

УНИКАЛЬНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МИТОХОНДРИЙ

А. У. ИГАМБЕРДИЕВ

Воронежский государственный университет

THE UNIQUE GENETIC SYSTEM OF MITOCHONDRIA

A. U. IGAMBERDIEV

Mitochondria, the energy power stations of the cell, are originated endosymbiotically from prokaryotes. They possess their own genetic system encoding some of mitochondrial proteins and most mitochondrial RNAs. The genetic system of mitochondria is characterized by a genetic code with deviations from the universal, by editing the RNA after its synthesis, and by other unique features. Many genetic human diseases are caused by changes in the mitochondrial genome.

Митохондрии, энергетические станции клетки, произошли в результате эндосимбиоза от прокариот. Некоторые митохондриальные белки и большинство РНК кодируются в митохондриях, остальные – в ядерном геноме. Генетическая система митохондрий характеризуется кодом, отличающимся от универсального, редактированием РНК после ее синтеза, другими уникальными особенностями. Многие генетические заболевания человека обусловлены дефектами митохондриального генома.

МИТОХОНДРИЯ И ЕЕ ГЕНОМ

Митохондрии – важнейшие клеточные органеллы, которые присутствуют во всех эукариотических организмах и являются энергетическими станциями клетки. В них осуществляются реакции клеточного дыхания, идущие с выделением энергии, которая запасается в виде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Митохондрии, как и пластиды, – это относительно автономные органеллы. Они отграничены двойной мембраной и имеют собственную генетическую систему. Исследование генома митохондрий выявило совершенно уникальные его особенности. Первое шокирующее сообщение пришло в 1979 году, когда было обнаружено, что в митохондриях нередки отклонения от универсального генетического кода. Эти отклонения были найдены позже во многих организмах, особенно в митохондриях животных и грибов. Так, в митохондриях человека кодон АУА кодирует аминокислоту метионин вместо изолейцина в стандартном коде. Кодоны АГА и АГГ, в стандартном коде кодирующие аргинин, являются стоп-кодонами, а кодон УГА, в стандартном коде являющийся стоп-кодоном, кодирует триптофан. Митохондрии растений, по-видимому, используют нормальный генетический код.

Другой необычной чертой митохондрий является особенность узнавания кодонов транспортными РНК, что приводит к тому, что одна молекула узнает сразу четыре кодона. Указанное изменение митохондриального генетического кода уменьшает значимость третьего нуклеотида в кодоне и приводит к тому, что требуется меньше транспортных РНК. Всего 22 транспортных РНК достаточно для узнавания всех 64 кодонов, тогда как для обычных рибосом их должно быть не менее 32 (в некоторых организмах найдено до 61).

В митохондриальной генетической системе содержится запись некоторых (но далеко не всех) митохондриальных белков и большинства митохондриальных РНК (иногда за исключением нескольких маленьких РНК, в том числе части транспортных РНК, которые транспортируются в митохондрию из цитоплазмы). Митохондриальный геном кодирует 13 субъединиц

комплексов дыхательной цепи. Ядерный геном кодирует остальные белки — переносчики электронов, митохондриальные транслоказы, компоненты транспорта белков в митохондрии, факторы, необходимые для транскрипции, трансляции и репликации митохондриальной ДНК. Поэтому можно сказать, что функционирование митохондрии представляет собой диалог между двумя геномами: митохондриальным и ядерным. Некоторые митохондриальные гены представлены копиями в ядерном (а у растений и в хлоропластном) геноме.

Особенность митохондриального генома многих организмов — это необычайно частое изменение структуры синтезированной РНК, так называемое редактирование. Иными словами, митохондриальный геном содержит немало ошибок, исправляемых в процессе созревания матричных РНК. У высших растений исправляется от 3 до 15% нуклеотидов (в отдельных мРНК до 40%), у простейших — до 50%. В водорослевых митохондриях редактирование отсутствует, что свидетельствует о том, что данное свойство появилось в эволюции в связи с выходом растений на сушу. Редактирование наблюдается и в пластидах, но там оно составляет всего около 0,13% кодонов. Редактирование включает обычно замену Ц на У в строго определенных местах, но в некоторых случаях, наоборот, происходит замена У на Ц. Процесс осуществляется специфическими ферментами, исправлению подвергаются различные участки РНК, преимущественно участки, кодирующие аминокислоты, но могут модифицироваться последовательности внутри интронов (участки, вырезаемые при “созревании” РНК — сплайсинге). Сплайсинг имеет место в митохондриях, хотя он почти отсутствует у эубактерий, от которых они произошли. Более того, вырезаемые участки (интроны) митохондрий могут кодировать белки (матюразы), функция которых — осуществлять сам этот процесс вырезания.

