

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ, БІОХІМІЇ ТА ГЕНЕТИКИ

ПОЗАХРОМОСОМНА СПАДКОВІСТЬ

Походження клітинних органел

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до самостійної роботи
з курсу «Позахромосомна спадковість»
для студентів
другого (магістерського) рівня вищої освіти

ОДЕСА
ОНУ
2024

УДК 575.89
П47

Укладач:

О. Л. Січняк, кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики.

Рецензенти:

В. П. Герасимюк, кандидат біологічних наук, доцент кафедри ботаніки, фізіології рослин та садово-паркового господарства Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

Н. А. Кириленко, кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти.

*Рекомендовано вченою радою біологічного факультету
ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 1 від 28 серпня 2023 р.*

П47 **Позахромосомна** спадковість. Походження клітинних органел [Електронний ресурс] : електрон. метод. рек. до самост. роботи з курсу «Позахромосомна спадковість» для студентів другого (магіст.) рівня вищ. освіти / уклад. О. Л. Січняк. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2024. – 29 с. – 1,4 МБ.

Методичні рекомендації розроблені відповідно до вимог програми з дисципліни «Позахромосомна спадковість». Мета видання – допомогти студентам засвоїти розділ «Походження клітинних органел» та якісно підготуватися до семінарських занять. Методичні рекомендації містять перелік теоретичних питань і контрольних запитань по темах семінарських занять, базові теоретичні відомості для підготовки, завдання для самостійного опрацювання окремих питань, перелік допоміжної літератури.

Призначені для здобувачів другого рівня вищої освіти за спеціальностями 091 «Біологія», 162 «Біотехнології та біоінженерія».

УДК 575.89

ЗМІСТ

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ	4
ПОХОДЖЕННЯ КЛІТИННИХ ОРГАНЕЛ	5
Походження мітохондрій	6
Походження пластид	16
ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ	25
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	28

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ

Навчальна дисципліна «Позахромосомна спадковість» (курс за вибором) є складовою освітньо-професійної програми зі спеціальності 091 «Біологія» і 162 «Біотехнології і біоінженерія» другого рівня навчання. Курс є складовою клітинного та молекулярного підходу до вивчення живого і тісно пов'язаний із іншими дисциплінами, що складають фундамент біологічних наук. Навчальна дисципліна «Позахромосомна спадковість» базується на дисциплінах ОП з питань цитології, біохімії, генетики та молекулярної біології, зоології, ботаніки і закладає підґрунтя для подальшого засвоєння студентами знань та вмінь з дисциплін другого рівня підготовки зазначених ОП.

Завдання курсу полягає у вивченні генетичних явищ, що пов'язані з відхиленнями від класичних менделівських розщеплень, у вивченні напівавтономних структур цитоплазми, які є одною з причин таких відхилень, а також у з'ясуванні спадкового симбіозу, який імітує позахромосомне успадкування. Важливим завданням курсу є опанування теоретичним питанням загальної біології про походження еукаріотичної клітини. Саме дослідження явищ позахромосомної спадковості наблизило нас до з'ясування цієї проблеми.

У результаті вивчення даного курсу студент повинен

знати: особливості спадковості і мінливості, які обумовлені позахромосомними факторами, способи практичного використання цих закономірностей, методи дослідження геному мітохондрій та пластид.

вміти: проводити генетичний аналіз цитоплазматичної спадковості, відрізняти явище позахромосомної спадковості від внутрішньоклітинного паразитизму.

Через обмежений обсяг аудиторних занять тема «Походження клітинних органел» винесена на самостійне опрацювання. До того ж, якщо походження пластид не викликає сумнівів, питання про походження мітохондрій досі залишається дискусійним. Тому є нагальна потреба у даних методичних вказівках для поліпшення якості самостійної роботи здобувачів.

ПОХОДЖЕННЯ КЛІТИННИХ ОРГАНЕЛ

Мета: сформуванати уявлення про утворення різних типів еукаріотичних клітин, про вірогідні шляхи формування пластид та мітохондрій та особливості еволюції геномів даних органел еукаріотичних клітин.

Теоретичні питання

1. Теорії походження еукаріотичних клітин.
2. Сучасні нащадки попередників мітохондрій.
3. Докази бактеріального походження мітохондрій.
4. Явища вторинної втрати мітохондрій.
5. Гідрогеносоми – видозмінені мітохондрії?
6. Докази спорідненості пластидних та бактеріальних геномів.
7. Філогенетичний розподіл генних втрат з хлоропластного геному
8. Первинні та вторинні ендосимбіози в еволюції пластидних геномів.
9. Які гени переважно зберігаються у геномах клітинних органел?
10. Унікальний симбіоз молюска та водорості.

Опорні відомості для опрацювання теоретичних питань

При розгляді генетичних систем клітинних органел дуже помітна їх схожість з бактеріальними геномами. Ця гомологія торкається структури кільцевих ДНК, порядку генів та особливостей організації їх у поліцистри, параметрів білок-синтезуючої системи, інгібування антибіотиками тощо. Усі ці дані отримані нещодавно, однак припущення про формування клітинних органел внаслідок злиття клітини еукаріот з бактеріями виникли набагато раніше.

Вперше симбіотична гіпотеза виникнення еукаріотичної клітини була сформульована у 80-ті роки XIX ст. в працях Р. Альтмана та А. Шимпера, а потім на основі нових фактів реанімована у 1970-ті роки та інтенсивно розвивається й сьогодні (рис. 1).

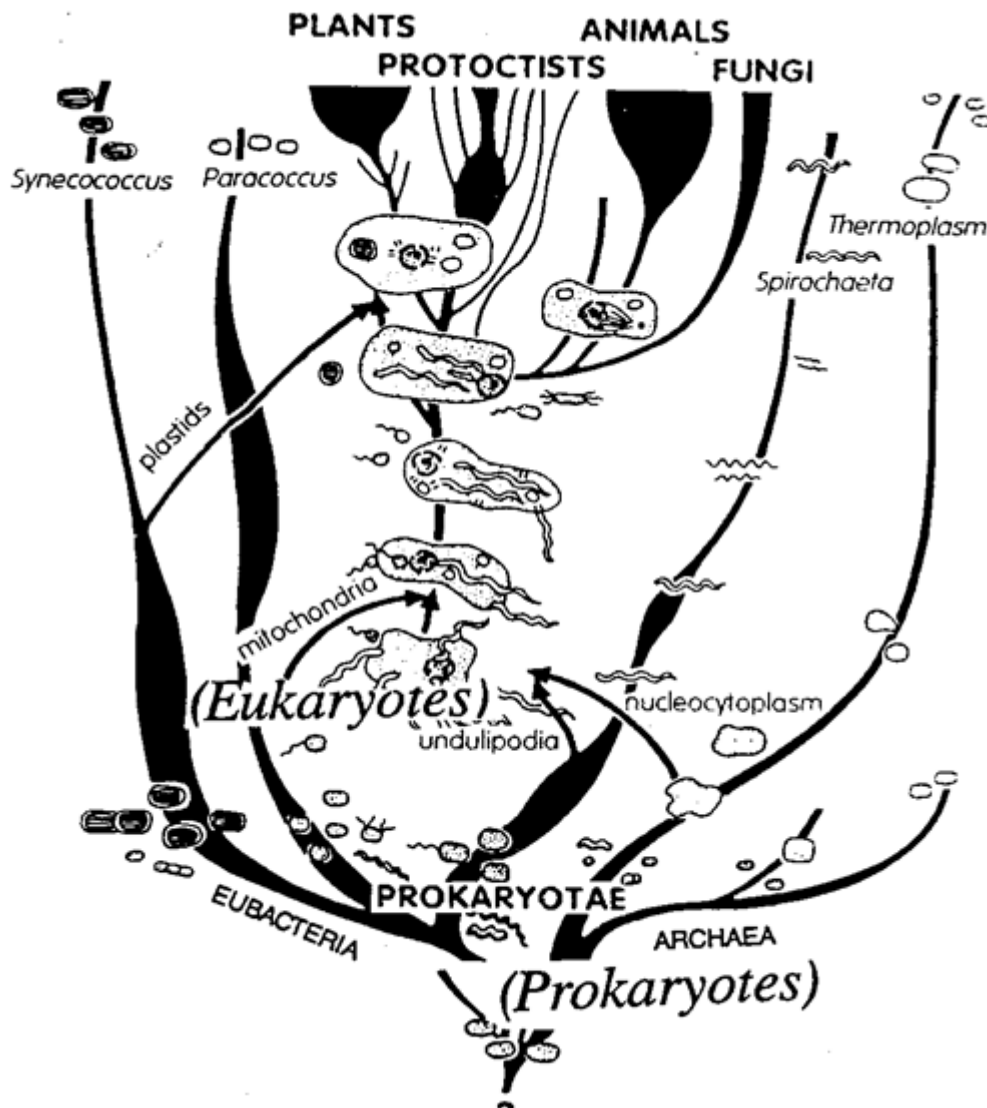


Рис. 1. Еволюція основних царств [по Margulis et al., 1996]

Походження мітохондрій

Пошук бактерій-попередників мітохондрій первісно був побудований на порівняльному аналізі генів малої субодиниці рРНК. В результаті найбільш вірогідним попередником виявилася родина α -протеобактерій – *Rickettsiaceae*. До неї входять такі облігатні внутрішньоклітинні паразити як *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*.

