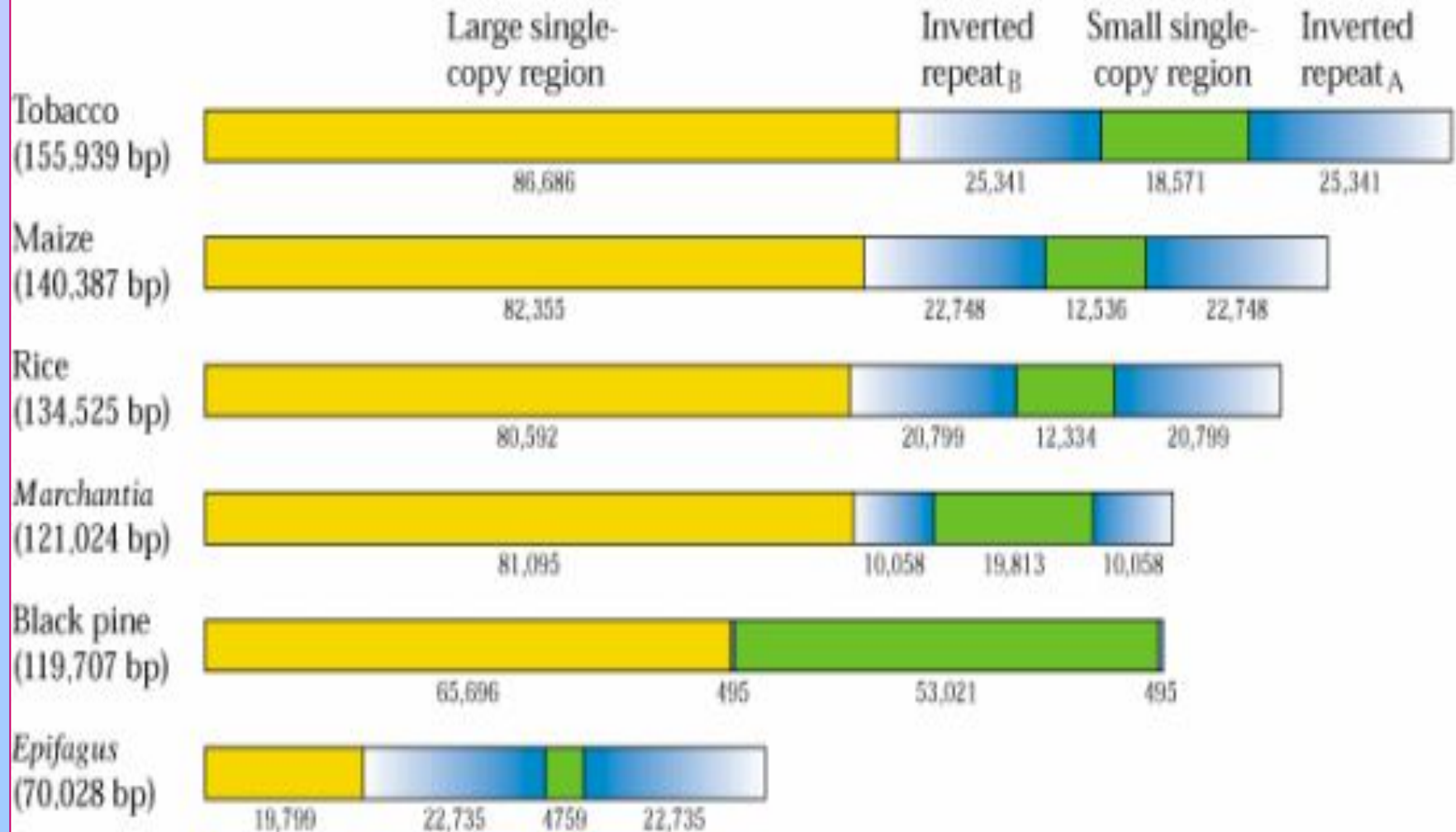
Обычно – 120 – 160 kb

Размеры IR – от 0,5 до 76 kb



# Структура хлоропластного генома разных видов растений

(B)



## **Сходства и отличия хлоропластного генома и белоксинтезирующей системы от бактериальных**

### **Сходства:**

- Кольцевая ДНК
- Содержание G/C аналогично бактериальному (36-40%)
- ДНК не связана с гистонами
- Прокариотический мотив в промоторах генов
- Полицистронное считывание мРНК
- 70S рибосомы
- Синтез белка начинается с N-формилметионина
- Синтез белка ингибируется хлорамфениколом

### **Различия**

- Наличие интронов, сплайсинга, в том числе транс-сплайсинга
- Метилирование ДНК
- Редактирование мРНК



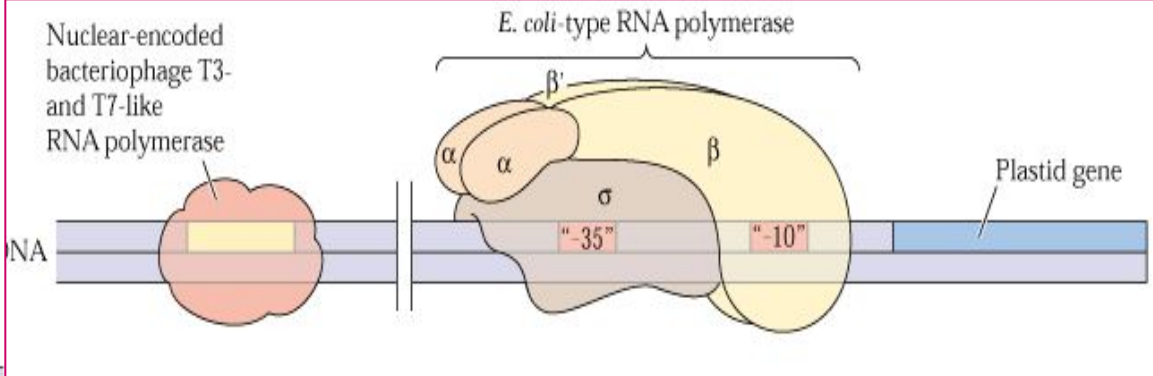
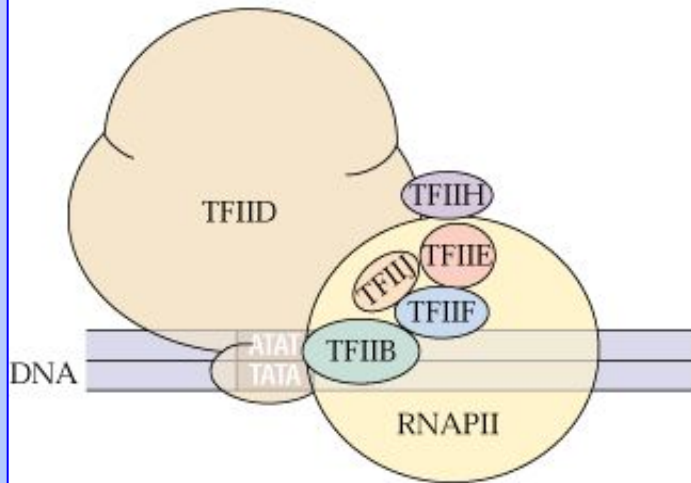
## Гены хлоропластов

- 1. Транскрипция.** 4 гена субъединиц пластидной РНК-полимеразы (*rpo*)
- 2. Синтез белка.** - 4 гена рРНК (оперон *rrn*)
  - около 20 генов белков пластидных рибосом (*rpl/rps*)
  - около 30 генов тРНК (*trn*)
- 3. Фотосинтез.** - 6 генов белков фотосистемы I (*psa*)
  - 14 генов белков фотосистемы II (*psb*)
  - 6 генов ЭТЦ фотосинтеза (*pet*)
  - 6 генов пластидной АТФ-зы (*atp*)
  - ген большой субъединицы Рубиско (*rbcL*)
- 4. Около 20 генов с другими функциями**
  - гены пластидной НАД Н-дегидрогеназа,
  - гены биосинтеза жирных кислот и др.

