ROŚLINNE GENOMY MITOCHONDRIALNE

PLANT MITOCHONDRIAL GENOMES

Ewelina ŁOJEWSKA, Tomasz SAKOWICZ

Katedra Biotechnologii Molekularnej i Genetyki,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: Roślinne genomy mitochondrialne, pełniąc analogiczne funkcje we wszystkich organizmach, wykazują w nich wyjątkową różnorodność strukturalną. To cecha wyróżniająca je zarówno na tle genomów mitochondrialnych innych organizmów eukariotycznych jak również wobec struktury plastomów, drugiego z typów genomów organellowych charakterystycznych dla organizmów wyższych. W prezentowanym opracowaniu zebrano i skomentowano dane dotyczące wielkości i organizacji strukturalnej mitDNA, zestawu obecnych w nich genów oraz innych elementów tych genomów. Zwrócono uwagę na identyfikację podstawowych różnic między mitochondrialnymi genomami gatunków reprezentujących rośliny lądowe (w tym *bryophyta* oraz nasienne z ich podziałem na nago- i okrytonasienne, a wśród nich na jedno- i dwuliścienne), a genomami fotosyntetyzujących glonów.

Słowa kluczowe: genomy mitochondrialne roślin, mitDNA, genom roślinny

Summary: Plant mitochondrial genomes, performing analogous functions in all organisms, show in them a unique structural diversity associated with the large size of these genomes. It is a feature that distinguishes them from the mitochondrial genomes of other eukaryotic organisms as well as from the structure of plastomes, the second type of organelle genomes characteristic of higher organisms. In the presented study, data on the size and structural organization of mitDNA, a set of genes present in them and other elements of genomes were collected and commented on. Particular attention was paid to the identification of basic differences between mitochondrial genomes of species representing land plants (including bryophyta and seed with their division into nude and angiosperms, among them mono- and dicotyledonous), and genes of photosynthetic algae.

Key words: plant mitochondrial genomes, mitDNA, plant genome

WSTĘP

Dokonania trzech ostatnich dekad dowodzą, że obok oczywistego zainteresowania genomami jądrowymi, dynamicznie rozwija się również genomika organelli. W tym okresie poznano pełne sekwencje tysięcy genomów plastydów i mitochondriów (mitogenomów). Pierwsze doniesienia dotyczące elementów genomów mitochondrialnych roślin pojawiły się już w latach 70-tych minionego stulecia, a więc jeszcze przed epoką sekwencjonowania DNA [21]. Z czasem w bazach danych zaczęły pojawiać się kompletne sekwencje mitochondrialnych genomów roślin, a początkowo informacje na ich temat pochodziły głównie z gatunków modelowych jak: *Marchantia polymorpha, Oryza sativa, Zea mays, Arabidopsis thaliana i Chlamydomonas reinhardtii* (przedstawiciel glonów fotosyntetycznych) [32, 33]. Szybko rosnąca pula danych pozwalała na bliższą charakterystykę struktury tego typu genomów [9], otworzyły się też możliwości wielokierunkowych analiz porównawczych, zarówno między mitDNA jak również wobec genomów chloroplastowych [18]. Przedmiotem zainteresowania stały się m.in.: rozmiary genomów, procentowa ilość par GC, pula i charakter zawartych tam genów, a także innych elementów, w tym rozmaitych powtórzeń [49]. Identyfikacja podobieństw i różnic między genomami umożliwiały spekulacje m.in. na temat mechanizmów ewolucji obecnych form genomów organellarnych [7]. Wykazano, że skala dynamiki ewolucyjnej roślinnych sekwencji mitochondrialnych jest znacząco większa niż w przypadku mitDNA pozostałych grup organizmów [13] jak również wobec stosunkowo konserwatywnych genomów chloroplastowych. Roślinne genomy mitochondrialne to struktury bardziej złożone zarówno w porównaniu z genomami chloroplastów i jak i swoimi zwierzęcymi odpowiednikami mimo, że zaangażowane są w takie same procesy komórkowe, a ich regulacja ma znaczący wpływ na rozwój i funkcjonowanie roślin [42, 56]. Ilość mitochondriów na komórkę, w dużej mierze, zależy od rodzaju komórki i stadium rozwoju organizmu. Komórki somatyczne ssaków zawierają około 80-2000 tych organelli, podczas gdy roślinne komórki mezofilowe około 200-600, z kolei liczba kopii mtDNA w mitochondrium zwierząt waha się w granicach 1-10, zaś u roślin występują zwykle 1-2 kopii [6].

Aktualne dane dotyczące roślinnych mitDNA zdeponowane w referencyjnych bazach genomów organellowych obejmują 209 gatunków (zaliczone do kategorii *Land plants)*, których genomy zostały obecnie całkowicie zsekwencjonowane (http://rocaplab.ocean.washington.edu/old_website/tools/mitobase/run; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#!/organelles/) [28, 30]. Analogiczne dane dotyczą ponadto 73 gatunków reprezentujących *Green alga*. Powyższa sytuacja znacząco kontrastuje z porównywalnymi informacjami na temat genomów chloroplastowych, których liczba gatunków we wspomnianych bazach sięga blisko 4000. Wydaje się, że źródeł tej różnicy, w dużej mierze, poszukiwać można w znaczącym zainteresowaniu genomami plastydowymi jako potencjalnymi

platformami znajdującymi zastosowanie dla celów biotechnologicznych (np. w produkcji rekombinowanych białek o właściwościach farmaceutycznych). Nie zmienia to faktu, że genomy mitochondrialne roślin nadal wzbudzają duże zainteresowanie badaczy czego dowodem są liczne i aktualne publikacje na ten temat w prestiżowych pismach naukowych [16, 22, 37, 57].

TOPOLOGIA ROŚLINNYCH GENOMÓW MITOCHONDRIALNYCH

Roślinny genom mitochondrialny powszechnie opisywany jest jako dwuniciowa, kolista cząsteczka DNA, zwana niekiedy „głównym chromosomem" [12, 55]. W rzeczywistości liczne obserwacje *in vitro* wskazały, że u wielu gatunków roślin mtDNA identyfikowany jest również w formach liniowych lub liniowo rozgałęzionych [19, 26, 48]. Formy liniowe, występujące też wśród glonów i protistów, są często utrzymywane przez struktury podobne do telomerów. Niektóre gatunki, głównie glony, zawierają multimeryczne konkatamery typu *head to tail* lub multimeryczne subpopulacje cząsteczek liniowych [56]. W zależności od gatunku i etapu cyklu komórkowego, cząsteczki mtDNA można zaobserwować w różnych formach, w tym najczęściej jedna superskręcona, kolista cząsteczka oraz jeden lub kilka rodzajów monomeryczno-liniowych cząsteczek (chromosomy).

Zmienność cząsteczek mtDNA związana jest z dwoma czynnikami. Po pierwsze, każda cząsteczka zawiera sekwencje, które umożliwiają jej zmianę struktury (w tym konwersję między formami kolistą i liniową), a stosunkowo częsta obecność form pośrednich jest wysoce promowana przez częste rekombinacje. Po drugie, mitochondria niektórych gatunków roślin zawierają nie tylko główną formę mtDNA, ale także plazmidy, struktury powszechne w roślinach lądowych [47]. Insercje pochodzące z plazmidu odnaleziono w ok. 75% zsekwencjonowanych genomów mitochondrialnych roślin okrytozalążkowych [15, 53]. W większości przypadków plazmidy są monomerycznymi liniowymi cząsteczkami z terminalnymi zakończeniami chronionymi przez odwrócone powtórzenia. Sugeruje się ich grzybowe pochodzenie w nawiązaniu do teorii horyzontalnego transferu genów i powszechnej u grzybów zdolności plazmidów do autonomicznej replikacji [53]. Plazmidy mogą istnieć niezależnie lub być też zintegrowane z cząsteczkami mtDNA. Wzajemne oddziaływania między mtDNA i plazmidami ciągle pozostają jednak słabo poznane. Wiadomo natomiast, że insercja plazmidu prowadzona przy udziale powtarzających się elementów może prowadzić do konwersji głównej cząsteczki z formy liniowej w kolistą [25, 50]. Dodatkową konsekwencją włączenia plazmidu w genom mitochondrialny jest wzrost szybkości mutacji, na które to sekwencje plazmidowe są bardziej podatne niż cząsteczki mtDNA. W rezultacie sugeruje się, że genom mitochondrialny należy traktować raczej jako zestaw różnych cząsteczek niż zbiór identycznych kopii pojedynczych cząsteczek [26].

CHROMOSOMALNA ORGANIZACJA mitDNA

"Chromosomalna" organizacja uznawana jest za charakterystyczną cechę roślinnych genomów mitochondrialnych. Liczba chromosomów nie jest skorelowana z rozmiarem lub zawartością genomu i przybiera szerokie spektrum wartości. Przykład to np. *Cucumis sativa,* gatunek który zawiera jeden główny chromosom wielkości ok. 1,6 Mb i dwa dodatkowe chromosomy [19, 26], z kolei *Silene conica* ma aż 128 chromosomów [12]. Chromosomy mitochondrialne nie zawierają elementów centromerowych. Główny chromosom zawsze zawiera wszystkie geny genomu mitochondrialnego, zaś mniejsze, mimo wielu podobieństw są uboższe i traktować je można jako delecyjne wersje chromosomu głównego [23, 47]. Znaczenie dodatkowych kopii chromosomów uznaje się zjawisko ograniczające negatywne konsekwencje powodowane mutacjami.

Roślinny mtDNA zorganizowany jest w struktury zbliżone do nukleoidów podobnych do nukleoidu bakteryjnego. Niestety niewiele danych dotyczy białek zaangażowanych w utrzymanie tych struktur. Wiadomo, że białka nukleoidowe wykazują powinowactwo do mitochondrialnej błony wewnętrznej. Dotychczas sugerowano, że kompleksy DNA-białko zbudowane są z co najmniej dwóch rodzajów białek. Jeden typ znajduje się wewnątrz rdzenia i jest odpowiedzialny za stabilizację struktury i promocję ekspresji genów. Drugi rodzaj białek jest rozproszony na zewnątrz mitochondriów i zapewnia właściwą sygnalizację [56].

GENY MITOCHONDRIALNE

Liczba, rodzaj i organizacja genów mitochondrialnych podlegały stałym zmianom od czasu kiedy mitochondria, w wyniku endosymbiozy (ok. 1.7 mld lat temu), stały się integralnym elementem komórek eukariotycznych. Genomy mitochondrialne roślin kwitnących zawierają największą liczbę genów spośród wszystkich genomów organizmów żywych [3]. Średnia liczba genów kodujących białko wynosi tu 25 do 40 (dla porównania ludzki mitDNA analogicznych genów ma jedynie 13). Dodatkowo genomy te posiadają również geny wybranych t- i rRNA oraz wiele niefunkcjonalnych sekwencji niekodujących [55], które np. u *A. thaliana* stanowią ponad 60% genomu mitochondrialnego [5].

Z pierwotnej puli genów alfa-proteobakteryjnych, w genomach mitochondrialnych pozostały głównie geny odpowiedzialne za konwersję energii [26]. Druga grupa to geny, których produkty niezbędne są w procesach ekspresji genów białkowych (geny niektórych tRNA i rRNA) [48, 56]. Pozostałe składniki białkowe niezbędne do tego procesu są transportowane do mitochondriów [24]. Rozmieszczenie genów i sekwencji międzygenowych wykazuje znaczne różne między gatunkami, co potwierdza częstą reorganizację struktury genomu w toku ewolucji roślin wyższych [56].

Eksperymentalna weryfikacja danych sekwencyjnych potwierdza, że liczba genów białkowych w zdecydowanej większości gatunków mieści się w wąskich granicach 30-40, m.in. *A. thaliana* 31, *C. sativus* 37, *N. tanacum* 37, *O. sativa* 35, *S. bicolor* 32, *V. vinifera* 39 Pula genów tRNA jest mniejsza i waha się w granicach 16-26 dla zdecydowanej większości gatunków, ale np. mitogenomy gatunków reprezentujących rodzinę goździkowate (*Caryophyllaceae)* zawierają ich jedynie 2-9 [46].

Analizy porównawcze sekwencji nukleotydowych homologicznych genów większości gatunków roślin wskazują, że ewoluują one bardzo powoli, w porównaniu do sekwencji mtDNA komórek zwierzęcych, a mutacje punktowe częste u innych organizmów, są tu stosunkowo rzadkie [12].

Interpretację danych dotyczących puli genów mitochondrialnych (Tab. 1-5) utrudnia fakt, że nawet w gatunkach gdzie genomy są już całkowicie zsekwencjonowane, szczegółowe analizy nie zostały ostatecznie ukończone. Stąd w bazach danych część genów zaliczana jest obecnie do kategorii *Hypothetical or Uncharacterized*, a jednocześnie zawyżają one wartość finalnej liczby genów. Mamy więc do czynienia raczej z identyfikacją ORF (otwarte ramki odczytu) niż z rzeczywistymi genami. Opisywana sytuacja ma miejsce np. u *Zea mays, Nicotiana tabacum* czy *Beta vulgaris.* W przypadku *Arabidopsis thaliana* referencyjne bazy podawały do niedawna liczbę 117 genów z czego aż 76 zakwalifikowano do wspomnianej kategorii *Hypothetical or Uncharacterized* (obecnie w NCBI 33 geny białkowe). W przypadku *G.max* podawana jest liczba 88 genów białkowych, ale 53 z nich koduje białka określone jako *hypothetical protein*, można się więc spodziewać, że po weryfikacji liczba ta spadnie do ok. 35. Pomimo swojej wielkości, genomy mitochondriów roślinnych nie zawierają znacząco więcej genów niż ich zwierzęce odpowiedniki, a większość „dodatkowego" DNA stanowią głównie sekwencje dużych intronów, powtórzeń i międzygenowych regionów niekodujących [29]. Wydaje się, że jak wspomniano ostateczna liczba genów białkowych oscylować będzie w granicach 30-40 genów i nie jest ona skorelowana z rozmiarami genomów. Wszystkie z nich kodują produkty związane z dwoma procesami tj. metabolizmem energetycznym (nieliczne białka łańcucha oddechowego) i translacją. Pierwszą z wymienionych grup reprezentują geny kodujące białka kilku podjednostek dehydrogenaz NADH, ATPaz oraz oksydaz cytochromowych. Pozostałe geny mitochondrialne kodują białka dużej i małej jednostki rybosomów (ang. *L,S ribosomal proteins*). To sytuacja wspólna dla wszystkich genomów mitochondrialnych. W przypadku mitDNA modelowej *A.thaliana* zestaw 33 genów opisanych aktualnie w bazie NCBI tworzy: 9 genów kodujących podjednostki NADH dehydrogenazy (1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6, 7, 9), 6 genów podjednostek ATPazy (1, 4, 2x6, 8, 9), 9 genów zaangażowanych w biogenezę cytochromu C i b, gen maturazy zaangażowanej w *splicing* mRNA, 7 genów kodujących białka dużej (L – 2, 5, 15) i małej (S – 3, 4, 7, 12) podjednostki rybosomów mitochondrialnych oraz gen kodujący jedno z białek transportu membranowego.

TABELA 1. Nagonasienne – wybrane parametry strukturalne genomów mitochondrialnych
TABLE 1. Gymnosperms – selected structural features of mitochondrial genomes

Nagonasienne **Gatunek**	Wielkość genomu [pz]	% sekw. kod. CDS	Śr. dł. sekw. kod. CDS [pz]	Śr. dł. między genami [pz]	Geny białkowe
Cycas taitungensis	414 903	8	884	5491	39
Ginkgo biloba	346 544	10	861	4626	40
Welwitschia mirabilis	978 846	3	1024	23566	29

TABELA 2. Okrytonasienne, jednoliścienne – wybrane parametry strukturalne genomów mitochondrialnych
TABLE 2. Angiosperms monocotyledon – selected structural features of mitochondrial genomes

Okrytonasienne jednoliścienne **Gatunek**	Wielkość genomu [pz]	% sekw. kod. CDS	Śr. dł. sekw. kod. CDS [pz]	Śr. dł. między genami [pz]	Geny białkowe
Allium cepa	316 363	8	979	6472	26
Cocos nucifera	678 653	8	695	4758	81
Oryza sativa Indica	491 515	9	852	4627	54
Sorghum bicolor	468 628	7	980	8118	32
Triticum aestivum	452 526	7	929	6027	36
Zea mays	569 630	17	607	2353	163

TABELA 3. Okrytonasienne dwuliścienne – wybrane parametry strukturalne genomów mitochondrialnych
TABLE 3. Angiosperms dicotyledonous – selected structural features of mitochondrial genomes

Okrytonasienne dwuliścienne **Gatunek**	Wielkość genomu [pz]	% sekw. kod. CDS	Śr. dł. sekw. kod. CDS [pz]	Śr. dł. między genami [pz]	Geny białkowe
Arabidopsis thaliana	366 924	19	589	2068	33
Beta vulgaris	368 801	24	636	1553	140
Brassica napus	221 853	23	647	1659	79
Cucurbita pepo	982 833	3	848	17491	38
Cucumis sativus	155 593 5	2	879	23981	37
Glycine max	402 558	14	629	3095	88
Malus domestica	396 947	7	894	6274	33
Medicago truncatula	271 618	10	919	4733	31
Nicotiana tabacum	430 597	19	534	1839	156
Solanum lycopersicon	446 257	7	815	5701	39
Vitis vinifera	773 279	7	668	6626	74

TABELA 4. Glony fotosyntetyzujące – wybrane parametry strukturalne genomów mitochondrialnych
TABLE 4. Photosynthetic algae – selected structural features of mitochondrial genomes

Glony zielone **Gatunek**	Wielkość genomu [pz]	% sekw. kod. CDS	Śr. dł. sekw. kod. CDS [pz]	Śr. dł. między genami [pz]	Geny białkowe
Chara vulgaris	67 737	58	858	285	46
Chlamydomonas reinhardtii	15 758	59	1157	106	8
Chlorella variabilis	78 500	34	836	721	32
Dunaliella salina	28 331	34	1061	645	9
Helicosporidium sp. ex Simulium jonesi	49 343	58	769	223	37
Ulva fasciata	61 614	53	909	343	36

TABELA 5. *Bryophyta* – wybrane parametry strukturalne genomów mitochondrialnych
TABLE 5. *Bryophyta* – selected structural features of mitochondrial genomes

Bryophyta **Gatunek**	Wielkość genomu [pz]	% sekw. kod. CDS	Śr. dł. sekw. kod. CDS [pz]	Śr. dł. między genami [pz]	Geny białkowe
Physcomitrella patens	105 340	34	850	915	42
Marchantia polymorpha	186 609	34	831	1076	76
Ulota crispa	104 636	30	791	984	40

PORÓWNANIE ROŚLINNYCH GENOMÓW MITOCHONDRIALNYCH

Roślinne genomy mitochondrialne wyróżniają znaczne różnice ich wielkości. Najbardziej skrajne przykłady to np. wielkie genomy u *Corchorus capsulatis* (rodzina malwowate) czy *Cucumis sativus* (odpowiednio ok. 2 000 kpz i 1 555 kpz), a więc porównywalne z wielkością małych genomów jądrowych, z drugiej wskazać można genomy wielokrotnie mniejsze jak np. u *Chlamydomonas reinhardtii* – 15 kpz [19, 26]. Wśród roślin kwitnących wielkość większości wynosi od 200 do 750 kb [55] i nawet wśród gatunków spokrewnionych wahania tego parametru bywają duże (Richardson i in. 2013). Ogólnie, genomy mitochondrialne wpisują się z paradoks wartości C (*C-value paradox*) tworzony w odniesieniu do cech genomów jądrowego i dotyczący nadmiaru w nich sekwencji niekodujących oraz braku związku między rozmiarami genomów, a poziomem złożoności organizmu. Prawidłowością jest z pewnością zależność między wielkością genomu, a pulą sekwencji niekodujących, a więc podobnie jak w przypadku genomów jądrowych [5]. Często występują tu one nie tylko między-, ale także wewnątrzgenowe re-

giony niekodujące w postaci intronów. W gatunkach o największych genomach procentowy udział sekwencji niekodujących sięga nawet 98% przypominając tym cechy genomów jądrowych. Stosunkowo wysoka jest tu też zawartość DNA pochodzenia jądrowego (ponad 40%). Cechy te wyróżniają genomy mit roślin lądowych wobec odpowiedniki w gatunkach reprezentujących glony fotosyntetyzujące, które takich właściwości nie wykazują. Są one zdecydowanie mniejsze, z bardzo wyraźnym w udziałem sekwencji kodujących (Tab. 1-5) [41]. Jednocześnie, nawet niewielkie genomy roślinne, są większe niż mitogenomy zwierząt (ich średnia wielkość to 15-17 kpz).

Na podstawie danych zdeponowanych w referencyjnych bazach danych (NCBI i Rocap MitoBase) [28, 30] opracowano tabele zawierające wartości liczbowe wybranych parametrów strukturalnych genomów mit roślin reprezentujących kilka podstawowych taksonów. Ich analiza posłużyła do próby wskazania tendencji charakteryzujących strukturę genomów mit roślin.

Jak wspomniano wcześniej, aktualna wiedza o sekwencji genomów mitochondrialnych roślin oraz interpretacja parametrów zawartych w Tabelach 1-5 pozwala wskazać pewne podobieństwa i różnice między tymi strukturami w gatunkach reprezentujących odrębne klady. Porównując wartości analogicznych parametrów uwagę zwracają następujące cechy struktury mitDNA roślin:

• Duży rozrzut wielkości genomów we wszystkich analizowanych grupach roślin, co wyróżnia je na tle genomów chloroplastowych (zdecydowanie mniejsze i mieszczące się w wąskim spektrum wartości ok. 160 kpz) [34]. W obrębie okrytonasiennych zdecydowanie mniejsze rozbieżności w rozmiarach genomów wykazują gatunki jednoliścienne, niemniej i tutaj np. genom *Cocos nucifera* jest dwukrotnie większy niż u *Allium cepa* (odpowiednio 678 vs 316 kpz). Analogiczny parametr w genomach roślin dwuliściennych wykazuje wyraźnie większy rozrzut od ok. 220 kpz u *Brassica napus* aż do ponad 1555 kpz u *Cucumis sativus.* Duże genomy mitochondrialne to cecha gatunków z rodziny dyniowatych bowiem reprezentujący ją *Cucurbita pepo* również wyróżnia jeden z największych genomów poznanych do tej pory (blisko 1000 kpz). W porównaniu do mtDNA komórek zwierzęcych, od czasu pojawienia się roślin na lądzie wielkość ich mitogenomów rosła w toku ewolucji (szczególnie okrytozalążkowych), podczas gdy np. mtDNA ssaków stawał się coraz bardziej zwarty [23];

• Wyraźnie mniejsze niż mitogenomy roślin nasiennych są ich odpowiedniki u glonów (*Chlorophyta*), wyróżnia je także wysoki procentowy udział sekwencji kodujących (ang. *coding sequences*, CDS) gdzie parametr ten osiąga wartości ok. 34-70% (podobna sytuacja wśród *Bryophyta)*, co kontrastuje z wartościami analogicznego parametru genomów roślin nasiennych;

• W obrębie nasiennych trudno wskazać prawidłowość wyróżniającą nago- wobec okrytonasiennych. Na ogół, udział sekwencji CDS koresponduje z wielkością

całych genomów tj. w genomach mniejszych, procentowy udział elementów kodujących jest bardziej znaczący choć np. porównanie omawianych wartości w niemal identycznych, pod względem wielkości genomach *Nicotiana tabacum* i *Solanum lycopersicon* nie potwierdza tej tezy. Oba wymienione gatunki reprezentują tę samą rodzinę *Solanaceae*, w pierwszym z nich CDSy stanowią 19% wobec 7% u *Solanum lycopersicon*. Dostępność danych w odniesieniu do jedynie 3 gatunków roślin nagonasiennych ogranicza formułowanie pełniejszych wniosków.

• We wszystkich analizowanych genomach, niezależnie od ich wielkości, sumaryczna długość sekwencji kodujących jest zbliżona, podobna obserwacja dotyczy również łącznej długości sekwencji kodujących cząsteczki RNA. Różnice pojawiają się natomiast w długościach elementów powtarzających się oraz innych elementów niekodujących, których wartości są wyraźnie wyższe w genomach dużych, generują one też większe odległości między poszczególnymi genami w większych genomach mitochondrialnych.

Oprócz parametrów zebranych w tabelach 1-5 charakteryzowano także inne specyficzne cechy roślinnych genomów mitochondrialnych. Mitogenomy roślin są znane z obecności: intronów czy obecności licznych miejsc edycji RNA U→C lub C→U (w *C.taitungensis, A.thaliana, B. vulgaris* i *O.sativa* liczba takich miejsc wynosi odpowiednio: 565, 441, 357, 491). Szczególna obfitość takich miejsc dotyczy w mtDNA *Cycas revoluta* (1084) czy w mtDNA *Selaginella moellendorffii* – 2152 i zlokalizowane one są głównie w regionach genomu przepisywanych na mRNA organelli [17]. Z kolei liczba intronów zwykle waha się od kilkunastu do kilkudziesięciu, a ich długość to kilkuset pz do kilku tysięcy kb. U *B.napus* obecne są 24 introny wielkości od 839 pz do 3448 pz, a ich pozycje całkowicie pokrywają się z lokalizacją analogicznych miejsc w mitogenomie *A. thaliana* [14].

Zauważaną cechą mtDNA jest też obecność licznych prostych i odwróconych powtórzeń (ang. *direct, inverted*). W mitogenomach takich gatunków jak *Sorgum bicolor, Nicotiana tabacum, Triticum aestivum* ich całkowita długość osiąga odpowiednio> 33 kb,> 18 kb,> 10 kb. W roślinach lądowych powtórzenia mtDNA są one bardziej obfite i znacznie dłuższe niż u glonów. Mitogenom *Z. mays* zawiera sześć par dużych powtórzeń, które stanowią ponad 17% genomu, podczas gdy małe powtórzenia (20-500 pz) stanowią mniej niż 6%. Procent powtórzeń w genomach blisko spokrewnionych gatunków bywa znacząco różny. Np. w mitogenomach *Z.mays NB, NA* i podgatunku *luxurianis* odsetek takich powtórzeń wynosi odpowiednio 23,4%, 8,7% i 3,4% [7].

W mitogenomach roślin występują też długie i stosunkowo liczne sekwencje pochodzenia chloroplastowego przeniesione tam na zasadzie transferu horyzontalnego. W *Vitis vinifera* zidentyfikowano cztery takie fragmenty (długość >9 kb, 8,8 kb, 7 kb i 6,1 kb), a u *Cucumis sativus* są rozmieszczone aż w 53 różnych regionach w genomu mitochondrialnego (wśród nich dwa mają więcej niż 10 kb). Przypuszcza się też, że w genomach mitochondrialnych można znaleźć sekwen-

cje pochodzenia jądrowego, ich identyfikacja nie jest jednak łatwa w sytuacjach braku charakterystycznych cech [2].

Analizy genomów w pełni zsekwencjonowanych umożliwiły też identyfikację pseudogenów, sekwencji które w toku ewolucji utraciły możliwość kodowania białek. Ich liczba w mitogenomach zwykle nie przekracza kilku, ale np. u *Zea mays* jest ich 26, a u *Vitis vinifera* aż 53 i zasilają pulę sekwencji niekodujących.

ZWIĘKSZANIE WIELKOŚCI GENOMU MITOCHONDRIÓW

Roślinne mitochondria posiadają zdolność łączenia się i dzielenia, co stwarza możliwość wymiany sekwencji genomowych [26]. Zjawiska mutacji i procesów rekombinacji genomu mitochondrialnego powodują, że często są one prezentowane w różnych formach fizycznych i współistnieniu dwóch lub więcej rodzajów genomu w komórce [55]. Proporcje między formami prowadzą do mitochondrialnej heteroplazmii [25]. Również niektóre manipulacje materiałem roślinnym mogą również powodować zmiany w ilości różnych form genomu mitochondrialnego, a te w efekcie wywoływać takie cechy, jak męska bezpłodność lub nieprawidłowy wzrost [19,26]. W przypadku kultur *in vitro* częste podziały mogą wpływać na segregację genomów mitochondrialnych [55]. Ekspozycja na czynniki genotoksyczne powodujące uszkodzenie DNA, jest kolejnym czynnikiem, który szczególnie wśród genów związanych z procesami rekombinacji, może wpływać na wielkość mitDNA [55].

Wielkość genomu mitochondrialnego wynika z obfitości sekwencji niekodujących (w tym elementów mobilnych) oraz ich zaangażowania w procesy rekombinacji wpływające zarówno na zawartość jak i organizację tych genomów [3, 48]. Przykład analiz mitDNA *A. thaliana* wykazuje, że wysoki wskaźnik rekombinacji, połączony ze sprawnością mechanizmów naprawczych, zdecydowanie bardziej skutecznych w stosunku do sekwencji kodujących, przyczynia się do wzrostu rozmiarów genomu mitochondriów [5]. Rekombinacje obejmują wszystkie rodzaje powtórzeń, niemniej stosunkowo najczęściej zachodzą między dużymi powtarzającymi się elementami i wydaje się, że to one są główną przyczyną zmian w strukturze, w tym również tworzenia cząsteczek subgenomowych [19].

TRANSFERY SEKWENCJI

Jedną z cech mitochondriów roślinnych jest też ich zdolność do adopcji fragmentów obcych DNA [53]. W toku ewolucji miało miejsce wiele zdarzeń związanych z transferem takich sekwencji zachodzących na drodze transferów horyzontalnych (HTG) i wewnątrzkomórkowych (IGT) [11, 36, 44, 58]. Sekwencje

pochodzenia jądrowego i chloroplastowego przeniesione do mtDNA są zwykle niekodujące i są opisywane jako MIPT (mitochondrialny DNA pochodzenia plastydowego) i MINC (mitochondrialny DNA pochodzenia jądrowego) [48]. Doniesienia dotyczące sekwencji kodujących wskazują, że wiele z transferowanych genów ulega uszkodzeniom i w konsekwencji przybierają one postać pseudogenów [38]. Ogólnie, geny genomów jądrowych są bardziej stabilne z powodu znacząco sprawniejszych mechanizmów naprawczych [35]. Przykłady HGT u roślin dotyczą transferu genów bakteryjnych i wirusowych [39, 53], a podatność roślinnych genomów mitochondrialnych do włączania obcego DNA tą drogą jest wyraźnie wyższa niż w genomach chloroplastowych i jądrowych [53]. Poziomy transfer genów mitochondrialnych szczególnie bogato dokumentowo w gatunkach okrytozalążkowych [36, 53, 44]. Niemniej jednak jego przypadki zidentyfikowano również w mitochondriach nagozalążkowych np. *Pinus canariensis* gdzie dotyczy niefunkcjonalnej postaci jednego z genów dehydrogenazy przeniesionego z gatunków roślin okrytozalążkowych [51]. Zjawisko HGT wywoływało wiele konsekwencji w postaci konwersji genów, nokautu czy zablokowanie ich aktywności [43,45]. Mimo, że opisywane zjawisko badane jest u roślin od ponad dwóch dekad, a liczba kompletnie zsekwencjonowanych mitDNA systematycznie rośnie, to jego dynamika i mechanizmy nadal pozostają stosunkowo słabo poznane. Zjawiskiem, które w największej mierze przyczynia się do ekspansji mitogenomów wydaje się transfer typu IGT. Znaczący udział w nim mają sekwencje jądrowe, a w szczególności retrotranspozony zawierające długie terminalne powtórzenia (ang. *long terminal repeat retrotransposons*). Pierwsze doniesienia na ten temat dotyczyły genomu mit *A. thaliana* [20] kolejne, wielu innych gatunków zarówno jedno- jak i dwuliściennych [4, 31]. Kompleksowe analizy genomów mit wykonane pod kątem identyfikacji w nich sekwencji jądrowych nabytych drogą transferu IGT wykonane na szerokim spektrum 23 gatunków dowodzą m.in. ich rosnącego udziału w strukturze genomów roślin nasiennych [58]. Poza retrotranspozonami typu *Copia, Gypsy* pojawiają się tu także inne typy ruchomych elementów oraz proste powtórzenia. Transferu typu IGT, poza migracją sekwencji jądrowych, dotyczy również elementów genomu chloroplastowego, identyfikowanych w mitochondriach. Uwaga powyższa odnosi się m.in. do części genów tRNA obecnych u nasiennych i niezbędnych w prawidłowym przebiegu translacji w mitochondriach (brak ich u mszaków). Analizy miejsc insercji wskazują na preferencyjnie wstawianie egzogennych DNA w regiony międzygenowe [52].

Reasumując, oba modele transferu sekwencji, HTG i ITG, odegrały istotną rolę w ewolucji genomów mit, a intensywność tych procesów osiągnęła najwyższy poziom w gatunkach roślin nasiennych i tam ich wpływ na strukturę i organizację genomów był największy.

Obok wspomnianych już procesów innym zjawiskiem odpowiedzialnym za obecne rozmiary genomów mit jest utrata informacji genetycznej [1]. Podczas

ewolucji większość genów mitochondrialnych została przeniesiona do genomu jądrowego i, w konsekwencji, jedynie ograniczoną autonomię genetyczną mitochondriów [26, 56]. Losy przeniesionych sekwencji różnią się w zależności od ich nowej lokalizacji, większość z nich to elementy niekodujące. U roślin genomy jądrowe mogą zawierać kilkaset kbp sekwencji pochodzenia mitochondrialnego [24].

Wśród gatunków okrytozalążkowych, które w toku ewolucji stały się pasożytami, dochodziło do usuwania zbędnych genów, szczególnie mitochondrialnych [8]. Badania genomu holopasożytów *Rafflesia cantleyi* potwierdziły, że 24-41% genów mitochondrialnych (geny NADH dehydrogenaz łańcucha oddechowego) uczestniczyło w zdarzeniach HGT [54]. Analogiczną sytuację obserwowano również wśród gatunków *Viscum* [26].

W przeciwieństwie do transferów sekwencji na linii mitochondria-jądro, transfery elementów genomu mit do plastydów są zjawiskiem bardzo rzadkim, niemniej zostały zidentyfikowane np. u *Daucus carrota, Aclepias syriaca* gdzie wielkość insercji to 1,5 do 4,7 kb i są one pochodną aktywności retrotranspozonów i mechanizmów naprawy DNA [11, 27].

PODSUMOWANIE

Pomimo istotnych różnic strukturalnych, cząsteczki mtDNA odgrywają tę samą fundamentalną rolę u wszystkich eukariotów, kodując rRNA, tRNA oraz wybrane białka łańcucha oddechowego. Ogólnie mitogenomy roślin są duże na tle analogicznych struktur pozostałych gatunków, a szerokie spektrum wielkości oraz organizacji i składu genów identyfikowano nawet u blisko spokrewnionych gatunków. Najnowsza wiedza dotycząca roślinnych genomów mitochondrialnych wciąż stawia pytania wymagające odpowiedzi. Nowe informacje wynikające z realizacji kolejnych projektów sekwencjonowania i kompleksowych analiz tych genomów wydają się znacząco tę wiedzę wzbogacać. Otwierają się też m.in. możliwości różnorodnych analiz porównawczych, których wyniki, niezależnie od aspektów czysto poznawczych, mogą znaleźć też zastosowanie praktyczne.

LITERATURA

[1] Adams KL, Qiu YL, Stoutemyer M, Palmer JD. Punctuated evolution of mitochondrial gene content: high and variable rates of mitochondrial gene loss and transfer to the nucleus during angiosperm evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 9905-9912.

[2] Alverson AJ, Rice DW, Dickinson S, Barry K, Palmer JD. Origins and recombination of the bacterial-sized multichromosomal mitochondrial genome of cucumber. *Plant Cell* 2011; **23**(7): 2499-2513.

[3] Asaf S, Khan AL, Khan AR, Waqas M, Kang S-M, Khan MA, Shahzad R, Seo C-W, Shin J-H, Lee I-J. Mitochondrial genome analysis of wild rice *(Oryza minuta)* and its comparison with other related species. *PLoS One* 2016; **11**(4): e0152937.