Після проведення порівняльного аналізу ряду інших високо консервативних білків (цитохрома *b*, субодиниць цитохромоксидази 1 і 3) були встановлені три найбільш близькі до мітохондріальних геномів групи α -протеобактерій – *Rhodospirillum*, *Bradyrhizobium* та *Rickettsia*. Члени цих родів дуже різноманітні за образом життя. Серед них багато патогенних форм (рис. 2); є фотосинтетики, здатні рости

лише в анаеробних умовах; деякі види толерантні до низьких концентрацій кисню та ростуть лише за гетеротрофних умов, інші є гетеротрофами та ефективно ростуть за високих концентрацій кисню. Деякі види здатні фотосинтезувати за анаеробних умов, але переходять до гетеротрофного образу життя за високих концентрацій кисню. Оскільки жоден з геномів вільноживучих бактерій ще не секвенований, ми можемо лише припускати, що згідно з варіюванням образу життя різних протеобактерій змінений і набір генів, які входять до складу їх ДНК.

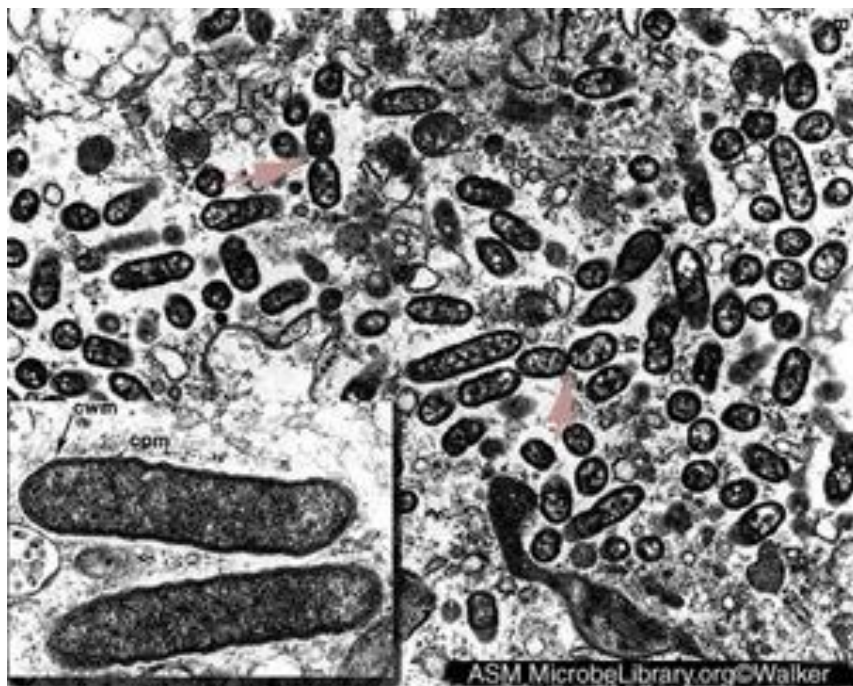


Рис. 2. Після виходу з фагосом рикетсії вільно ростуть в цитоплазмі культивованих клітин, зазнаючи бінарні поділи (вказано стрілками).

Вставка виділяє зовнішню і внутрішню мембрани рикетсій

Для того, щоб точніше уявити, як утворилися та почали функціонувати мітохондрії, необхідно ідентифікувати бактеріальні форми – прямі попередники органел. Такі бактерії, ймовірно, існують, однак пошук їх дуже утруднений. Згідно з приблизними оцінками на теперішній час тільки 0,4 % всіх існуючих видів бактерій ідентифіковані та формально описані. Крім того, лише 0,1 % з існуючих у природі бактерій піддається культивуванню на штучних середовищах, поза їх складних екологічних ніш. Не ідентифіковані «мітохондріоподібні»

бактерії, ймовірно мають бути схильні до симбіозу і тому, найшвидше, будуть погано культивуватися в лабораторних умовах.

Враховуючи це, слід вважати значним успіхом секвенування геному *Rickettsia prowazekii* – одного з відомих видів α -протеобактерій, близького до мітохондріальних попередників. Цей облигатний внутрішньоклітинний паразит є збудником черевного тифу, який забрав біля 30 мільйонів людських життів у роки Першої світової війни та декілька мільйонів – під час Другої світової.

Геном *R. prowazekii* представляє собою кільцеву хромосому розміром 1 111 523 п. н. Розмір геному рикетсії набагато більше будь-якого мітохондріального геному. В той же час він значно поступається геному кишкової палички. У останньої знайдено 4 288 генів, в той час як у рикетсії – лише 834. В процесі адаптації до внутрішньоклітинного паразитизму відбулася втрата багатьох генів. Крім того, у рикетсії знайдено біля 24 % незначущої ДНК – більше, ніж у всіх вивчених мікроорганізмів. Очевидно, це неактивні гени, деградовані внаслідок мутацій, але не еліміновані з геному.

Як у *R. prowazekii*, так і в мітохондріальному геномі втрачені гени, які кодують ферменти гліколізу, а також більшість генів синтезу амінокислот та нуклеотидів. Однак у рикетсії збережені гени циклу трикарбонових кислот та комплексу дихального ланцюгу, тоді як лише деякі з них є в геномі мітохондрій, інші перенесені до ядра. У функціональному відношенні рикетсії та мітохондрії дуже близькі. Так, продукція АТФ в обох системах здійснюється практично однаково. Однак слід зазначити, що усі ці аналогії не означають, що *R. prowazekii* є безпосереднім попередником мітохондрій.

З точки зору походження органел найбільший інтерес представляють результати аналізу мтДНК нещодавно знайденого гетеротрофного джгутикового найпростішого *Reclinomonas americana* (рис. 3). Ці організми мають ряд спільних рис в ультраструктурній організації з ретромонадами, групою найпростіших, які не містять мітохондрій та відносяться, без сумніву, до одних з найдавніших ендосимбіотичних еукаріот.

Мітохондріальний геном *Reclinomonas* є найбільш генетично насиченим з усіх відомих мтДНК. Маючи порівняно невеликий розмір – 69 034 п. н., він містить 97 генів, серед яких гени 5S рРНК, РНК-компоненту РНКаз Р і принаймні 18 білкових генів, які не виявлялися раніше в мітохондріях, зокрема, шість генів білків великої субодиниці рибосоми, ген фактору елонгації, чотири гени, які кодують субодиниці бактеріальноподібної РНК-полімерази та ряд інших.

Майже всі ті ж гени містяться в лінійному мітохондріальному геномі спорідненого виду *Jakoba libera* (рис. 4), однак з чотирьох генів РНК-полімерази два відсутні. У інших видів ДНК мітохондрій транскрибується за допомогою фагоподібної ядерно кодованої РНК-полімерази, яка не має субодиниць. Очевидно, фагоподібний фермент ядра замінив органельну, подібну до бактеріальної, РНК-полімеразу на ранньому етапі еволюції мітохондрій, на відміну від пластид, де, як і раніше, функціонують обидві РНК-полімерази.

