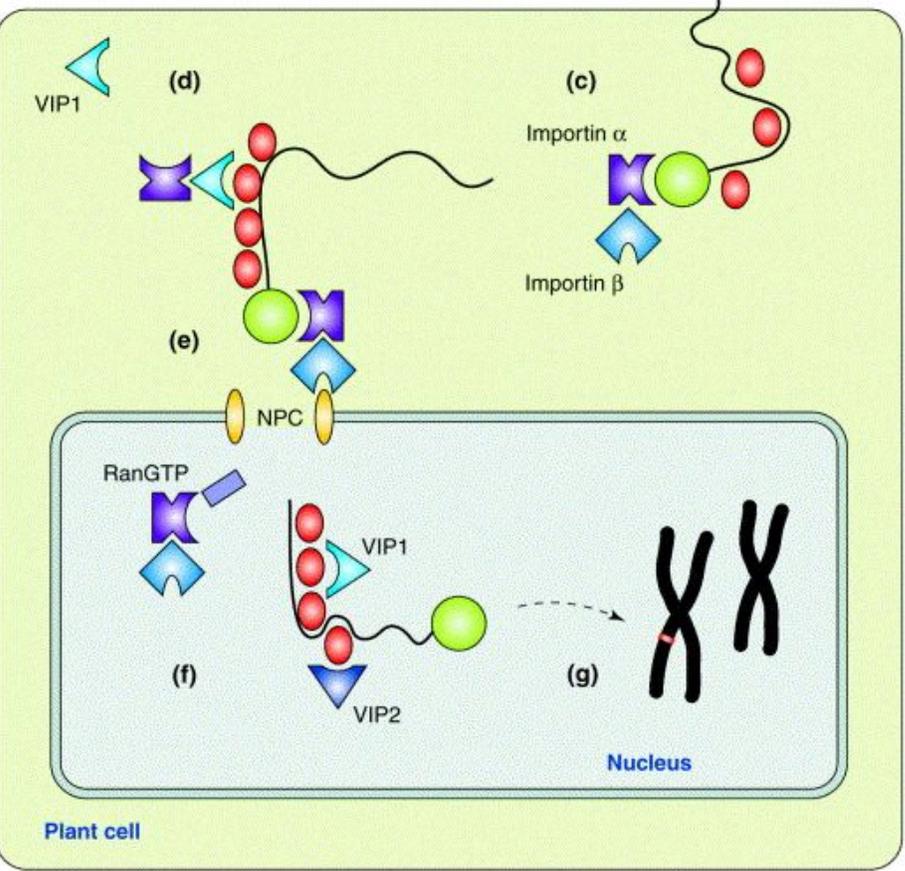


Тема 4. Структура и функции надорганизменных генетических систем



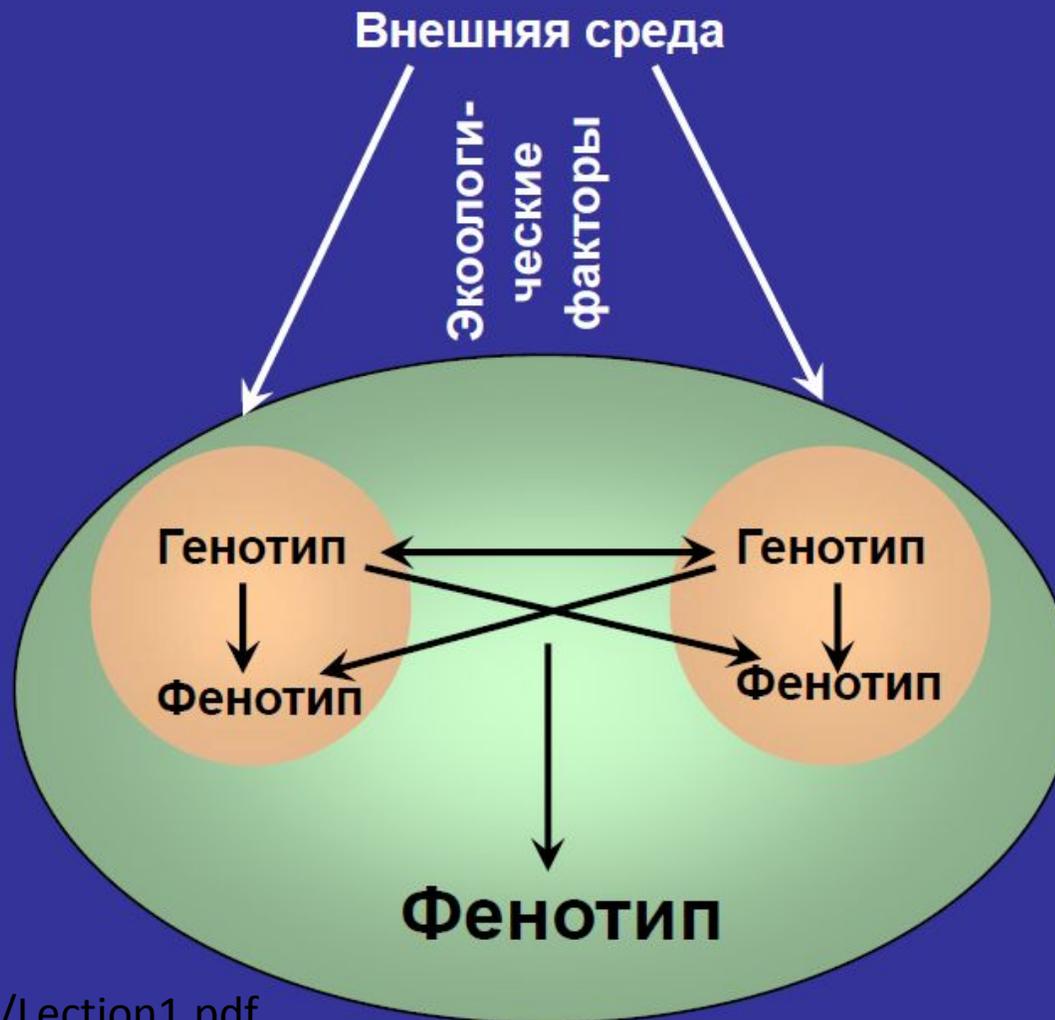
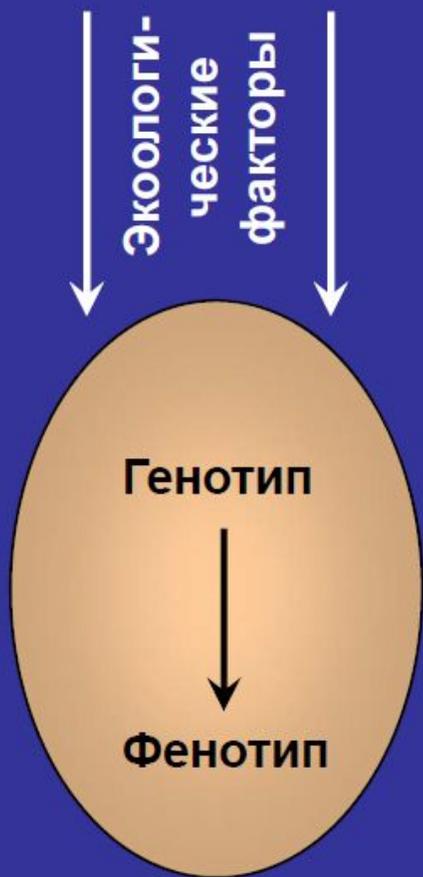
Связь генотипа и фенотипа

у свободноживущего
организма

при симбиозе

Внешняя среда

Внешняя среда



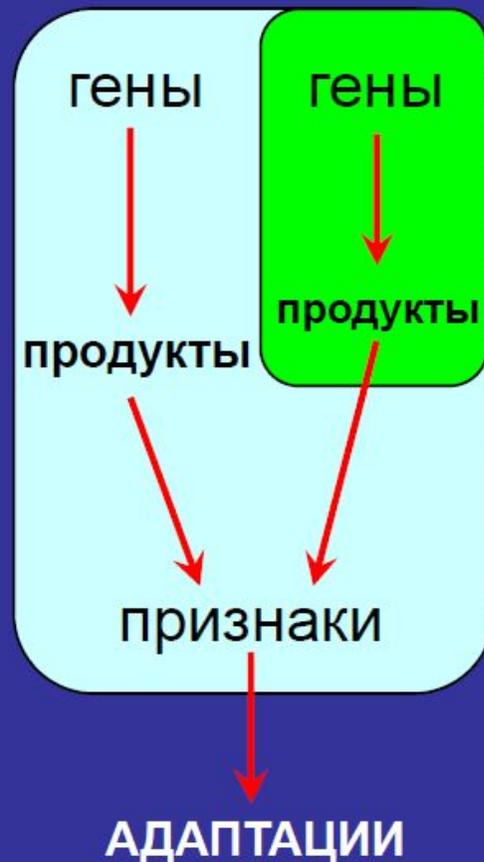
Надорганизмная генетическая система - совокупность генов тесно взаимодействующих организмов, определяющая фенотип симбиоза.

Соотношение «ген-признак»

у свободноживущего
организма



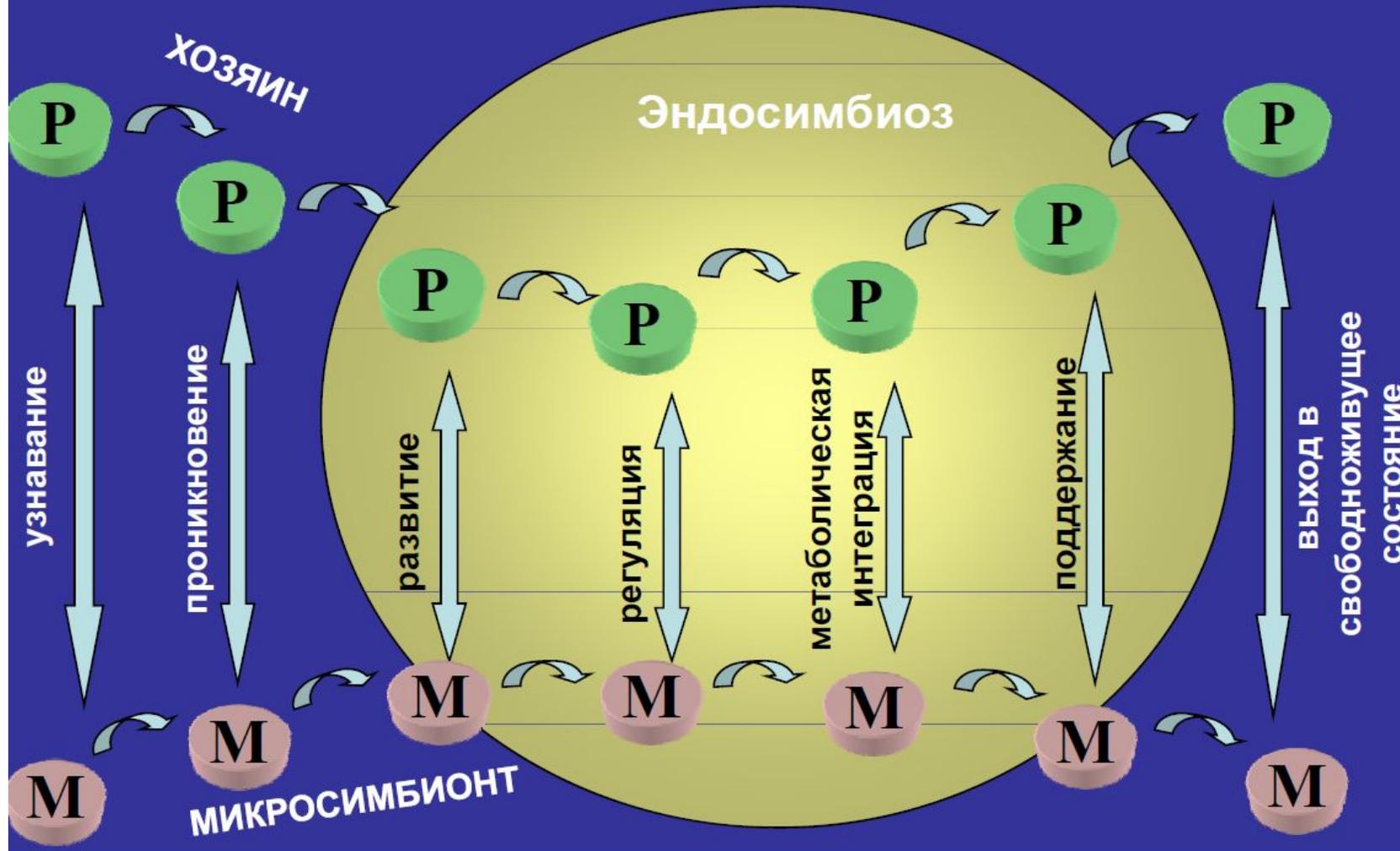
при симбиозе



Единица наследственности при симбиозе состоит как минимум из 2 генов (хозяина и симбионта).

