

*Drogiemu i szanowanemu Profesorowi Lechowi Wojtczakowi,  
Pionierowi polskich badań nad mitochondriami*

MICHAŁ MALEWICZ, PIOTR P. STĘPIEŃ

*Zakład Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN  
Pawińskiego 5A; 02-106 Warszawa*

## METABOLIZM RNA W MITOCHONDRIACH DROŹDŹY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

### WSTĘP

Mitochondria wszystkich organizmów zawierają własny genom zbudowany z DNA. Jest on pozostałością genomu organizmów zbliżonych do dzisiejszych bakterii purpurowych, które skolonizowały pierwotne komórki eukariotyczne dając początek dzisiejszym mitochondriom. W toku ewolucji mitochondria utraciły większość genów i obecnie genom mitochondrialny koduje tylko kilka białek oraz 3 klasy

RNA konieczne do ekspresji informacji genetycznej zawartej w mitochondrialnym DNA (mt DNA). Tak więc mitochondria są prawie całkowicie uzależnione od genomu jądrowego a białka konieczne dla ich funkcjonowania są kodowane w jądrze komórkowym, syntetyzowane w cytoplazmie i transportowane posttranslacyjnie do wnętrza mitochondriów.

### DROŹDŹE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* JAKO MODELOWY ORGANIZM W BADANIACH NAD BIOGENEZĄ MITOCHONDRIÓW

Drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* są doskonałym organizmem modelowym w badaniach nad biogenezą mitochondriów, gdyż posiadają one unikalną zdolność do tolerowania (całkowitej lub częściowej) utraty mitochondrialnego DNA. Komórki po stracie mitochondrialnego DNA nie są zdolne do oddychania, ale dzięki procesom fermentacji rosną na podłożach zawierających fermentowalne źródła węgla, na przykład glukozę. Także inaktywacja poszczególnych genów jądrowych zaangażowanych w biogenezę mitochondriów nie powoduje śmierci komórki (wyjątek stanowią geny kodujące niektóre komponenty mitochondrialnego systemu importu białek). W komórkach drożdżowych bardzo łatwo jest dokonać inaktywacji

konkretnego genu. Dodatkową pomoc stanowi technika cytodukcji, to znaczy możliwość transferowania różnych genomów mitochondrialnych pomiędzy komórkami, co umożliwia testowanie ich funkcjonowania w kontekście różnych genomów jądrowych. Tak więc uzyskiwanie mutantów i badanie genów zaangażowanych w funkcje mitochondrialne jest u drożdży łatwiejsze niż u innych organizmów.

Warto na koniec przypomnieć, że w 1996 roku zakończono sekwencjonowanie całego genomu drożdży — oznacza to, że sekwencja nukleotydowa wszystkich około 6 500 genów jest dostępna uczonym w formie skomputeryzowanej bazy danych.

### GENOM MITOCHONDRIALNY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Genom mitochondrialny *Saccharomyces cerevisiae* jest kolistą cząsteczką o wielkości od 75

do 85 tysięcy par zasad. Koduje on kilka białek wchodzących w skład kompleksów tworzących

Tabela 1. Komponenty łańcucha oddechowego kodowane przez mitochondrialny DNA *Saccharomyces cerevisiae*\*

Nazwa genu	Produkt
<i>ATP6</i>	podjednostka 6 kompleksu ATPazy mitochondrialnej
<i>ATP8</i>	podjednostka 8 kompleksu ATPazy mitochondrialnej
<i>ATP9</i>	podjednostka 9 kompleksu ATPazy mitochondrialnej
<i>COX2</i>	podjednostka 2 kompleksu oksydazy cytochromowej
<i>COX3</i>	podjednostka 3 kompleksu oksydazy cytochromowej
<i>COX1</i>	podjednostka 1 kompleksu oksydazy cytochromowej
<i>COB</i>	apocytochrom b — polipeptydowy składnik cytochromu b

\*Skróty nazw genów i ich produktów przyjęte dla drożdży

łańcuch oddechowy (tab. 1), składniki mitochondrialnego aparatu translacyjnego (tab. 2) oraz rybonukleinowy komponent RNAzy P, en-

zymu odpowiedzialnego za posttranskrypcyjną obróbkę tRNA.