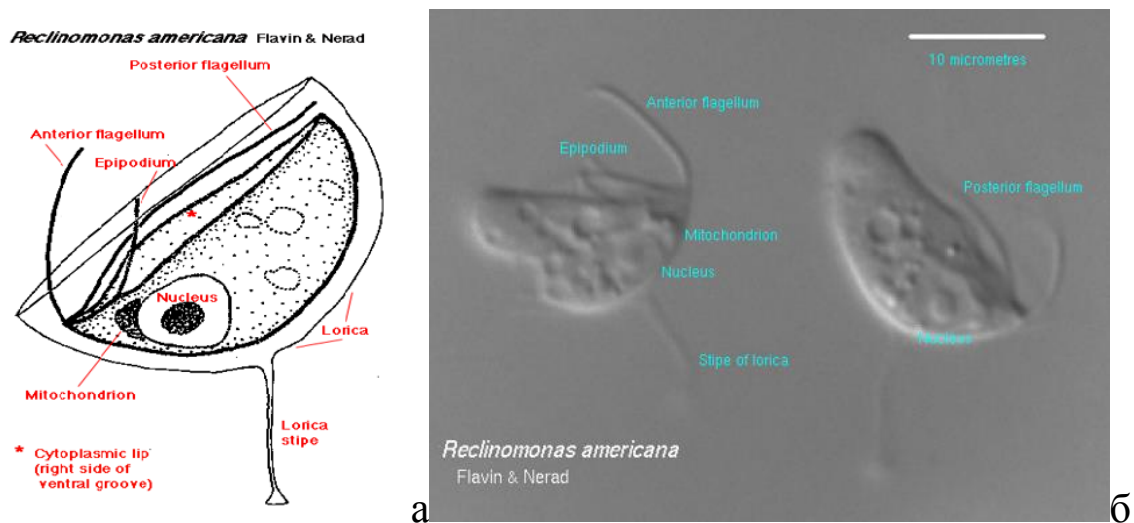


Рис. 3. *Reclinomonas americana*: а) схема будови; б) мікрофотографія

Ще один типово бактеріальний ген знайдений в мтДНК *R. americana*, гомолог *Sec Y*, який кодує компонент транспортної системи білків. Гени *Sec* зустрічаються в усіх вивчених еубактеріях та пластидах і знаходження їх у *R. americana* припускає наявність *Sec*-шляху також і в мітохондріях.

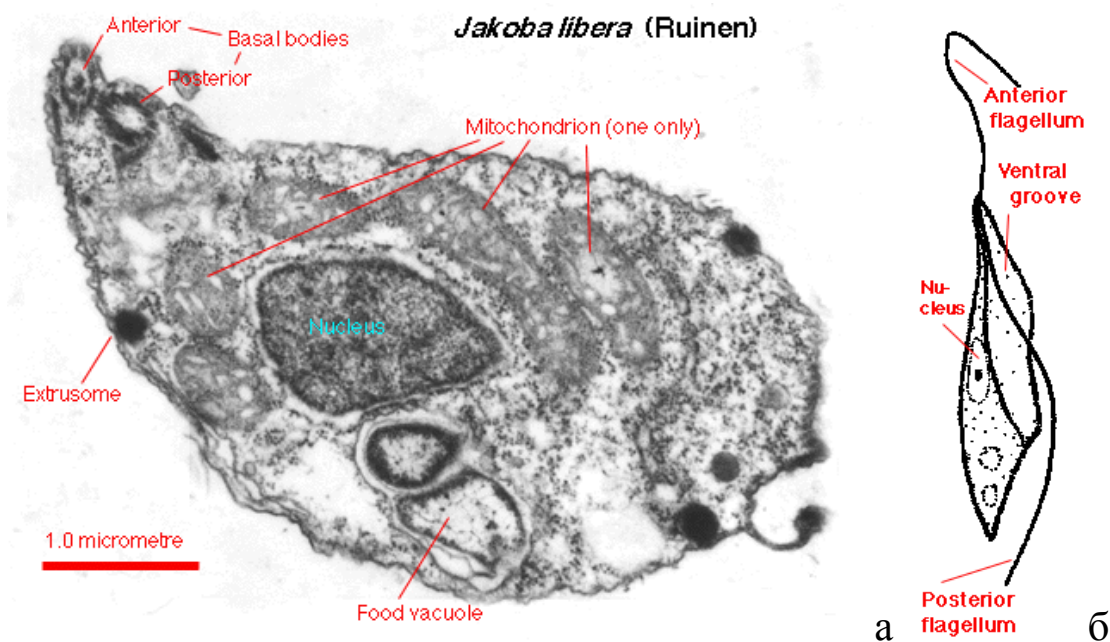


Рис. 4. *Jakoba libera*: а) мікрофотографія; б) схема будови

Типовою для бактеріального геному є виявлена у *R. americana* кластерна організація ряду генів. Особливо чітко це проявляється у випадку рибосомальних білкових генів – їх порядок фактично повторює організацію цих генів в чотирьох оперонах кишкової палички (рис. 5). В мітохондріальних геномах інших систематичних груп, незважаючи на подальшу втрату багатьох генів, цей порядок в основному зберігся.

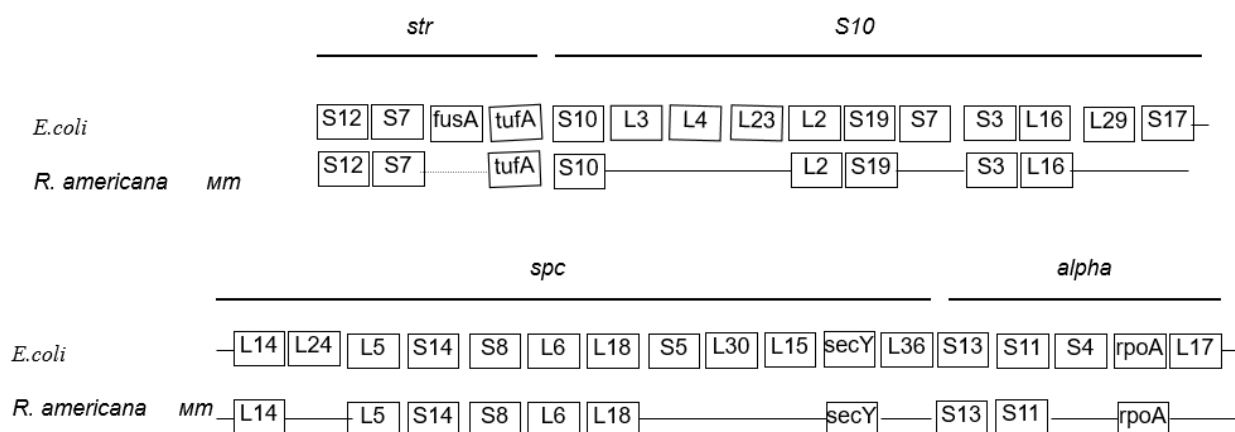


Рис. 5. Схожість оперонів в мітохондріальному геномі *R. americana* та бактеріальному геномі *E. coli* [по Lang et al., 1999]

Таким чином, мітохондріальний геном *R. americana* є найменш редукованим з усіх відомих. Він містить багато генів, не знайдених ні в яких інших мітохондріях. Аналіз даного геному дозволяє точніше

уявити еволюцію транскрипційного апарату та білкового транспорту в мітохондріях і, безперечно, підтверджує симбіотичну еубактеріальну природу мітохондрій.

Кількість генів в мітохондріях дуже варіює – від 5 у *Apicomplexa* до 97 у *R. americana*. Оскільки у бактерій-попередників число генів досягало 1000 та більше, можна вважати, що ранні етапи ендосимбіозу, очевидно, супроводжувалися втратою більшості генів, яка була, як правило, незворотна. Відомі і поодинокі виключення – придбання нових генів мітохондріями:

- ряд тРНК генів хлоропластів в мітохондріях покритонасінних рослин;
- плазмідні ДНК- та РНК-полімеразні гени в мтДНК грибів, рослин та деяких найпростіших;
- гени репарації ДНК в мтДНК коралів.

Гени, функції яких в ендосимбіотичному геномі виявилися не потрібними, зникли, ймовірно, дуже рано. В жодному з досліджених мітохондріальних геномів не знайдено будь-яких генів біосинтезу ліпідів, нуклеотидів, амінокислот. Інші гени були втрачені органелами, при цьому їх функцію взяли на себе ядерні гени. Прикладами такої заміни є тРНК мітохондрій. Нарешті, відбулася міграція ряду генів з мітохондрій в ядро. Так, змінили свою локалізацію гени багатьох субодиниць усіх ферментних комплексів мітохондрій: з 90 компонентів цих комплексів у людини мтДНК кодує лише 13 (рис. 6). Процес переносу генів до ядра продовжується і на даному етапі еволюції. У одних видів бобових ген *cox 2* знаходиться в мітохондріях, як й у інших дводольних, в той час як у решти видів тієї ж родини – в ядрі. У сої є дві копії даного гену – активна в ядрі та неактивна – в мітохондріях, а у близького її родича – коров'ячого гороху – мітохондріальний ген вже втрачений. В даному випадку вдалося встановити не лише сам факт, але й механізм переносу генів – він відбувається через мРНК, на якій транскрибується кДНК-копія, яка вбудовується до ядерного геному.

