

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ И ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В ИМПОРТЕ ДНК

*Е.С. Клименко, В.В. Шмаков, Т.А. Болотова, И.Ю. Субота,  
В.И. Тарасенко, М.В. Кулинченко, Ю.М. Константинов*  
ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,  
Иркутск, e-mail: katia.klimenko@gmail.com

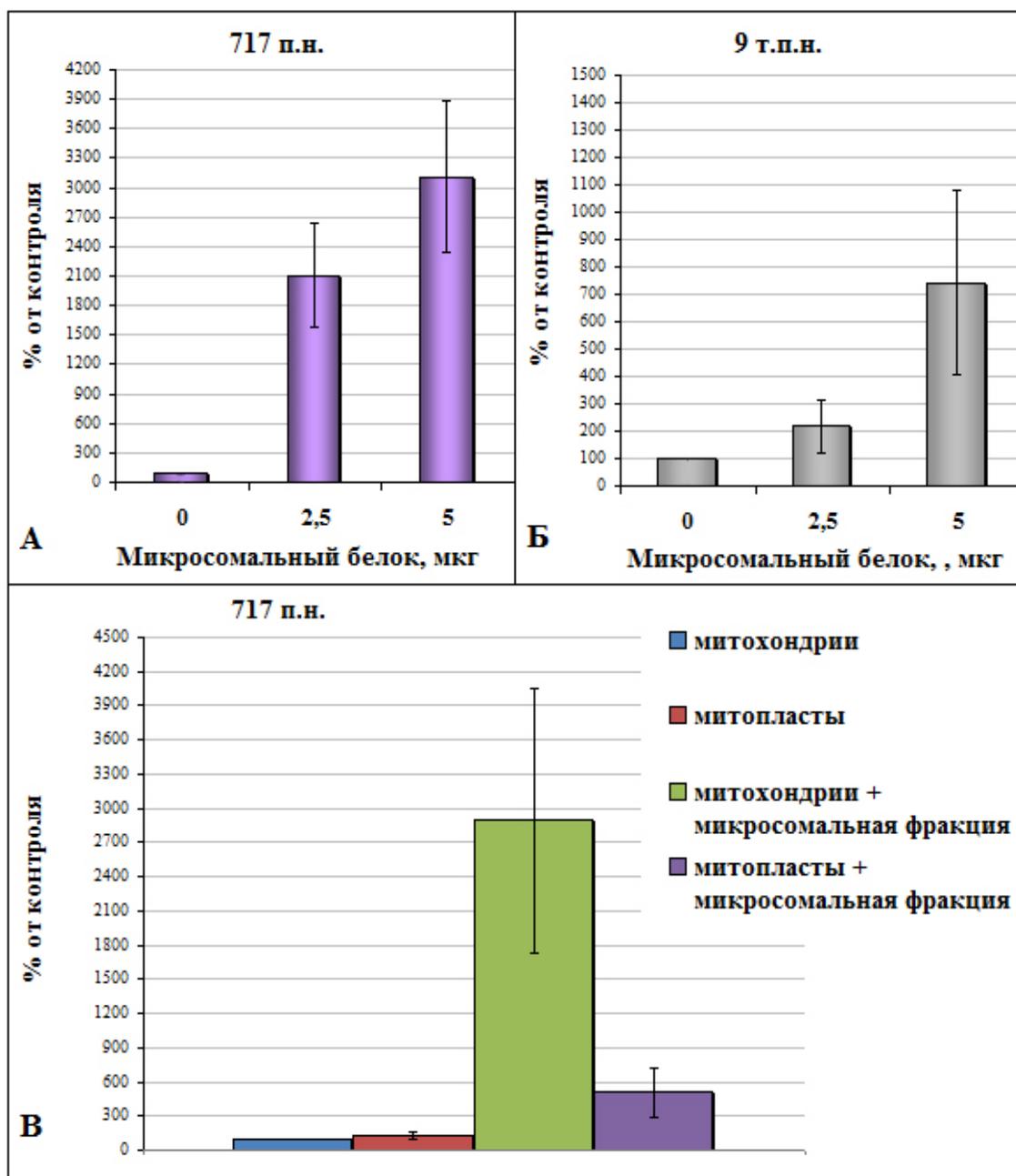
В настоящее время общепринято считать, что взаимодействие митохондрий и эндоплазматического ретикулума (ЭР) является обязательным условием функционирования эукариотической клетки. Структурные взаимодействия митохондрий и ЭР достигаются за счет формирования белковых комплексов, что оказывает значительное влияние на морфологию митохондрий, процессы их слияния и деления, репликацию мтДНК, передачу различного рода сигналов и ионов (в особенности ионов кальция), а также импорт белков и липидов в митохондрии (Kornmann et al., 2009, 2010; Wiedemann et al., 2009).

