

ANDRZEJ B. LEGOCKI

*Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Z. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań*

ORGANIZACJA I BUDOWA GENOMU ROŚLINNEGO

Ewolucja wykształciła dwie odrębne strategie różnicowania i rozwoju organizmów wielokomórkowych: dla organizmów zwierzęcych, które posiadają zdolność do przemieszczania się oraz dla organizmów roślinnych, które są w zasadzie przypisane do jednego miejsca. Dla roślin stało się to podstawą do wykształcenia ich genetycznej i metabolicznej plastyczności w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne i zmienność środowiska.

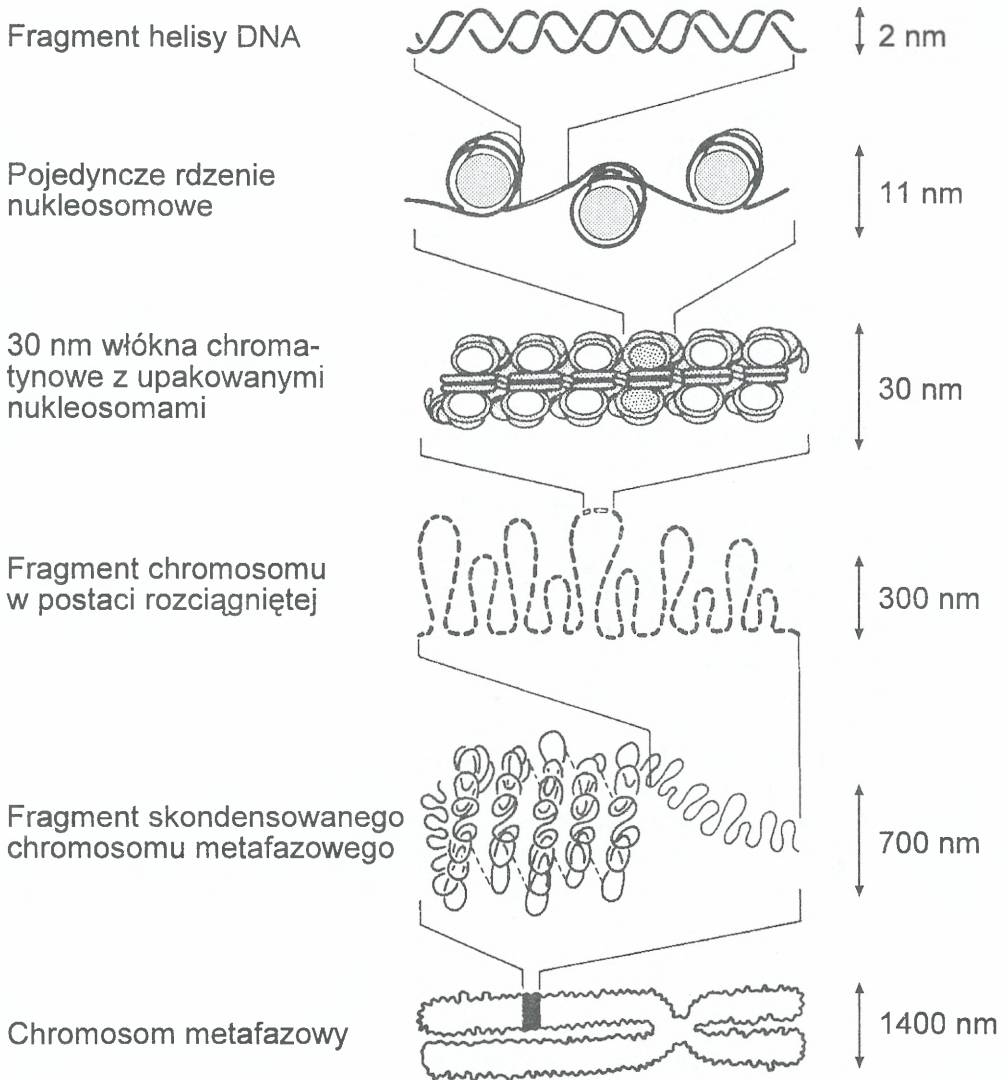
Konsekwencje takiego stanu rzeczy są bardzo znamienne i wyrażają się między innymi w przebiegu procesów różnicowania. Różnicowanie organizmów zwierzęcych zachodzi w stadium zarodkowym. U roślin natomiast wykształcanie nowych organów ma miejsce we wszystkich stadiach cyklu życiowego. Swoistymi rezerwuarami nowych komórek, z których formują się nowe organy są merystemy pędu i korzenia. W komórkach merystematycznych ma miejsce przetwarzanie wewnętrznych i zewnętrznych sygnałów morfogenezy, co w konsekwencji indukuje procesy różnicowania. U roślin ponadto, w przeciwieństwie do zwierząt, gamety wykształcają się z komórek somatycznych, które przeszły wiele podziałów mitotycznych i były ekspozowane na różnorodne bodźce środowiska.

Komórka roślinna zawiera 3 typy genomów — największy umiejscowiony w jądrze komórkowym oraz dwa mniejsze, organellowe — w mitochondriach i plastydach. Przypuszcza się, że genomy organellowe, zawierające stosunkowo niewielkie pule genów, są pochodzenia endosymbiotycznego. Ekspresja tych genomów zachodzi pod kontrolą genomu jądrowego.