### SPLICING I OBRÓBKA RNA W MITOCHONDRIACH *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

W mtDNA drożdży wykryto trzy geny zawierające introny. Liczba intronów w każdym z tych genów może być różna w zależności od szczepu drożdży. Gen kodujący apocytochrom b (*COB*) zawiera maksymalnie 5 intronów, gen kodujący podjednostkę oksydazy cytochromowej (*COX1*) posiada maksymalnie 7 intronów, wreszcie gen kodujący duży rybosomalny rRNA (21S rRNA *LSU*) zawierać może jeden intron. Introny mitochondrialne różnią się swoją strukturą od intronów obecnych w genach jądrowych i należą do dwóch grup (I lub II) intronów autokatalitycznych, czyli samo wycinających się *in vitro*. Klasyfikacja ta opiera się na istnieniu charakterystycznych struktur drugo- i trzeciorzędowych oraz mechanizmie wycinania. W splicing (składanie egzonów) *in vivo* są zaangażowane białka kodowane przez genom jądrowy oraz

białka kodowane przez same introny tak zwane maturazy. Introny nie są niezbędnymi elementami genomu mitochondrialnego. W wyniku szeregu krzyżówek cytoplazmatycznych otrzymano szczep drożdży z bezintronowym genomem mitochondrialnym (Di), którego fenotyp jest identyczny z fenotypem dzikiego szczepu drożdży zawierającego komplet trzynastu intronów mitochondrialnych.

Tabela 2. Komponenty aparatu translacyjnego kodowane przez mitochondrialny DNA *Saccharomyces cerevisiae*

Nazwa genu	Produkt
<i>LSU</i>	duży rybosomalny rRNA (21S)
<i>SSU</i>	mały rybosomalny rRNA (16S)
<i>tRNA 22 geny</i>	22 rodzaje tRNA
<i>VARI</i>	białkowy składnik rybosomu

### REGULACJA EKSPRESJI GENÓW MITOCHONDRIALNYCH

Mechanizmy ekspresji informacji genetycznej w jądrze komórkowym i mitochondriach drożdży bardzo się od siebie różnią.

W jądrze regulacja ekspresji genów przebiega głównie na etapie inicjacji transkrypcji i formowania wieloelementowego kompleksu transkrypcyjnego. Sekwencje promotorowe genów jądrowych obfitują w miejsca rozpoznawane przez czynniki transkrypcyjne, które umożliwiają jądrowym polimerazom RNA rozpoznanie początku genu. Poziom transkrypcji zależy od specyficznych białkowych czynników transkrypcyjnych oddziałujących z polimerazami RNA. Powstające transkrypty są z reguły jednogenowe (monocistronowe). Transkrypty jądrowe

prawie zawsze ulegają modyfikacjom posttranskrypcyjnym, dodaniu czapeczki (cap) na 5' końcu oraz traktu poliadeninowego na 3' końcu. Obie struktury pełnią istotną rolę w stabilności transkryptu (CAPRONINGO i PARKER 1996). Wycinanie intronów z jądrowych pre-mRNA przebiega w dużych kompleksach złożonych z białek i RNA, zwanych spliceosomami.

W przeciwieństwie do tego, w mitochondrium drożdży polimeraza RNA (kodowana w jądrze) jest wspomagana przez jeden tylko czynnik *mtf1p* nadający jej specyficzność, a strukturę promotorów wyróżnia niezwykle prostota wyrażająca się obecnością tylko jednej konserwowanej sekwencji — (A/T)TATAAGTA. Dla mito-

chondrium są charakterystyczne policistronowe (wielogenowe) mRNA, z których przy udziale jądrowo kodowanych enzymów procesujących (endo- i egzorybonukleaz) są uwalniane dojrzałe mRNA. Należy podkreślić, że transkrypty mitochondrialne nie zawierają czapeczki ani traktu poliadeninowego, co sugeruje istnienie odmiennych niż jądrowe strukturalnych determinant stabilności i mechanizmów degradacji. Splicing zachodzi dzięki tworzonej przez intron strukturze trzeciorzędowej, która jest aktywna katalitycznie. Struktura ta jest osiągana poprzez interakcje z niewielką ilością białek specyficznych w stosunku do poszczególnych intronów (GRIVELL 1995). Cechą charakterystyczną mRNA mitochondrialnych jest obecność dwunastonukleotydu sekwencji 5'-AAUAAUUCUU-3

(dodekameru) na 3' końcu. Sekwencja ta wyznacza miejsce cięcia w procesie generowania dojrzałego 3' końca oraz zapewnia stabilność messengerów. Istnieją również przypuszczenia, że dodekamer pełni istotną rolę w translacji (MIN i ZASSENHAUS 1993).