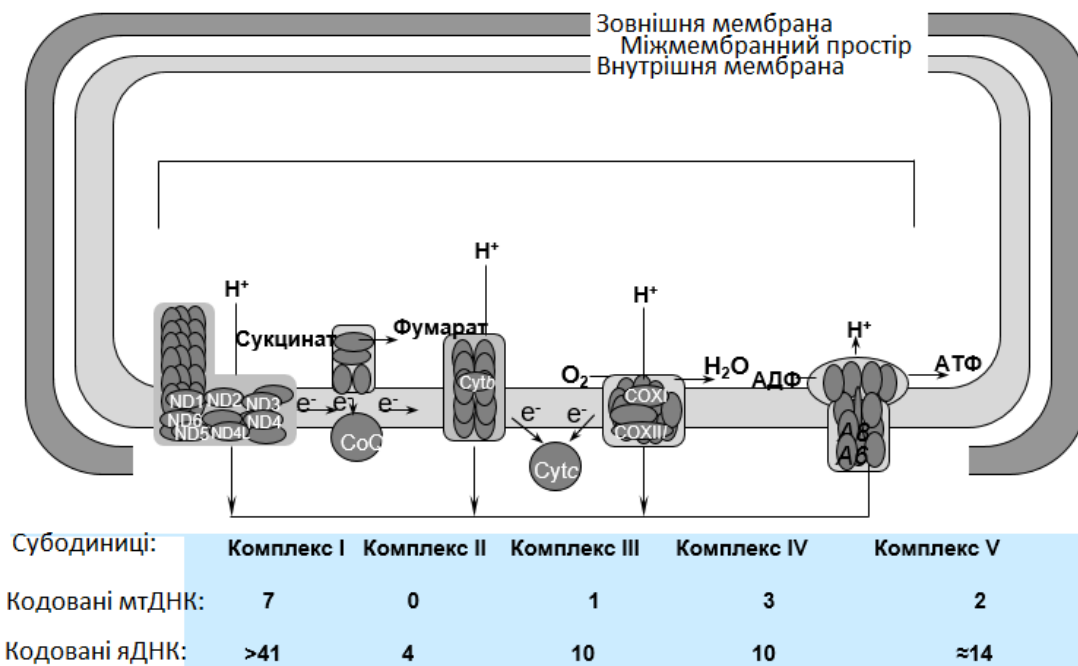


Рис. 6. В мітохондріях людини і більшості тварин з 90 генів електронно-транспортної цепи залишилося 13, у деяких еукаріотів гени II комплексу ще зустрічаються в мітохондріях

Найбільш ймовірно, що мітохондріальними були й гени, які визначають біогенез мітохондрій. Переконливі докази такого переміщення отримані для білків теплового шоку, які слугують хаперонами мітохондріальних генів.

В середині 80-х рр. минулого сторіччя ендосимбіотична теорія походження еукаріот отримала додаткову підтримку – була відкрита група еукаріотичних організмів, які не мали мітохондрій. Це так звані *Archezoa*, чи *Archaeoprotista* (рис. 7). Спочатку вважалося, що до даної групи відносяться організми, які ніколи не мали мітохондрій. Ці організми характеризувалися примітивною клітинною архітектурою – слабо розвиненою системою ендомембран, відсутністю пероксисом та незвичайною рРНК. Все це дозволяло віднести їх до нащадків еукаріот-анаеробів, котрі передували появі «коронної групи» – грибів, рослин, тварин.

Слід зазначити, що відсутність мітохондрій у еукаріот не обов'язково свідчить про їх еволюційну давнину, адже може відбуватися вторинна втрата мітохондрій, пов'язана з паразитичним образом життя. Прикладом такої втрати органел є найпростіше *Entamoeba histolytica* – вона не має ні мітохондрій, ні апарата Гольджи, ні ендоп-

лазматичного ретикулюму, ні пероксисом. Однак в її ядерному геномі виявлені гени деяких типово мітохондріальних білків, що доводить вторинність втрати мітохондрій. Цей факт нещодавно отримав цитологічне підтвердження. Виявлено, що білок мітохондріального типу Срп 60 у *E. histolytica* транспортується в невідомі органели розміром 1 мкм. Ймовірно, це видозмінені мітохондрії.

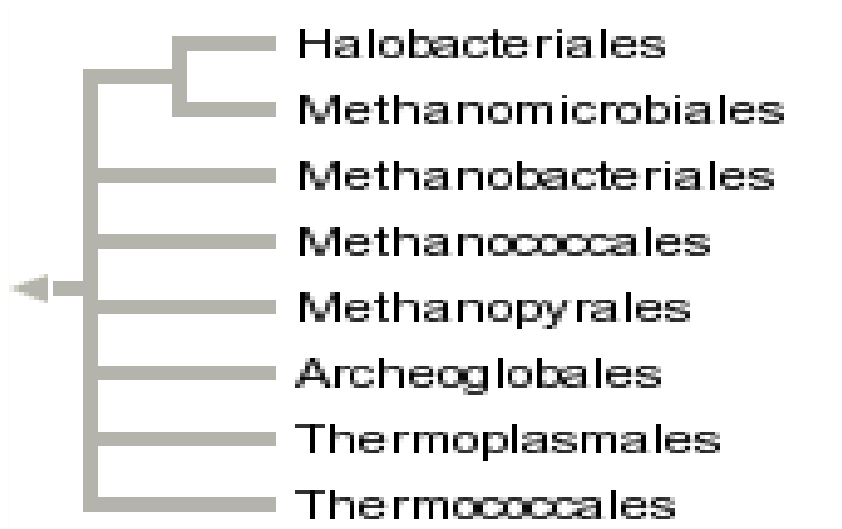


Рис. 7. Представники групи Archezoa

Згодом з'ясували, що білки теплового шоку, пов'язані з біогенезом мітохондрій, зустрічаються у всіх груп *Archezoa*. Цікаво, що у *Parabasalia* білки теплового шоку транспортуються та розташовуються в гідрогеносомах – мембранно-зв'язаних органелах розміром біля 1 мкм, які продукують водень. Оскільки у деяких війчастих найпростіших гідрогеносоми до того ж нагадують мітохондрії, логічно припустити, що гідрогеносоми – це видозмінені мітохондрії.

Гідрогеносоми зустрічаються у деяких анаеробних найпростіших (*Ciliatae*) та грибів хітридіоміцетів, які мешкають у шлунку (рубці) жуйних тварин. Організми, які несуть гідрогеносоми, можуть бути як вільноживучими, так і паразитичними та відноситися до різних філогенетичних груп. Їх об'єднує пристосованість до життя в середовищі без кисню або з дуже малим його вмістом. Була висловлена гіпотеза, що гідрогеносоми походять від мітохондрій, позбавившись при цьому дихальних ферментів та мтДНК. Однак нещодавно з'явилося повідомлення про наявність в гідрогеносомах анаеробного

війчастого паразиту *Nyctotherus ovalis* рибосом та молекул ДНК. Було показано, що гідрогеносомний ген рРНК малої субодиниці активно експресується *in vitro*.

Зв'язок гідрогеносом з походженням еукаріот обговорюється у так званій «водневій гіпотезі». Згідно з нею еукаріоти виникли при асоціації анаеробних, водень-залежних автотрофних археобактерій (господарів) з еубактеріями (симбіонтами), котрі могли дихати, але виділяли водень як зайвий продукт гетеротрофного метаболізму. Залежність господаря від водню, який виділяється симбіонтом, виявилася селективним фактором, який привів до виникнення симбіотичних еукаріотичних клітин. Такі протоеукаріотичні клітини містили геном, який складався з суміші археобактеріальних та еубактеріальних генів, отриманих від відповідних бактерій. В подальшому відбувся ще один ендосимбіотичний акт, внаслідок чого виникли мітохондрії (рис. 8).

Це не єдина гіпотеза, однак слід зазначити, що вони аналогічні і відрізняються за гіпотетичними учасниками ендосимбіотичних подій. Ймовірно, на ранніх етапах еволюції еукаріотичної клітини неодноразово стихійно виникали асоціації примітивних еукаріотичних попередників з різними бактеріями, однак лише певний тип ендосимбіозу привів до прогресу, внаслідок чого утворилося все різноманіття багатоклітинних еукаріот. Процес цей надзвичайно тривалий – більше двох мільярдів років відбувалося формування еукаріотичної клітини на основі прокаріотичної, ще мільярд років був потрібен для виникнення багатоклітинних організмів.