ORGANIZACJA GENOMU JĄDROWEGO

Genom jądrowy roślin ma budowę podobną do genomów innych wyższych eukariotów. Jądrowy DNA jest upakowany w wysoce zorganizowane struktury chromosomów. Uporządkowanie materiału genetycznego ma charakter wielopoziomowy — od ułożonych w podwójne helisy łańcuchów DNA, z którymi są związane białka jądrowe, poprzez struktury chromatyny skupiające obszerne

fragmenty genomu, aż do skondensowanych chromosomów metafazowych (rys. 1). Chromosomy takie stają się aktywne transkrypcyjnie w interfazie cyklu komórkowego, kiedy to rozluźnienie upakowania umożliwia cząsteczkom polimerazy RNA i czynnikom transkrypcyjnym dostęp do łańcuchów DNA i rozpoczęcie procesu transkrypcji. W ten sposób zostaje zainicjowany proces odczytywania informacji genetycznej, zawartej w chromosomowym DNA.



Rys. 1. Schemat hierarchii i organizacji upakowania chromatydy odpowiadający skondensowanym chromosomom metafazowym roślin (wg WATSON i MURPHY 1993).

Poziom zawartości jądrowego DNA w komórce jest wielkością stałą i charakterystyczną dla danego gatunku. Oznaczoną chemicznie zawartość DNA można odnieść do pojedynczego jądra komórkowego i wyrazić jako wartość 1C lub 2C,

przy czym wartość 1C odnosi się do zawartości DNA w niereplikującym haploidiu. Zawartość jądrowego DNA waha się u różnych gatunków roślin od 0,5 do 200 pikogramów (BENNETT i współaut. 1982) (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość jądrowego DNA w roślinach wyższych (wybrane przykłady)

	Zawartość DNA (g/genom)	Ploidalność
<i>Arabidopsis thaliana</i> (rzodkiewnik pospolity)	$0,20 \times 10^{-12}$	(2x = 10)
<i>Raphanus sativus</i> (rzodkiew zwyczajna)	$0,40 \times 10^{-12}$	(2x = 18)
<i>Lycopersicon vulgare</i> (pomidor)	$0,75 \times 10^{-12}$	(2x = 24)
<i>Glycine maõ</i> (soja)	$0,90 \times 10^{-12}$	(4x = 40)
<i>Oryza sativa</i> (ryż)	$1,00 \times 10^{-12}$	(2x = 24)
<i>Beta vulgaris</i> (burak zwyczajny)	$1,20 \times 10^{-12}$	(2x = 18)
<i>Solanum tuberosum</i> (ziemniak)	$2,10 \times 10^{-12}$	(4x = 48)
<i>Gossypium hirsutum</i> (bawełna)	$3,00 \times 10^{-12}$	(4x = 52)
<i>Nicotiana tabacum</i> (tytoń)	$3,90 \times 10^{-12}$	(4x = 48)
<i>Zea mays</i> (kukurydza)	$3,90 \times 10^{-12}$	(2x = 20)
<i>Pisum sativum</i> (groch)	$4,90 \times 10^{-12}$	(2x = 14)
<i>Lolium perenne</i> (trawa życica trwała)	$4,90 \times 10^{-12}$	(2x = 14)
<i>Hordeum vulgare</i> (jęczmień)	$5,60 \times 10^{-12}$	(2x = 14)
<i>Secale cereale</i> (żyto)	$9,50 \times 10^{-12}$	(2x = 14)
<i>Vicia faba</i> (bób)	$13,30 \times 10^{-12}$	(2x = 12)
<i>Avena sativa</i> (owies)	$13,70 \times 10^{-12}$	(2x = 42)
<i>Allium cepa</i> (cebula)	$16,80 \times 10^{-12}$	(2x = 16)
<i>Triticum aestivum</i> (pszenica heksaploidalna)	$17,30 \times 10^{-12}$	(6x = 42)
<i>Haemanthus katharinae</i> (krasnokwiat)	$59,00 \times 10^{-12}$	(2x = 16)

1 pikogram (10^{-12} g) = $0,965 \times 10^9$ par zasad lub $6,4 \times 10^{11}$ daltonów. Dla porównania: zawartość DNA (g/genom) wynosi: CaMV – $0,84 \times 10^{-17}$, chloroplast grochu – $1,3 \times 10^{-16}$, *Escherichia coli* – $4,0 \times 10^{-15}$, człowiek – 6×10^{-12} .

Pojemność kodująca genomu roślinnego, oszacowana na podstawie zawartości jądrowego DNA u różnych gatunków roślin znacznie przekracza liczbę genów ulegających ekspresji. Zjawisko to jest związane z występowaniem w genomie dużych ilości powtarzalnych sekwencji DNA, które nie posiadają zdolności kodujących, a ich ilość jest skorelowana dodatnio z rozmiarami genomu. Przyjmuje się szacunkowo, że liczba genów strukturalnych kodujących białka wynosi w genomie roślinnym 30–70 tysięcy, to jest 10–20 razy więcej niż u *E. coli*. Przy założeniu, że białko roślinne składa się średnio z 350 aminokwasów, można przyjąć, że średnia długość genu roślinnego kodującego polipeptyd wynosi 2000 pz łącznie z intronami i regionami regulatorowymi. Oszacowana dla takiego wyliczenia wielkość tej części genomu jądrowego, która koduje białka, wyniosłaby $60\text{--}140 \times 10^6$ pz, co stanowi zaledwie małą część całkowitego genomu roślinnego (np. dla genomu grochu nie więcej niż 4%).