Программа развития симбиотических систем

Основные этапы становления симбиоза



1. Узнавание
2. Инфекционный процесс
3. Морфогенез
4. Регуляция
5. Метаболическая интеграция
6. Поддержание
7. Выход партнеров в свободноживущее состояние.

Основные функции надорганизменных генетических систем

1. Сигнальные взаимодействия партнеров
2. Развитие симбиотических структур
3. Метаболическая интеграция партнеров

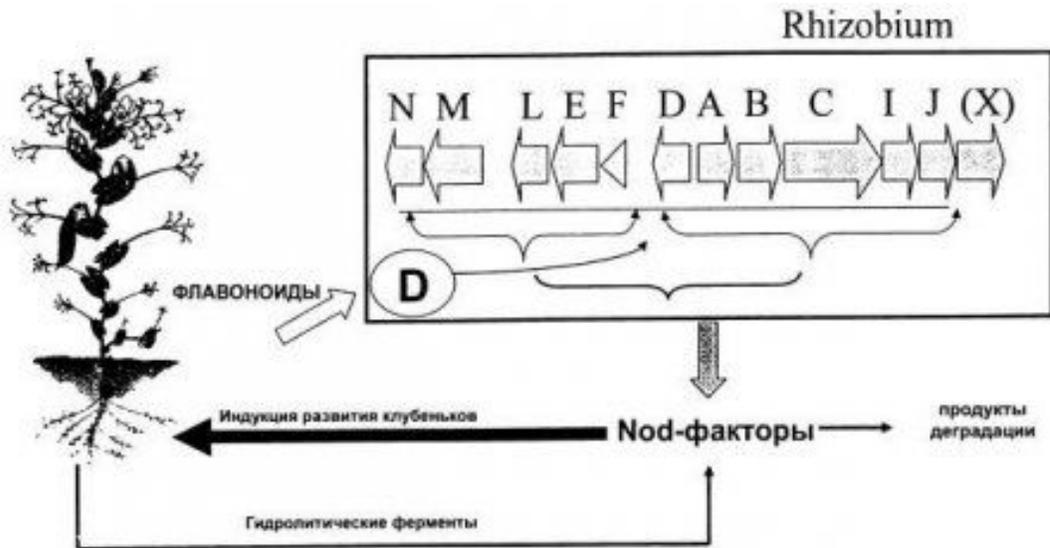


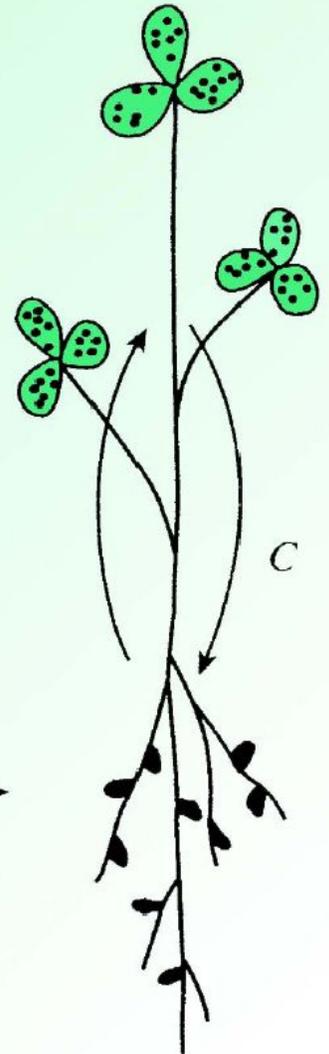
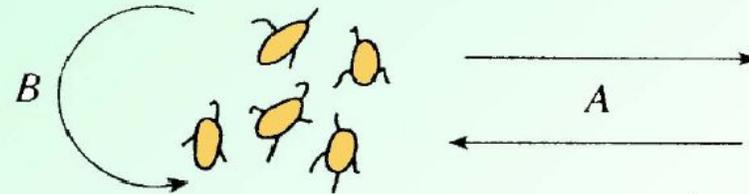
Рис. 11.6. Обмен клубеньковых бактерий (*Rhizobium*) и бобовых растений сигналами на ранних стадиях симбиоза

СИГНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИМБИОЗЕ

А. Обмен партнеров сигналами

В. Авторегуляция генов микросимбионта

С. Системная регуляция у хозяина



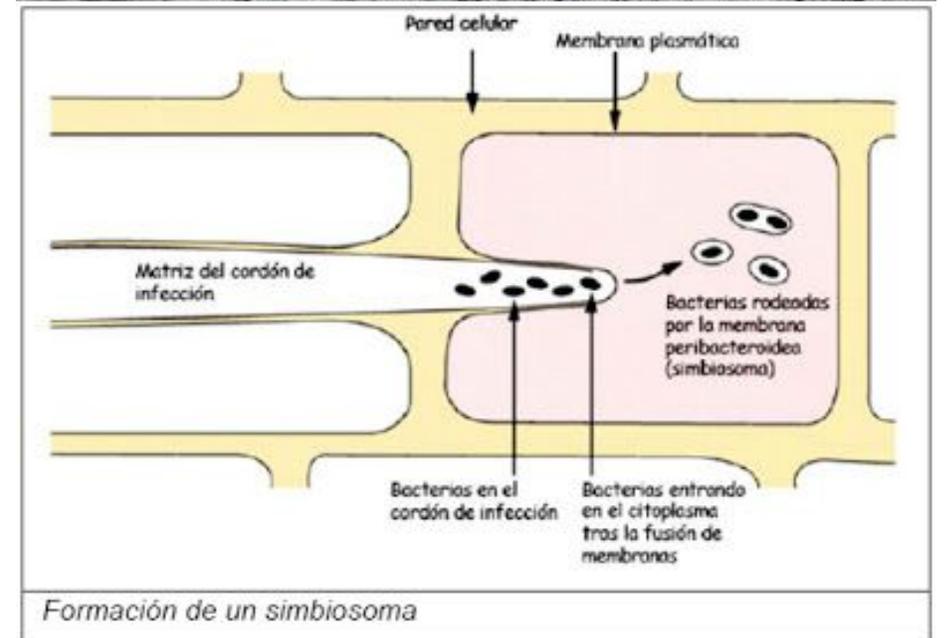
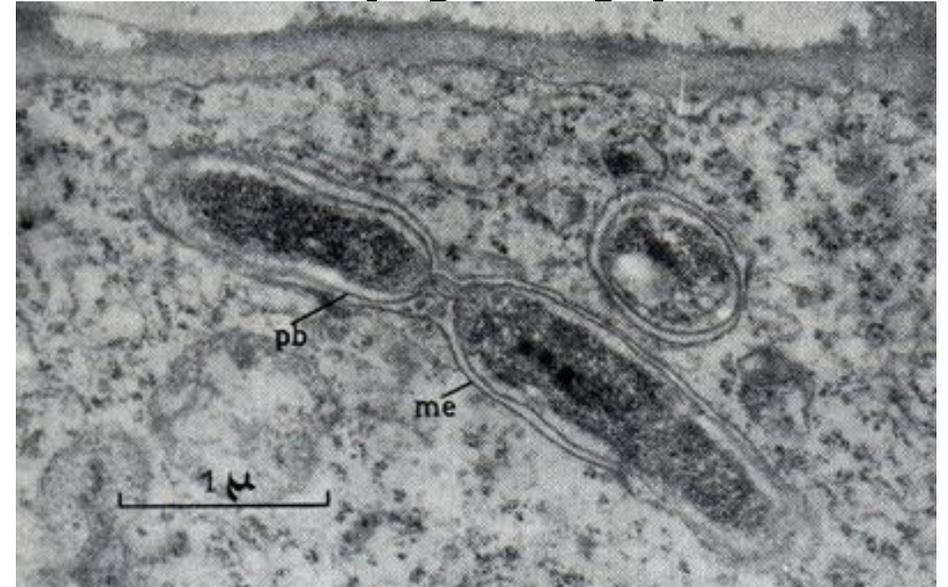
Развитие симбиотических структур

Функции:

- 1)местилище для симбионта;
- 2)структурная основа для обмена партнерами метаболитов и регуляторных факторов;
- 3)локализация симбионта, которая облегчает контроль над его численностью и активностью;
- 4)Избегание защитных механизмов хозяев.

При внутриклеточных симбиозах формируются особые мембранные структуры — **симбиосомы**, при внутриклеточном паразитизме — **паразитофорные вакуоли**.

Микрофотография симбиосомы и процесс ее формирования при бобово-ризобиальном симбиозе.



Симбиотические структуры в разных группах организмов

Органы	Хозяева	Симбионты
Растения		
Азотфиксирующие клубеньки	Двудольные	<i>Rhizobium, Frankia</i>
Полости в листьях	<i>Azolla</i>	<i>Anabaena</i>
Опухоли (галлы)	Двудольные	<i>Agrobacterium</i>
Животные		
Органы свечения	Кальмары	<i>Vibrio fischeri</i>
Мицетомы	Тли	<i>Buchnera</i>
Рубец	Жвачные животные	Целлюлозолитические микроорганизмы

Морфогенетическая реакция на паразитов у растений

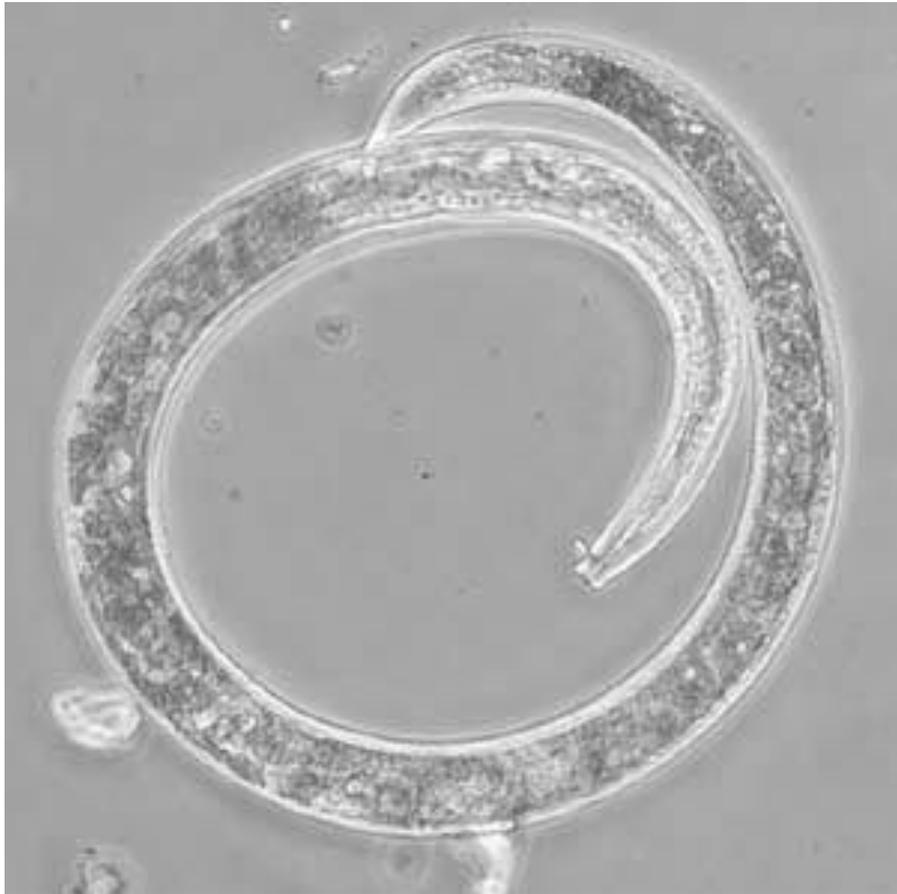


Чернильный орешек дубовой
орехотворки *Synips quercusfolii*



Галлы от орехотворки
Andricus quercuscalicis

Морфогенетическая реакция на паразитов у растений



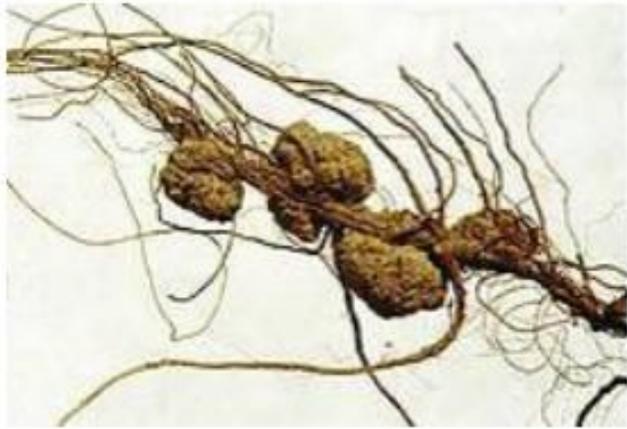
Галловая нематода – паразит корней высших растений



А – здоровая корневая система,
Б – пораженная галловой нематодой

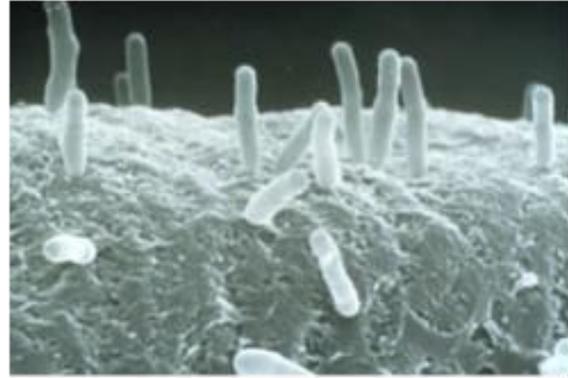


Азотфиксирующие клубеньки на корнях гороха
(«дикий тип»)



Корончатые галлы,
образуемые на корнях

Agrobacterium tumefaciens поражает стебли и листья некоторых растений, причем ее Ti-плазмиды умеют встраивать часть своей ДНК в хромосому растительной клетки.



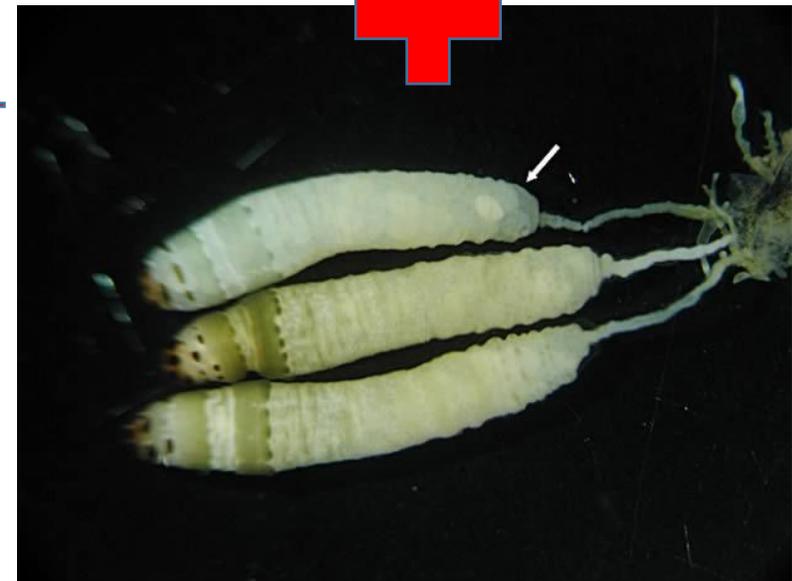
Корончатые галлы
на стеблях растений



Получив такой подарок, клетки начинают бурно делиться, превращаясь в разрастание рыхлой ткани — корончатый галл, и вырабатывать ряд экзотических веществ, которыми и питаются трансформировавшие их бактерии.



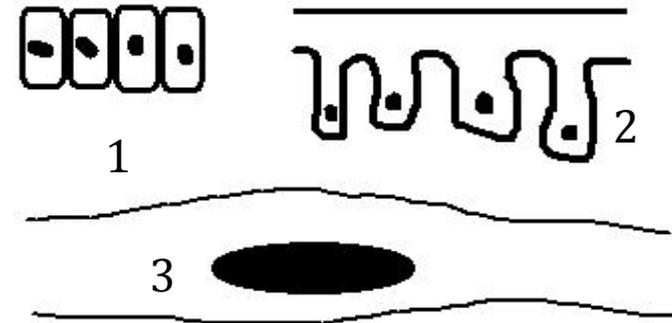
Морфогенетическая реакция у ЖИВОТНЫХ



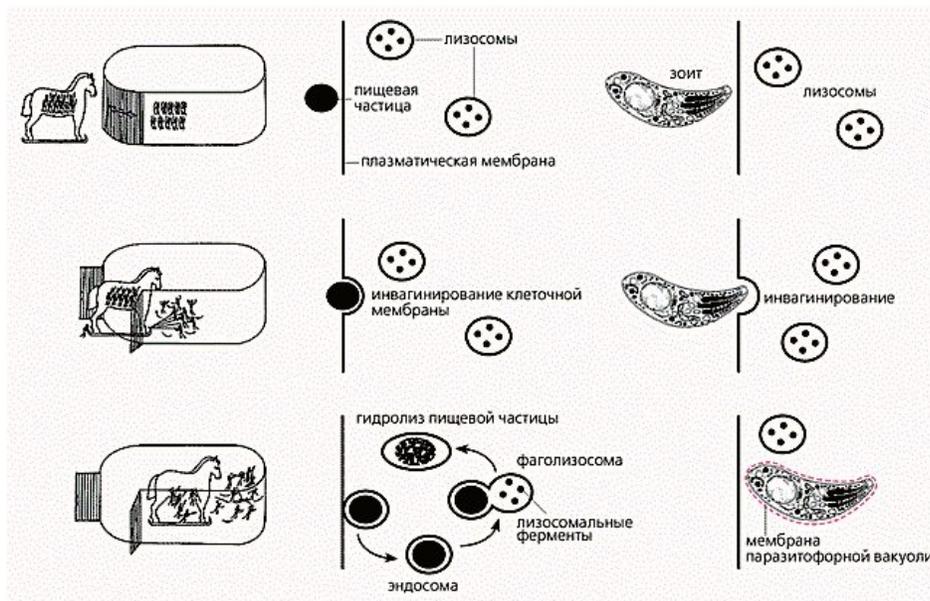
Моллюск янтарка *Succinea* с
метацеркариями *Leucochloridium*
paradoxum в рожках

Защитные функции симбиотических структур

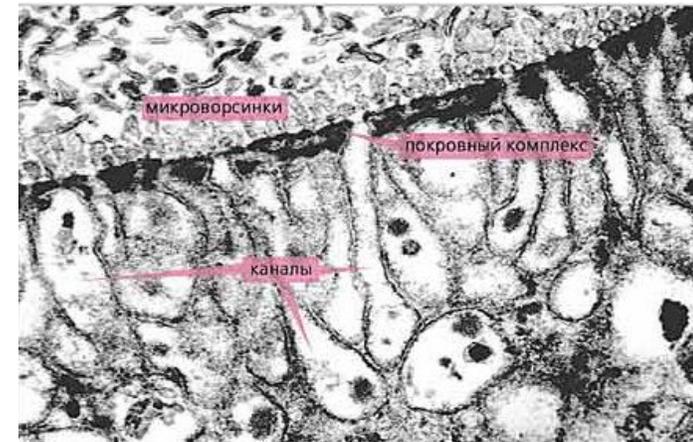
- Строение покровов тела
 - Кутикула нематод
 - Синцитий плоских червей
 - Тегумент скребней
- Использование экологических убежищ
- Модификация мембран (паразитофорная вакуоль)



1- эпителий, 2 – погруженный синцитий, 3 – гигантское полиплоидное ядро в синцитии



Формирование паразитофорной вакуоли

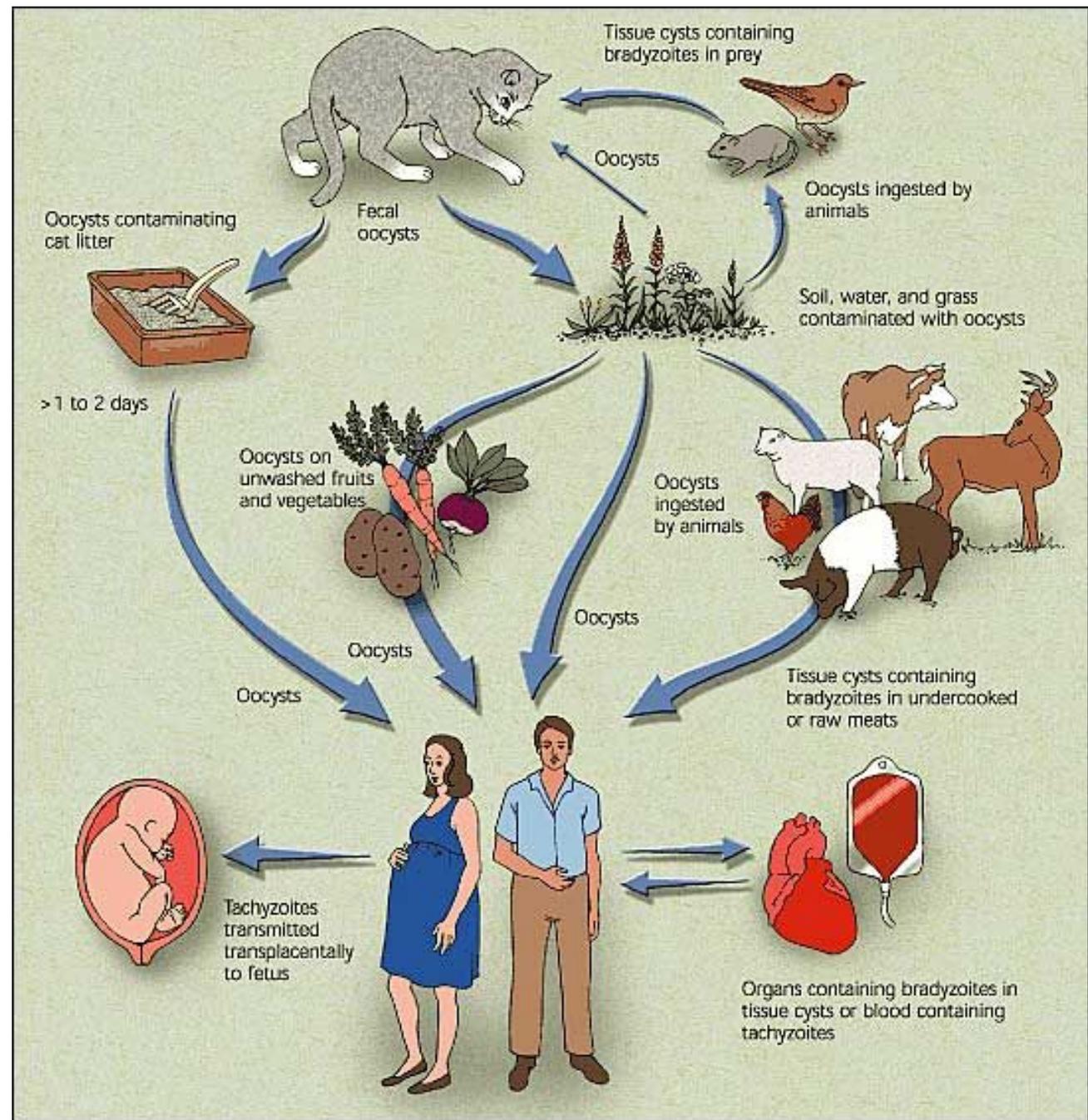


Тегумент скребней, имеющий синцитиальное строение (Фото В.П. Никишина)

Токсоплазмоз

Хозяева: кошки, собаки, мыши, крысы, домашние животные, человек

Источники заражения: сырое мясо, фекалии домашних животных, их выделения в острый период заболевания



Попадая внутрь иммунной клетки, паразит выделяет особый белок, ROP16, который подавляет синтез цитокинов, воспалительная реакция не

Защитные функции симбиотических структур

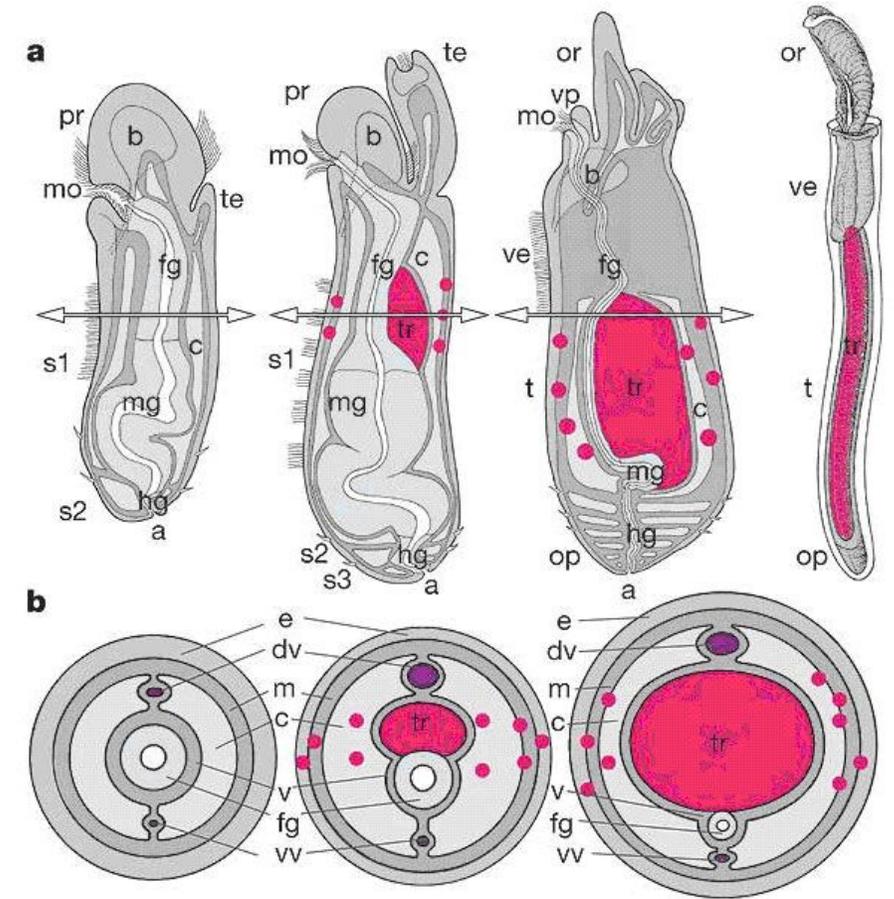
- Индуцирование образования хозяином соединительнотканых капсул
- Нейтрализация пищеварительных ферментов
- Отпугивание иммунокомпетентных клеток
- Препятствование прилипанию клеток хозяина
- Сбрасывание наружных отделов оболочки со связанными антителами
- «Молекулярная мимикрия»



Метацеркарий
Opisthorchis felinus в
соединительнотканой
капсуле
в мышцах язя

Формирование трофосомы

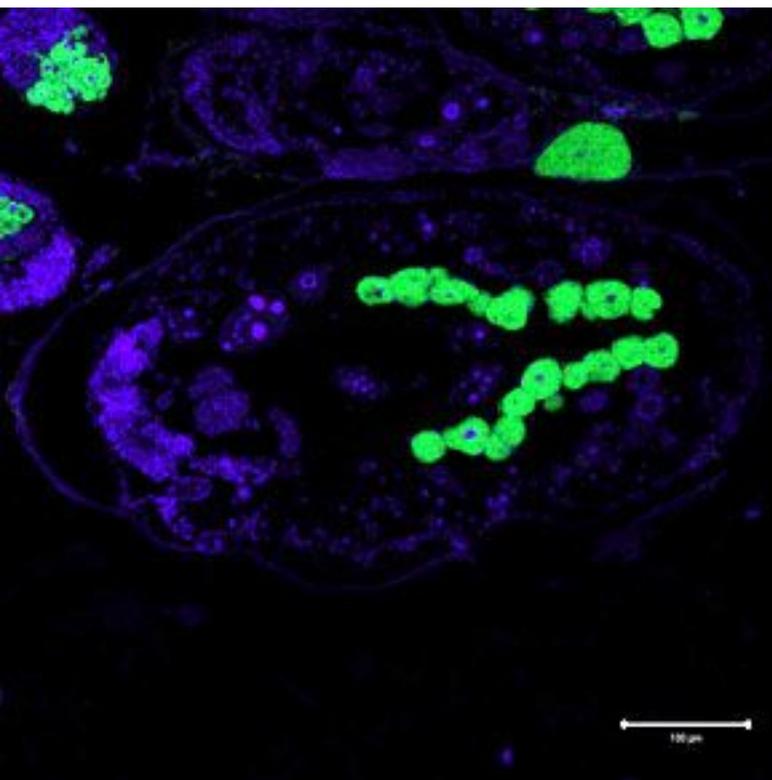
- Вестиментиферы — обитатели гидротермальных биотопов на дне океана (в районе Восточно-Тихоокеанского поднятия (9°С. Ш., 104°З. Д.) на глубине 2500 метров), где из расщелин изливается горячая вода, несущая сероводород.
- Глубоководные черви вестиментиферы могут существовать только в симбиозе с автотрофными бактериями, которые производят органическое вещество из CO₂, используя энергию восстановленных соединений серы. Эти бактерии живут внутри червя, в клетках особого органа — **трофосомы**.
- Симбиотические бактерии внедряются в осевшую на субстрат личинку через кожу, что напоминает заражение патогенными микроорганизмами.



Морфогенез личинки вестиментифер после проникновения симбиотических бактерий (показаны розовыми точками). Вверху — продольные разрезы (a), а внизу — поперечные (b). Справа вверху показана взрослая особь.

Кишечник постепенно исчезает, зато развивается трофосома (tr — область, выделенная розовым цветом). *Схема из статьи*

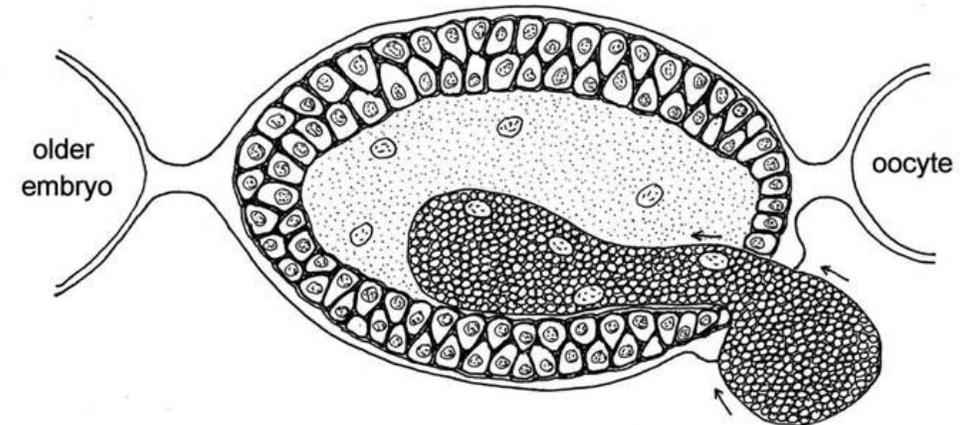
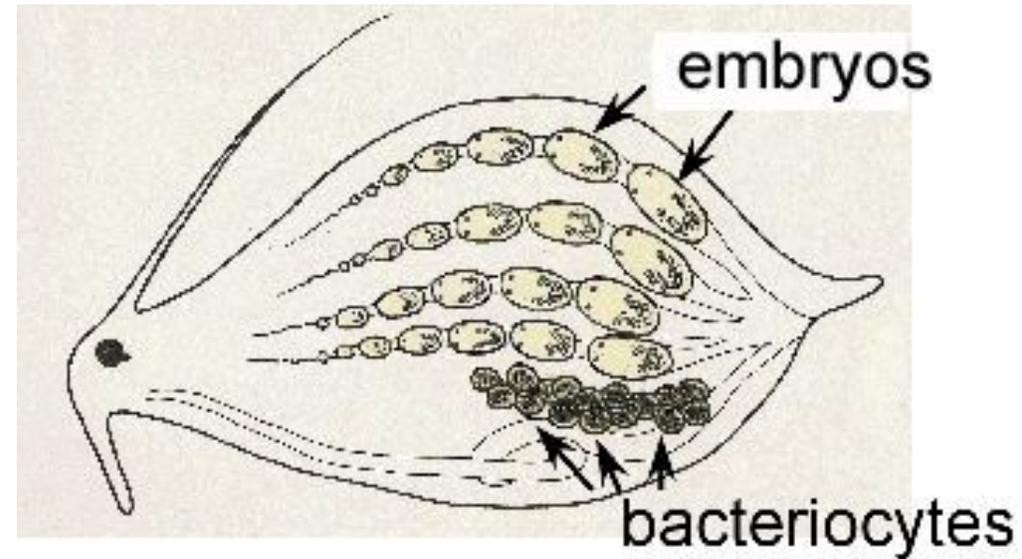
в Nature



Компоненты симбиотического сверхорганизма: тля (вверху) и бактерии *Buchnera*, живущие в специализированных клетках хозяина — **бактериоцитах.**

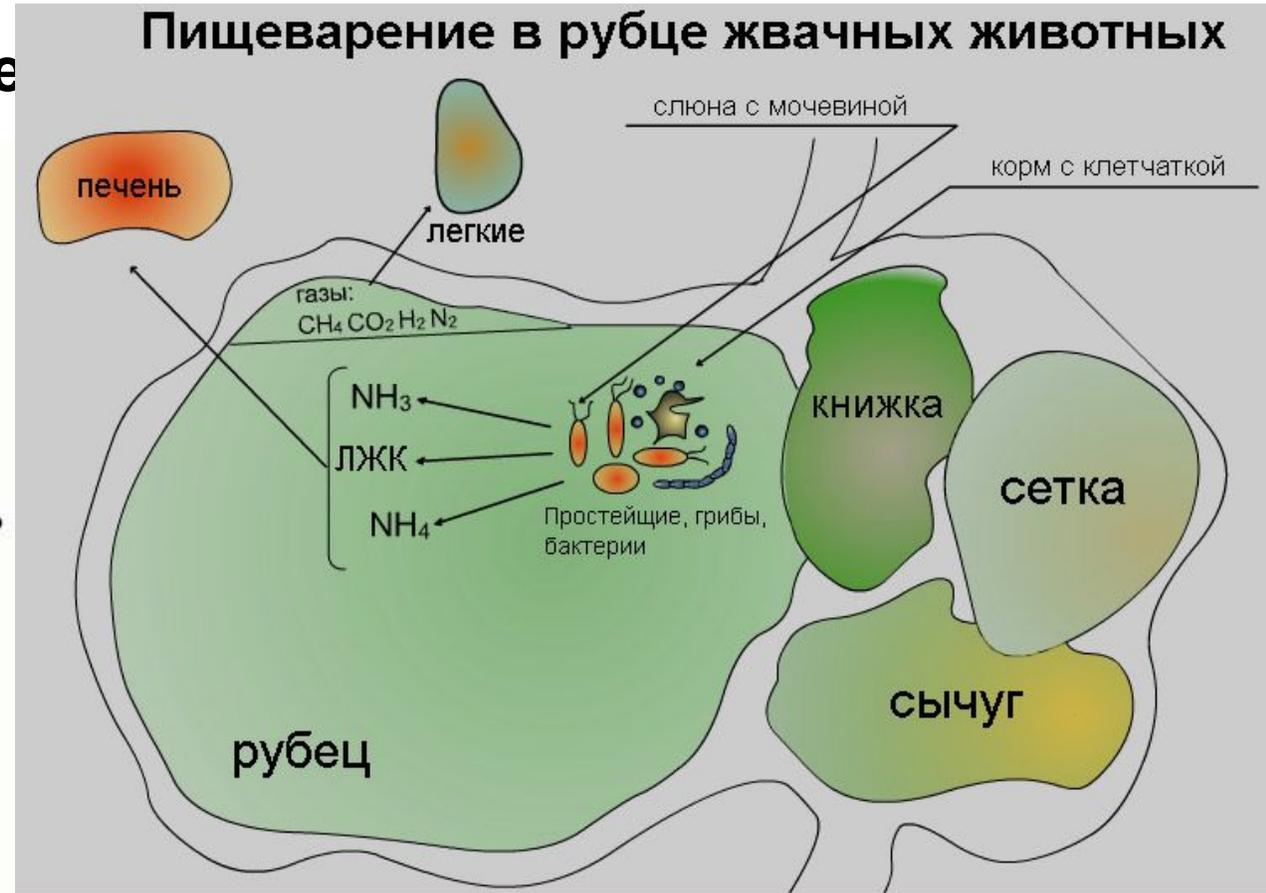
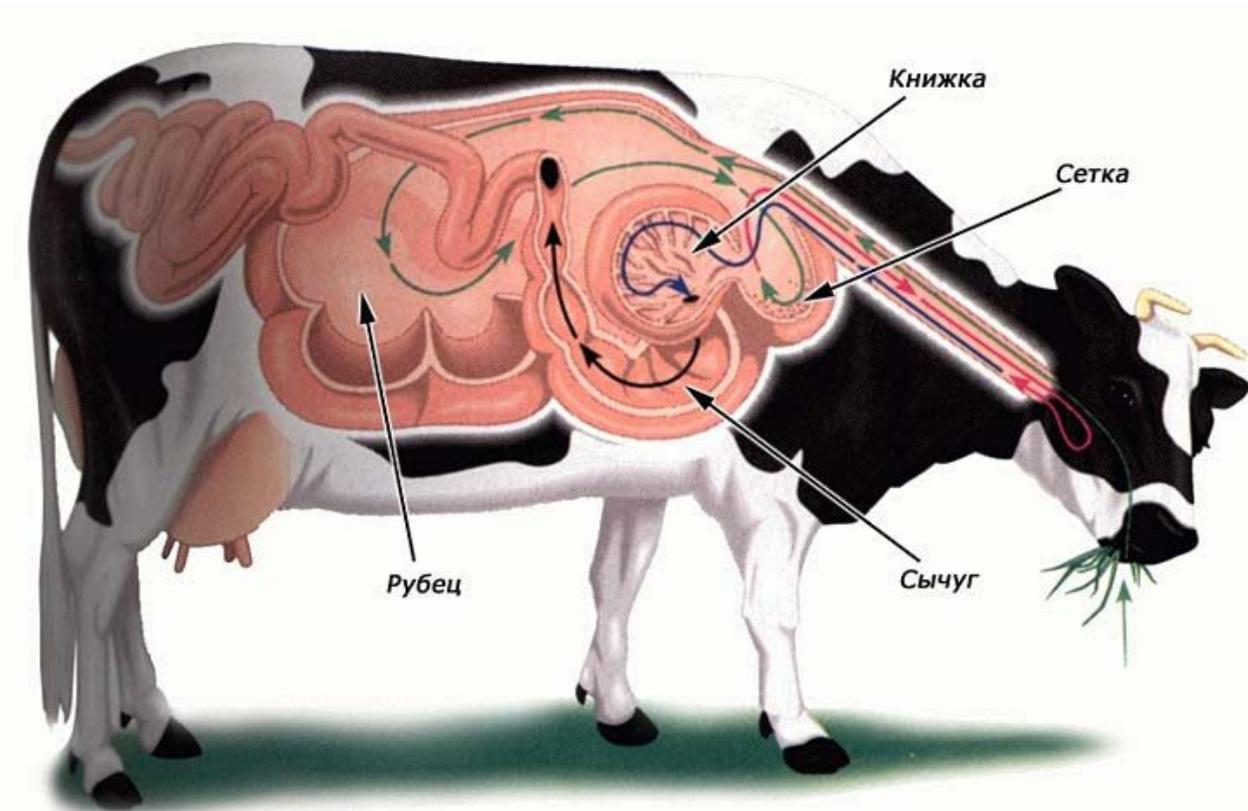
Симбионты получают от хозяев пищу, а в обмен синтезируют для них аминокислоты, витамины и другие вещества, отсутствующие в соке растений.

Трансовариальная передача симбионта тлей



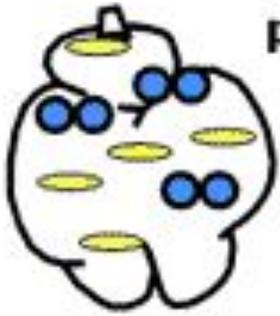
Строение желудка жвачных животных

Специализированный отдел - рубец

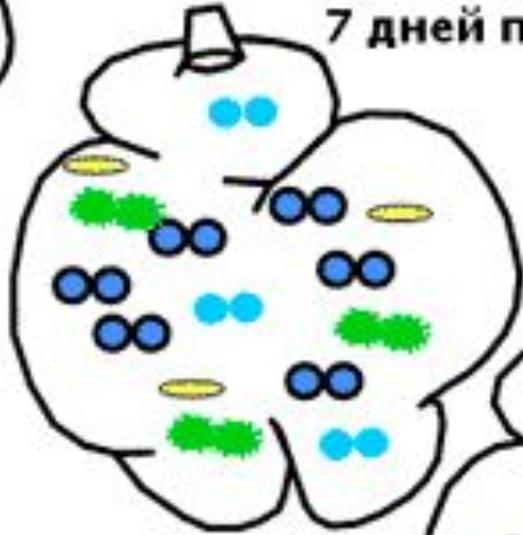


ПОСТЕПЕННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ РУБЦА ЖВАЧНЫХ

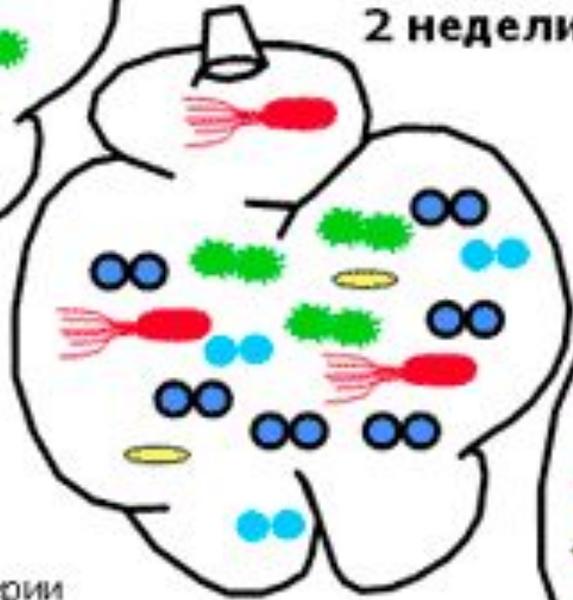
48ч после рождения...



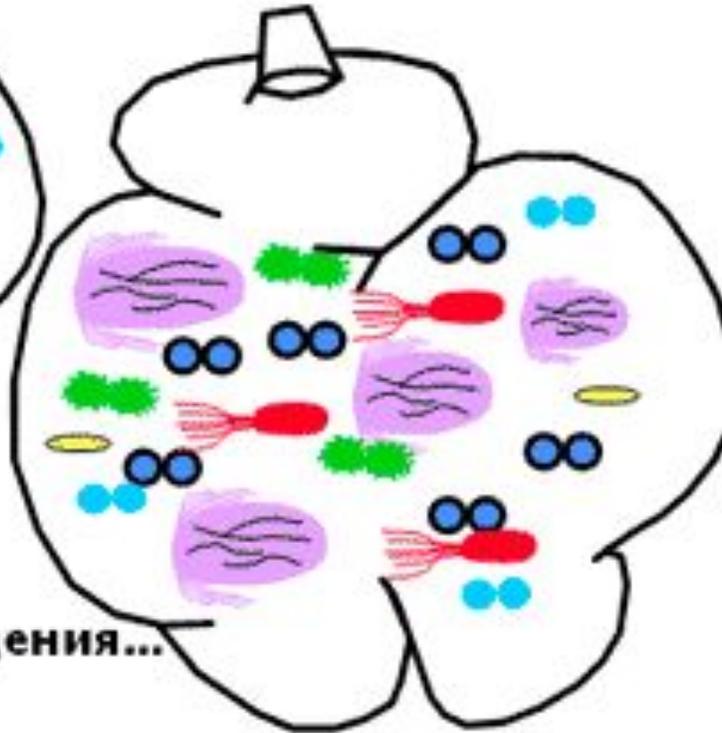
7 дней после рождения...



2 недели после рождения...



1 месяц после рождения...



-  Факультативные анаэробные бактерии
-  Анаэробные бактерии
-  Археи метаногены
-  Целлюлозолитические бактерии
-  Целлюлозолитические грибы
-  Ворсинчатые простозои

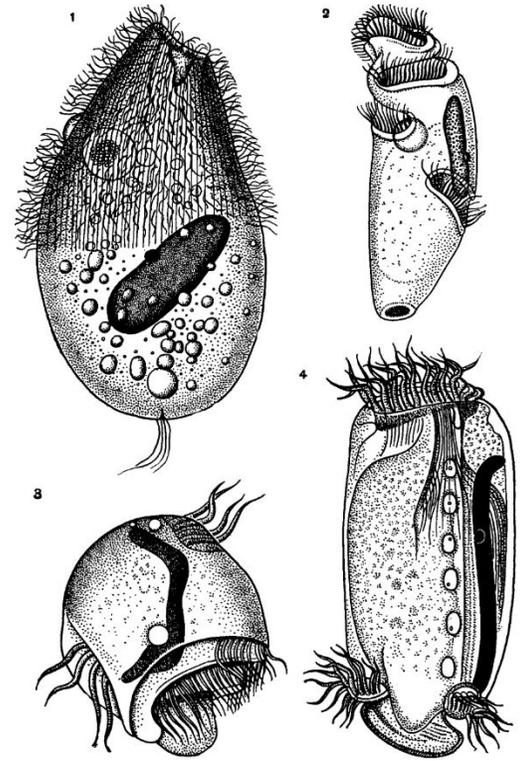
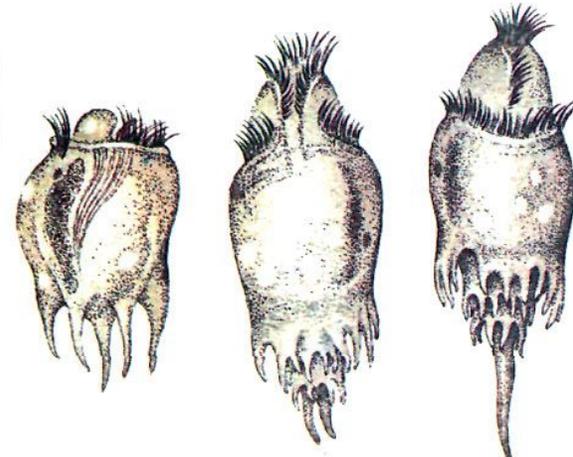
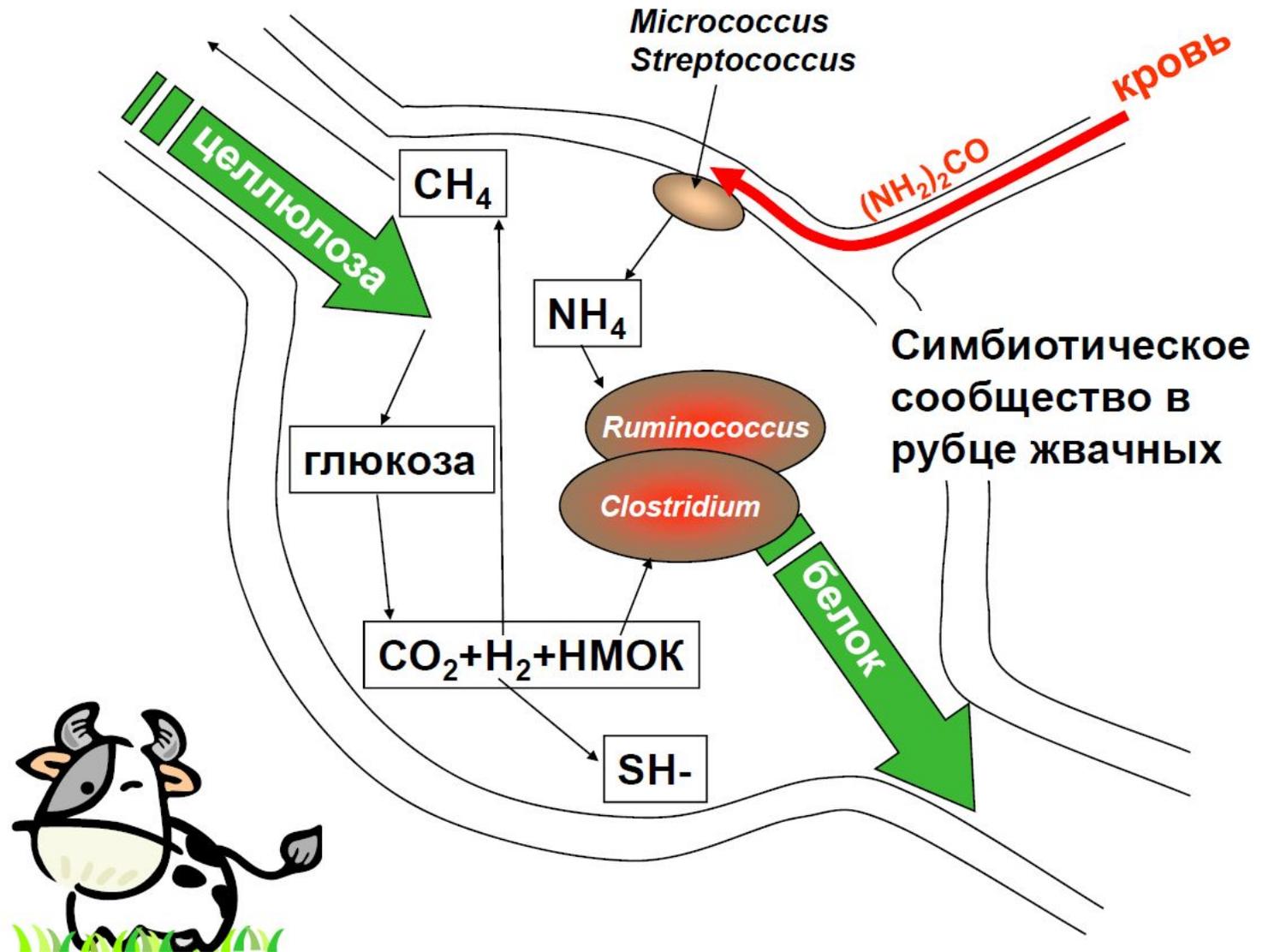


Рис. 113. Инфузории из кишечника лошади:
 1 — *Blepharoprosthium pircum* (отряд Holotricha); 2 — *Spirodinium equi* (отряд Entodiniomorpha);
 3 — *Triadinium galea* (отряд Entodiniomorpha); 4 — *Cyclorosthium bipalmatum* (отряд Entodiniomorpha).



Метаболическая интеграция партнеров

- Установление тесных трофических связей
- Приобретение новых метаболических функций
 - **Комплементация биохимических функций симбионтов**
 - **Донор** биохимической функции
 - **Реципиент** биохимической функции
- Формирование межорганизменных метаболических путей



Приобретение новых биохимических функций при симбиозе

Функция	Донор	Реципиент
Фототрофность	Зеленые водоросли, жгутиконосцы	Кишечнополостные
	Зеленые водоросли, цианобактерии	Лишайниковые грибы
	Высшие растения	Микоризные грибы
Азотфиксация	Клубеньковые бактерии	Бобовые растения
	Актиномицеты	Двудольные растения
	Цианобактерии	Растения
	Энтеробактерии	Термиты
Синтез незаменимых метаболитов (аминокислот, гормонов, витаминов)	Бактерии, грибы	Животные, растения
Деградация растительных полимеров	Бактерии, грибы, простейшие	Растительноядные животные
Рециклизация отходов N-метаболизма	Бактерии	Растительноядные животные
Хемотрофность	Бактерии	Глубоководные животные

Симбиозы, основанные на биохимической интеграции

1) азотфиксирующие симбиозы

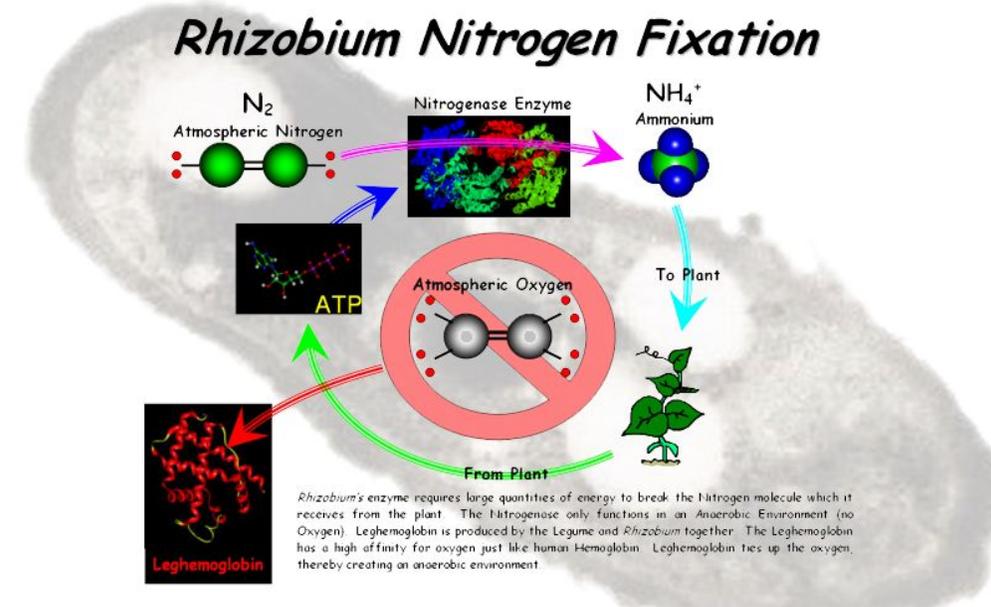
- специальные ферменты растений, работающие только в клубеньках, снижают концентрацию кислорода в центральной части клубенька, где живут ризобии.
- активность некоторых растительных генов регулируется бактериальными белками-регуляторами.

2) симбиозы гетеротрофов и автотрофов

- автотрофы не только снабжают хозяина органикой, полученной в результате фото- или хемосинтеза, но и помогают ему избавляться от конечных продуктов азотного обмена (мочевой кислоты или мочевины), которые служат для симбионтов источником азота.

3) симбиозы животных с микробами

- Например, комплекс «тли – бактерия *Buchnera*» синтезирует важнейшее вещество кофермент А совместными усилиями: сначала бактерия синтезирует из пирувата пантотенат (чего не может насекомое), а затем тля синтезирует из пантотената кофермент А (чего не может бактерия).



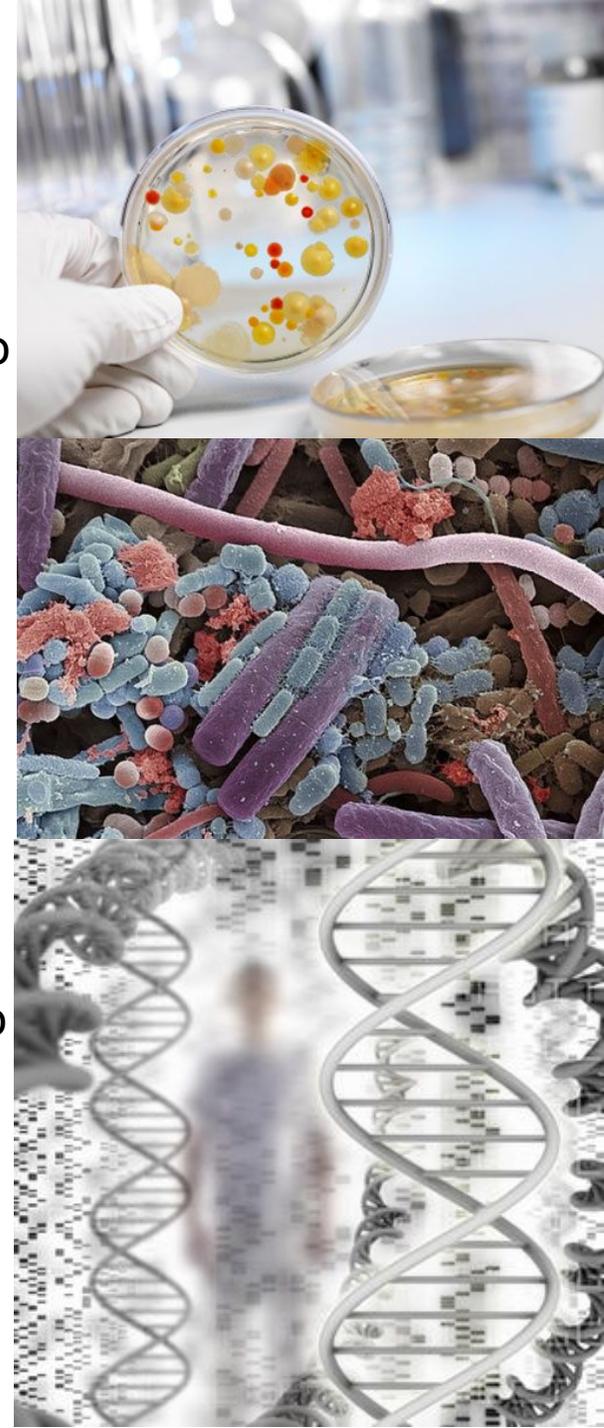
Биохимическая комплементация в системе

«человек-симбионтная микрофлора»

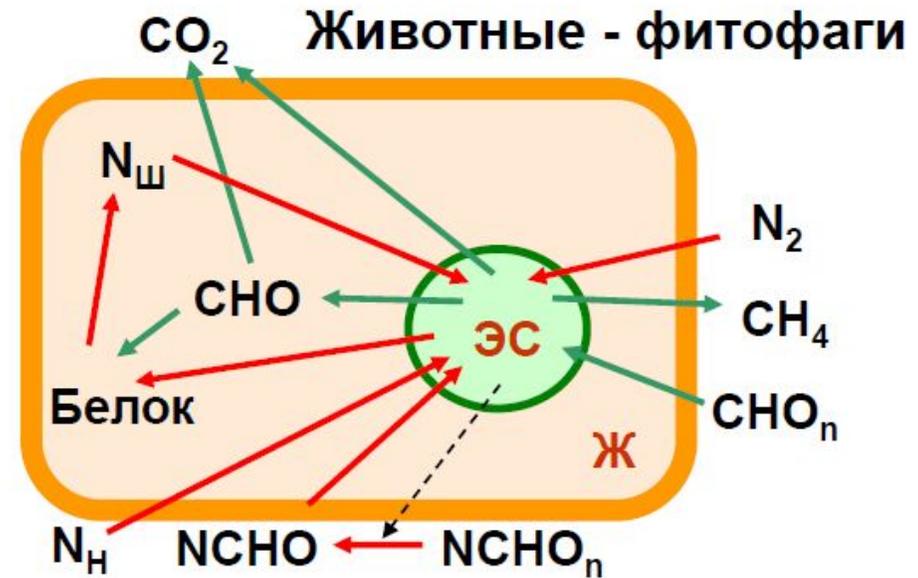
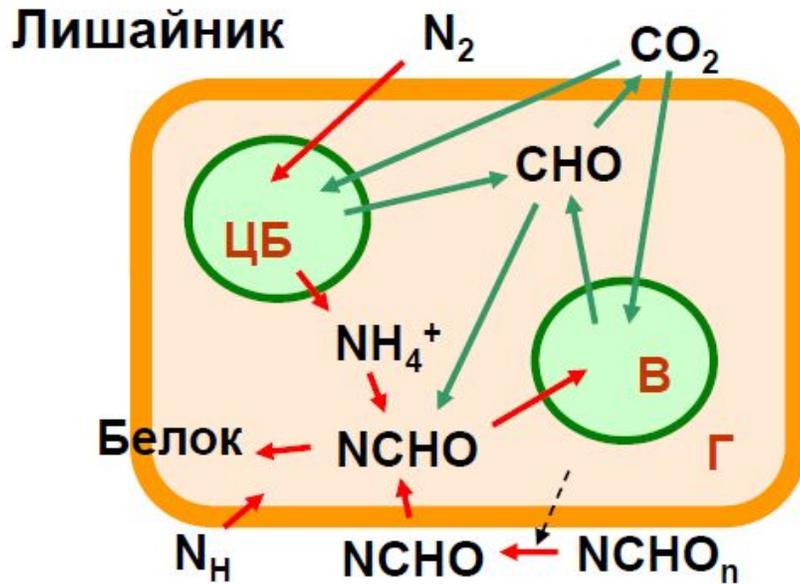
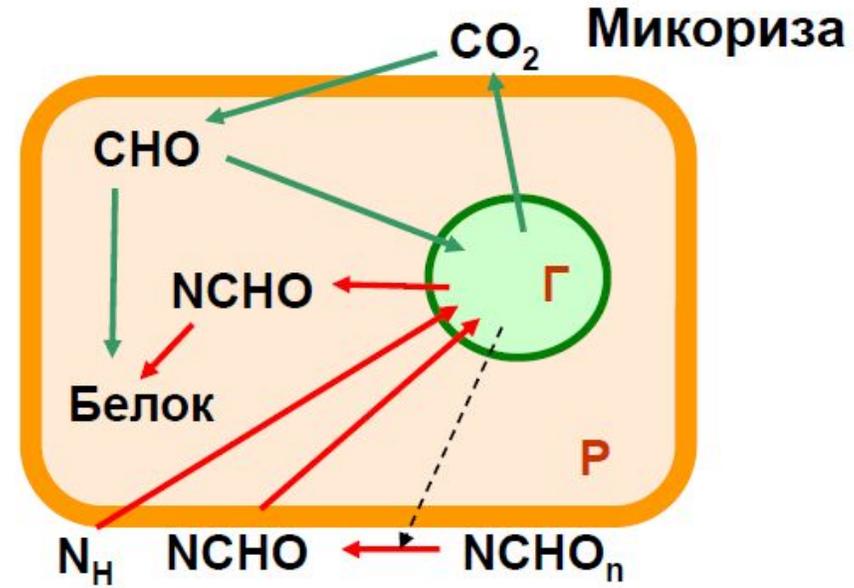
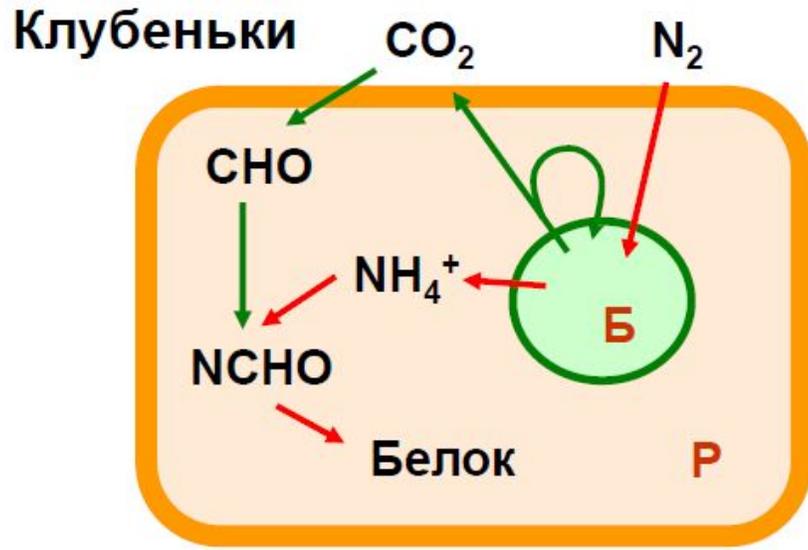
- В кишечнике взрослого человека присутствует > 1 кг микроорганизмов, относящихся по прогнозным оценкам, к 300 видам, из которых известно несколько десятков типичных представителей, выращиваемых на искусственных средах.
- С целью реконструкции особенностей «**совокупного метаболизма**» кишечной флоры методом метагеномного анализа по генам рРНК идентифицировано 72 вида бактерий (из них 60 некультивируемых и 16 новых для науки) и 1 вид архей.
- Доля человеческих генов в «**совокупном геноме**» этого «сверхорганизма» составляет не более 1%.

Функции:

- Переваривание растительных полисахаридов, которые не могут перевариваться ферментами, закодированными в геноме человека. Бактерии-бродильщики выделяют в качестве конечных продуктов обмена низкомолекулярные органические кислоты (ацетат, пропионат, бутират), которые дают человеку около 10% Кал.
- Утилизация метана (метаноген *Methanobrevibacter smithii* и другие археи и бактерии-сульфатредукторы)
- Синтез незаменимых аминокислот и витаминов
- Ферменты для обезвреживания токсичных веществ, присутствующих в пище, особенно растительной.



Объединенные пути С и N метаболизма в симбиозах



Биохимическая кооперация в смешанных культурах микроорганизмов

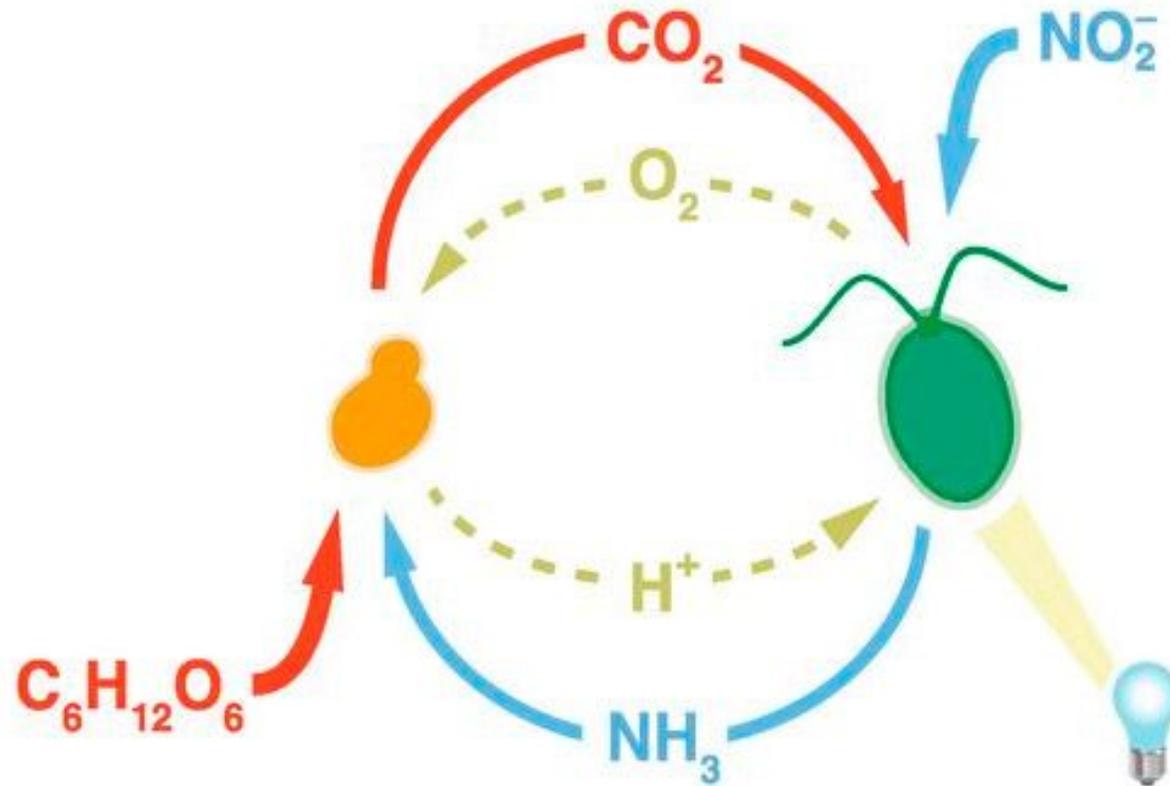


Рис. Схема облигатного мутуализма пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и водорослей *Chlamydomonas reinhardtii* в среде без доступа воздуха. Дрожжи питаются глюкозой ($C_6H_{12}O_6$) и вырабатывают углекислый газ, необходимый водорослям для фотосинтеза. Хламидомонады восстанавливают нитрит (NO_2^-) и обеспечивают дрожжи аммиаком (NH_3). Таким образом, водоросли необходимы дрожжам как источник азота, а дрожжи водорослям — как источник углерода. Кроме того, благодаря обмену протонами между дрожжами и водорослями в среде поддерживаются оптимальные значения pH.

Рис. из статьи в Science

Биохимическая комплементация – преадаптация к формированию мутуалистического симбиоза

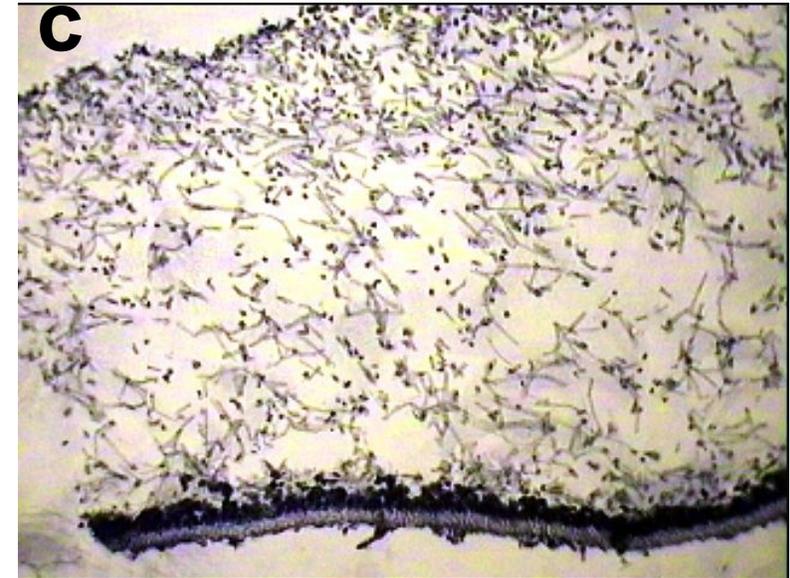
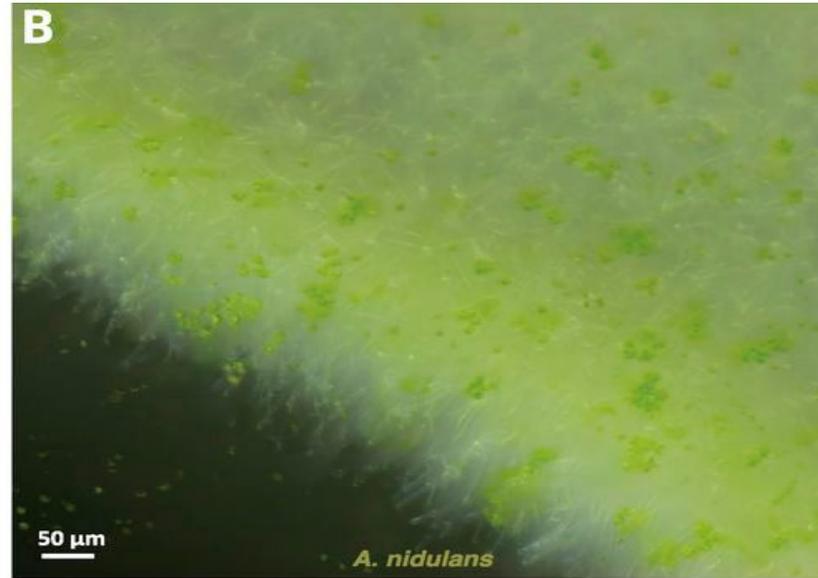
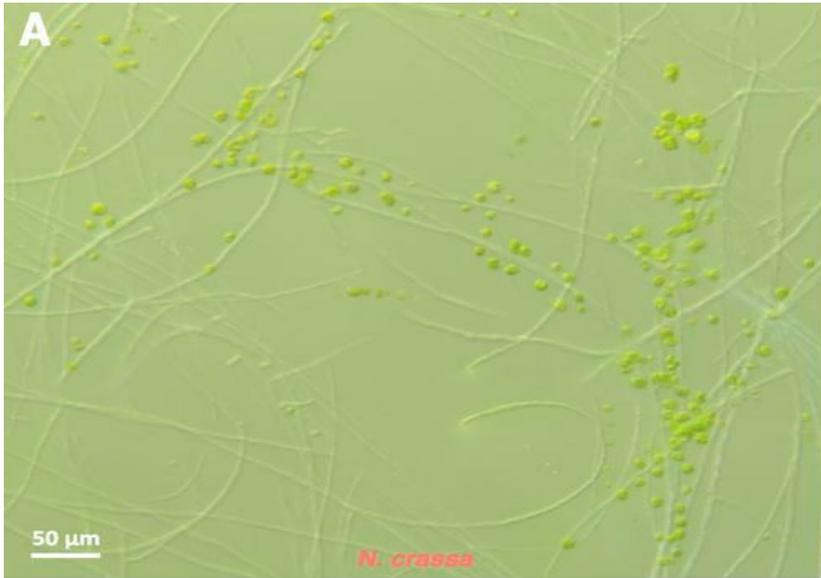


Рис. Гифы *Neurospora crassa* (а) и *Aspergillus nidulans* (в), облепленные симбиотическими водорослями, очень напоминают лишайники (с). Возможно так выглядели ранние стадии эволюции лишайников. Фото из статьи в *Science*

Расширение экологической ниши при биохимической кооперации

- Гамма-протеобактерии, геном которых удалось реконструировать, являются хемоавтотрофами, необходимую энергию они получают за счет окисления сульфида (S^{2-}). В качестве окислителя используется кислород, а при отсутствии кислорода — нитраты или органику. В качестве конечных продуктов жизнедеятельности они выделяют сульфаты.
- Дельта-протеобактерии - сульфат-редукторы, получают энергию, восстанавливая сульфат до сульфида.
- Микробы размножаются, а эпителиальные клетки червя заглатывают их и переваривают.
- Выгода, которую бактерии получают от сожительства с червем, состоит в том, что он может переползти туда, где условия среды наиболее благоприятны.



Морской малощетинковый червь *Olavius algarvensis* не имеет ни пищеварительной, ни выделительной систем. Под его наружными покровами обитают симбионты — бактерии четырех видов. Уникальный сверхорганизм, образованный пятью видами живых существ, благодаря сложной системе биохимического сотрудничества может жить в условиях, где ни один из его компонентов не выжил бы в одиночку.

Закономерности в развитии симбиотических систем, основанных на «биохимической кооперации»

- Относительность грани между мутуалистическими и антагонистическими отношениями;
- Непосредственный переход паразитизма в мутуализм – сравнительно редкое явление;
- В большинстве случаев симбиотические системы развиваются из фрагментов экосистем. Объединенные системы метаболизма в большинстве мутуалистических симбиозов возникли из трофических цепей в биоценозах (синтрофические консорции, системы «хищник - жертва»).

Elysia chlorotica - зеленоухая элизия ухитряется переселять хлоропласты съеденных водорослей в свои собственные клетки и долгое время сохранять их там живыми, приобретая таким образом способность к фотосинтезу. М.С. Гиляров назвал «симбиотические» хлоропласты клепторганоидами, т.е. похищенными органоидами. Хотя они содержат свою ДНК, но ее недостаточно для полноценной работы, т.к. часть белков кодируется ядром. Видимо, элизия может обеспечить синтез этих белков.