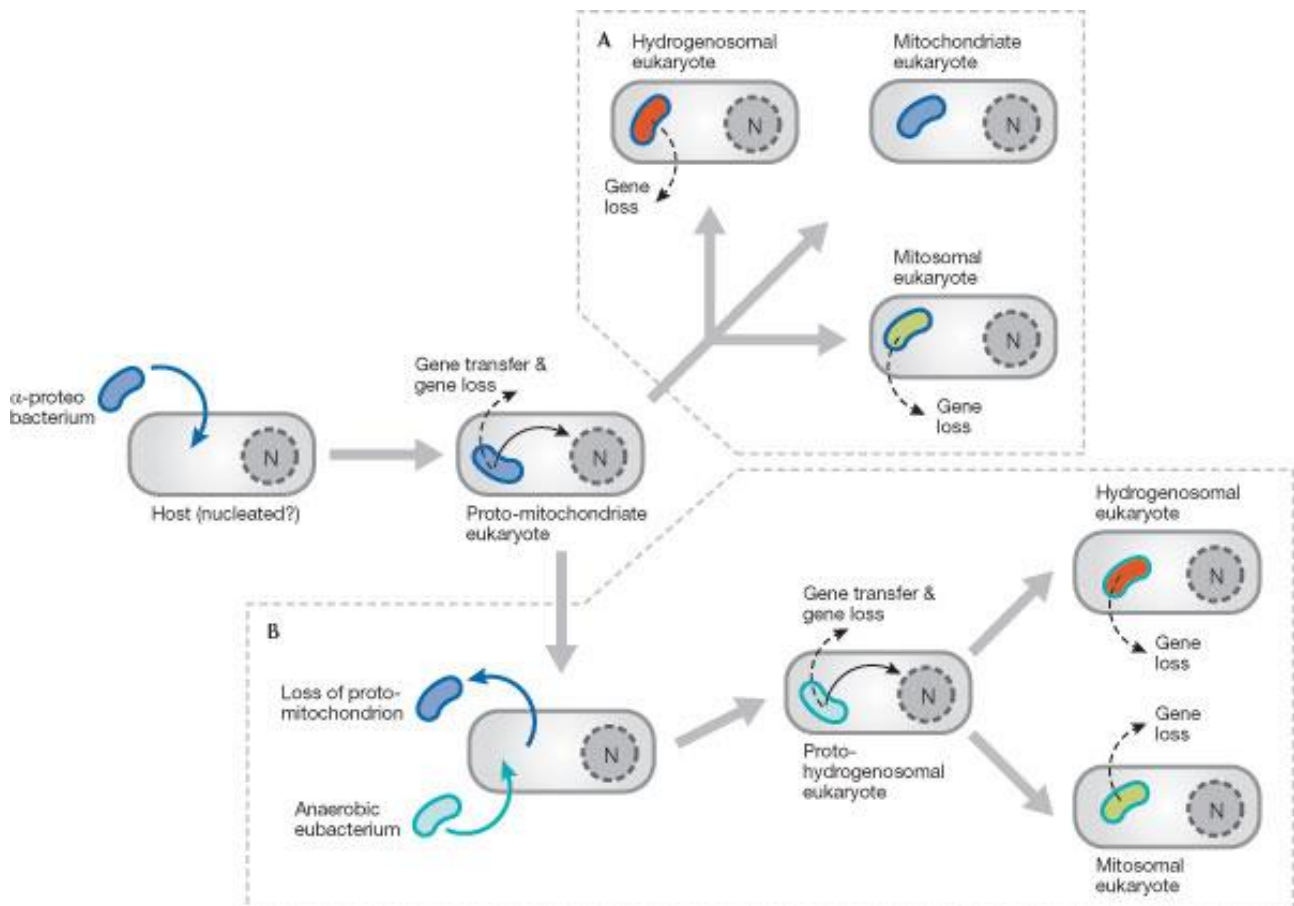


Рис. 8. Два можливі сценарії утворення мітохондрій та гідрогеносом
[по Lang et al., 1999]

Надзвичайна цитологічна, біохімічна та молекулярна різноманітність найпростіших не могла не відбитися на структурі їх мітохондріальних геномів. Молекули мтДНК можуть бути як лінійними, так і кільцевими. Вони можуть складатися як у кінетопластних найпростіших – з мережі зчеплених кілець. Нарешті, вони дуже різноманітні за кількістю та набором генів (рис. 9).

На основі здобутих на сьогодні відомостей неможливо уявити детальну картину еволюції мітохондріальних геномів найпростіших. Ймовірно, на цьому етапі розвитку живих організмів була випробувана найбільша кількість можливих варіантів, в тому числі і в залежності від різноманітності певних екологічних умов, в яких опинялися організми.

В теперішній час «філогенетичний пролом» між прокаріотичним та мітохондріальним геномами обмежений, з одного боку, мітохондріальним геномом *Reclinomonas americana*, який є найбільш «бактері-

оподібним» з усіх ідентифікованих, та, з іншого боку, найбільш «мітохондріоподібним» бактеріальним геномом *Rickettsia prowazekii*. Подальший пошук, можливо, дозволить зменшити цей розрив, якщо будуть знайдені ще менш редуковані мітохондріальні геноми або ще більш подібні до мітохондріальних бактеріальні геноми.

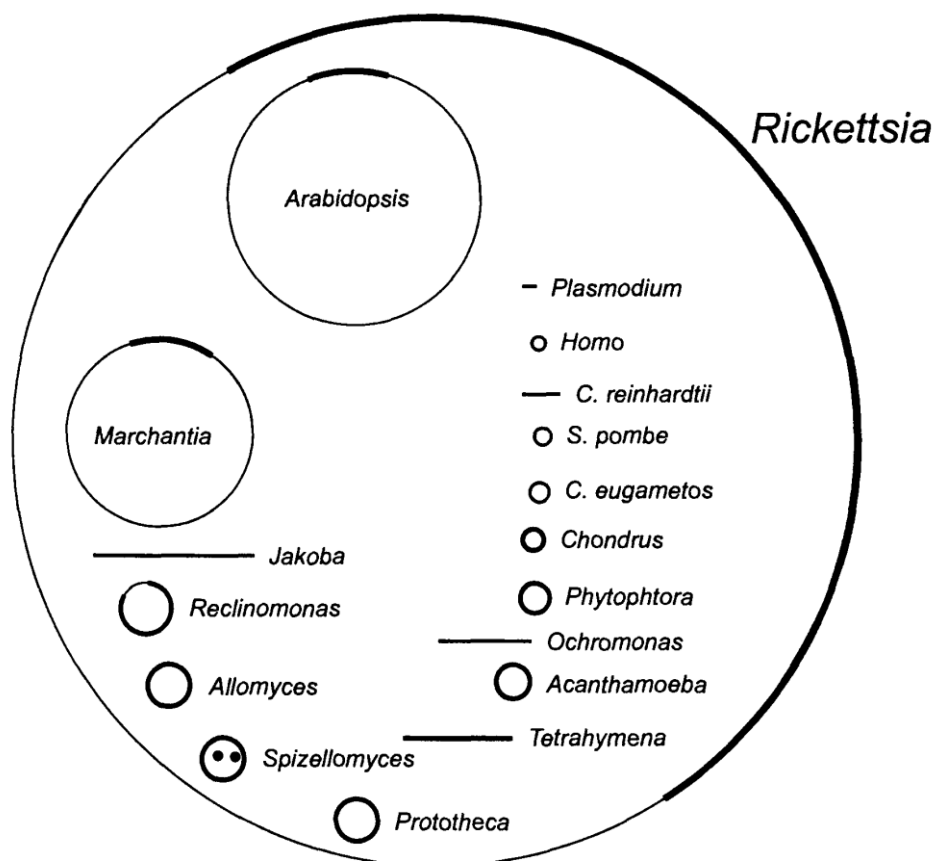


Рис. 9. Розмір та здатність до кодування мітохондріальних геномів у порівнянні з геномом α -протеобактерій.