GENOMY ORGANELLOWE

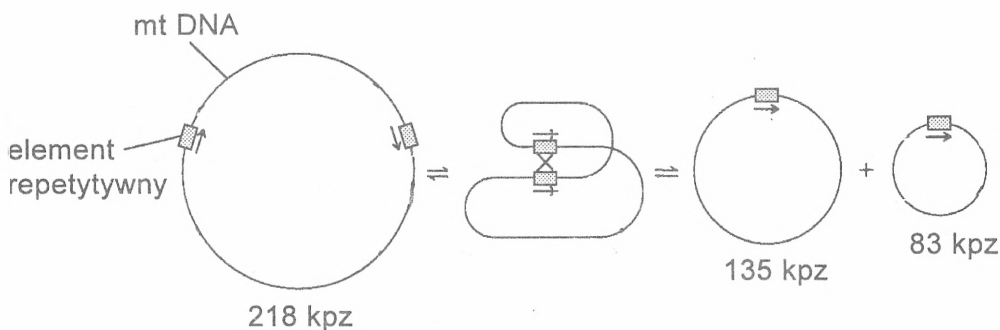
Genomy organellewo roślin wyższych mają charakter kolistych cząsteczek DNA (mitochondria — mtDNA, chloroplasty — ctDNA). Wyjątek stanowią liniowe mtDNA niektórych niższych eukariotów. W każdej pojedynczej organelli występuje na ogół kilka kopii chloroplastowego lub mitochondrialnego DNA. Mimo iż w genomach organellewo jest zakodowana stosunkowo ograniczona liczba białek, są one zdolne do prowadzenia replikacji swego DNA, transkrypcji, a także syntezy własnych białek. Procesy te zachodzą w stromie chloroplastów oraz w mitochondrialnej matriks. Jakkolwiek odczytywanie informacji genetycznej zdeponowanej w organellach zachodzi przy udziale białek chloroplastów lub mitochondriów, to jednak większość wymaganych komponentów i czynników białkowych potrzebnych dla tych procesów pochodzi z jądra.

Przebieg biosyntezy białka w organellach jest bardzo zbliżony do modelu bakteryjnego. Odnosi się to zwłaszcza do chloroplastów, których rybosomy nie tylko wykazują podobny do *E. coli* typ oporności antybiotykowej (chloramfenikol, streptomycyna, tetracyklina), znaczną homologię strukturalną do prokariotycznych rRNA, ale także funkcjonalne dopasowanie do bakteryjnych tRNA (synteza chloroplastowych polipeptydów rozpoczyna się od N-formylometioniny i może zachodzić z udziałem wszystkich tRNA z *E. coli*). Genom chloroplastowy, na który składa się kolisty DNA o długości 120–160 tys. pz (genom bakteriofaga T4 — 165 kpz) należy dziś do najlepiej opisanych typów genomu roślinnego. Ten sam, charakterystyczny dla danego gatunku, genom występuje u wszystkich plastydów: chloroplastów, chromatoplastów, amyloplastów i elajoplastów.

Obecnie jest poznana całkowita sekwencja kilkunastu chloroplastowych DNA. Dobrym przykładem jest genom chloroplastowy wątrobowca *Marchantia polymorpha* o długości 121,024 pz, który zawiera dwa odwrócone powtórzenia, 10,058 pz każde, zawierające geny rRNA (16S, 23S, 4,5S, 5S) i kilka innych zduplikowanych genów. Odcinki te są rozdzielone dwoma pojedynczymi sekwencjami — krótszą o długości 19,813 pz oraz dłuższą — w której są zlokalizowane geny dla 37 rodzajów tRNA oraz geny strukturalne kodujące białka: 4 podjednostki polimerazy RNA, białka rybosomalne (8 białek podjednostki 50S i 11 białek podjednostki 30S), 19 białek lub podjednostek białkowych aparatu fotosyntetycznego (w tym podjednostkę rybulozo 1,5-bisfosforanu karboksylazy i podjednostki F_0F_1 ATPazy), 10 białek zidentyfikowanych na podstawie homologii sekwencji DNA (homologicznych do podjednostek kompleksu NADH-CoQ reduktazy i ferodoksyny) oraz 28 niezidentyfikowanych otwartych ramek odczytu.

Niektóre regiony genomu chloroplastowego wykazują wysoką homologię do bakteryjnego DNA. Dotyczy to przede wszystkim 4 podjednostek polimerazy RNA i białek rybosomalnych. Istnienie tych homologii wspiera hipotezę o endosymbiotycznym pochodzeniu chloroplastów, która zakłada kolonizację bakterii fotosyntetycznych w pradawnej komórce eukariotycznej. Z kolei homologia niektórych genów kodujących podjednostki kompleksu NADH-CoQ do analogicznych genów pochodzenia mitochondrialnego może sugerować możliwy w trakcie ewolucji przepływ informacji genetycznej pomiędzy plastydami i mitochondriami.