Wydaje się zatem, że regulacja ekspresji genów w mitochondrium odbywa się głównie na etapach posttranskrypcyjnej obróbki pierwotnych transkryptów, takich jak:

- cięcie pierwotnego wielogenowego transkryptu,
- cięcie na prawo od dodekameru,
- splicing,
- współdziałanie białek z mRNA w obrębie 5'UTR (obszary nie ulegające translacji) i 3'UTR,
- degradacja RNA.

#### STABILNOŚĆ RNA

Stężenie poszczególnych transkryptów, niezależnie od rozpatrywanego systemu genetycznego, jest wypadkową szybkości ich syntezy i szybkości z jaką są degradowane. W mitochondrium drożdży poziom transkrypcji wydaje się nie być specyficznie regulowany (istnieją systemy regulacji globalnej na przykład represja glukozowa, ale podlegają jej wszystkie loci mitochondrialne w podobnym stopniu). Stabilność transkryptów mitochondrialnych wynika z ich zróżnicowanej podatności na degradację. Jest ona prawdopodobnie wynikiem konkurencji pomiędzy mechanizmami protegującymi transkrypty przed degradacją a aktywnością rybonukleaz. Ważną rolę w podatności transkryptu na degradację pełni struktura samych cząsteczek RNA. Poszczególne klasy RNA w mitochondrium, możemy podzielić na stabilne i niestabilne. Pierwsza kategoria obejmuje mRNA, rRNA i tRNA. Do drugiej kategorii należą międzygenowe obszary pierwotnych transkryptów (intergenic spacers) oraz wycięte introny.

Produktem działania enzymów procesujących na pierwotne transkrypty są sekwencje międzygenowe (intergenic spacers), które ulegają szybkiej degradacji. Warto podkreślić, że owe domniemane specyficzne enzymy procesujące, jak i sekwencje w pre-mRNA będące sygnałami do ich działania, w znacznej części nie zostały do dnia dzisiejszego zidentyfikowane. Stosunkowo najlepiej poznano mechanizm generowania 5' końca w mRNA *COB*. Obejmuje on cięcie poligenowego transkryptu na prawo od tRNA<sup>Glu</sup>. Dla tej reakcji jest konieczny produkt jądrowego genu *CBP1* i pewne sekwencje w UTR (untranslated leader — nie ulegający translacji obszar mRNA) pre-mRNA *COB*. Elementy te

współdziałają w wyznaczaniu miejsca cięcia i są niezbędne dla stabilności dojrzałego mRNA *COB* (CHEN i DIECKMANN 1994).

Podobnie niestabilną klasę RNA stanowią wycięte introny. Ich poziom w normalnych, niezmutowanych komórkach drożdży jest bardzo niski i niewykrywalny za pomocą hybrydyzacji typu Northern.

Do stabilnych RNA zaliczamy rRNA i mRNA. Najprawdopodobniej stabilność rybosomalnych RNA jest osiągana dzięki ich skompleksowaniu z białkami rybosomu. Natomiast mRNA mitochondrialne drożdży zawierają dodekamer (5'-AAUAAUUCUU-3'). Sekwencja ta jest kodowana w genomie mitochondrialnym i znajduje się w obrębie 3' końca transkryptów. W trakcie obróbki posttranskrypcyjnej dojrzały 3' koniec mRNA powstaje w następstwie cięcia nici 2 nukleotydy poniżej dodekameru. W ten sposób wszystkie dojrzałe mRNA w mitochondrium drożdży mają koniec o sekwencji 5'-AAUAAUUCUU-3'. Postuluje się, że dodekamery umożliwiają translację i zapewniają stabilność mitochondrialnych messengerów, jednakże istniejące dowody doświadczalne mają charakter pośredni. Udało się wyizolować tylko trzy mutacje związane z dodekamerami. W pierwszym przypadku znaleziono mutację w mitochondrialnym genie *VARI*, powodującą brak około 200 zasad na 3' końcu mRNA. Delecja ta obejmuje dodekamer, lecz pozostawia niezmienną ramkę odczytu. Mutant ten ma znacznie obniżony poziom mRNA *VARI* i prawie nie syntetyzuje białka *var*. Jednakże duży rozmiar delecji pozostawia wątpliwości, czy obserwowany wpływ na ekspresję genu jest spowodowany

wyłącznie brakiem dodekameru ( BUTOW i współtaut. 1989).