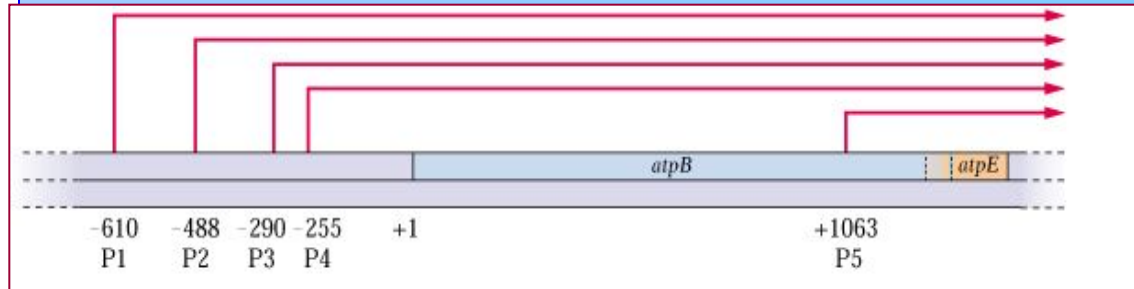
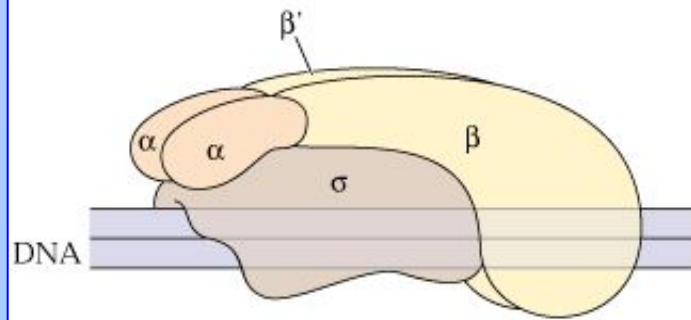
**Всего: 110 - 120 генов, из них около 40 – «рабочих»  
и около 60 – «домашнего хозяйства».**

# Эукариотическая, бактериальная и пластидные РНК-полимеразы, множественность промоторов хлоропластных генов

Eukaryotic RNA polymerase

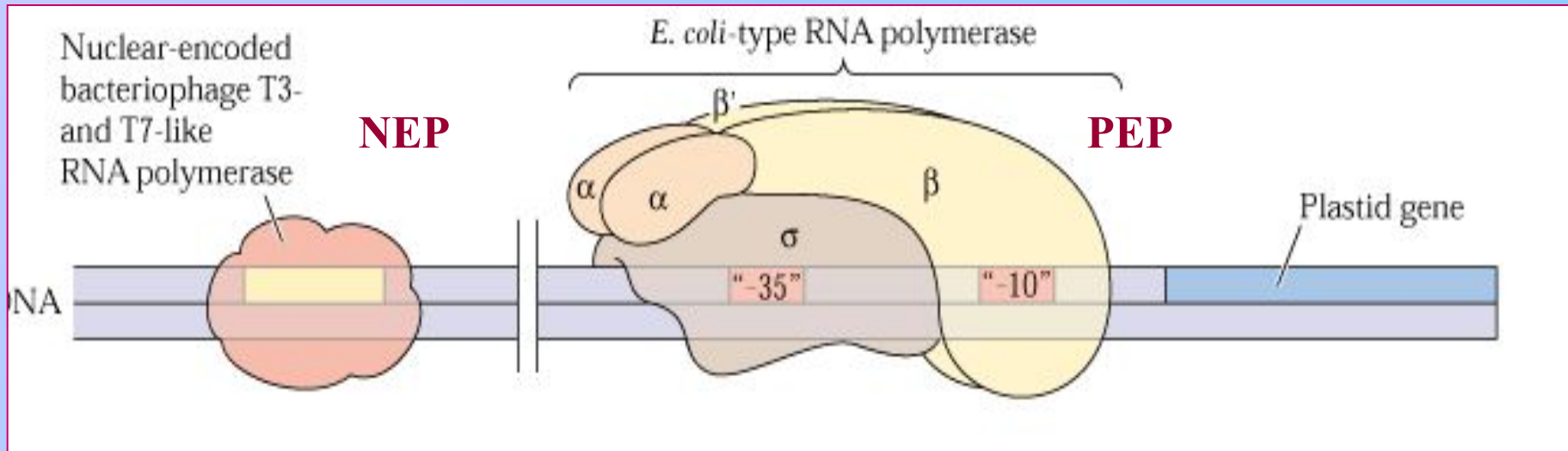


*E. coli* RNA polymerase



1. Гены со стандартными эубактериальными промоторами (почти все «рабочие» гены). Собственная РНК-полимераза пластид
2. Гены с неканоническими промоторами (гены РНК-полимеразы пластид). РНК-полимераза фагового типа, кодируемая в ядре.
3. Гены с универсальными промоторами (гены «домашнего хозяйства»). Обе РНК-полимеразы

**PEP** – кодируемая в пластидном геноме и **NEP** – кодируемая в ядре  
**РНК-полимеразы,**



**PEP:** α и β- субъединицы кодируются в пластидном геноме.  
σ – фактор и TF – факторы кодируются в ядре (всего 6 генов)