Genomy mitochondrialne, na które składają się koliste cząsteczki mtDNA, a w niektórych przypadkach także dodatkowe linie formy DNA, podlegają znacznemu ewolucyjnemu zróżnicowaniu. Pośród nich genomy roślinne należą do najbardziej różnorodnych, zarówno pod względem organizacji, jak i wielkości — od 200 do 2400 kpz. Ich zróżnicowanie genetyczne wynika głównie z częstych rekombinacji zachodzących w obrębie dużych cząsteczek mtDNA zawierających różnej długości elementy repetetywne (rys. 2). Niektóre mitochondria zawierają oprócz chromosomowego DNA szereg małych kolistych cząsteczek plazmidowych DNA, występujących w różnych formach topologicznych. Ponieważ plazmidy mitochondrialne nie wykazują powinowactwa strukturalnego do chromosomowego DNA organelli, wątpliwości budzi ich funkcja biologiczna w mitochondrium i w komórce.



Rys. 2 Rekombinacja w obrębie mtDNA *Brassica campestris*. Koliste 218 kpz DNA zawiera dwa elementy repetetywne 2 kpz. Rekombinacja pomiędzy tymi elementami prowadzi do utworzenia dwu mniejszych cząsteczek mtDNA: 135 kpz i 83 kpz (wg PALMER i SHIELDS 1984).

Genom mitochondrialny koduje wszystkie rodzaje rybosomalnego RNA obecne w organelli (26S, 18S, 5S), jak też około 30 rodzajów tRNA. Podobnie jak genomy chloroplastowe, genom mitochondrialny zawiera geny kodujące wiele różnych podjednostek i białek membranowych uczestniczących w transporcie elektronów i syntezie ATP. Ponadto genom ten zawiera szereg sekwencji z niezidentyfikowanymi otwartymi ramkami odczytu oraz sekwencje transkrypcyjnie nieczynne lub kodujące transkrypty, którym nie można przypisać jakiegokolwiek funkcji. Mimo, że organizacja genomu mitochondrialnego oraz przebieg transkrypcji i translacji wykazują cechy typowe dla prokariotów, odnotować należy niespodziewane odstępstwa, jak na przykład występowanie intronów w kilku genach mitochondrialnych. Obecność w mtDNA kilku genów chloroplastowych (np. u *Zea mays* 16S rRNA, tRNA i duża podjednostka Rubisco, u *Oryza sativa* około 6% genomu mitochondrialnego pochodzi z chloroplastów) zdaje się potwierdzać wspomnianą wcześniej wymianę materiału genetycznego pomiędzy organellami w obrębie komórki roślinnej (HIRAI i NAKAZONO 1993).

Z ekspresją mitochondrialnego genomu roślin wyższych jest związane zjawisko tak zwanej cytoplazmatycznej męskiej sterylności. Określenie determinantów genetycznych tego zjawiska, a także udział w nim genów jądrowych ma duże

znaczenie dla hodowli i wyprowadzania hybrydów F₁ takich roślin uprawnych, jak: kukurydza, burak cukrowy, słonecznik i sorgo.

Z budową genomu mitochondrialnego wiąże się niezmiernie ciekawe zjawisko odmienności kodu genetycznego wykorzystywanego w genach mitochondrialnych w porównaniu do wszystkich innych genów prokariotycznego i eukariotycznego (jądrowego i chloroplastowego) pochodzenia.

ORGANIZACJA, BUDOWA I EKSPRESJA GENÓW ROŚLINNYCH

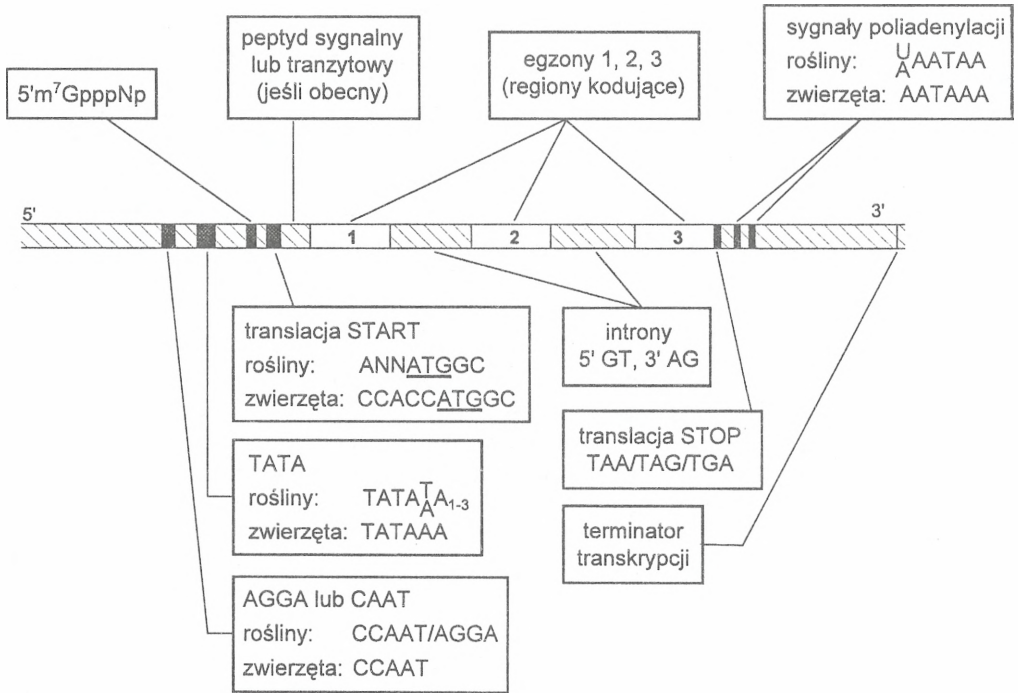
U roślin, podobnie jak u innych organizmów wyższych, organizacja genów ma charakter rozproszony w odróżnieniu do genomu bakteryjnego, w którym geny są skupione w funkcjonalne jednostki operonów. Nasza wiedza o architekturze genomu roślinnego jest wciąż fragmentaryczna. Trudno jednak przypuszczać, aby umiejscowienie poszczególnych genów struktury było w genomie całkowicie losowe. Wskazuje na to fakt, iż ekspresja genów ma charakter wysoce skoordynowany, zaś procesy indukcji i represji są odniesione zawsze do poszczególnych stadiów rozwoju i różnicowania, czy też określonych warunków środowiska.