Ранее нами было показано, что изолированные митохондрии растений обладают способностью импортировать молекулы ДНК (Koulintchenko et al., 2003). Тем не менее, нельзя исключить, что структурно-функциональные комплексы в зонах мембранных контактов, участвующие в процессах обмена различных метаболитов между ЭР и митохондриями, могут оказывать свое влияние также и на транспорт ДНК в митохондрии. Исходя из этого, мы попытались осуществить реконструкцию внутриклеточных взаимодействий митохондрий и эндоплазматического ретикулума с целью изучения влияния мембран ЭР на импорт ДНК. Для этой цели импорт ДНК в системе *in organello* проводили в присутствии общей микросомальной фракции (фрагментированных мембран ЭР). Подобный способ реконструкции внутриклеточных взаимодействий между митохондриями и ЭР был использован для изучения импорта липидов в изолированные митохондрии дрожжей и млекопитающих (Vance et al., 1990; Achleitner et al., 1999).

В результате проведенного исследования обнаружен значительный стимулирующий эффект микросомальных мембран на активность импорта ДНК в изолированные митохондрии картофеля. Присутствие 5 мкг микросомального белка усиливало импорт фрагмента ДНК размером 717 п.н. примерно в 30 раз (рис. 1, А). Для фрагмента ДНК длиной 9 т.п.н. степень активации была значительно ниже (рис. 1, Б).

С целью выявления специфичности влияния мембранной фракции ЭР нами протестировано проявление эффекта микросом на импорт ДНК в митохондрии и митопласты (митохондрии, у которых была удалена внешняя мембрана). Добавление в среду инкубации 5 мкг микросомального белка стимулировало импорт ДНК в изолированные митохондрии картофеля, в среднем в 20–29 раз, а в митопласты – в 4–6 раз (рис. 1, В). Таким образом, для активации импорта ДНК необходимо взаимодействие микросомальной фракции либо с внешней мембраной митохондрий, либо с контактными сайтами обеих митохондриальных мембран. Очевидно, что именно белки внешней мембраны митохондрий играют ключевую роль в формировании структурно-функциональных комплексов между митохондриями и мембранными структурами ЭР.

В специальной серии экспериментов установлено, что активирующее влияние микросомальной фракции имеет выраженный видоспецифический характер. Активация транспорта ДНК в митохондрии такого представителя двудольных растений как картофель в присутствии микросом, полученных из двудольных растений (*Solanum tuberosum*, *Arabidopsis thaliana*), была значительно выше по сравнению с эффектом микросомальной фракции кукурузы (*Zea mays*), являющейся представителем однодольных.



**Рис. 1. Импорт ДНК в изолированные митохондрии *S. tuberosum* в присутствии микросомальной фракции.**

Анализ эффективности импорта фрагментов ДНК длиной 717 п.н. (А) и 9 т.п.н. (Б). 0 – импорт ДНК в изолированные митохондрии (без микросомальной фракции). (В) Импорт фрагмента ДНК длиной 717 п.н. в присутствии микросомальной фракции картофеля (5 мкг). Митохондрии – импорт фрагмента ДНК длиной 717 п.н. в изолированные митохондрии (без микросомальной фракции). Митопласты – импорт ДНК в митопласты. Анализ активности импорта проводили с использованием метода ПЦР в реальном времени.

Несмотря на то, что в настоящее время практически отсутствует информация о составе этих белковых комплексов в растениях, на основании полученных данных мы предполагаем, что, помимо митохондриальных белков, в формировании определенных каналов/пор, способствующих импорту ДНК в митохондрии в условиях *in vivo*, очевидно, могут принимать участие и белки ЭР.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-04-00603), с использованием оборудования ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН.

## Литература

*Achleitner G., Gaigg B., Krasser A., Kainersdorfer E., Kohlwein S.D., Perktold A., Zellnig G., Daum G.* Association between the endoplasmic reticulum and mitochondria of yeast facilitates interorganelle transport of phospholipids through membrane contact // *Eur J Biochem.* – 1999. – V. 264 (2). – P. 545–553.

*Kornmann B., Currie E., Collins S.R., Schuldiner M., Nunnari J., Weissman J. S., Walter P.* An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen // *Science.* – 2009. – V. 325. – P. 477–481.

*Koulintchenko M., Konstantinov Y., Dietrich A.* Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex // *EMBO J.* – 2003. – V. 22 (6). – P. 1245–1254.

*Vance J.E.* Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria // *J Biol Chem.* – 1990. – V. 265 (13). – P. 7248–7256.

*Wiedemann N., Meisinger C., Pfanner N.* Connecting organelles // *Science.* – 2009. – V. 325. – P. 403–404.