**NEP:** один полипептид, ~ 110 kDa. 3 типа NEP кодируются в ядре:

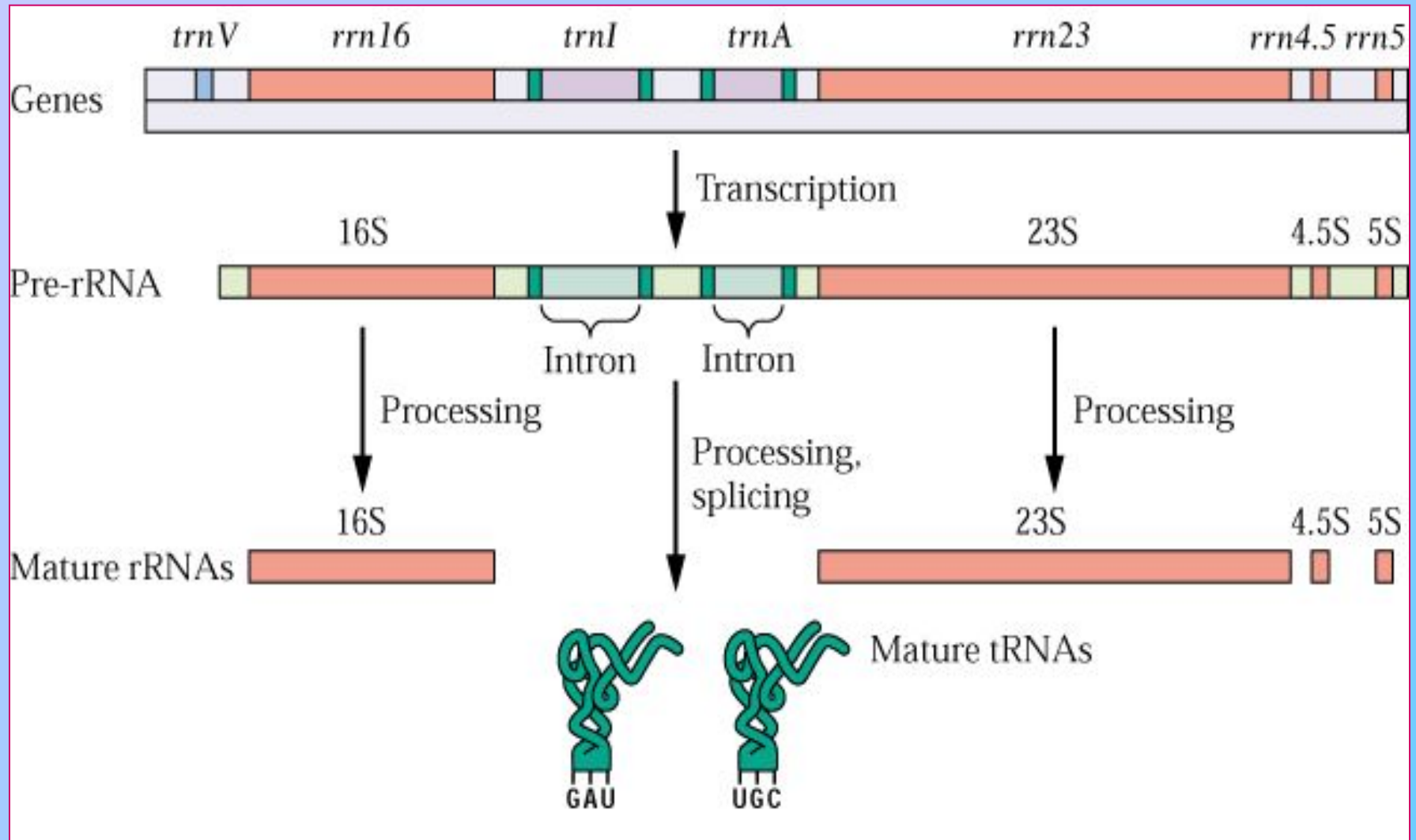
- RpoTr – транспорт в пластиды. Активируется светом.
- RpoTm – транспорт в митохондриии
- RpoTmr – транспорт в обе органеллы. У однодольных, похоже, RpoTmr нет.

Активность в разных органах растения различна.

Например, RpoTm – в меристемах активна, RpoTr – нет.

В цветке RpoTr активна везде, кроме рыльца, где активна RpoTm

## Процессинг хлоропластной пре-рРНК растений

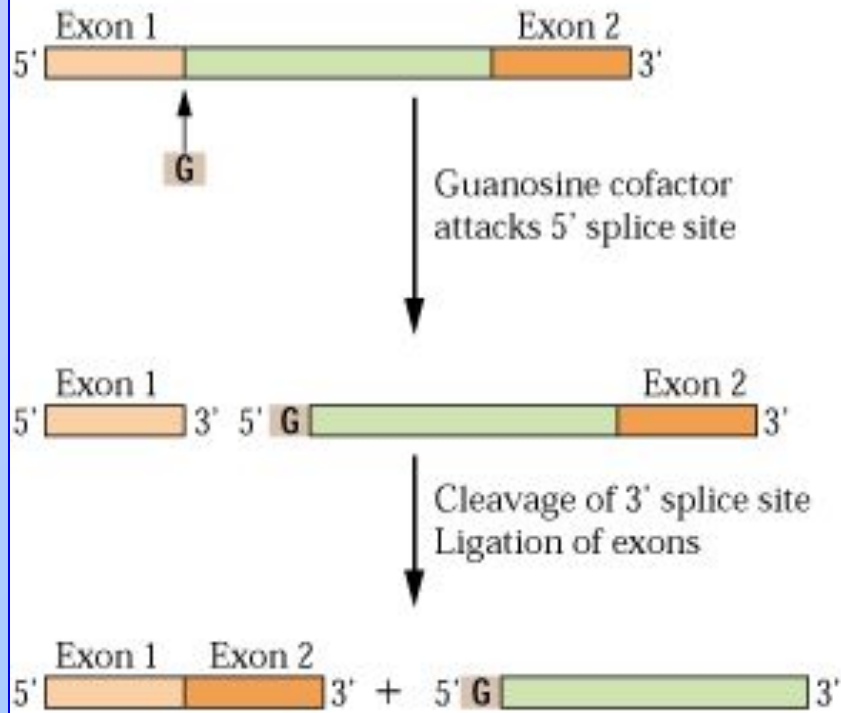


Кстати, такой же порядок генов (*rrn16–trnI–trnA–rrn23*) характерен и для цианобактерий