Plastyczność genomu roślinnego jest wynikiem między innymi występowania wielogenowych rodzin genów struktury, które ewolucyjnie wywodzą się z pojedynczych pragenów i powstały zapewne poprzez ich duplikację i amplifikację. W związku z tym, rośliny są w mniejszym stopniu podatne na negatywne skutki akumulacji mutacji genowych. Występowanie wielogenowych rodzin genów struktury umożliwia funkcjonowanie u roślin ważnych mechanizmów adaptacyjnych. Dzięki temu bowiem, że każdy czynny gen tej samej rodziny jest zaopatrzony w odrębny region regulatorowy (promotor) jest możliwe ich indywidualne wyrażanie w różnych sytuacjach rozwoju rośliny czy oddziaływania stresowego. W ten więc sposób roślina przypisana w ciągu swego cyklu życiowego do jednego miejsca może być mniej podatna na mutagenne działanie środowiska. Pojawienie się bowiem mutacji w obrębie jednego genu i jego wyłączenie może być skompensowane przez uruchomienie innego komponentu wielogenowej rodziny, kodującego ten sam produkt.

GENY KODUJĄCE BIAŁKA

Porównanie budowy genów roślinnych z innymi organizmami wyższymi ukazało nie tylko ich podobną organizację, ale także powszechność występowania krótkich sekwencji regulatorowych w obrębie odcinków niekodujących na obu końcach regionów kodujących (elementy strukturalne cis). Region 5'końcowy — promotor — uczestniczy w inicjacji i regulacji transkrypcji i jest rozpoznawany przez polimerazę RNA II i współdziałające czynniki transkrypcyjne, podczas gdy region 3'końcowy odgrywa rolę w terminacji transkrypcji i poliadenylacji mRNA (rys. 3). Zarówno w rejonach bliskich, jak i w dystalnych w stosunku do miejsca startu transkrypcji może występować szereg sekwencji sygnałnych wzmacniających, jak i też osłabiających ekspresję. Porównanie tych sekwencji w obrębie określonych klas genów rozwoju, czy genów odpowiedzialnych za

określone szlaki metaboliczne doprowadziło do wyróżnienia tak zwanych sekwencji regulatorowych najwyższej zgodności (*consensus*) np. CAAT czy TATA. Sekwencje te ukazują nie tylko ewolucyjne powiązania pomiędzy gatunkami, ale również świadczą o istnieniu w przyrodzie uniwersalnych mechanizmów kontroli genetycznej u gatunków nawet bardzo odległych.



Rys. 3. Sekwencje regulatorowe w jądrowych genach roślinnych oraz roślinnych mRNA. Dla porównania podano niektóre sekwencje wysokiej zgodności u zwierząt.

Oprócz regionów promotorowych, którym można przypisać cechę gatunkowej specyficzności w szeregu przypadków wyróżniono organo- i tkankowo-swoiste sekwencje dla danego genu, które decydują o jego wyrażaniu w określonym organie czy tkance. Swoiste regiony regulatorowe wykryto także w promotorach genów uczestniczących w procesach rozwoju i odpowiedzi na stres. Wykrycie ich ma nie tylko dużą wartość poznawczą ale także i aplikacyjną, ponieważ sekwencje takie mogą być wykorzystane w ukierunkowanych transformacjach roślin przy wprowadzeniu obcych genów do genomu rośliny-biorcy. Tabela 2 podaje kilka wybranych przykładów sekwencji wysokiej zgodności w obrębie promotorów roślinnych. Sekwencje te mają charakter rozpoznawczych regionów regulatorowych i wyróżniają się wysokim stopniem zachowawczości. Mogą one jednak różnić się pomiędzy sobą zarówno budową, jak i lokalizacją w obrębie regionów niekodujących. Dotyczy to zwłaszcza tych gatunków roślin, które różnią się stopniem ewolucyjnego rozwoju, lub które ewoluowały w różnych warunkach środowiska. Przykładem może być inne niż u większości gatunków umiejscowienie regulatorowych sekwencji sygnałowych w obrębie promotorów genów leghe-

moglobiny u łubinu — jednej z najstarszych roślin motylkowatych (STRÓŻYCKI i LEGOCKI 1995).