Druga mutacja polega na zmianie jednego nukleotydu w dodekamerze genu *FIT1*, kodującego transpozazę *SceI*. W wyniku tej mutacji nie stwierdza się *in vivo* aktywności transpozazy, zaś koniec 3' mRNA jest przycinany w innym miejscu. Niestety opisana mutacja powoduje zmianę kodonu stop, w wyniku czego białko transpozazy jest dłuższe o kilkanaście aminokwasów. Tak więc fenotyp mutantu niekoniecznie musi wynikać ze zmiany przycinania końca 3' w mRNA.

Trzecia mutacja dotyczy jądrowego genu drożdży. Wyizolowano mutanta SUV3-1, który przywraca prawidłową ekspresję mitochondrialnego genu *VARI* z opisaną wyżej delecją. Jednocześnie mutant ten ma zakłócone przycinanie 3' końca mRNA transpozazy kodowanej przez gen *FIT1* ( BUTOW i współtaut. 1989). Nie jest jednak udowodnione, czy powoduje to brak syntezy transpozazy, gdyż opublikowane badania były przeprowadzone na niewłaściwych szczepach i w późniejszych pracach autorzy wycofali swoje konkluzje. Tak więc wydaje się, że w celu ustalenia funkcji dodekamerów są potrzebne dalsze badania.

#### DEGRADOSOMY: KOMPLEKSY BIAŁKOWE REGULUJĄCE DEGRADACJĘ RNA

Znaczenie degradacji RNA w regulacji ekspresji genów u różnych organizmów było przez szereg lat niedoceniane. Dopiero od początku lat dziewięćdziesiątych rozpoczęto systematyczne badania. Niedługo potem pojawiły się doniesienia o istnieniu kompleksu prowadzącego degradację mRNA w komórkach *Escherichia coli* (PY i współtaut. 1994). Kompleks nazwano degradosomem. W skład degradosomu *E. coli* wchodzi co najmniej cztery rodzaje białek: RNaza E — rybonukleaza o właściwościach endonukleolitycznych, fosforylaza polinukleotydowa — rybonukleaza o właściwościach 3'-5' egzorybonukleazy, enolaza — enzym glikolityczny i RhlB — helikaza RNA z grupy białek zawierających motyw DEAD (tzw. „DEAD-box proteins”).

W oparciu o dokonane obserwacje postuluje się obecnie istnienie zarówno w komórkach *E. coli*, jak i mitochondrium drożdży tak zwanych degradosomów RNA, to znaczy kompleksów białkowych, zdolnych do modulowania swej aktywności rybonukleolitycznej w odpowiedzi na obecność pewnych struktur w mRNA.

Kluczową rolę w regulacji aktywności tych kompleksów przypisuje się obecnie enzymom o

właściwościach helikaz RNA zawierających motyw aminokwasowy (domenę) DEAD lub DEXH (ANDERSON i PARKER 1996). Helikazy RNA tego typu są powszechne wśród organizmów żywych i pełnią ważne funkcje w istotnych procesach komórkowych takich jak splicing, powstawanie rybosomów czy translacja.

Enzymy te przy udziale ATP potrafią denaturować drugorzędowe struktury w RNA.

Inną ich własnością jest zdolność do ochrony RNA przed działalnością nukleaz, gdyż wykazano, że stabilizują one nadeksprymowane mRNA u *Escherichia coli* (IOST i DREYFUS 1994). Wiadomo obecnie, że helikaza RhlB jest odpowiedzialna za denaturację struktur wyższego rzędu obecnych na 3' końcu mRNA w *E. coli*. Zablockowanie aktywności helikazy powoduje zahamowanie degradacji w obszarze tych struktur, najprawdopodobniej na skutek niemożności pokonania dwuniciowych obszarów transkryptu przez RNazy wchodzące w skład degradosomu (PY i współtaut. 1996). Należy dodać, że inaktywacja genu kodującego RhlB powoduje śmierć komórki co dowodzi, że enzym ten pełni niezwykle istotną rolę w metabolizmie RNA u *Escherichia coli*.