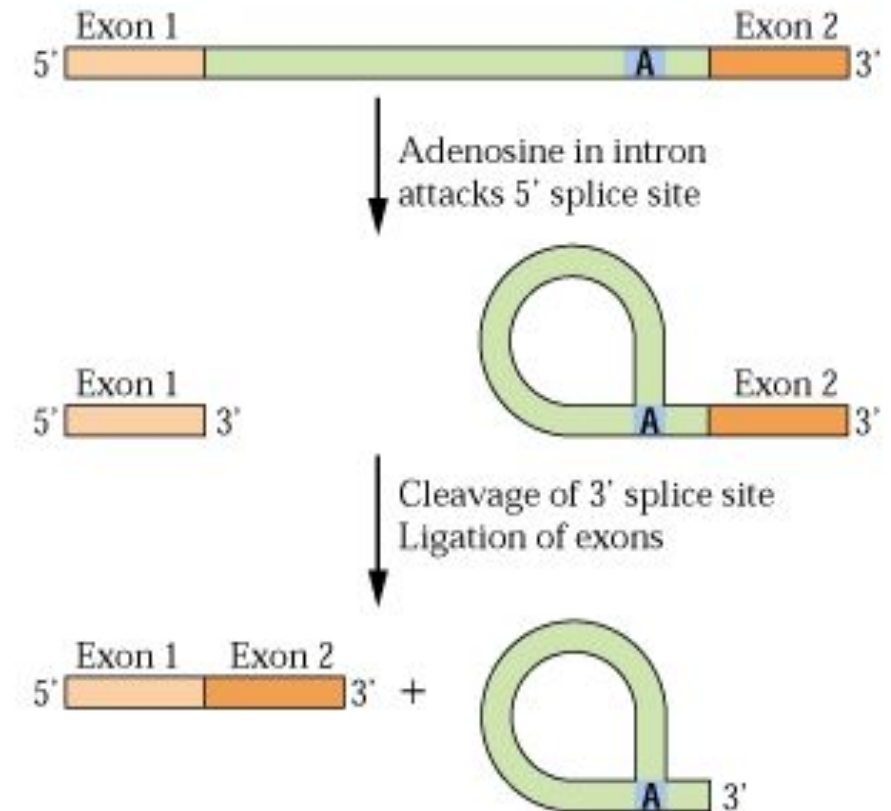


# Автосплайсинг хлоропластных РНК с интронами двух типов

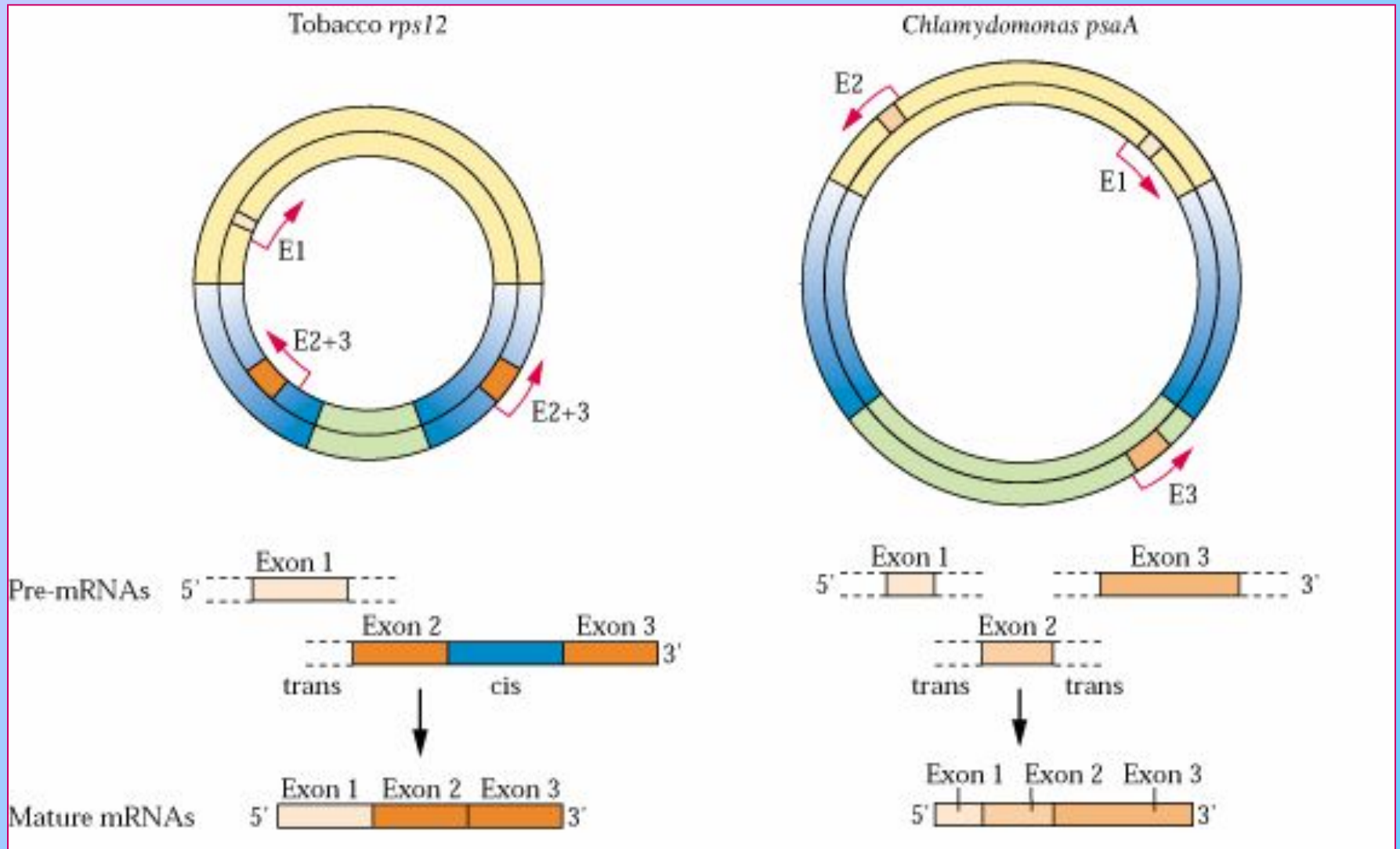
(A) Group I



(B) Group II



# Для генов хлоропластных РНК возможен даже транс-сплайсинг...



## Структуры зрелой пластидной и ядерной иРНК.

Полиаденилирование выполняет для них функции с точностью до обратного...



Для стабильности пластидной РНК необходима «шпилька» на 3'-конце и постоянная «работа» (связывание с рибосомами с 5'-конца). Это защищает 3' и 5'-конец РНК от рибонуклеаз.. В то же время, 3'-шпилька в определенных условиях (например, в темноте) может служить сигналом для атаки рибонуклеаз. Таким же сигналом может служить и полиаденилирование 3'-конца пластидной РНК....

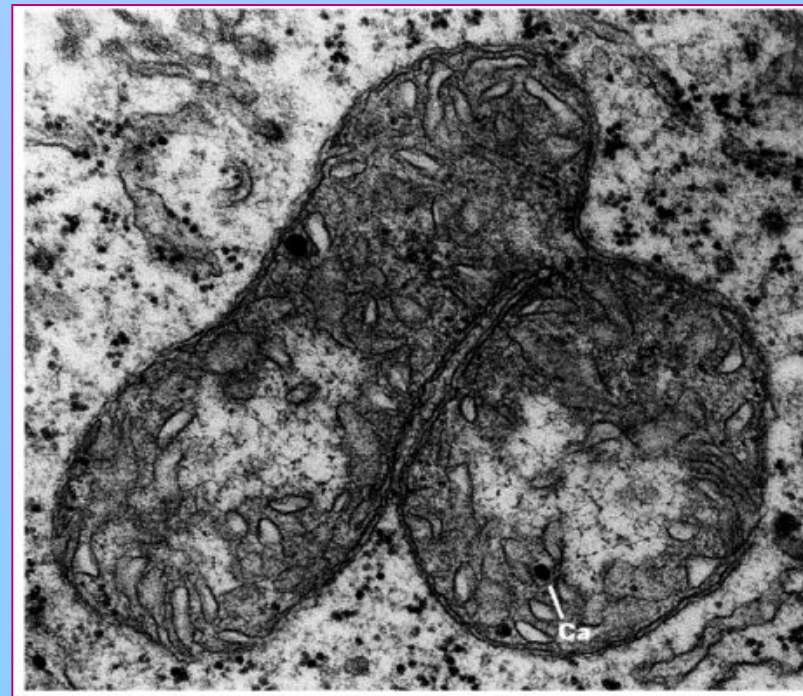
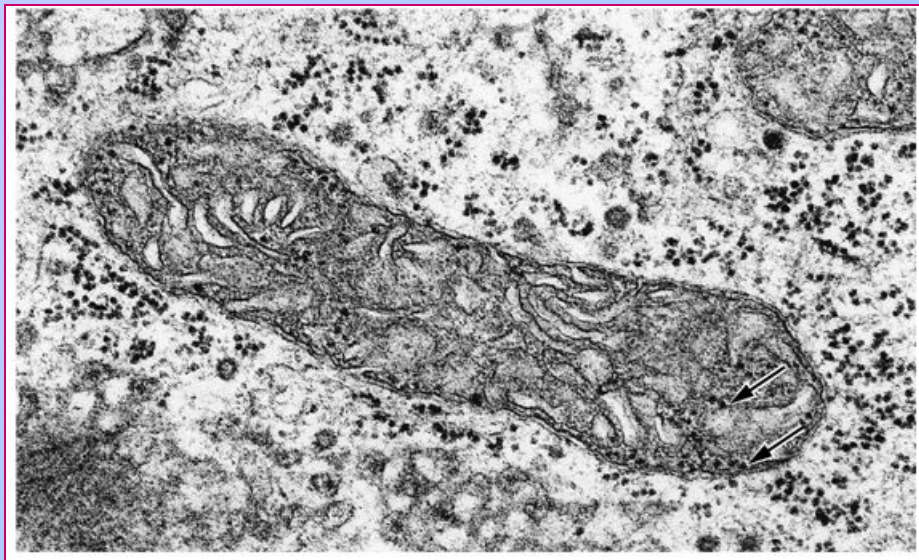
## Функции пластид

- **Фотосинтез – NB**
- **Синтез:** все жирные кислоты, многие аминокислоты, синтез пуринов и пиримидинов, альтернативный путь синтеза изопреноидов (в том числе в спецпластидах – лейкопластах), шикиматный путь (параллельно цитозолю)
- **Восстановление** нитритов, сульфатов
- **Запас** (крахмал) – временный (хлоропласты), долгосрочный (амилопласты)
- **Экологические** – окраска плодов, цветков (хромопласты – каротиноиды).

**Пластиды – «фабрика горячих и вредных производств»  
растительной клетки**

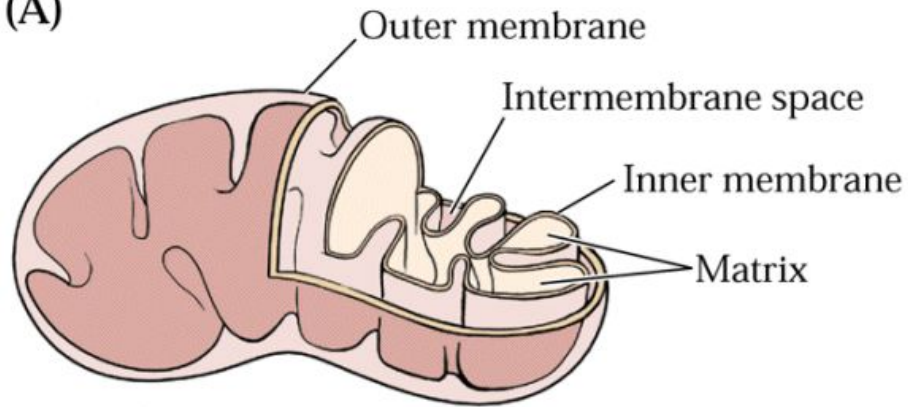


## Растительные митохондрии имеют разнообразный размер и форму



# Строение митохондрии и пресиквенс для транспорта белков

(A)

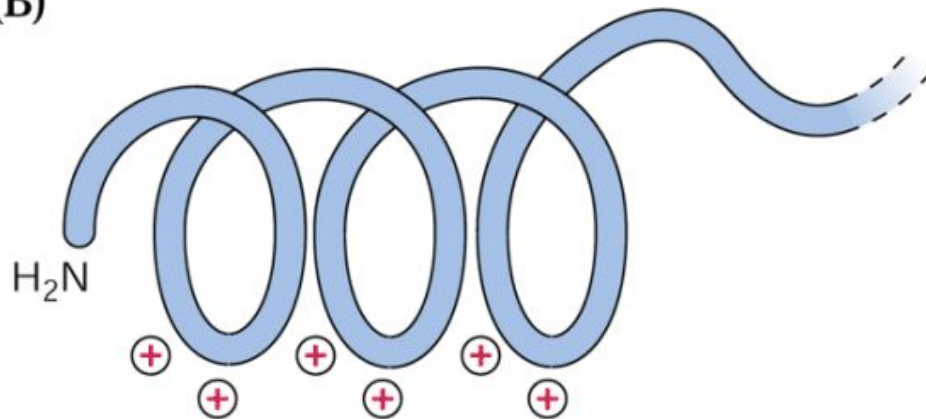


**В. Пресиквенс – положительно заряженная амфипатическая  $\alpha$ -спираль.**

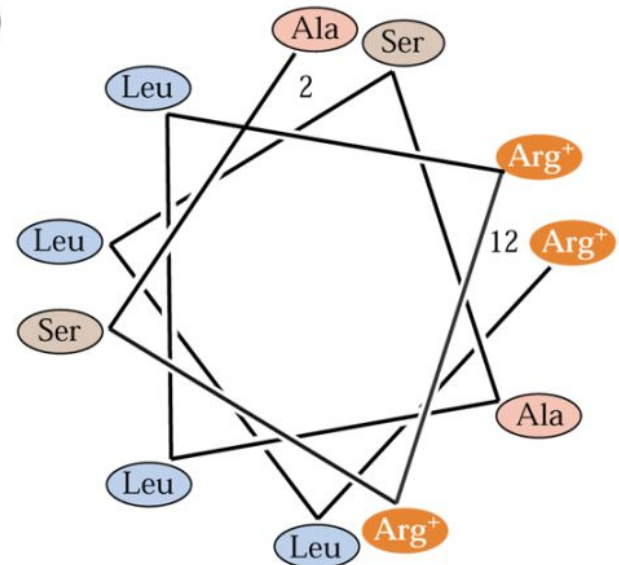
**С. 12 аминокислот, формирующие пресиквенс ( $\alpha$ -спираль) у  $\beta$ -субъединицы АТФ-зы табака. Вид «с торца»**

Гидрофобные аминокислоты (Ala, Leu) расположены с одной стороны спирали, тогда как заряженные аминокислоты (Arg) – с другой.

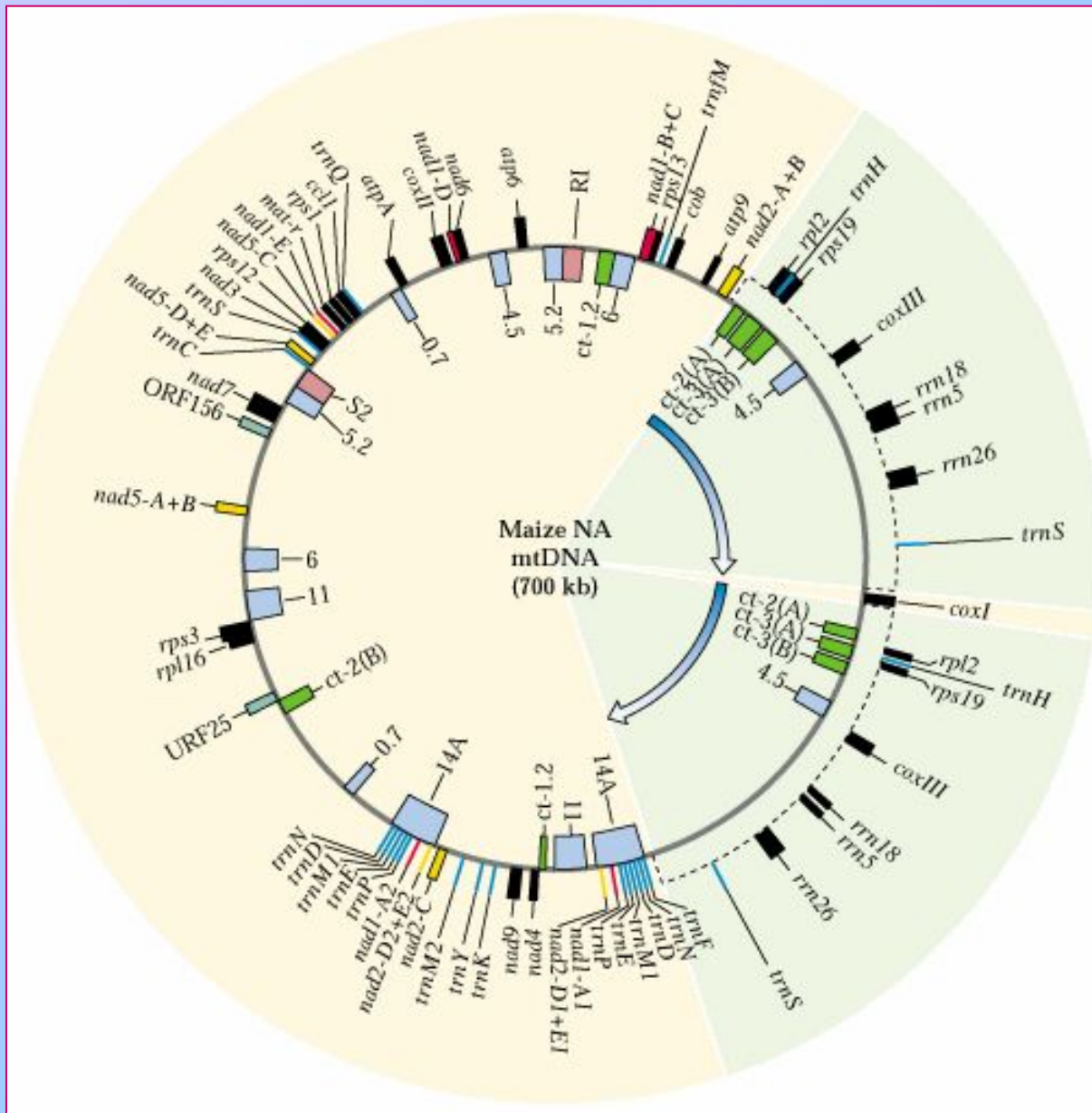
(B)



(C)



## Предполагаемая структура «мастер-хромосомы» митохондрий кукурузы



Митохондриальный геном растений имеет самый большой размер среди всех эукариотических клеток, но состоит в основном из неработающей ДНК.

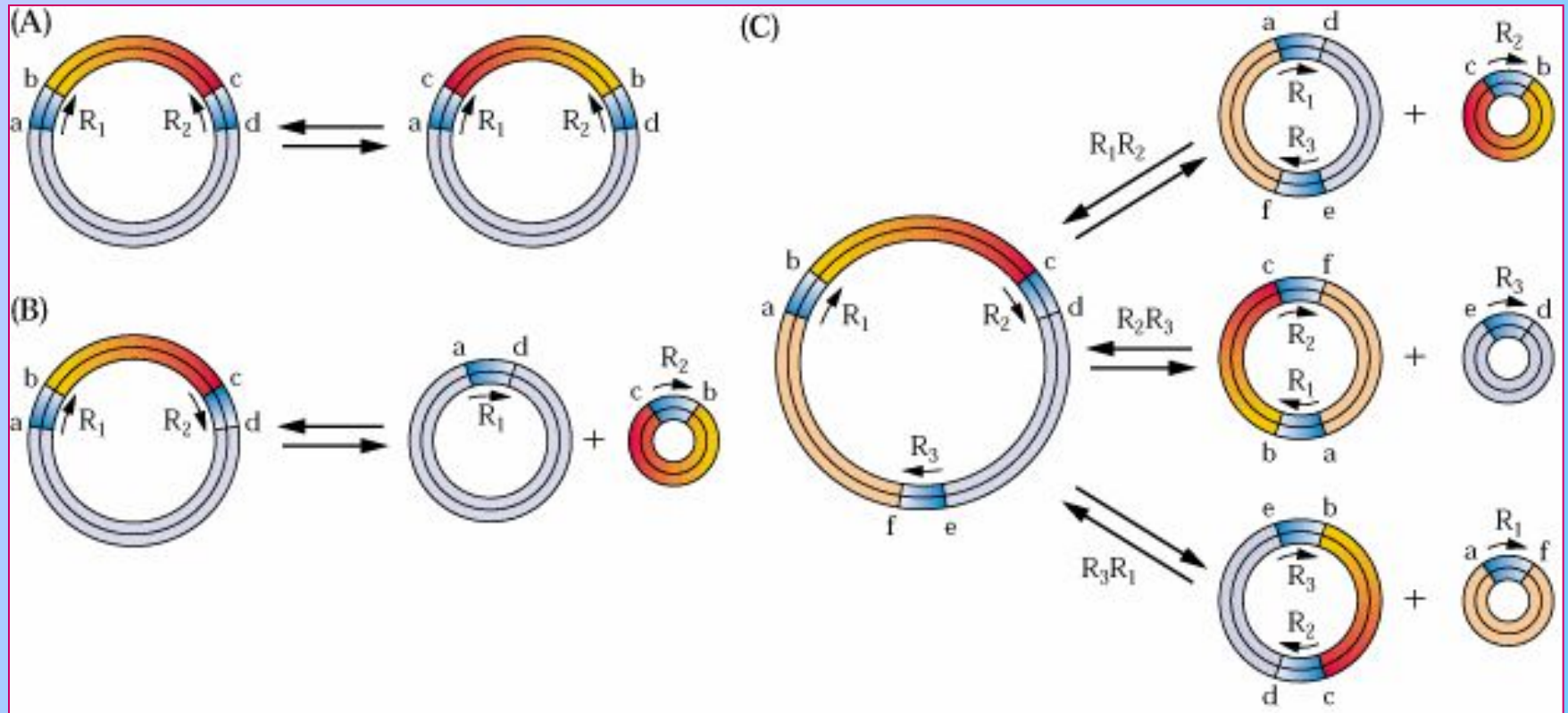
**Размер от 200 kb (*Oenothera*) до 2600 kb (*Cucumis melo*)**

Структура тоже весьма специфична – набор кольцевых и линейных плазмид разного размера.

**Почему?**

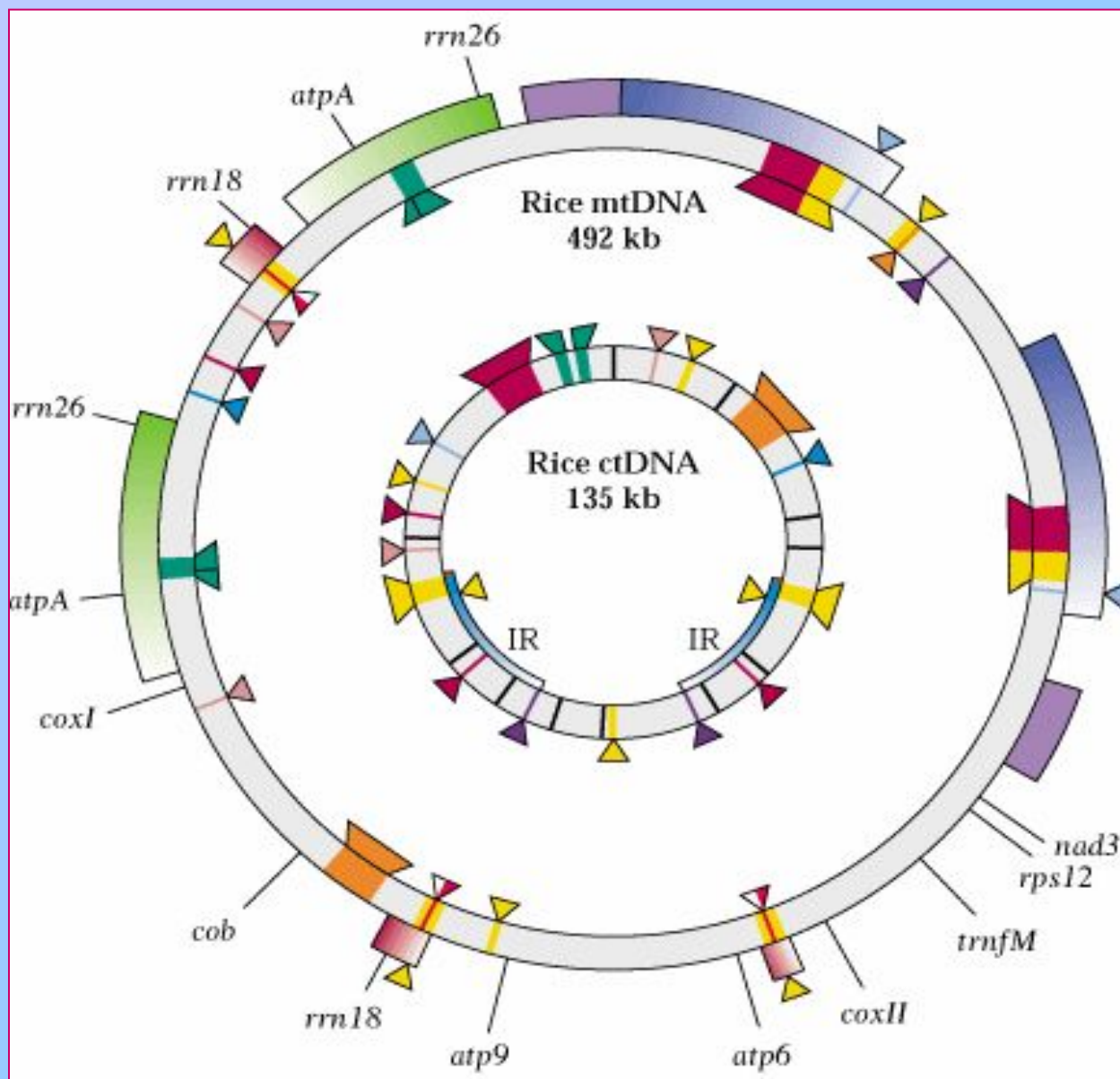


**Множество кольцевых молекул митохондриальной ДНК растений – результат гомологичных рекомбинаций по повторам.**





## Сопоставление хлоропластного и митохондриального геномов риса.



## Гены митохондрий

### 1. Синтез белка. - 3 гена рРНК (оперон *rrn*)

- 10 генов белков пластидных рибосом (*rpl/rps*)
- 16 генов тРНК (*trn*) – **не хватает! – импорт!**

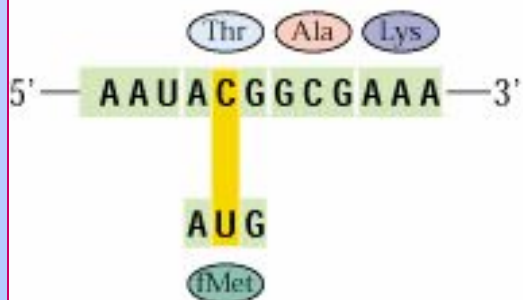
### 2. Дыхание - 9 генов белков НАД Н дегидрогеназы (*nad*)

- ген апоцитохрома b (*cob*);
- 5 генов белков биосинтеза цитохрома c (*ccb*)
- 3 гена субъединиц цитохромоксидазы (гены *cox*).
- 3 гена субъединиц сукцинатдегидрогеназы (*sdh*)  
у печеночников
- 4 гена АТФ-синтазы (*atp*)

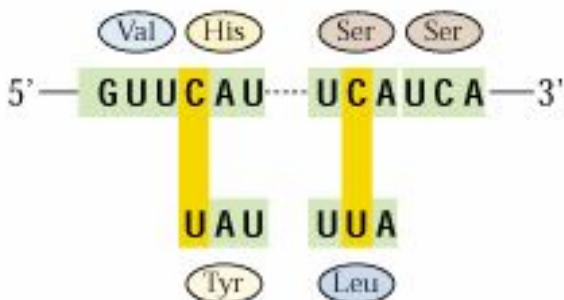
**Всего: около 50 генов (у печеночных мхов – более 100) ,  
из них около 20 - «рабочих» и около 30 - «домашнего хозяйства».**

# Варианты редактирования хлоропластных и митохондриальных РНК растений

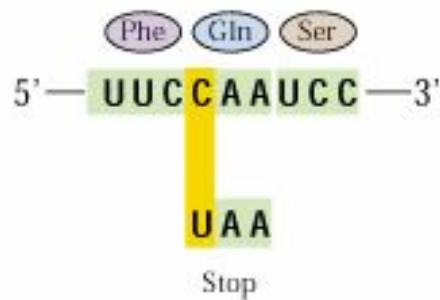
(A) Creation of initiation codon



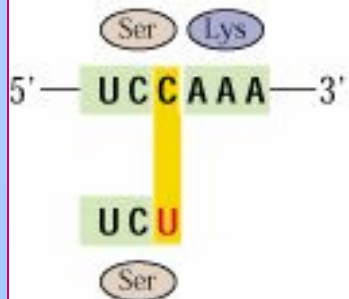
(B) Amino acid changes



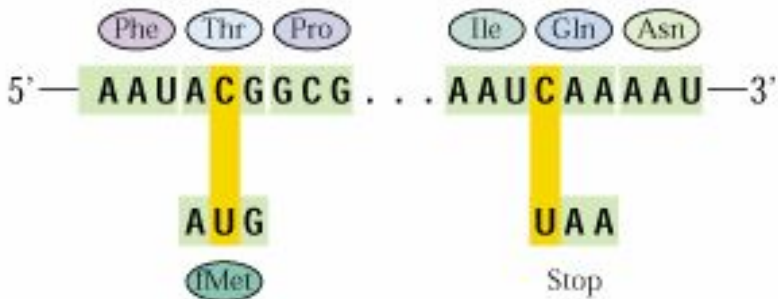
(C) Creation of a stop codon



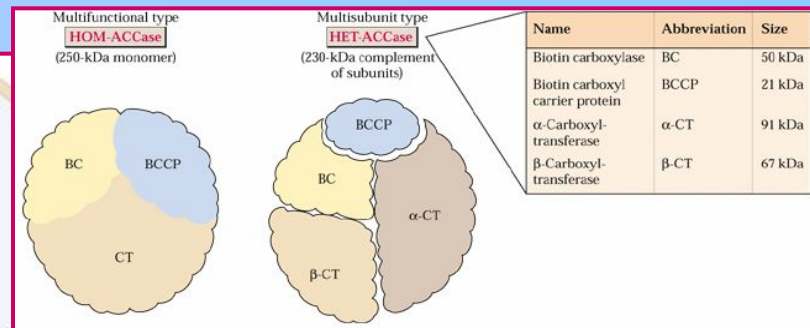
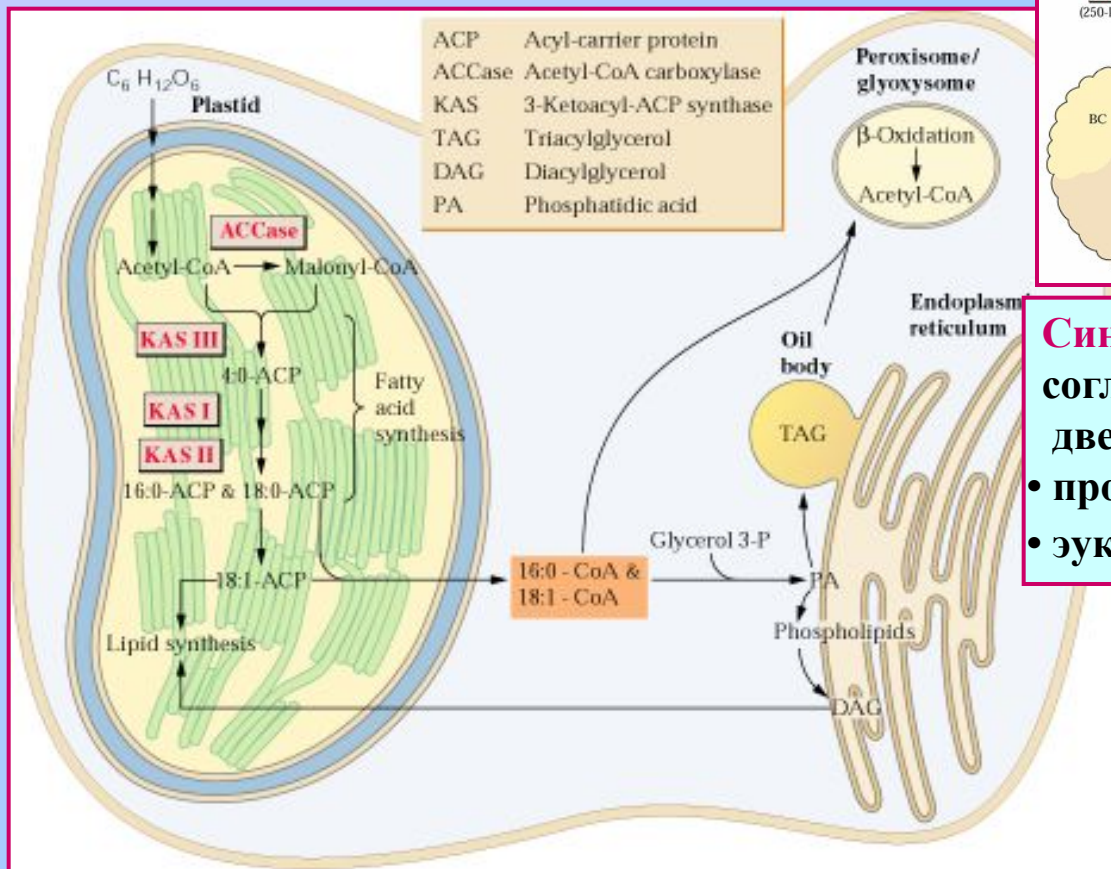
(D) Silent editing



(E) Creation of both initiation and stop codons



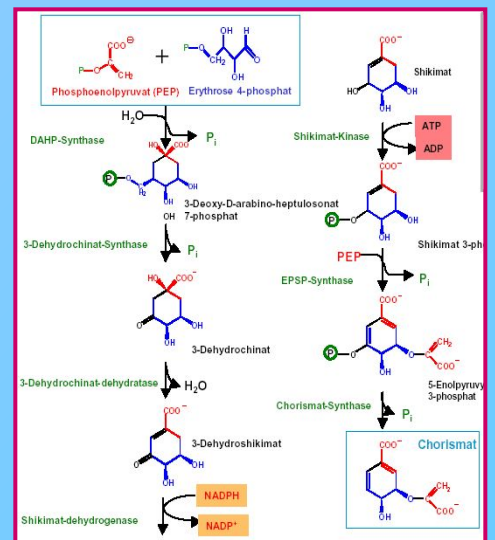
# Метаболизм растительной клетки - причудливое сочетание работы прокариотических и эукариотических систем



**Синтез жирных кислот:**  
 согласованная работа многих органелл;  
 две ацетил-КоА-карбоксилазы:

- прокариотического типа в пластидах,
- эукариотического – в цитозоле.

**Синтез флавоноидов:**  
 параллельная работа шикиматного пути в пластидах и цитозоле





**Два пути синтеза изопреноидов в растениях:  
«мевалонатный» в цитозоле и «альтернативный» в хлоропластах**