Представлені кільцеві та лінійні геноми. Для геномів розміром більше 60 т. п. о. жирна дуга – ДНК, що кодує гени з відомою функцією: тонка дуга – ДНК, що кодує гени з неідентифікованими OFR та міжгенні послідовності [по Lang et al., 1999]

Походження пластид

Подібно до мітохондрій, хлоропласти з'явилися в клітині внаслідок ендосимбіозу. Примітивні еукаріотичні одноклітинні організми, захоплюючи фотосинтезуючих прокаріот, поступово перетворили їх у внутрішньоклітинні компоненти, що продукують енергію – в пластиди.

Аналіз перших секвенованих хпДНК вказав на еволюційну спорідненість пластидних та бактеріальних геномів. Загальноприйняте, що предками хлоропластів є ціанобактерії. Розміри геному сучасних ціанобактерій коливаються від 2 700 т. п. н. до 6 400 т. п. н., в той час як величина пластидного геному варіює від 89 т. п. н. до 292 т. п. н. В секвенованому геномі ціанобактерії *Synechocystis* було ідентифіковано 3 229 генів. Таким чином, як і у випадку мітохондрій, відбувалася редукція ДНК пластид, внаслідок чого збереглося 1–5 % первісного прокаріотичного геному (рис. 10).

Рис. 10. Філогенетичний розподіл генних втрат з хлоропластного геному.

Отримані згодом повні нуклеотидні послідовності пластидної ДНК зелених та не зелених фотосинтезуючих еукаріот, а також гено-

му ціанобактерій *Synechocystis* роблять можливим порівняння набору генів та їх послідовності в різних систематичних групах.

Одним з найменш редукованих пластидних геномів з вивчених водоростей і наземних рослин є геном зеленої водорості *Nephroselmis olivaceae*: в молекулі розміром 200 799 п. н. ідентифіковано 127 генів. Їх спектр також підтверджує походження пластид від ціанобактерій. Ще більш повний набір – 182 гени – знайдений в пластомі червоної водорості *Porphyra purpurea*.

Зовсім незвичайний результат був отриманий при вивченні пластоми деяких дінофлагелят. Окремі їх гени, як рРНК, так і ті, що кодують білок, локалізуються у міні-кільцях ДНК (2–3 т. п. н.). Кожне міні-кільце несе по одному гену, крім того, у незначущій області усі вони містять характерну консервативну послідовність. Така організація пластоми дещо нагадує міні-кільцеві молекули ДНК в мітохондріях мезозойських тварин, але для пластидної ДНК цілком унікальна (рис. 11).

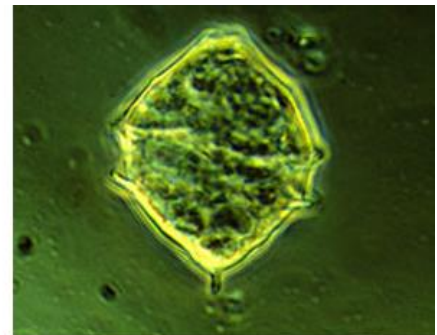


Рис. 11. Унікальний пластидний геном *Heterocapsa triquetra*

Три групи – 1) червоні водорості, 2) зелені водорості та наземні рослини і 3) глаукоцистофіти – містять пластиди, які є результатом первинного ендосимбіозу з прокаріотичним автотрофом (рис 12). Такі пластиди обмежені подвійною фосфоліпідною мембраною та дуже схожі за багатьма ознаками (гени малої субодиниці рРНК, *tufA*, *atpB*, *rpoC1*, *psbA*), що дозволяє казати про їх монофілетичне походження від спільного предка. Присутність в пластидах всіх груп генних кластерів, які не знайдені у ціанобактеріях, також вказує на те, що ці кла-

стери сформувалися у деякого спільного предка вже після ендосимбіотичного утворення пластид.

Найбільш вивченим представником глаукоцистофітів є *Cyanophora paradoxa*, своєрідні пластиди якої мають особливу назву – ціанели. Ці органели, як і ціанобактерії, зберегли пептидогліканову стінку та схожий набір пігментів, тому спочатку вважали, що ця водорість – результат «пізнього» ендосимбіозу, який відбувся нещодавно. Однак знаходження в геномі ціанел 192 генів при розмірі кільцевої молекули ДНК 135 599 п. н. показало, що вони є, безперечно, ранньою гілкою пластидної еволюції, яка зберегла багато примітивних ознак ціанобактерій, і тому можуть вважатися «молекулярними викопними».

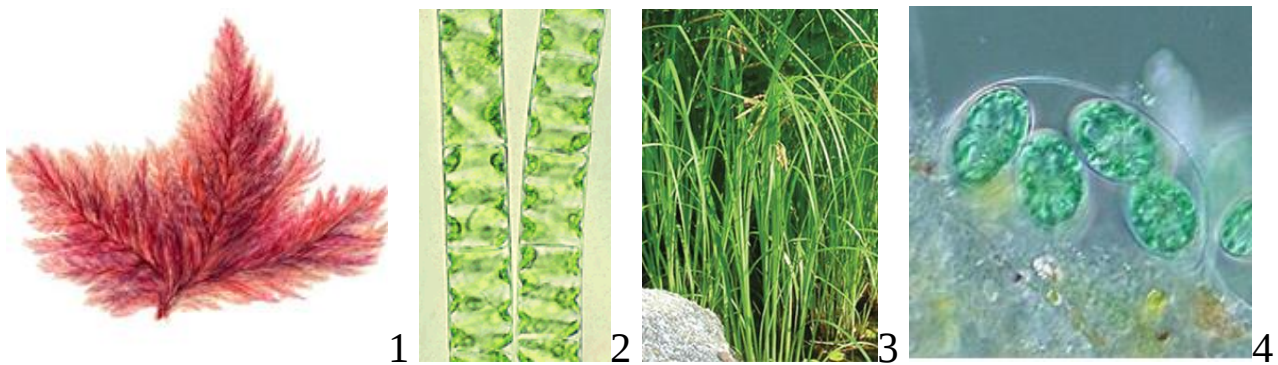


Рис. 12. Рослини з пластидами, які є результатом первинного ендосимбіозу з прокаріотичним автотрофом: 1 – червоні водорості; 2 – зелені водорості; 3 – наземні рослини; 4 – глаукоцистофіти

В пластидах різних систематичних груп є декілька різних пігментів світлозбираючого комплексу. Існує два можливих пояснення цьому. Спільний предок пластид міг містити різні фотопігменти та зв'язані з ними світлозбираючі системи, але в кожній філогенетичній гілці зберігся лише один тип. Інша можливість криється в тому, що нові пігменти могли утворюватися з первісно існуючої хлорофіл *a* / фікобілінової системи в ході еволюції. Отримані нещодавно дані про широку різноманітність пігментних комбінацій у прохлорофітних представників ціанобактерій – кріптомонад та жовто-зеленої водорості *Montoniella squamata* – підтримує першу гіпотезу. Таким чином, з великою вірогідністю можна припустити, що світлозбираючі ком-

плекси всіх фотосинтезуючих еукаріот мали монофілетичне походження, а хлоропласти – спільного предка.

Ендосимбіотичні процеси з участю пластид неодноразово відбувалися в процесі еволюції. Так звані вторинні ендосимбіозы виникають при поглинанні фаготрофними найпростішими вже не ціанобактерій, а еукаріотичних одноклітинних водоростей, які несуть первинні пластиди. Вважають, що так придбали пластиди декілька груп водоростей, в тому числі дінофітові, евгленові, бурі, діатомові, кріптомонади, хлорарахніофіти. З цих водоростей лише у кріптомонад та хлорарахніофітів збереглися залишки ядер їх еукаріотичних симбіонтів у вигляді так званих нуклеоморфів.

Методом ПЛР вдалося показати наявність у цих водоростей двох малих цитоплазматичних рРНК генів. Шляхом гібридизації *in situ* показана експресія одного з них нуклеоморфом, в той час як експресія іншого гена здійснювалась ядром клітини-господаря. Виникнення вторинних ендосимбіотичних пластид та нуклеоморфів відбувалося приблизно 500–200 мільйонів років тому (рис. 13).