#### DEGRADOSOM W MITOCHONDRIACH DROŻDŻY

W 1992 roku wykryto, analogiczną do bakteryjnej, aktywność 3'-5' egzonukleolityczną w ekstraktach mitochondrialnych. Ustalono, że za aktywność tę jest odpowiedzialny duży kompleks białkowy. Początkowo badania nad tym kompleksem (degradosomem) obejmowały studia biochemiczne wyizolowanych enzymów. Dość szybko udało się ustalić, że degradosom jest złożony z trzech polipeptydów o masach cząsteczkowych 110, 90, 75 kDa. Stwierdzono również, że aktywność 3'-5' egzorybonukleoli-

tyczna jest zależna od ATP. Poza tym zaobserwowano, że hydroliza ATP przez degradosom ulega znacznemu zwiększeniu w obecności RNA. Fakty te sugerowały, że elementem funkcjonalnego enzymu może być białko o właściwościach helikazy RNA (MIN i ZASSENHAUS 1993).

Niezależne badania prowadzone z użyciem syntetycznych oligonukleotydów komplementarnych do sekwencji dodekameru doprowadziły z kolei do izolacji kompleksu białkowego

zdołnego do wiązania się z tą sekwencją RNA. Składa się on z trzech białek o masach cząsteczkowych 70, 60 i 19 kDa. Kompleksowi temu, nazwanemu dodekamerazą, przypisuje się funkcję rozpoznawania sekwencji dodekameru i wyznaczania miejsca cięcia cząsteczki RNA na

dwa nukleotydy w kierunku 3' od końca dodekameru. Wytworzenie w ten sposób dojrzalego 3' końca mRNA być może chroni transkrypty przed aktywnością egzorybonukleolityczną degradosomu (MIN i ZASSENHAUS 1993).

#### JĄDROWE GENY DROŻDŻOWE KODUJĄCE SKŁADNIKI DEGRADOSOMU

Odkrycie genu kodującego istotny składnik degradosomu mitochondrium *Saccharomyces cerevisiae* nastąpiło zupełnie niezależnie od badań nad degradacją RNA. Gen *SUV3* został odkryty jako mutant o bardzo złożonym fenotypie. Mutacja w tym genie, poza innymi efektami fenotypowymi, umożliwiła translację mRNA mitochondrialnego genu *VAR*, który został pozabawiony dodekameru oraz powodowała silną akumulację wyciętych intronów. Gen *SUV3* koduje białko o masie 85 kDa, zawierające domeny charakterystyczne dla helikaz RNA zależnych od ATP (STĘPIEŃ i współaut. 1992). Po uzyskaniu przeciwciał na białko *suw3p* okazało się, że ono stanowi składnik kompleksu 3'-5' egzorybonukleazy mitochondrialnej (MARGOSSIAN i współaut. 1996).

Zbrane dotychczas dane wskazują, że białko *suw3p* uczestniczy w procesach obróbki 3' końców mRNA oraz degradacji mRNA. Niewykluczony jest także jego udział w splicingu (STĘPIEŃ i współaut. 1995)

Dowodem na udział białka *suw3p* w obróbce mRNA w okolicy dodekamerów jest analiza końca 3 mRNA genu *FIT1*, kodującego transpozazę *SceI*. Okazuje się bowiem, że mutanty *SUV3* nie są w stanie przycinać końca 3' w pobliżu dodekameru. Z drugiej strony mutacje *SUV3* powodują poważne zaburzenia w metabolizmie mitochondrialnego RNA: introny grupy I są niezwykle silnie akumulowane, podczas gdy RNA egzonów ulega szybkiej degradacji. Następuje rozregulowanie metabolizmu RNA: cząsteczki zwykle stabilne w niezmutowanych szczepach stają się niestabilne i na odwrót (GOLIK i współaut. 1995). Wiadomo jednak, że *suw3p* pełni jeszcze inne funkcje, raczej niezależne od aktywności

3'-5' egzonukleazy. Obecnie trwają intensywne prace nad precyzyjniejszym określeniem roli białka *suw3p* w mitochondrium drożdży.