РНК-редактирование включает разнообразные механизмы. Оно, в частности, приводит к формированию функциональных транспортных РНК митохондрий и возникло, по-видимому, как механизм, предотвращающий накопление мутаций в асексуальных генетических системах. Митохондрии являются такой системой, поскольку они размножаются путем деления. Однако общие закономерности редактирования и чем оно обусловлено еще надлежит выяснить.

В митохондриях иногда наблюдается и перекрытие генов. Так, в митохондриальном геноме курицы ген тирозиновой транспортной РНК перекрывается одним нуклеотидом с геном цистеиновой транспортной РНК. Этот нуклеотид исходно гуаниновый, но он подвергается редактированию и превращается в адени-

новый нуклеотид. Митохондрии животных содержат очень маленькие рибосомы, определяемые по коэффициенту седиментации при центрифугировании как 55S. При этом две большие рибосомные РНК также имеют меньшие размеры, чем у прокариот, а малая рибосомная РНК вообще отсутствует. Часть рибосомных белков также отсутствует. (Напомним, что митохондрии эукариот имеют значение 80S, соответствующее молекулярной массе около 4 млн дальтон, а митохондрии прокариот — 70S, соответствующее молекулярной массе 2,7 млн дальтон.) В митохондриях растений, напротив, рибосомы более сходны с прокариотическими по размерам и строению.

Митохондрии имеют систему репликации ДНК, сходную с таковой у прокариот, но имеющую свои особенности у разных организмов. Система транскрипции и трансляции также различается в митохондриях разных организмов. Особенности строения рибосомных РНК митохондрий животных и человека обуславливают, в частности, тот факт, что трансляция практически не ингибируется эритромицином и хлорамфениколом (левомицетином) — мощными ингибиторами трансляции прокариот. Данная особенность обусловила относительно невысокую токсичность этих веществ для человека и возможность их применения в качестве антибиотиков.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ГЕНОМЫ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Коллекция полностью секвенированных (с расшифрованной последовательностью нуклеотидов) митохондриальных геномов пополняется с каждым годом. К настоящему времени ДНК митохондрий секвенирована более чем у 20 видов простейших, у человека, дрожжей, растений маршанции и арабидопсиса. Хотя ДНК митохондрий разных организмов имеют существенные различия, они все сохраняют общие черты. Обнаружилось, что сходные по последовательности нуклеотидов участки иногда выполняют различные функции.

Из имеющихся данных по определению нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов был сделан вывод о монофилетическом (то есть от одного предка) происхождении митохондрий. Митохондрии, по современным данным, произошли в результате эндосимбиоза от древних пурпурных фотосинтетических граммотрицательных бактерий. Некоторые, правда, выводят митохондрии от другого предка — риккетсий. Эти патогенные микроорганизмы содержат ферменты цикла Кребса и электрон-транспортной цепи, но не содержат ферментов гликолиза, что роднит их с митохондриями. Кроме того, они содержат гены белков — транслокаторов (переносчиков через мембрану) адениновых нуклеотидов, что позволяет им

использовать АДФ и АТФ клетки-хозяина для своих нужд. Предшественниками клетки-хозяина (эукариотической клетки) могли быть при этом организмы, родственные архебактериям. Они имеют генетическую систему, сходную в некоторых чертах с эукариотической. В них присутствуют, например, интроны – нуклеотидные последовательности, которые вырезаются в процессе сплайсинга (созревания матричной РНК).

ДНК митохондрии гетеротрофного жгутикового *Reclinomonas* представляет собой в некотором смысле связующее звено между ДНК эубактерий и ДНК митохондрий эукариотических организмов. Геном этой митохондрии содержит 69 тыс. пар нуклеотидов. Это не очень много, но в нем имеется 62 гена, кодирующие белки, что значительно больше, чем у митохондрий других организмов, где часть генов была или утрачена, или перешла в ядерный геном. Например, митохондриальная РНК-полимераза кодируется митохондриальным геномом, возможно, только у этого жгутикового.

ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИЙ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Растительные митохондрии сильно отличаются от митохондрий животных. Они имеют дополнительные пути электронного транспорта, не сопряженные с синтезом АТФ, включая несопряженные окисления НАДН и НАДФН снаружи и внутри митохондрии, а также несопряженный перенос электронов с убихинона на кислород. Белки, осуществляющие эти реакции (альтернативные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы и альтернативная оксидаза, устойчивая к цианиду), кодируются в ядре. Функция этих путей, по-видимому, связана с фотосинтезом и заключается в необходимости быстрого окисления фотосинтетически образуемых субстратов. Митохондрии фотосинтезирующих тканей способны интенсивно окислять глицин, образующийся в листьях в больших количествах и являющийся продуктом фотодыхания.

Геном митохондрий растений значительно больше генома животных митохондрий. Например, у арабидопсиса (растения из семейства крестоцветных, основного объекта изучения генома растений) митохондриальный геном содержит 370 тыс. пар нуклеотидов, то есть он в 20 раз больше, чем у человека (у которого он содержит менее 17 тыс. пар нуклеотидов). В этом геноме также гораздо больше генов – примерно в 7 раз больше, чем в митохондриях человека. Размер митохондриального генома растений сильно варьирует, даже внутри одного семейства иногда в 5–10 раз. Например, в семействе тыквенных у арбуза митохондриальный геном даже меньше, чем у арабидопсиса (330 тыс. пар нуклеотидов), у тыквы он содержит 850 тыс. пар нуклеотидов, а у дыни – 2400 тыс. пар нуклеотидов. Таким об-

разом, митохондрии содержат гораздо большие геномы, чем пластиды (последние обычно содержат 120–160 тыс. пар нуклеотидов), однако в митохондриальном геноме растений гораздо меньше уникальных кодирующих последовательностей.

Большая вариабельность связана с рекомбиногенной природой генома митохондрий высших растений (рис. 1). Митохондриальный геном растений обычно состоит из одной большой и нескольких маленьких молекул ДНК. Каждый митохондриальный растительный геном представлен множеством молекул, образованных рекомбинацией между повторяющимися последовательностями и их рекомбиногенными перестановками. Часть последовательностей имеет ядерное и даже хлоропластное происхождение.

Количество митохондрий в растительной клетке составляет от 50 до 2000, и каждая митохондрия содержит от 1 до 100 копий генома. В настоящее время полностью секвенирована последовательность митохондриального генома печеночника маршанции (растение, имеющее некоторое сходство с мхами, но без листового строения: объединение печеночника с мхами, по последним данным, не совсем корректно). Завершена работа по секвенированию митохондриального генома арабидопсиса.

Митохондриальный геном растений кодирует три рибосомные РНК, 16 (то есть более половины) транспортных РНК, около 10 рибосомальных белков, некоторые белки дыхательной цепи, часть субъединиц (3) АТФ-синтетазы, четыре белка, участвующих в синтезе цитохрома *c*. Рекомбинация и мутации митохондриальной ДНК ведут к цитоплазматической мужской стерильности, вызывая нарушения созревания пыльцевых трубок.

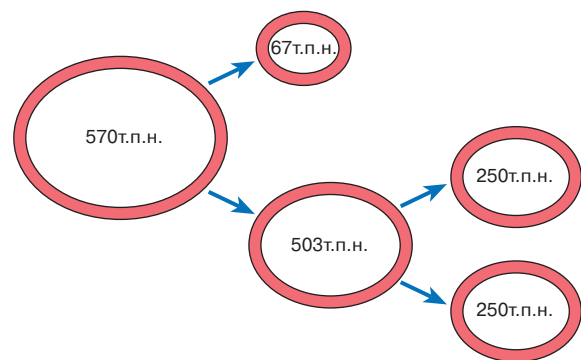


Рис. 1. Рекомбинация митохондриальной ДНК кукурузы. Вследствие рекомбинации митохондриальная ДНК может существовать как в форме одной молекулы размером 570 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.), так и в форме нескольких молекул меньших размеров