Незважаючи на те, що нуклеоморфи виявлені у двох різних систематичних груп водоростей, які незалежно придбали вторинних ендосимбіонтів, в обох випадках у них є по три редуковані хромосоми. Загальний розмір нуклеоморфного геному хлорарахніофітів досягає 13 т. п. н., він дуже компактний, гени перекриваються, деякі з них ко-транскрибуються. Всі сім білкових генів несуть мініатюрні інтрони. Нуклеоморфи одного з видів кріптомонад (*Guillardia theta*) містять по три міні-хромосоми. Їх теломери суттєво відрізняються від теломер інших еукаріот. Замість типового гексамерного повтору (звичайно TTAGGG) вони несуть повтор послідовності (AG)₇(AAG)₆A. На відміну від хлорарахніофітів, жодний з 38 білок-кодуючих генів *Guillardia* не містить інтронів. Щільність розташування генів на хромосомі (один на 0,8 т. п. н) є найбільшою з будь-яких клітинних геномів.

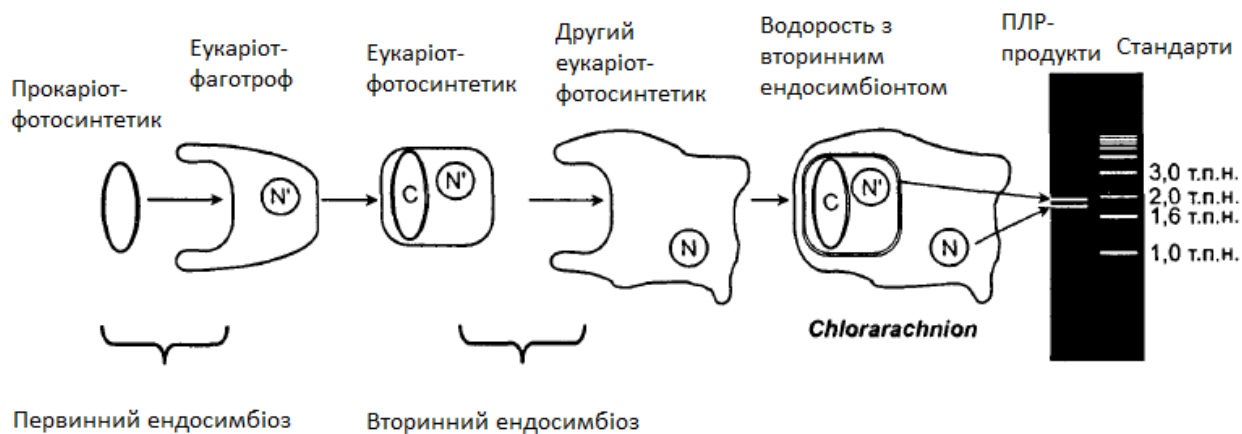


Рис. 13. Гіпотетичне надбання хлоропластів під час двох послідовних ендосимбіотичних актів.

Еукаріот захоплює прокаріота-фотосинтетика, що приводить до утворення хлоропласта з подвійною мембраною (C), як це спостерігається у червоних та зелених водоростей, наземних рослин. В процесі вторинного ендосимбіозу клітину водорості поглинає інший еукаріот, внаслідок чого утворюється хлоропласт з чотирма мембранами. Ядро (N') і цитоплазма захопленої клітини локалізовані між другою та третьою мембранами. Як свідчить ПЛР-аналіз рРНК генів, ампліфікується як ген ядра господаря (N), так і ген редукованого ядра ендосимбіонта (N') [по McFadden et al., 1994].

Можливою причиною збереження нуклеоморфів лише у зазначених груп водоростей є збереження в них деяких генів, які первісно знаходилися у ядрі водорості первинного ендосимбіонта і є необхідними для життя пластид, але не були перенесені до ядра нового господаря. У кріптомонад вдалося знайти два таких необхідних для пластид гени. Один з них кодує FtsZ – прокаріотичний білок, який бере участь в поділі клітин, його хлоропластна локалізація доведена для вищих рослин і мохів. Другий ген кодує білок рубредоксин – залізовмісний переносник електронів. Інші гени, знайдені в цих редукованих «реліктових» ядрах, необхідні для підтримання та реплікації самих нуклеоморфів.

Таким чином, нуклеоморфи представляють собою унікальні утворення, які мають ряд типових рис еукаріотичного ядерного геному: хромосоми з теломерами, гістонові та тубулінові гени і, ймовірно, здатність до мітотичного поділу. В той же час ряд рис нуклеоморфів (короткі міжцистронні послідовності, гени, які перекриваються та ко-транскрибуються) типові для органельних геномів та пов'язані, без-

перечно, з їх внутрішньопластидною локалізацією та особливою функцією.

За розмірами геному нуклеоморфи дуже близькі до облігатних внутрішньоклітинних паразитів. Однак у останніх зовсім інший набір генів – вони зберігають здатність кодувати цілий ряд метаболічних ферментів. В цьому і криється фундаментальна відміна: бактерії, хоча і є внутрішньоклітинними паразитами, все ж залишаються генетично незалежними організмами, в той час як водорість, ядро якої зберіглося у вигляді нуклеоморфа, перестала бути самостійним організмом. Вона інтегрувалася у нову химерну клітину, придбавши здатність імпортувати необхідні білки з цитоплазми та обмінюватися метаболітами. При цьому гени метаболічних систем водорості-предка були поступово втрачені, крім тих, що забезпечують експресію генів, які кодуються нуклеоморфом. У інших систематичних груп, котрі також отримали пластиди червоних водоростей шляхом вторинного ендосимбіозу, всі пластидні гени були перенесені в ядро господаря і нуклеоморф був втрачений в процесі еволюції.

Унікальний симбіоз молюска та водорості

Тривале співіснування хлоропластів водоростей в клітинах морських слимаків *Elysia chlorotica* – приклад унікального симбіозу (рис. 14). Справедливості ради слід зазначити, що цей вид – не єдиний, що бере участь у такому симбіозі. З 86 видів аскоглосових молюсків, до яких відноситься цей слимак, 82 % мають зелене забарвлення, однак не у всіх видів хлоропласти тривало існують в організмі та проявляють фотосинтетичну активність.



Рис. 14. Морський слимак *Elysia chlorotica*. Розміри тварин коливаються від 1 до 6 см

Звичайно *E. chlorotica* проколює або зрізає крупні клітини сифонових водоростей, весь вміст клітин відкидається, за виключенням пластид, які шляхом фагоцитозу потрапляють до клітин травної системи. Там вони здатні існувати 9 та більше місяців (рис. 15). При цьому вони успішно фотосинтезують і виконують для тварини господаря відразу ж дві функції – живлення та захисту. Зелене забарвлення, котре слимаки придбають завдяки хлоропластам, робить їх непомітними серед водоростей. З іншого боку, продукти фотосинтезу є вихідними для синтезу захисних компонентів та рясної слизі, яка теж оберігає слимаків. Доведено, що донорами пластид можуть бути різні види водоростей.

Було виявлено, що після 8 місяців культивування пластиди *E. chlorotica* все ще містили хпДНК і транскрипти двох хлоропластних генів – *psbA* та 16S рРНК. Знайдені також білки фотосистем, які синтезуються пластидами – D1, D2, CP43 та показаний їх активний синтез протягом 8 місяців. Всі спроби знайти у симбіонтів будь-які сліди ядер водоростей не увінчалися успіхом.

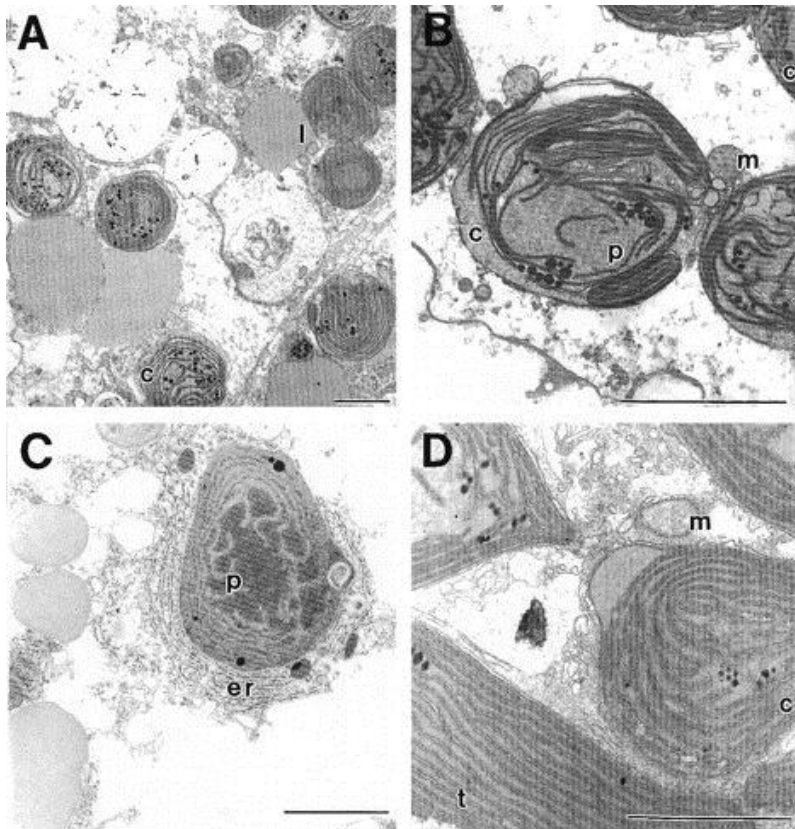


Рис. 15. Електронно-мікроскопічні фотографії хлоропластів:

A, B – інтактні хлоропласти в клітинах *Elysia chlorotica*;
C, D – хлоропласти в клітинах водорості *Vaucheria litorea*

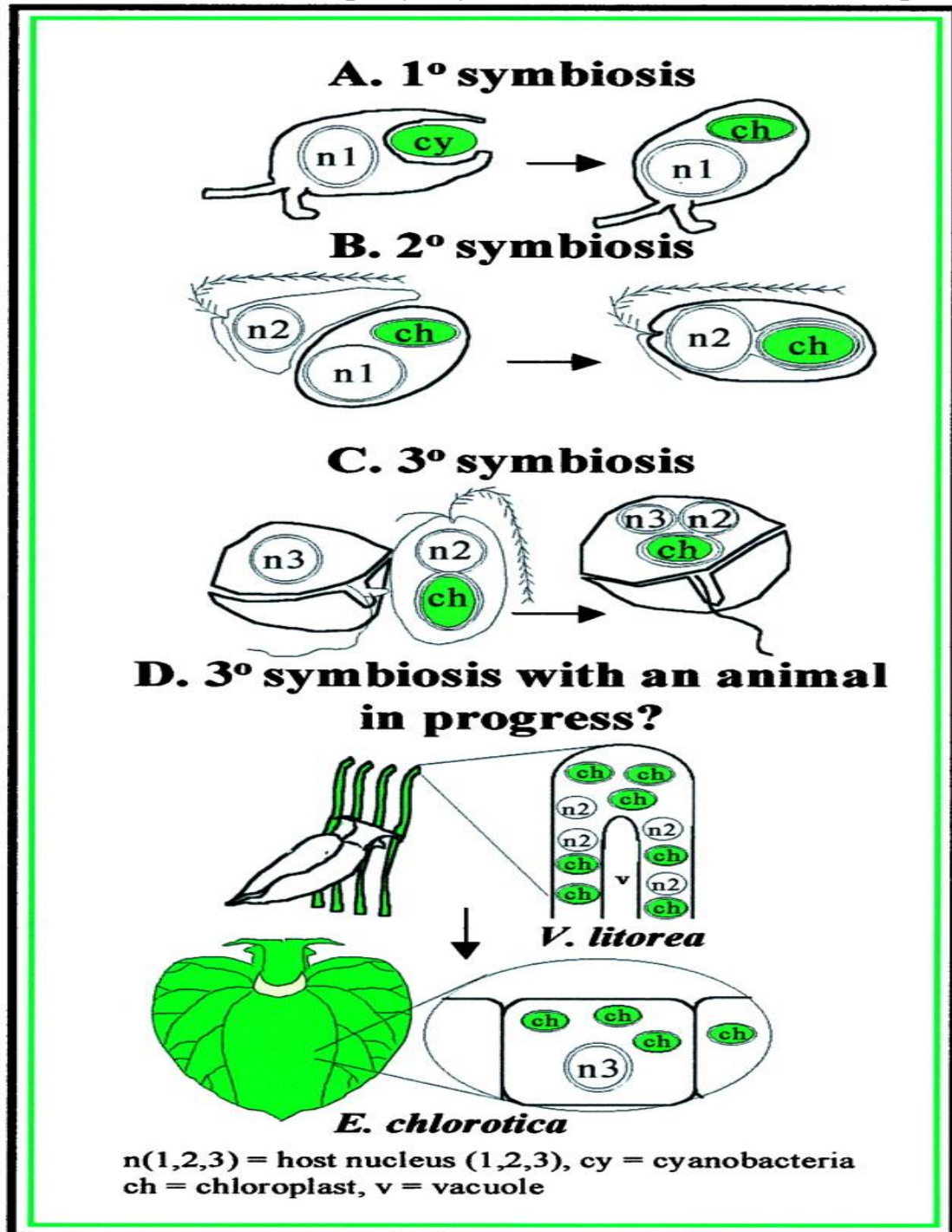
Таким чином, для пояснення такого тривалого автономного функціонування пластид можна припустити, що:

- пластиди мають дуже високий рівень автономності;
- самі пластиди та їх білки дуже стабільні;
- мінімальний набір білків, потрібних для підтримання активності пластид, менше, ніж вважалося;
- відбувається переадресування білків мітохондрій або якихось інших білків слимаків з такою ж або спорідненою функцією до пластид;
- відбувається латеральний переніс генів з водоростей до слимаків.

Подальші дослідження допоможуть встановити, як саме досягається таке тривале успішне автономне від власного ядра існування пластид в клітинах тіла слимаків.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

Опишіть наведені на рисунку акти симбіозів. Наведіть приклади.



Дайте відповіді на запитання:

1. Коли вперше були висловлені думки про симбіотичне походження еукаріотичних клітин?

2. Які організми є сучасними нащадками попередників мітохондрій?
3. Наведіть докази бактеріального походження мітохондрій.
4. Чи можлива вторинна втрата мітохондрій?
5. Що таке гідрогеносоми та їхні функції?
6. Наведіть докази спорідненості пластидних та бактеріальних геномів.
7. Опишіть шляхи еволюції мітохондріальних та пластидних геномів.

Тести для самоконтролю знань з теми
(оберіть вірну відповідь)

1. Вперше ендосимбіотична гіпотеза походження еукаріотів була висловлена в працях:

- а) К. Корренса та Є. Баура;
- б) Р. Альтмана та А. Шимпера;
- в) М. Родса та М. І. Хаджинова;
- г) А. Кюна та Б. Ефрусі.

2. Пошук бактерій-попередників мітохондрій первісно був побудований на порівняльному аналізі:

- а) генів малої субодиниці рРНК;
- б) генів великої субодиниці рРНК;
- в) генів тРНК;
- г) генів міРНК.

3. Найменш редукованим з усіх відомих є мітохондріальний геном:

- а) *Jakoba libera*;
- б) *Rickettsia prowazekii*;
- в) *Entamoeba histolytica*;
- г) *Reclinomonas americana*.

4. Вторинна втрата мітохондрій, пов'язана з паразитичним образом життя, відбулася у:

- а) *Jakoba libera*;
- б) *Rickettsia prowazekii*;
- в) *Entamoeba histilytica*;
- г) *Reclinomonas americana*.

5. Яка з гіпотез походження еукаріотичної клітини найбільш переконливо підтверджена фактами:

- а) ендогенної компартменталізації;
- б) ендосимбіозу;
- в) обидві рівновірогідні.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Січняк О. Л. Нехромосомна спадковість. Конспект лекцій. Одеса: ОНУ, 2004. 176 с.
2. Тоцкий В. М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2008. 712 с.
3. Lewin's Genes XII / J.E. Krebs, E.S. Goldstein, S.T. Kilpatrick. Jones & Bartlett Learning. 2018.
4. Molecular Biology of the Cell / B. Alberts [et al.]. 4-th edition. N.-Y, 2007.
5. Seligmann, H., (Ed.). (2018). Mitochondrial DNA - New Insights. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72029>.
6. Plastid Genome Evolution (ISSN Book 85) 1st Edition, Kindle Edition by Shu-Miaw Chaw (Editor), Robert K. Jansen (Editor). Academic Press, 2018.

Навчальне видання

ПОЗАХРОМОСОМНА СПАДКОВІСТЬ

Походження клітинних органел

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

до самостійної роботи
з курсу «Позахромосомна спадковість»
для студентів
другого (магістерського) рівня вищої освіти

Електронне практичне видання

Укладач

Січняк Олександр Львович

В авторській редакції

Затвердж. авт. 25.03.2024. Шрифт Times New Roman.
Системні вимоги: операційна система сумісна з програмним забезпеченням
для читання файлів формату PDF.
Обсяг 1,4 МБ. Зам. № 2774.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua