

Mitochondrialny gen cytochromu b (MTCYB)

KAMILA KNAPIK, MAGDALENA JĘDRZEJCZAK, ANDRZEJ DYBUS

Zakład Cytogenetyki Molekularnej Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Doktora Judyma 12, 71-460 Szczecin

Knapik K., Jędrzejczak M., Dybus A.

Cytochrome b (MTCYB) mitochondrial genome

Summary

A broad analysis of organisms is possible using molecular DNA as a marker. Mitochondrial genome and genes present in mtDNA, e.g. cytochrome b gene, are widely used in investigations and the significance of this research is becoming increasing. This gene is coded by heavy (H) strand of mtDNA. Cytochrome b is one of 11 subunits composed of bc₁ complex of respiratory chain of mitochondria, the sequence of which is written down in the mitochondrial genome. Cytochrome b gene traits are a slow rate of variations during evolution, the presence of some parts of the gene that are more conserved and those which show high divergence rates. Those traits make the cytochrome b gene useful as a marker in many analyses. The cytochrome b gene is used as a tool in such studies as: legal and veterinary medicine, palaeontology, as well as phylogenetics, and it can attain the status of a universal metric.

Keywords: cytochrome b, mitochondrial genome

Ocena wartości hodowlanej zwierzęcia na podstawie fenotypu jest mało precyzyjna, dlatego coraz częściej wykorzystuje się do tego metody biologii molekularnej. Naturalnie występująca zmienność nukleotydów w DNA, będąca wynikiem zmian dokonujących się w trakcie ewolucji, daje szansę na wykorzystanie jej w określaniu stopnia pokrewieństwa lub odmienności u osobników, które często posiadają podobne cechy na poziomie fenotypowym (8). Wykorzystanie markerów DNA stanowi dopełnienie tradycyjnych metod badawczych. Analizom poddawane są zazwyczaj odcinki genomu, charakteryzujące się różnym tempem ewolucji, co w konsekwencji przejawia się odmiennym poziomem polimorfizmu (40). Coraz częściej badacze zwracają uwagę na genom mitochondrialny (mtDNA), co związane jest z jego specyficznym charakterem – wykazuje on mianowicie znacznie szybsze tempo mutacji niż DNA jądrowy (33). Dlatego też na znaczeniu zyskują analizy molekularne genów w nim zlokalizowanych, między innymi genu cytochromu b, jak również wysoce polimorficzne sekwencje regionu kontrolnego (1).

Ogólna charakterystyka kompleksu bc₁ i cytochromu b

Kompleks bc₁ mitochondrialnego łańcucha oddechowego (nazywany też reduktazą cytochromową lub kompleksem III; EC 1.10.2.2) składa się z 11 podjednostek strukturalnych (białko wielopodjednostkowe) osadzonych po wewnętrznej stronie błony mitochondrialnej. Podjednostki te obejmują białka rdzeniowe I i II, cytochrom b (podjednostka III), cytochrom c₁