Tabela 2
Elementy promotorowe cis genów roślin wyższych

Element	Sekwencja	Literatura
Prolaminowy	ACAtgTGTAAGGTGAA ^t _g NAGATG-A ^g _t ^t CAATGTAT	KREIS i współaut. 1986
Leguminowy	TCCATAGCCATGCATGCTGAAGA-ATGTC	BAUMLEIN i współaut. 1986
Vicilinowy	GCCACCTCaattt	GATEHOUSE i współaut. 1986
Zeinowy	CACATGTGTAAGGT	MAIER i współaut. 1987
Leghemoglobinowy	AAAGATNNNNNCTCTT	RAMLOV i współaut. 1993
Szoku termicznego	CTNGAANNITCNAG	GURLEY i współaut. 1986
Zranienia rośliny	T ^g _t GTTGAAATA ^a _t A—TAGT ^a _t - AA-AT ^a _g ^a _t TATGA	SIEBERTZ i współaut. 1989

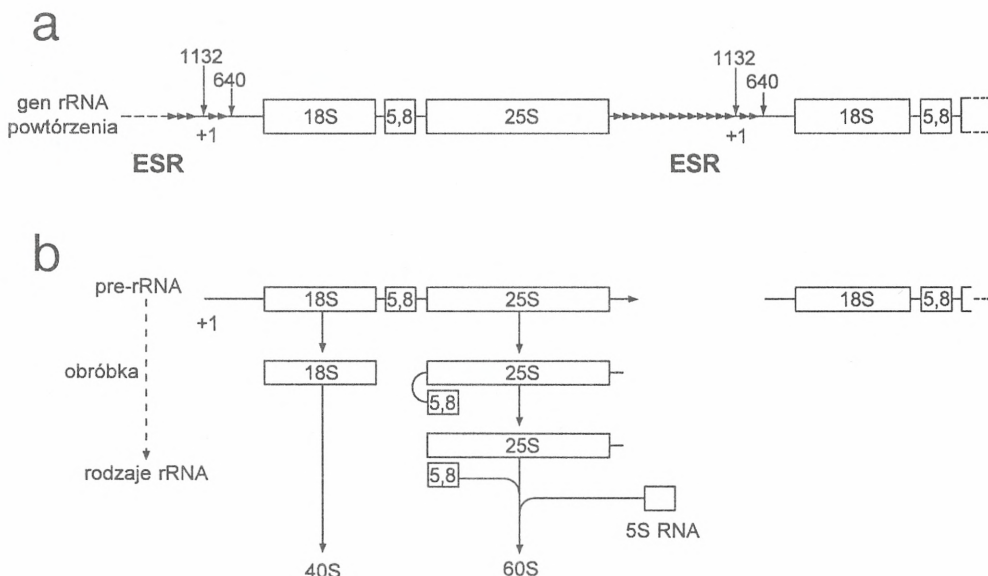
Nieco mniej danych porównawczych zgromadzono na temat roli regionów 3'niekodujących. U większości organizmów zwierzęcych w odległości 10–30 pz od kodonu terminującego translację występuje konserwatywna sekwencja sygnałowa AATAAA zwana heksamerem poliadenylacji. Przypisuje się jej rolę stabilizowania mRNA oraz udział w jego transporcie z jądra do cytoplazmy. U roślin sekwencję tę wykryto zaledwie u mniej niż połowy przebadanych dotąd genów jądrowych, co może sugerować istnienie alternatywnych mechanizmów obróbki 3'końcowych rejonów transkryptów genów strukturalnych (WU i współaut. 1995).

W każdym genomie jądrowym oprócz genów funkcjonalnych jest obecna pewna nieokreślona liczba sekwencji, które mają wysokie strukturalne powinowactwo do genów, lecz które nie podlegają ekspresji do funkcjonalnych produktów. Takie pseudogeny uważa się za relikty ewolucji i jakkolwiek mogą one lub ich fragmenty podlegać duplikacji, to można sądzić, że presja ewolucyjnej selekcji prowadzić będzie w przyszłości do ich eliminacji.

GENY KODUJĄCE RNA

Geny kodujące rybosomalne RNA: 18S, 5.8S i 25S RNA są zlokalizowane w genomie jądrowym roślin w obrębie jednej jednostki genowej, która poddana jest transkrypcji do jednonicowego, policistronowego produktu przez zlokalizowaną w jąderku polimerazę I RNA (rys. 4). Pierwotny produkt transkrypcji podlega kilkuetapowej obróbce łącznie z nukleolitycznym rozcinaniem i modyfikowaniem (głównie metylacją) zasad nukleozydowych. Istotną rolę w regulacji procesu transkrypcji rDNA odgrywa region promotorowy całej jednostki genowej — ESR (external spacer region). Analiza strukturalna tego regionu u kukurydzy i pszenicy wykazała obecność szeregu prostych powtórzeń oraz regionów zachowawczych, które występują także w analogicznych jednostkach genowych u innych roślin.