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Геном митохондрий человека представлен одной кольцевой молекулой ДНК размером 16 569 пар нуклеотидов (рис. 2). Он кодирует 13 белков, 22 (все) транспортных РНК, две рибосомные РНК. 60% генов, кодирующих белки, приходится на семь субъединиц комплекса, окисляющего НАДН, остальные гены кодируют две субъединицы АТФ-синтетазы, три субъединицы цитохромоксидазы, одну субъединицу убихинол-цитохром-*c*-редуктазы (цитохром *b*). Все белки, кроме одного, две рибосомные и шесть транспортных РНК транслируются с матричной РНК, транскрибирующейся с более тяжелой цепи ДНК (изображена снаружи), 14 других транспортных РНК и один белок транслируются с матричной РНК, транскрибирующейся с более легкой цепи ДНК (изображена внутри). Как остроумно отметил один из исследователей митохондрий, митохондриальный геном человека напоминает университет, в котором все уменьшено до минимальных размеров, но пока еще никто не уволен.

МИТОХОНДРИИ И СТАРЕНИЕ

Ассоциированное со старением изменение митохондриального генома наблюдается в различных видах. Оно включает точковые мутации нуклеотидов, а также де-

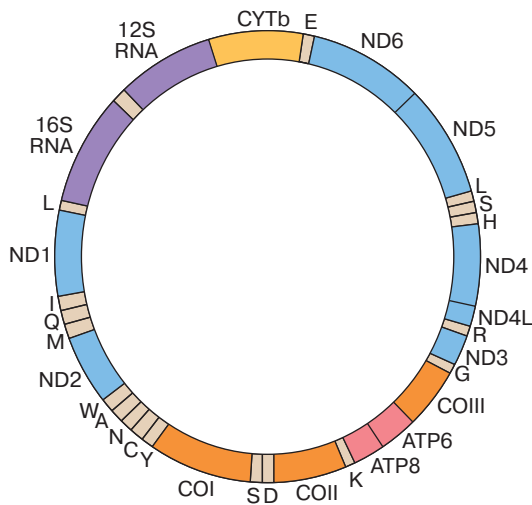


Рис. 2. Схематическое изображение кольцевой молекулы митохондриальной ДНК человека (размер 16 569 пар нуклеотидов). Обозначены гены, кодирующие субъединицы НАДН-дегидрогеназного комплекса (ND1-ND6, ND4L), субъединицы цитохром-*c*-оксидазы (COI-III), цитохром *b* (CYTb), субъединицы АТФ-синтетазы (ATP8 и 6), кодирующие рибосомные РНК (12S RNA и 16S RNA) и кодирующие транспортные РНК (обозначены однобуквенными латинскими символами соответствующих аминокислот)

леции. Клеточный энергетический кризис ведет в конечном счете к клеточной смерти — апоптозу через фрагментацию митохондриальной ДНК, дегенерацию и атрофию тканей (см. статью В.И. Агола “Генетически запрограммированная смерть клеток”. Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 6. С. 20–24). Показано, что внедрение митохондриальной ДНК в хромосомы может быть причиной рака и старения. В настоящее время ни одна теория старения не может игнорировать роль митохондрий. Уже нет сомнений, что митохондрии представляют собой центр контроля апоптоза. Гибель клетки связана с выработкой специфического белка-убийцы, который локализован в межмембранном пространстве митохондрии и выходит из нее, когда она не справляется с удалением активных форм кислорода (супероксид-аниона, перекиси водорода). Последние индуцируют открывание пор во внешней мембране, что и приводит к выходу этого белка в цитозоль и включению цепи метаболических реакций, ведущих к синтезу протеаз и нуклеаз, переваривающих клетку. Исследуются вещества (в том числе и синтезирующиеся внутри клетки), которые оказывают воздействие на митохондриальную мембрану и тем самым предотвращают или, напротив, ускоряют апоптоз. Некоторые из них являются онкобелками (белками, вовлеченными в развитие раковых опухолей). Их действие может быть связано с тем, что апоптоз является крайней мерой, позволяющей избавляться от сильно поврежденных геномов, накопление которых приводило бы к злокачественному перерождению тканей. Действительно, регуляция апоптоза нарушена в опухолевой ткани (он в ней практически не наблюдается). Кроме того, удаление части клеток — это необходимый этап любого морфогенеза. В 1998 году номер ведущего научного журнала “Biochimica et biophysica acta” [1] полностью был посвящен роли митохондрий в клеточной смерти. Читатель может получить информацию об этом и других особенностях митохондриальной биоэнергетики из статей В.П. Скулачева [2–4].

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Поскольку митохондрии находятся в центре энергетического обмена клетки, любое нарушение в них может негативно воздействовать на основные функции организма. В настоящее время выявлено множество генетических заболеваний, связанных с нарушениями митохондриальных процессов, многие из которых обусловлены дефектами митохондриального генома. Митохондриальная генетика человека в настоящее время интенсивно развивается. Митохондриальные нарушения наследуются преимущественно по материнской линии, поскольку новорожденный получает митохондрии из яйцеклетки (митохондрии спермато-

зоида не попадают в оплодотворенную яйцеклетку). Однако наследование некоторых заболеваний, связанных с митохондриями, выявляет менделевское расщепление, что свидетельствует о том, что эти заболевания связаны с дефектами ядерных генов, контролирующих митохондриальные процессы. Некоторые митохондриальные гены, кроме того, представлены копиями в ядерном геноме. Сравнение митохондриальных геномов 147 человек из различных этносов, проведенное Алланом Вильсоном, привело к выводу, что эти геномы дивергировали от одной предковой формы. В околонучной прессе данное открытие было крайне упрощенно интерпретировано таким образом, что все мы происходим от одной женщины, жившей в Африке около 200 тыс. лет назад.

Многие митохондриальные дефекты приводят к нарушению работы сердечной мышцы. Поскольку миокард зависит от окислительного метаболизма митохондрий, неудивительно, что генетические нарушения митохондриальной функции приводят к кардиомиопатиям. Большинство митохондриальных кардиомиопатий представляет собой мультисистемные нарушения, где заболевания сердца – основной компонент. Нарушение функционирования нервной системы также может быть связано с митохондриальными дефектами.

Митохондриальные энцефало- и миопатии могут быть связаны по меньшей мере с 50 точковыми мутациями и другими разнообразными перестройками митохондриальной ДНК. Подобные заболевания нередко имеют причиной недостаток цитохром-*c*-оксидазы (фермента, осуществляющего перенос электронов на кислород) и убихинона – универсального переносчика электронов. Известны заболевания, связанные с дефектами структурных митохондриальных белков, транслоказ, импорта белков в митохондрии, передачи сигналов между митохондриальным и ядерным геномом. Выявлены заболевания, обусловленные мутациями, затрагивающими транспортные и рибосо-

мальные РНК митохондрий. Нарушения митохондриальной функции могут приводить к аритмиям. Одно из распространенных опасных заболеваний, проявляющихся в самом раннем возрасте, – ацидоз, связанный с накоплением молочной кислоты, вызванный тем, что дефектные митохондрии могут только ограниченно утилизировать продукт гликолиза (пируват) в цикле Кребса. Митохондриальные дефекты могут проявляться на разных стадиях индивидуального развития. Генетические изменения, связанные со старением, как уже было сказано, наиболее выражены в митохондриях. В настоящее время высказываются надежды на то, что в будущем удастся разработать способы исправления митохондриальных дефектов методами генетической инженерии (генетическая терапия).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Biochimica et biophysica acta*. 1998. Vol. 1366, № 1/2.
2. *Скулачев В.П.* Кислород в живой клетке: добро и зло // *Соросовский Образовательный Журнал*. 1996. № 3. С. 4–16.
3. *Скулачев В.П.* Законы биоэнергетики // Там же. 1997. № 1. С. 9–14.
4. *Скулачев В.П.* Эволюция биологических механизмов запасаения энергии // Там же. № 5. С. 11–19.

Рецензенты статьи В.П. Скулачев, Ю.А. Владимиров

* * *

Абир Убаевич Игамбердиев, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой физиологии и биохимии растений Воронежского государственного университета. Область научных интересов – фотосинтетический и дыхательный метаболизм растений, взаимосвязь клеточных органелл, теоретическая биология и семиотика. Автор более 50 статей в российских и зарубежных научных журналах, а также монографий.