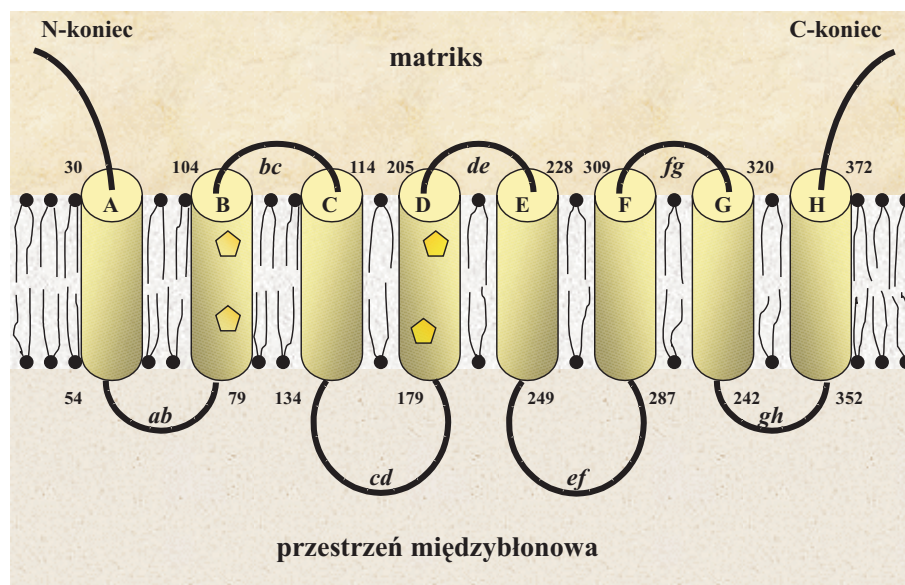
(podjednostka IV), białko Rieskiego (podjednostka V) i kilka mniejszych polipeptydów. Podjednostki III, IV, V są głównymi białkami kompleksu, ich wzajemny stosunek wynosi 2 : 1 : 1 (27, 30). Oksydoreduktaza cytochromowa zaangażowana jest w transport elektronów wzdłuż błony lipidowej, z równoczesną translokacją protonów w poprzek membrany. Energia wytworzonego gradientu protonów wykorzystywana jest następnie do wiązania energii chemicznej w postaci ATP z udziałem ATPazy (11, 12). Po raz pierwszy kompleks bc₁ wyizolowano z wewnętrznej błony mitochondrialnej serca wołu (39), późniejsze badania krystalograficzne pozwoliły na określenie struktury kompleksu pochodzącego m.in. z mitochondriów drożdży i drożdży (15, 41).

U organizmów eukariotycznych kompleks cytochromów bc₁ jest dimerem. Każdy monomer składa się z trzech podjednostek katalitycznych, z następującymi grupami prostetycznymi: cytochrom b z 2 hemami typu b, cytochrom c₁ z 1 hemem typu c oraz białko Rieskiego zawierające centrum reakcyjne 2Fe-2S. Cytochrom c₁ oraz białko Rieskiego zakotwiczone są w rdzeniu za pomocą pojedynczych domen transbłonowych, ich domeny katalityczne zlokalizowane są zaś w przestrzeni międzymbłonowej (20, 29). Mitochondrialny cytochrom b jest integralnym białkiem błonowym i stanowi rdzeń kompleksu bc₁ (24). Występuje on w postaci pojedynczego polipeptydu o masie około 42,7 kDa (2) i zawiera od 378 (woł) (39), 380 (ptaki) do 440 (bakterie fotosyntetyzujące) reszt aminokwasowych (31). Oba końce tego białka (–NH₂ i –COOH) zlokalizowane są w matriks mitochondrialnej (ryc. 1).

Początkowo przypuszczano, że to wysoce konserwatywne białko utworzone jest przez dziewięć transbłonowych helis alfa (29, 35), jednak późniejsze analizy struktury pierwszorzędowej wykazały, że zawiera ono 8 helis, które oznaczono od A do H (7). Helisy te połączone w dwie grupy: A, B, C, D i E – pierwsza oraz F, G i H – druga. Oba hemy cytochromu b umiejscowione są pomiędzy helisami A, B, C i D. Budowa cząsteczki cytochromu b jest stosunkowo prosta: 4 długie pętle (ab, cd, de i ef) i 3 krótkie (bc, fg i gh) łączą helisy transmembranowe. Pętla de znajduje się po stronie matriks, natomiast pozostałe 3 długie pętle w przestrzeni międzybłonowej (39). Cytochrom b zawiera dwa hemy, b_H i b_L , różniące się potencjałem redoks i właściwościami spektralnymi. Hem b_L (b-566), zlokalizowany blisko powierzchni błony cytoplazmatycznej ma mniejsze powinowactwo do elektronów od hemu b_H (b-562), znajdującego się bliżej matriks (10, 29). Wykazano, że ligandami dla obu hemów b są cztery wysoce konserwatywne histydyny, zlokalizowane w helisie B i D. Histydyny te są najbardziej niezmiennymi sekwencjami cytochromu b (10, 35). Reduktaza cytochromowa jest drugą z trzech pomp protonowych łańcucha oddechowego. Jej funkcja polega na przenoszeniu elektronów z ubichinonu (koenzym Q) do cytochromu c, z równoczesnym pompowaniem protonów w poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej. Działanie kompleksu cytochromowego opisuje mechanizm zwany „cyklem Q” Mitchella (24) i „cyklem b” Wikstroma i wsp. (36). Koenzym Q, działający jako ruchomy element łańcucha oddechowego, występuje w dużym stężeniu w wewnętrznej błonie mitochondrium, a niewielka jego część związana jest z kompleksem bc_1 . Transport jonów wodorowych w poprzek błony wymaga dwóch miejsc wiążących chinon, zlokalizowanych na przeciwległych stronach błony. Podczas całego cyklu utleniane są dwie cząsteczki ubichinolu, jedna cząsteczka ubichinonu ulega redukcji, dwa elektrony przeniesione są na cytochrom c i cztery protony translokowane w poprzek błony lipidowej (28, 30).

Charakterystyka genu cytochromu b (MTCYB)

Cytochrom b jest jedyną podjednostką kompleksu III, która kodowana jest przez mitochondrialny DNA (mtDNA). Gen cytochromu b (MTCYB) kodowany jest przez łańcuch ciężki (nić H) mtDNA bogaty w guaninę i zlokalizowany w genomie mitochondrialnym człowieka pomiędzy nukleotydami w pozycji 14 747 i 15 887 par zasad (2, 33), u ptaków zaś położony jest pomiędzy genami ND5 a tRNA^{Thr}. Gen MTCYB człowieka obejmuje obszar o długości 1140 nukleotydów



Ryc. 1. Struktura białka cytochromu b wg Esposti i wsp. (10), zmodyfikował S. Zych

(bez intronów), kodując pojedynczy polipeptyd. Na końcu 5' mRNA, tuż za kodonem „start” AUG, znajduje się 4 nukleotydowy fragment niekodujący, zaś na końcu 3' znajduje się kodon „stop” UAA, a za nim uracyl (2, 33).

Mutacje mitochondrialnego genu cytochromu b

U człowieka mitochondrialny DNA podlega mutacjom około 10 razy częściej niż DNA jądrowy, związane jest to z mało skutecznym systemem naprawy uszkodzeń DNA, brakiem histonów oraz obecnością dużej liczby wolnych rodników, wytwarzanych w procesie fosforylacji oksydacyjnej. Ponieważ każda komórka ciała posiada setki mitochondriów i tysiące cząsteczek DNA, szkodliwe mutacje mtDNA mogą wystąpić we wszystkich tkankach, zarówno somatycznych, jak i generatywnych. Te powstające w mtDNA komórki linii płciowych mogą powodować występowanie nowego polimorfizmu DNA mitochondrialnego lub choroby przekazywane potomstwu przez matkę. Mutacje pojawiające się w komórkach somatycznych mogą być związane ze spadającą z wiekiem wydolnością układu fosforylacji oksydacyjnej (33). Zmiany w mtDNA są odpowiedzialne za różnorodne choroby degeneracyjne, procesy starzenia się czy też nowotwory. Patogenne mutacje mtDNA powodowane są poprzez substytucje (mutacje punktowe) lub rearanżacje (delecje i duplikacje). Mutacje punktowe mogą dotyczyć genów strukturalnych lub genów rRNA i tRNA. Zmiany w mtDNA mogą być także wywołane przez mutacje w genach jądrowych, które kodują białka strukturalne mitochondriów lub białka związane z regulacją ich funkcji (34).

U ludzi opisano szereg dysfunkcji mitochondrialnych powiązanych z występowaniem specyficznych mutacji w genie cytochromu b. Andreu i wsp. (3) opisał trzy mutacje nonsensowne (G15084A, G15168A

i G15723A), jedną mutację zmiany sensu (G14846A) oraz delecję 24 nukleotydów (od nukleotydu 15 498 do 15 521) w genie MTCYB u pięciu przebadanych pacjentów. Każda z opisanych mutacji osłabiała funkcje enzymatyczne białka cytochromu b. U pacjentów tych obserwowano również, poza nietolerancją na wysiłek fizyczny oraz ogólną słabością, obecność mioglobiny w moczu. Mutacje te charakteryzowały się tym, iż występowały wyłącznie w komórkach mięśniowych, w innych tkankach zmian w genie kodującym cytochrom b nie wykazano, co wskazywałoby na somatyczny charakter mutacji. Keightley i wsp. (17) opisali podłoże molekularne wadliwego funkcjonowania III kompleksu białkowego łańcucha oddechowego u pacjentki, u której już w 1983 r. zdiagnozowano nietolerancję na wysiłek i kwasicę mleczanową. Analiza sekwencji DNA genu MTCYB wykazała istnienie mutacji G15242A, co powodowało utratę aż 215 aminokwasów dojrzałego białka. Mutacja ta występowała w 87% komórek mięśni szkieletowych, natomiast w komórkach krwi obwodowej zanotowano bardzo niski jej odsetek (0,7%). Występowanie tej mutacji, której obecność wykazano także w kilku innych tkankach, wskazywałoby na jej pojawienie się we wczesnym okresie zarodkowym. Mancuso i wsp. (22) analizowali z kolei przyczynę nietolerancji na jakikolwiek wysiłek u 19-letniej pacjentki; również w tym przypadku obserwowane dolegliwości były spowodowane mutacją mitochondrialnego genu MTCYB. Analiza sekwencji nukleotydowej DNA tego genu wykazała pojawienie się kodonu stop (G15761A), co przekładało się na utratę ostatnich 41 aminokwasów białka, modyfikując istotnie jego funkcje biologiczne. Analiza PCR-RFLP opisanej mutacji wykazała, że występowała ona licznie w mięśniach pacjentki (73%), była ledwie wykrywalna w komórkach izolowanych z moczu (mniej niż 1%), nie występowała natomiast w DNA komórek izolowanych z pełnej krwi obwodowej. Wcześniej Brown i wsp. (4) opisali przypadki mutacji punktowych w genie cytochromu b (tranzycje G na A), będące przyczyną zmiany struktury białka cytochromu b. Efektem tych mutacji jest pojawienie się encefalopatii zwanej dziedziczną neuropatią nerwu wzrokowego Lebera LHON (Leber's hereditary optic neuropathy). Choroba ta przejawia się ostrą utratą wzroku u młodych mężczyzn i dziedziczona jest po matce. Mutacje genu cytochromu b mogą też powodować choroby centralnego układu nerwowego. De Coo i wsp. (6) zidentyfikowali delecję odcinka DNA o długości 4 par zasad w wysoce konserwatywnym regionie genu cytochromu b. U pacjenta obciążonego tą mutacją powodowało to początkowo pojawienie się trudności w koordynacji ruchowej oraz koncentracji, a w późniejszym wieku dawało obraz typowy dla choroby Parkinsona.

Każda z opisanych powyżej mutacji upośledzała enzymatyczną funkcję białka cytochromu b i prawidłowe działanie kompleksu III i tym samym idzie po-

wodowała obniżenie zdolności energetycznej mitochondriów.

Ewolucja

Występowanie genu kodującego cytochrom b u niemalże wszystkich organizmów eukariotycznych i rozmaitych organizmów prokariotycznych wskazuje na jego wczesne pojawienie się w trakcie ewolucji (14, 32). Cytochrom b występuje u eubakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (32) oraz archebakterii (21). Wynika z tego, że gen-przodek musiał istnieć zanim nastąpiło wyodrębnienie głównych rodów u organizmów prokariotycznych (37). Od kiedy ustalono, że gen MTCYB charakteryzuje się dość powolnym tempem zmian w czasie ewolucji (13), stał się on przydatny jako marker genetyczny do ustalania pokrewieństwa filogenetycznego pomiędzy gatunkami (16, 18). Choć pewne obszary cytochromu b są bardziej konserwatywne ewolucyjnie, to można wyróżnić regiony wykazujące znaczną zmienność i właśnie one są niezwykle cenne do ustalania dystansu filogenetycznego między gatunkami i rasami (1, 9, 14).

Praktyczne wykorzystanie

Analiza sekwencji nukleotydowej genu cytochromu b znalazła zastosowanie w przypadku określania pochodzenia śladów biologicznych zwierząt i ludzi w badaniach sądowych oraz nadzorze weterynaryjnym. Przy ustalaniu pochodzenia materiału biologicznego, jakim są np.: włosy, pióra, ślady krwi, fragmenty zębów czy kości, wykorzystuje się głównie analizy polimorfizmu mitochondrialnego DNA (5, 25). Możliwość analizy materiału, który występuje w niewielkiej ilości (w przypadku, gdy są to fragmenty tkanek bądź pojedyncze komórki), jak również materiału pochodzącego ze szczątków kopalnych, jest możliwe dzięki niezwyklej stabilności mtDNA i jego powolnej degradacji, stąd możliwość przeprowadzenia analiz mtDNA pochodzącego ze z mumifikowanych tkanek (26). Na podstawie kopalnych zapisów dla rodowodów niektórych gatunków kopytnych można oszacować tempo ewolucyjnych zmian różnych komponentów cytochromu b i sekwencji aminokwasowych. Udało się wykazać powiązania pomiędzy takimi gatunkami (mogłoby się wydawać bardzo odległymi), jak: słonie, ludzie, bydlę, owce, kozy, żyrafy i jelenie (16).

Techniki molekularne oparte na analizie PCR-RFLP tego genu znalazły do tej pory zastosowanie, między innymi, w zakresie nadzoru nad pochodzeniem mięsa i innych produktów konsumpcyjnych pochodzenia zwierzęcego (wykrywanie źródła pochodzenia mięsa – wołowina, wieprzowina, drób bądź wykrywanie różnego rodzaju zafałszowań) (23). Badania te prowadzi się właśnie w oparciu o identyfikację na podstawie analizy fragmentu genu cytochromu b. Na podstawie takich analiz można np. rozróżniać kawior pochodzący od różnych gatunków jesiotrów (38). Znajdują one także zastosowanie w logistyce z zakresu ochrony przy-

rody i coraz szerzej na polu filogenetyki, która poszukuje odpowiedzi na pytania dotyczące różnorodności (19). Dotychczas przeprowadzone analizy cytochromu b dotyczyły ustalenia protoplasty dla konkretnych gatunków. Jako przykład podać tu można badania dotyczące relacji pomiędzy różnymi rasami świń, włączając badania nad dawnymi, jak i obecnie występującymi i powszechnie użytkowanymi rasami (1) czy też badania na materiale pochodzenia zwierzęcego i ludzkiego, w celu określenia możliwości wykorzystania takich analiz i wskazania stopnia niezawodności w odróżnianiu śladów ludzkich i zwierzęcych oraz tych pochodzących od gatunków ewolucyjnie pokrewnych (takich jak: żubr, bizon, bydlę domowe, zebu) (26).

Gen cytochromu b charakteryzuje się dużą konserwatywnością (występuje brak zmienności osobniczej). Zmienność międzyosobnicza w obrębie gatunku ogranicza się jedynie do występowania podstawień synonimicznych, stałych i charakterystycznych dla poszczególnych grup taksonomicznych oraz dla każdego z gatunków (26). Z kolei ogromna konserwatywność sekwencji białka cytochromu b jest dogodnym narzędziem do diagnozowania dysfunkcji w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym na modelach mysich (34). Szerokie wykorzystanie cytochromu b w tego typu pracach nadało mu status uniwersalnej metryki, co sprawia, że prowadzone badania mogą być łatwo porównywalne (19).

Piśmiennictwo

- Alves E., Óvilo C., Rodríguez M. C., Silió L.: Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. *Anim. Genet.* 2003, 34, 319-324.
- Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G., de Bruijn M. H. L., Coulson A. R., Drouin J., Eperon I. C., Nierlich D. P., Roe B. A., Sanger F., Schreier P. H., Smith A. J. H., Staden R., Young I. G.: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981, 290, 457-465.
- Andreu A. L., Hanna M. G., Reichmann H., Bruno C., Penn A. S., Tanji K., Pallotti F., Iwata S., Bonilla E., Lach B., Morgan-Hughes J., DiMauro S.: Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N. Engl. J. Med.* 1999, 341, 1037-1044.
- Brown M. D., Voljavec A. S., Lott M. T., Torroni A., Yang C.-C., Wallace D. C.: Mitochondrial DNA complex I and III mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Genetics* 1992, 130, 163-173.
- Budowle B., Allard M. W., Wilson M. R., Chakraborty R.: Forensics and mitochondrial DNA: Applications, debates, and foundations. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2003, 4, 119-141.
- De Co I. F. M., Renier W. O., Ruitenbeek W., Ter Laak H. J., Bakker M., Schagger H., Van Oost B. A., Smeets H. J. M.: A 4-base pair deletion in the mitochondrial cytochrome b gene associated with parkinsonism/MELAS overlap syndrome. *Ann. Neurol.* 1999, 45, 130-133.
- Di Rago J. P., Colson A. M.: Molecular basis for resistance to antimycin and diuron, Q-cycle inhibitors acting at the Qi site in the mitochondrial ubiquinol-cytochrome c reductase in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 1988, 263, 12564-12570.
- Drozd L., Karpiński M., Goleman M., Czyżowski P.: Charakterystyka krótkich fragmentów restrykcyjnych mtDNA u samy (Capreolus capreolus) i jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*). *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Sect. EE Zootech.* 2003, 56, 23-30.
- Edwards S. V., Arctander P., Wilson A. C.: Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds. *Proc. Biol. Sci.* 1991, 243, 99-107.
- Esposito M. D., DeVries S., Crimi M., Ghelli A., Patarnello T., Meyer A.: Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1993, 1143, 243-271.
- Gubernator B., Króliczewski J., Rybka J., Szczepaniak A.: Białko Rieskiego – składnik transmembranowych kompleksów cytochromowych. *Postępy Biochem.* 1997, 43, 41-50.
- Hatefi Y., Haavik A. G., Griffiths D. E.: Studies on the Electron Transfer System XLI. Reduced Coenzyme Q-Cytochrome c Reductase. *J. Biol. Chem.* 1962, 237, 1681-1685.
- Hauska G., Nitschke W., Herrmann R. G.: Amino acid identities in the three redox center-carrying polypeptides of cytochrome bc₁/b₆f complexes. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1988, 20, 211-228.
- Howell N.: Evolutionary conservation of protein regions in the protonmotive cytochrome b and their possible roles in redox catalysis. *J. Mol. Evol.* 1989, 29, 157-169.
- Hunte C., Koepke J., Lange C., Rossmann T., Michel H.: Structure at 2.3 Å resolution of the cytochrome bc₁ complex from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* co-crystallized with an antibody Fv fragment. *Structure Fold. Des.* 2000, 8, 669-684.
- Irwin D. M., Kocher T. D., Wilson A. C.: Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal J. Mol. Evol.* 1991, 32, 128-144.
- Keightley J. A., Anitori R., Burton M. D., Quan F., Buist N. R. M., Kennaway N. G.: Mitochondrial encephalomyopathy and complex III deficiency associated with a stop-codon mutation in the cytochrome b gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2000, 67, 1400-1410.
- Kocher T. D., Thomas W. K., Meyer A., Edwards S. V., Paabo S., Villablanca F. X., Wilson A. C.: Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989, 86, 6196-6200.
- Kvist L.: Phylogeny and phylogeography of European Parids. *Acta Univ. Oul. A* 2000, 341, 1-51.
- Link T. A., Schagger H., von Jagow G.: Analysis of the structures of the subunits of the cytochrome bc₁ complex from beef heart mitochondria. *FEBS Lett.* 1986, 204, 9-15.
- Lubben M., Kolmerer B., Saraste M.: An archaeobacterial terminal oxidase combines core structures of two mitochondrial respiratory complexes. *EMBO J.* 1992, 11, 805-812.
- Mancuso M., Filosto M., Stevens J. C., Patterson M., Shanske S., Krishna S., DiMauro S.: Mitochondrial myopathy and complex III deficiency in a patient with a new stop-codon mutation (G339X) in the cytochrome b gene. *J. Neurol. Sci.* 2003, 209, 61-63.
- Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroyab S., Shibata K., Yamada J., Shimura Y.: A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Sci.* 1999, 51, 143-148.
- Mitchell P.: Protonmotive redox mechanism of the cytochrome bc₁ complex in the respiratory chain: protonmotive ubiquinone cycle. *FEBS Lett.* 1975, 56, 1-6.
- Parson W., Pegoraro K., Niederstatter H., Foger M., Steinlechner M.: Species identification by means of the cytochrome b gene. *Int. J. Legal Med.* 2000, 114, 23-28.
- Prusak B., Grzybowski T., Gralak M., Grzybowski G.: Przydatność analizy sekwencji genu cytochromu b mitochondrialnego DNA do określenia pochodzenia śladów biologicznych zwierząt i ludzi. *Med. Weter.* 2005, 61, 162-165.
- Rieske J. S.: Composition, structure, and function of complex III of the respiratory chain. *Biochim. Biophys. Acta* 1976, 456, 195-247.
- Romanowska E.: Kompleks cytochromów b/f z błon chloroplastowych. *Postępy Biochem.* 1994, 40, 59-63.
- Saraste M.: Location of haem-binding sites in the mitochondrial cytochrome b. *FEBS Letters* 1984, 166, 367-372.
- Saraste M.: Oxidative phosphorylation at the fin de siècle. *Science* 1999, 283, 1488-1493.
- Soriano G. M., Ponamarev M. V., Carrell C. J., Xia D., Smith J. L., Cramer W. A.: Comparison of the cytochrome bc₁ complex with the anticipated structure of the cytochrome b₆f complex: Le plus ça change le plus c'est la même chose. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1999, 31, 201-213.
- Trumpower B. L.: Cytochrome bc₁ complexes of microorganisms. *Microbiol. Rev.* 1990, 54, 101-129.
- Wallace D. C.: Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 8739-8746.
- Wallace D. C.: Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999, 283, 1482-1488.
- Widger W. R., Cramer W. A., Herrmann R. G., Trebst A.: Sequence homology and structural similarity between cytochrome b of mitochondrial complex III and the chloroplast b₆f-complex: Position of the cytochrome b hemes in the membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1984, 81, 674-678.
- Wikstrom M., Krab K., Saraste M.: Proton-translocating cytochrome complexes. *Ann. Rev. Biochem.* 1981, 50, 623-655.
- Woese C. R.: Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 1987, 51, 221-271.
- Wolf C., Hübner P., Lüthy J.: Differentiation of sturgeon species by PCR-RFLP. *Food Res. Intern.* 1999, 32, 699-705.
- Xia D., Yu C. A., Kim H., Xia J. Z., Kachurin A. M., Zhang L., Yu L., Deisenhofer J.: The Crystal Structure of the Cytochrome bc₁ Complex from Bovine Heart Mitochondria. *Science* 1997, 277, 60-66.
- Zawadzka M.: Systemy oceny minisatelitarnego polimorfizmu DNA i możliwości ich wykorzystania w hodowli zwierząt. *Biotechnologia* 2000, 4, 62-79.
- Zhang Z., Huang L., Shulmeister V. M., Chi Y. I., Kim K. K., Hung L. W., Crofts A. R., Berry E. A., Kim S. H.: Electron transfer by domain movement in cytochrome bc₁. *Nature* 1998, 392, 677-684.

Adres autora: mgr inż. Kamila Knapik, ul. Doktora Judyma 12, 71-460 Szczecin