Cechą charakterystyczną roślinnych genów rybosomalnych jest znaczna zmienność liczby ich kopii w genomie często w obrębie jednego gatunku, a niekiedy nawet w różnych tkankach tej samej rośliny. Inną obserwowaną formą zmienności jest różna długość odcinków międzygenowych, co prowadzi do pojawiania się subpowtórzeń sekwencji w pewnych regionach genomu (ROGERS i BENDICH 1987).



Rys. 4. Schemat organizacji i obróbki genów rRNA.

a) Organizacja jednostki genowej rRNA z zaznaczonymi regionami kodującymi 18S, 5.8S i 25S rRNA, regionem 5' niekodującym — ESR, w obrębie którego zaznaczono strzałkami powtórzenia sekwencji oraz miejsca startu transkrypcji. b) Obróbka pierwotnego transkryptu pre-rRNA.

Geny kodujące niskocząsteczkowe RNA podlegają transkrypcji przez zlokalizowane w nukleoplazmie polimerazę II oraz polimerazę III. Polimeraza II, która przepisuje sekwencje unikalne genomu jądrowego kodujące pulę mRNA dla białek, uczestniczy także w transkrypcji UsnRNA. Ta klasa niskocząsteczkowych rodzajów RNA jest kodowana przez wielogenowe rodziny genów, na przykład u *Arabidopsis thaliana* 10–15 cząsteczek U2snRNA i 8–9 U5snRNA, u kukurydzy i ziemniaka 25–40 U2snRNA (VANKAN i FILIPOWICZ 1989).

Zróznicowana i obszerna grupa genów jądrowych poddawana transkrypcji przez polimerazę III koduje inne niskocząsteczkowe rodzaje RNA: tRNA, U6snRNA, 4.5S RNA i 5S RNA. Porównanie zidentyfikowanych sekwencji tych genów ujawniło wspólne, w obrębie tych klas właściwości RNA, sprowadzające się do tworzenia jednolitych funkcjonalnie i przestrzennie struktur o zdefiniowanej roli biologicznej (BARCISZEWSKA i współaut. 1994)

UWAGI KOŃCOWE

Ogólne reguły organizacji i budowy genomów roślin wyższych (tzn. roślin mających zdolność do kwitnienia) są znane mniej więcej od 10 lat. Zostały one

odniesione do kilkudziesięciu gatunków, z których większość stanowią rośliny o znaczeniu gospodarczym. Zidentyfikowano dotąd kilka tysięcy genów, których budowę nukleotydową poznano częściowo lub w całości. Zostały one wpisane do międzynarodowego banku genów (GenBank), do którego możliwy jest dostęp poprzez liczne programy i sieci komputerowe.

W ostatnich także latach wytyczono zasady klasyfikacji i nomenklatury zsekwencjonowanych genów roślinnych (Commission on Plant Gene Nomenclature) co w znacznym stopniu porządkuje i ułatwia przeprowadzenie analiz porównawczych pomiędzy genami różnego pochodzenia i umożliwia wyszukanie homologii ewolucyjnych. Zostały powołane także międzynarodowe zespoły i centra specjalizujące się w zbieraniu dokumentacji dotyczącej zasobów genowych roślin uprawnych i modelowych (Legume Research Center, International Rice Center, *Arabidopsis* Resource Center i in.). Jednym z głównych, bardzo interesujących celów nowych kierunków badawczych jest uzyskanie zdefiniowanych genotypowo mutantów roślin wyższych. Pozyskanie takich mutantów umożliwiłoby zidentyfikować genetyczne determinanty odpowiedzi rośliny na bodźce środowiska, wyjaśnić zjawiska rozwoju i organogenezy, mechanizmy działania fitohormonów, poznać naturę oddziaływania roślin z mikroorganizmami. Duży nacisk jest położony w tych badaniach na rośliny, które z różnych względów stanowić mogą ważne i użyteczne modele ogólnobiologiczne, na przykład *Arabidopsis thaliana*, *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula*.

Dzięki uruchomieniu kilkunastu dużych programów pełnego zsekwencjonowania wybranych genomów prokariotów i eukariotów nastąpił ogromny postęp w pozyskaniu nowych, często zautomatyzowanych podejść metodycznych. Przełomu w tej dziedzinie, bez wątpienia, dokonało uruchomienie programu zsekwencjonowania genomu ludzkiego. Dużego znaczenia nabrały podjęte równoległe projekty zmapowania i zsekwencjonowania genomów roślin wyższych (ryżu, kukurydzy, soi, *Arabidopsis*, *Lotus*, lucerny, tytoniu i in.). Od niedawna szczególny nacisk w tych projektach jest położony na identyfikację sekwencji kodujących (EST — expressed sequence tags). W połowie 1995 roku zasoby zgromadzone w GenBank wynosiły 425 211 sekwencji, o sumarycznej długości 318 624 586 pz, z czego 255 244 reprezentuje fragmentaryczne sekwencje cDNA lub pełne sekwencje EST (BOGUSKI 1995).

Akumulacja danych sekwencyjnych, mapowanie genomów, przypisanie funkcji poszczególnym genomom roślinnym, a także zlokalizowanie ich ekspresji na poziomie tkanki i komórki skupiają dziś uwagę wielu pracowni, stanowiąc solidną podstawę dla poznania i zrozumienia organizacji i funkcji zasobów genowych roślin.

Autor dziękuje dr Z. Michalskiemu i mgr E. Adamczyk za pomoc techniczną w przygotowaniu manuskryptu.