Próba identyfikacji genów, których produkty oddziałują z *suw3p* zaowocowała izolacją nowego genu, nazwanego *DSS1* (DMOCHOWSKA i współaut. 1995). Sklonowano go w oparciu o zdolność do przywracania wydolności oddechowej w szczepie z inaktywacją genu *SUV3*. Gen ten zachowuje się jednak w ten sposób jedynie, gdy znajduje się na plazmidzie wielokopijnym zapewniającym wysoką ekspresję.

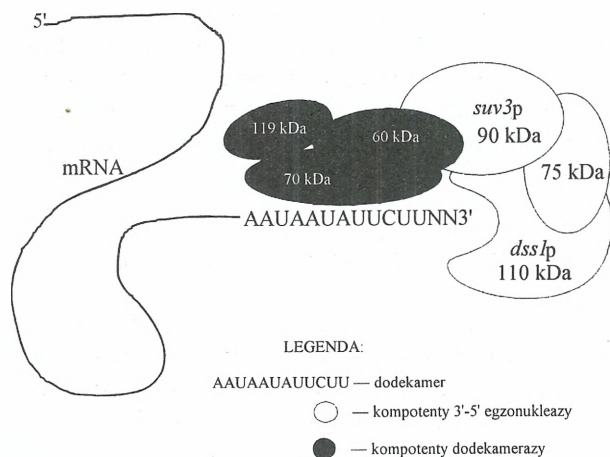
Gen *DSS1* koduje białko o masie cząsteczkowej około 110 kDa i domniemanej lokalizacji mitochondrialnej. Szczep z inaktywacją genu *DSS1* nie oddycha i ma pod pewnymi względami fenotyp podobny do szczepu z inaktywacją genu *SUV3*. Sekwencja białka *dss1p* wykazuje homologię do bakteryjnej rybonukleazy II i białka *cyt4* z *Neurospora crassa*. Rybonukleaza II jest egzonukleazą działającą w kierunku 3'-5'. Enzym ten jest bardzo wydajną nukleazą, ale niezwykle wrażliwą na obecność w substracie struktur wyższego rzędu (KUSHNER 1995). Zatem w swoim działaniu RNaza II jest uzależniona zapewne od białek typu helikazy RNA. Ostatnio pojawiły się przypuszczenia, że RNaza II może pełnić także funkcję ochrony 3' końca mRNA przed aktywnością innych bakteryjnych egzonukleaz (COBURN i MACKIE 1996). Inny homolog *dss1*, białko *cyt4*, pełni w mitochondriach *Neurospora* istotną rolę w splicingu i obróbce RNA (GARRIGA i współaut. 1984). Powyższe fakty stanowią mocną przesłankę, że *dss1p* jest drugim składnikiem opisanej 3'-5' egzorybonukleazy, składnikiem o aktywności egzonukleolitycznej.

#### MODEL DEGRADOSOMU MITOCHONDRIALNEGO

Na podstawie naszych badań oraz wyników opublikowanych (MIN i ZASSENHAUS 1993, MARGOSSIAN i współaut. 1996) proponujemy model kompleksu wiążącego 3' końce mRNA w mitochondriach drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (rys. 1). W mitochondriach drożdży stabilność mRNA jest uzyskiwana dzięki wytworzeniu dojrzalego 3' końca zawierającego sekwencję dode-

kameru 5'-AAUAAUUAUCUU-3'. Za reakcję tę i ochronę 3' końca przed degradacją odpowiedzialny jest między innymi kompleks trzech białek (dodekameraza).

Z kolei degradacja RNA jest prowadzona od końca 3' w stronę końca 5' mRNA przez egzonukleazę, składającą się z trzech polipeptydów: *suw3p*, *dss1p* i nie zidentyfikowanego polipep-



Ryc. 1. Model degradosomu RNA w mitochondrium drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

tydu o masie — 75 kDa. Procesy powstawania dojrzałego 3' końca oraz degradacji mRNA są wzajemnie powiązane — białko *suv3p* uczestniczy w obydwu.

Badania nad funkcjonowaniem tego kompleksu *in vivo* oraz nad izolacją pozostałych genów kodujących składniki kompleksu są w toku.

## THE METABOLISM OF RNA IN MITOCHONDRIA OF THE YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

### Summary

In mitochondria of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* all mature messenger RNAs are processed at their 3' end near to a conserved dodecamer sequence 5'-AAUAAUAUUCUU-3'. Generation of a proper 3' end may be necessary for the stability of mRNA, as RNA from intergenic regions

and introns is quickly degraded. We propose that a protein complex (degradosome) consisting of six proteins recognizes 3' ends of mRNAs, cleaves mRNA close to the dodecamer sequences and, depending on various signals, protects or degrades RNA.