[4] Chen ZW, Nie HS, Grover CE, Wang YM, Li P, Zhao YP, Li SS, Wendel JF, et al. Entire nucleotide sequences of Gossypium raimondii and G. arboreum mitochondrial genomes revealed a-genome species as cytoplasmic donor of the allotetraploid species. *Plant Biol* 2017; **19**: 484-493.
[5] Christensen AC. Plant mitochondrial genome evolution can be explained by DNA repair mechanisms. *Genome Biol Evol* 2013; **5**(6): 1079-1086.
[6] Cole LW. The evolution of per-cell organelle number. *Front Cell Dev Biol* 2016; **4**: 85.
[7] Darracq A, Varre JS, Touzet P. A scenario of mitochondrial genome evolution in maize based on rearrangement events. *BMC Genomics* 2010; **11**: 233.
[8] Davis CC, Xi Z. Horizontal gene transfer in parasitic plants. *Curr Opin Plant Biol* 2015; **26**: 14-19.
[9] Denovan-Wright EM, Lee RW. Comparative analysis of the mitochondrial genomes of *Chlamydomonas eugametos* and *Chlamydomonas moewusii*. *Curr Genet* 1992; **21**: 197.
[10] Downie SR, Jensen RK. A comparative analysis of whole plastid genomes from the *Apiales*: Expansion and contraction of the inverted repeat, mitochondrial to plastid transfer of DNA, and identification of highly divergent noncoding regions. *Syst Bot* 2015; **40**(1): 336-351.
[11] Gandini CL, Sanchez-Puerta MV. Foreign Plastid Sequences in Plant Mitochondria are Frequently Acquired Via Mitochondrion-to-Mitochondrion Horizontal Transfer. *Sci Rep* 2017; **7**: 43402.
[12] Gualberto JM, Mileshina D, Wallet C, Niazi AK, Weber-Lotfi F, Dietrich A. The plant mitochondrial genome: Dynamics and maintenance. *Biochimie* 2014; **100**: 107-120.
[13] Gualberto JM, Newton KJ. Plant Mitochondrial Genomes: Dynamics and Mechanisms of Mutation. *Annu Rev Plant Biol* 2017; **68**: 225-252.
[14] Handa H. The complete nucleotide sequence and RNA editing content of the mitochondrial genome of rapeseed (*Brassica napus L.):* comparative analysis of the mitochondrial genomes of rapeseed and *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res* 2003; **31**(20): 5907-5916.
[15] Handa H. Linear plasmids in plant mitochondria: peaceful coexistences or malicious invasions? *Mitochondrion* 2008; **8**: 15-25.
[16] Havird JC, Noe GR, Link L, Torres A, Logan DC, Sloan DB, Chicco AJ. Do angiosperms with highly divergent mitochondrial genomes have altered mitochondrial function? *Mitochondrion* 2019; **49**: 1-11. doi: 10.1016/j.mito.2019.06.005.
[17] Ichinose M, Sugita M. RNA editing and its molecular mechanism in plant organelles. *Genes* 2016; **8**(1)E5
[18] Ishii T, Terachi T, Mori N, Tsunewaki K. Comparative study on the chloroplast, mitochondrial and nuclear genome differentiation in two cultivated rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*, by RFLP analyses. *Theor Appl Genet* 1993; **86**: 88-96.
[19] Kim B, Kim K, Yang T-J, Kim S. Completion of the mitochondrial genome sequence of onion (*Allium cepa* L.) containing the CMS male sterile cytoplasm and identification of an independent event of the ccmFN gene split. *Curr Genet* 2016; **62**(4): 873-885.
[20] Knoop V, Unseld M, Marienfeld J, Brandt P, Ullrich H, Brennicke A. Copia-, gypsy- and line-like retrotransposon fragments in the mitochondrial genome of Arabidopsis thaliana. *Genetics* 1996; **142**: 579-585.
[21] Kolodner R, Tewari KK. Physicochemical characterization of mitochondrial DNA from pea leaves. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; **69**(7): 1830-4.
[22] Kozik A, Rowan BA, LaVelle D, Berke L Schranz ME, Michelmore RW, Christensen AC. The alternative reality of plant mitochondrial DNA: One ring does not rule them all. *PLoS Genet* 2019; **15**(8): e1008373. doi: 10.1371/journal.pgen.1008373.
[23] Kubo T, Newton KJ. Angiosperm mitochondrial genomes and mutations. *Mitochondrion* 2008; **8**(1): 5-14.
[24] Leister D. Towards understanding the evolution and functional diversification of DNA-containing plant organelles. *F1000Research* 2016; **5**: 330.
[25] Levsen N, Bergero R, Charlesworth D, Wolf K. Frequent, geographically structured heteroplasmy in the mitochondria of a flowering plant, ribwort plantain (*Plantago lanceolata*). *Heredity* 2016; **117**: 1-7.

[26] Liberatorea KL, Dukowic-Schulzec S, Millera ME, Chenc C, Kianiana SF. The role of mitochondria in plant development and stress tolerance. *Free Radic Biol Med* 2016; **100**: 238-256.
[27] Ma P-F, Zhang Y-X, Guo Z-H, Li D-Z. Evidence for horizontal transfer of mitochondrial DNA to the plastid genome in a bamboo genus. *Sci Rep* 2015; **5**: 11608.
[28] MitoBase : Mitochondria Genome Database – http://rocaplab.ocean.washington.edu/tools/mitobase (entry date: 10.09.2019).
[29] Morley SA, Nielsen BL. Plant mitochondrial DNA. *Front Biosci* 2017; **1**(22): 1023-1032.
[30] NCBI Organelle Genome Resources – https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/?report=5 (entry date:10.09.2019).
[31] Notsu Y, Masood S, Nishikawa T, Kubo N, Akiduki G, Hirai A, Kadowaki K. The complete sequence of the rice (Oryza sativa L.) mitochondrial genome: Frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants. *Mol Genet. Genom* 2002; **268**: 434-445.
[32] Oda K, Yamato K, Ohta E, Nakamura Y, Takemura M, Akashi K, Ohyama K. Transfer RNA genes in the mitochondrial genome from a liverwort, *Marchantia polymorpha:* the absence of chloroplast--like tRNAs. *Nucleic Acids Res* 1992a; **20**(14): 3773-3777.
[33] Oda K, Yamato K, Ohta E, Nakamura Y, Takemura M, Nozato N, Akashi K, Kanegae T, Ogura Y, Kohchi T, Ohyama K. Gene organization deduced from the complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* mitochondrial DNA: A primitive form of plant mitochondrial genome. *J Mol Biol* 1992b; **222**(1): 1-7.
[34] Olejniczak SA, Łojewska E, Kowalczyk T, Sakowicz T. Chloroplasts: state of research and practical applications of plastome sequencing. *Planta* 2016; **244**: 517-27.
[35] Palmer JD, Adams KL, Cho Y, Parkinson CL, Qiu Y-L, Song K. Dynamic evolution of plant mitochondrial genomes: Mobile genes and introns and highly variable mutation rates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**(13): 6960-6966.
[36] Park S, Grewe F, Zhu A, Ruhlman TA, Sabir J, Mower JP, Jansen RK. Dynamic evolution of *Geranium* mitochondrial genomes through multiple horizontal and intracellular gene transfers. *New Phytol* 2015; **208**: 570-583.
[37] Pinard D, Myburg AA, Mizrachi E. The plastid and mitochondrial genomes of Eucalyptus grandis. *BMC Genomics* 2019; **20**(1): 132. doi: 10.1186/s12864-019-5444-4.
[38] Rice DW, Alverson AJ, Richardson AO, Young GJ, Sanchez-Puerta MV, Munzinger J, Barry K, Boore JL, Zhang Y, Pamphils CW, Knox EB, Palmer JD. Horizontal transfer of entire genomes via mitochondrial fusion in the angiosperm *Amborella*. *Science* 2013; **324**(6165): 1468-1473.
[39] Richardson AO, Palmer JD. Horizontal gene transfer in plants. *J Exp Bot* 2007; **58**: 1-9.
[40] Richardson AO, Rice DW, Young GJ, Alverson AJ, Palmer JD. The "fossilized" mitochondrial genome of *Liriodendron tulipifera*: ancestral gene content and order, ancestral editing sites, and extraordinarily low mutation rate. *BMC Biol* 2013; **11**: 29.
[41] Rodriguez-Moreno L, Gonzalez V, Benjak A, Marti MC, Puigdomench P, Aranda M, Garcia-Mas J. Determination of the melon chloroplast and mitochondrial genome sequences reveals that the largest reported mitochondrial genome in plants contains a significant amount of DNA having a nuclear origin. *BMC Genomics* 2011; **12**: 424.
[42] Salvato F, Havelund JF, Chen M, Prasad-Rao RS, Rogowska-Wrzesinska A, Jensen ON, Gang DR, Thelen JJ, MØller IM. The potato tuber mitochondrial proteome. *Plant Physiol* 2014; **164**: 637-653.
[43] Sanchez-Puerta MV, Cho Y, Mower JP, Alverson AJ, Palmer JD. Frequent, phylogenetically local horizontal transfer of the *cox1* group I intron in flowering plant mitochondria. *Mol Biol Evol* 2008; **25**(8): 1762-1777.
[44] Sanchez-Puerta MV, Garcia L, Wohlfeiler J, Ceriotti F. Unparalleled replacement of native mitochondrial genes by foreign homologs in a holoparasitic plant. *New Phytol* 2017; **214**(1): 376-387. doi: 10.1111/nph.14361.
[45] Sanchez-Puerta MV, Edera A., Gandini CL, Williams AV, Howell KA, Nevill PG, Small I. Genome-scale transfer of mitochondrial DNA from legume hosts to the holoparasite Lophophytum mirabile (Balanophoraceae). *Mol Phylogenet Evol* 2019; **132**: 243-250.

[46] Sloan DB, Alverson AJ, Chuckalovack JP, Wu M, McCCauley DE, Palmer JD, Taylor DR. Rapid evolution of enormous, multichromosomal genomes in flowering plant mitochondria with exceptionally high mutation rates. *PLoS Biol* 2012; **10**(1): e1001241. doi: 10.1371/journal.pbio.1001241.
[47] Sloan DB. One ring to rule them all? Genome sequencing provides new insights into the 'master circle' model of plant mitochondrial DNA structure. *New Phythol* 2013; **200**(4): 978-985.
[48] Smith DR, Kelling PJ. Mitochondrial and plastid genome architecture: Reoccurring themes, but significant differences at the extremes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; **112**(33): 10177-10184.
[49] Smith DR, Lee RW, Cushman JC, Magnuson JK, Tran D, Polle JE. The *Dunaliella salina* organelle genomes: large sequences, inflated with intronic and intergenic DNA. *BMC Plant Biol* 2010; **10**: 83.
[50] Tuteja R, Saxena RK, Davila J, Shah T, Chen W, Xiao Y-L, Fan G, Saxena KB, Alverson AJ, Spillane C, Town C, Varshney RK. Cytoplasmic Male Sterility-Associated Chimeric Open Reading Frames Identified by Mitochondrial Genome Sequencing of Four *Cajanus* Genotypes. *DNA Res* 2013; **20**(5): 485-495.
[51] Wang B, Climent J, Wang XR. Horizontal gene transfer from a flowering plant to the insular pine Pinus canariensis (Chr. Sm. Ex DC Buch). *Heredity (Edinb)* 2015; **114**(4): 413-8.
[52] Wang D, Rousseau-Gueutin M, Timmis JN. Plastid sequences contribute to some plant mitochondria genes. *Mol Biol Evol* 2012; **29**: 1707-1711.
[53] Warren JM, Simmons MP, Wu Z, Sloan DB. Linear plasmids and the rate of sequence evolution in plant mitochondrial genomes. *Genome Biol Evol* 2016; **8**(2): 364-374.
[54] Xi Z. Phylogenomics of the flowering plant *Clade Malpighiales*. *Doctoral dissertation, Harvard University* 2013.
[55] Yang J, Liu G, Zhao N, Chen S, Liu D, Ma W, Hu Z, Zhang M. Comparative mitochondrial genome analysis reveals the evolutionary rearrangement mechanism in *Brassica*. *Plant Biol (Stuttg)* 2016; **18**(3): 527-36. doi: 10.1111/plb.12414.
[56] Yurina NP, Odintsova MS. Mitochondrial genome structure of photosynthetic eukaryotes. *Biochemistry (Moscow)* 2016; **81**: 101-112.
[57] Zervas A, Petersen G, Seberg O. Mitochondrial genome evolution in parasitic plants. *BMC Evol Biol* 2019; **19**(1): 87. doi: 10.1186/s12862-019-1401-8.
[58] Zhao N, WangY, Hua J. The Roles of Mitochondrion in Intergenomic Gene Transfer in Plants: A Source and a Pool. *Int J Mol Sci* 2018; **11**:19(2) pii: E547.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 03.10.2019
Przyjęto: 18.11.2019
Ewelina Łojewska
Katedra Biotechnologii Molekularnej i Genetyki, Wydz. BiOŚ, Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, Łódź 90-237
e-mail: ewelina.lojewska@biol.uni.lodz
tel.: +48 42 635 44 28, tel./fax: +48 42 635 44 23