STRUCTURE AND FUNCTION OF THE PLANT GENOME

Summary

All plant cells contain three genomes localized, respectively in the nucleus, mitochondria and plastids. The largest and the most significant is the nuclear genome. The two smaller genome originated from endosymbiotic partners which were engulfed by a primitive eukariotic cell.

Plant nuclear genome is similar to that of other higher eukaryotes. The nuclear DNA content in different plants ranges from 0.5 to over 200 picograms. The DNA in nuclei and chromosomes is highly organized on different structural levels and range from the DNA double helix up to metaphase chromosome.

A number of relatively short nucleotide sequences identified in plant genes (*cis* elements) are important for transcription, mRNA processing and translation. There are also additional DNA signals involved in regulating gene expression during development, in response to plant hormones, and changes in the environment.

The plastid genomes in higher plants show a number of prokaryotic features. The major part of the plastid genome encodes its own genetic apparatus or proteins which are involved in the photosynthetic system in plant cells. In contrast to plastid genomes which are more or less similar to one another, the mitochondrial genome is exceptionally diverse in both size and organization. The mitochondrial genetic code differs in many respects from the universal code.

Studies on nuclear genes coding for rRNA revealed that rRNA is first transcribed as a polycistronic precursor RNA which contains sequences for 18S and 25S RNA. This transcript is then submitted to processing which is essential to its functions. These include specific 5' and 3' end modifications, intron removal and base modifications which together lead to formation of distinct secondary structures.

LITERATURA

- BARCISZEWSKA M. Z., SZYMAŃSKI M., SPECHT T., ERDMANN V. A., BARCISZEWSKI J., 1994. *Compilation of plant 5S ribosomal RNA sequences on RNA and DNA levels*. Plant Science 100, 117-128.
- BAUMLEIN H., WOBUS U., PUSTELL J., KAFATOS F. C., 1986. *The legumin gene family: structure of a B type gene of Vicia faba and a possible legumin gene specific element*. Nucl. Acids Res. 14, 2707-2716.
- BENNET M. D., SMITH J. B., HESLOP-HARRISON J. S., 1982. *Nuclear DNA amounts in angiosperms*. Proc. R. Soc. London 216, 179-192.
- BOGUSKI M. S., 1995. *The turning point in genome research*. Trends in Biol.Sci. 20, 295-296.
- GATEHOUSE J. A., EVANS J. M., CROY R. R. D., BOULTER D., 1986. *Upstream sequences required for efficient expression of soybean heat shock gene*. Mol. Cell Biol. 6, 559-567.
- GURLEY W. B., CZARNECKA E., NAGAO R. T., KEY J. T., 1986. *Upstream sequences required for efficient expression of a soybean heat shock gene*. Mol. Cell Biol. 6, 559-568.
- HIRAI A., NAKAZONO M., 1993. *Six percent of the mitochondrial genome in rice came from chloroplast DNA*. Plant Molecular Biology Reporter 11, 98-110.
- KREIS M., WILLIAMSON M. S., FORDE J., SCHMUTZ D., CLARK J., BUXTON B., PYWELL J., MARRIS C., HENDERSON J., HARRIS N., SHEWRY P. R., FORDE B. G., MIFFLIN B. J., 1986. *Differential gene expression in the developing barley endosperm*. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. 314, 13-28.
- MAIER U. G., BROWN J. W. S., TOLOCZYKI C., FEIX G., 1987. *Binding of nuclear factor to a consensus sequence in the 5' flanking region of zein gene from maize*. EMBO J. 6, 17-24.
- PALMER J. D., SHIELDS C. R., 1984. *Recombination in plant mtDNA of Chinese cabbage (Brassica campestris)*. Nature 307, 437-440.
- RAMLOV K. B., LAURSEN N. B., STOUGAARD J., MARCKER K. A., 1993. *Site-directed mutagenesis of the organ-specific element in the soybean leghemoglobin lbc 3 gene promoter*. Plant J. 4, 577-580.
- ROGERS S. O., BENDICH A. J., 1987. *Ribosomal RNA genes in plants: variability in copy number and in the intergenic spacer*. Plant Mol. Biol. 9, 509-520.
- SIEBERTZ B., LOGEMANN J., WILLMITZER, SCHELL J., 1989. *Cis-analysis of the wound-inducible promoter wun1 in transgenic tobacco plants and histochemical localization of its expression*. Plant Cell 1, 961-970.

- STRÓŻYCKI P., LEGOCKI A. B., 1995. *Leghemoglobins from an evolutionarily old legume Lupinus luteus*. *Plant Science* 110, 83-93
- VANKAN P., FILIPOWICZ W., 1989. *A U-snRNA gene-specific upstream element and a-30 TATA box are required for transcription of the U2snRNA gene of Arabidopsis thaliana*. *EMBO J.* 8, 3875-3881.
- WATSON M. D., MURPHY D. J., 1993. *Genome organization, protein synthesis and processing in plants*. [W:] *Plant Biochemistry and Molecular Biology*, LEA P. J., LEEGOOD R. C. (red.) J.Wiley & Sons, Chichester, New York, 197-220.
- WU L., UEDA T., MESSING J., 1995. *The formation of mRNA 3'-ends in plants*. *Plant J.* 8, 323-329.