### LITERATURA:

- ANDERSON J. S. J., PARKER R., 1996. RNA turnover: The helicase story unwinds. *Curr. Biol.* 6, 780-782.
- BUTOW R. A., ZHU H., PERLMAN P., CONRAD-WEBB H., 1989. The role of conserved dodecamer sequence in yeast mitochondrial gene expression. *Genome* 31, 757-760.
- CAPRONINGO G., R., 1996. Mechanisms and control of mRNA turnover in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Rev.* 60, 1, 233-249.
- CHEN W., DIECKMANN C. L., 1994. *Cbp1p* is required for message stability following 5'-processing of COB mRNA. *J. Biol. Chem.* 269, 16574-16578
- COBURN G. A., MACKIE G. A., 1996. Overexpression, purification and properties of *Escherichia coli* ribonuclease II. *J. Biol. Chem.* 271, 1048-1053.
- DMOCHOWSKA A., GOLIK P., STEPIEŃ P. P., 1995. The novel nuclear gene *DSS1* of *Saccharomyces cerevisiae* is necessary for mitochondrial biogenesis. *Curr. Genet.* 28, 108-112.
- GARRIGA G., BERTRAND H., LAMBOWITZ A. M., 1984. RNA splicing in *Neurospora* mitochondria: Nuclear mutants defective in both splicing and 3' end synthesis of the large rRNA. *Cell* 36, 623-634.
- GOIK P., SZCZEPANEK T., BARTNIK E., STEPIEŃ P. P., ŁAZOWSKA J., 1995. The *S. cerevisiae* nuclear gene *SUV3* encoding a putative RNA helicase is necessary for the stability of mitochondrial transcripts containing multiple introns. *Curr. Genet.* 28, 217-224.
- GRIVELL L. A., 1995. Nucleo-mitochondrial interactions in mitochondrial gene expression. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30 (2), 121-164.
- IOST I., DREYFUS M., 1994. mRNAs can be stabilised by DEAD-box proteins. *Nature* 372, 193-195.
- KUSHNER S., 1996. mRNA decay, [W:] *Escherichia coli and Salmonella: Cellular i molecular biology*, NEIDHARDT F. C. (red.) 1, 849-860.
- MARGOSSIAN P. S., BUTOW R. A., 1996. RNA turnover and the control of mitochondrial gene expression. *Trends. Bioch. Sci.* 21, 10, 392-396.
- MARGOSSIAN S. P., LI H., ZASSENHAUS H. P., BUTOW R. A., 1996. The DEXH box protein *Suv3p* is a component of a yeast mitochondrial 3-to-5' exoribonuclease that suppresses group I intron toxicity. *Cell* 84, 199-209.
- MIN J. J., HEURETZ R. M., ZASSENHAUS H. P., 1992. Isolation and characterization of an NTP-dependent 3'-exoribonuclease from mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 268, 7350-7357.
- MIN J. J., ZASSENHAUS H. P., 1993. Identification of a protein complex that binds to a dodecamer sequence found at the 3' ends of yeast mitochondrial mRNAs. *Mol. Cel. Biol.* 13, 4167-4173.
- PY B., CAUSTON H., MUDD E. A., HIGGINS C. F., 1994. A protein complex mediating mRNA degradation in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 14, 717-729.
- PY B., HIGGINS C. F., KRISCH H. M., CARPOUSIS A. J., 1996. A DEAD-box RNA helicase in the *Escherichia coli* degradosome. *Nature* 381, 169-172.
- STEPIEŃ P. P., KOKOT L., ŁESKI T., BARTNIK E., 1995. The *suv3* nuclear gene product is required for the *in vivo* processing of the yeast mitochondrial 21S rRNA transcripts containing the r1 intron. *Curr. Genet.* 2, 234-238.
- STEPIEŃ P. P., MARGOSSIAN S. P., LANDSMAN D., BUTOW R. A., 1992. The yeast nuclear gene *SUV3* affecting mitochondrial post-transcriptional processes encodes a putative ATP-dependent RNA helicase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89, 6813-6817.