Генетическая комплементация партнеров симбиоза

- **Генетическая комплементация** - это взаимодополняющее действие двух (или нескольких) генетических структур, приводящее к появлению функции (свойства), которую каждая из этих структур в отдельности не может обеспечить.
- **Межаллельная комплементация** - взаимодействие мутантных разновидностей (аллелей) одного гена (у гетерозигот, обуславливая гетерозис).
- **Межгенная комплементация** - взаимодействие продуктов (белков) различных неаллельных генов. Компенсация функций инактивированных генов.
- **Межгеномная комплементация** – участие в выполнении одной биохимической функции генов разных организмов (при гибридизации, между ядром и ДНК-содержащими органеллами, между



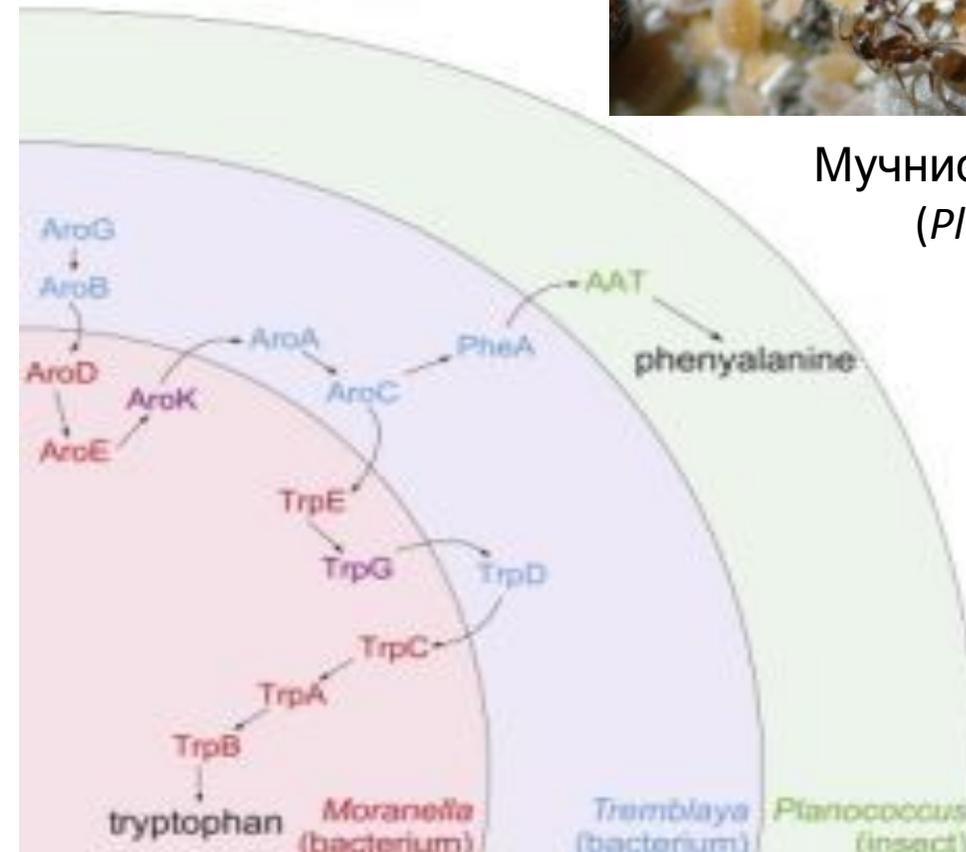
Лигр – гибрид льва и тигрицы

Межгеномная комплементация при внутриклеточном симбиозе

- В 2001 году открыт «матрешечный» вид симбиоза - в клетках насекомого мучнистого червеца (*Planococcus citri*) живёт бактерия (*Tremblaya princeps*), в которой живёт другая, ещё более мелкая бактерия (*Moranella endobia*).
- Бактерии по отдельности не способны перерабатывать сок растения, которым питаются насекомые, в аминокислоты для своего хозяина.
- Пока не известно, как происходит координация всех процессов – слишком сложна существующая система.
- *T. princeps* обладает самым коротким клеточным геномом среди живых организмов, не являющихся органеллами – в его составе всего 121 ген.



Мучнистые червецы (*Planococcus citri*)

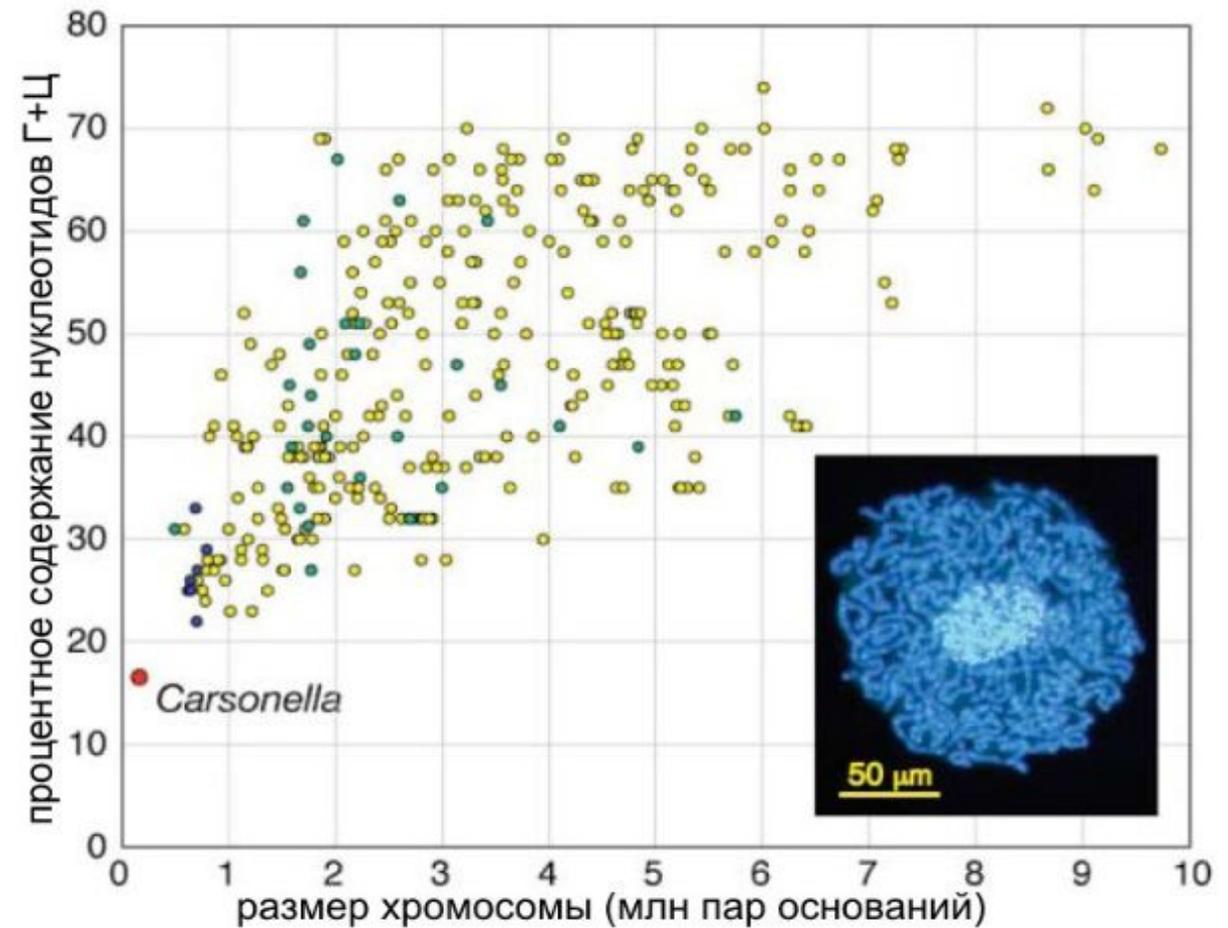


Сопряжение синтеза незаменимых аминокислот в симбиотической клеточной системе «насекомое-бактерии». (иллюстрация из Current Biology)



Эволюция геномов эндосимбионтов

- Геном бактерии *Carsonella*, внутриклеточного симбионта насекомых листоблошек содержит всего 159 662 п.о. и 182 гена, кодирующих белки.
- Три характерных признака генетической деградации: 1) сокращение генома в результате потери некодирующих участков ДНК и значительной части генов, 2) резкое преобладание в ДНК нуклеотидов А и Т и низкое содержание Г и Ц, 3) быстрая молекулярная эволюция.
- Митохондриальный геном по размеру сопоставим с геномом карсонеллы. Типичные размеры митохондриальных геномов: 40–100 тыс. п.о. у низших эукариот, 200–400 тыс. п.о. у растений, 15–20 тыс. п.о. у



Размер генома и процентное содержание Г + Ц в геномах прокариот. Синие точки — внутриклеточные симбионты насекомых бактерии *Buchnera*, *Blochmannia*, *Wigglesworthia* и *Baumannia*, желтые — другие бактерии, зеленые — археи. Справа внизу — бактериоцит листоблошки *Pachypsylla venusta*, наполненный бактериями *Carsonella* (извилистые структуры). Рис. из статьи в Science.

По Н.А. Проворову (2001), **стратегия эволюции симбиотических микроорганизмов** включает две составляющие

- упрощение генома при облигатном симбиозе (утрата генов, необходимых для самостоятельного существования, перенос необходимых для взаимодействия генов в геном хозяина).
- усложнение генома при факультативном симбиозе (повышение его пластичности, дифференциация на системы контроля свободноживущей и симбиотической стадий жизненного цикла). Например, у клубеньковых бактерий это усложнение выражается в повышении рекомбинационной активности, накоплении повторяющихся и мобильных элементов, разделении генома на группы сцепления, появлении больших «молчащих»

Основные механизмы интеграции партнеров симбиоза

- Дифференциальная экспрессия генов
- Направленные модификации генетического материала:
 - полиплоидизация
 - амплификация
 - генетические перестройки
- Горизонтальный перенос генов

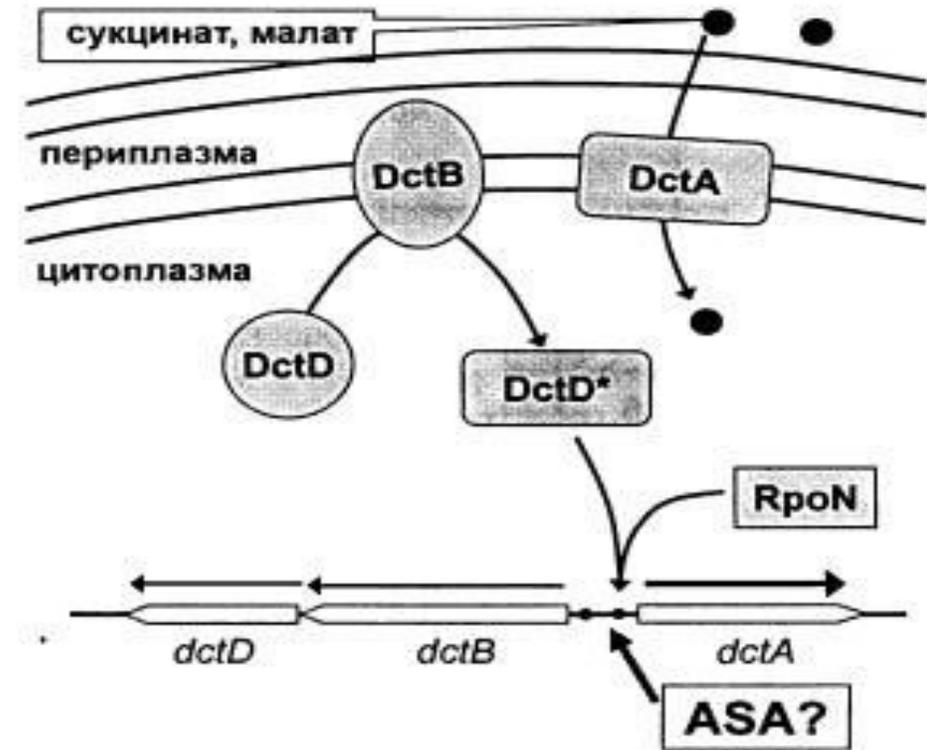


Рис. 11.9. Симбиотическая регуляция *dct*-генов, ответственных за транспорт дикарбоновых кислот в клетки ризобий люцерны, *Sinorhizobium meliloti*. DctA — сукцинат-пермеаза, DctB и DctD — белки двухкомпонентной регуляторной системы (DctD* представляет собой фосфорилированную форму DctD), RpoN — σ^{54} субъединица РНК-полимеразы, специфичная к промоторам *nif*-генов; ASA — гипотетический регулятор растительной природы, участвующий в активации промотора гена *dctA* в условиях симбиоза

Мофофизиологическая целостность симбиоза

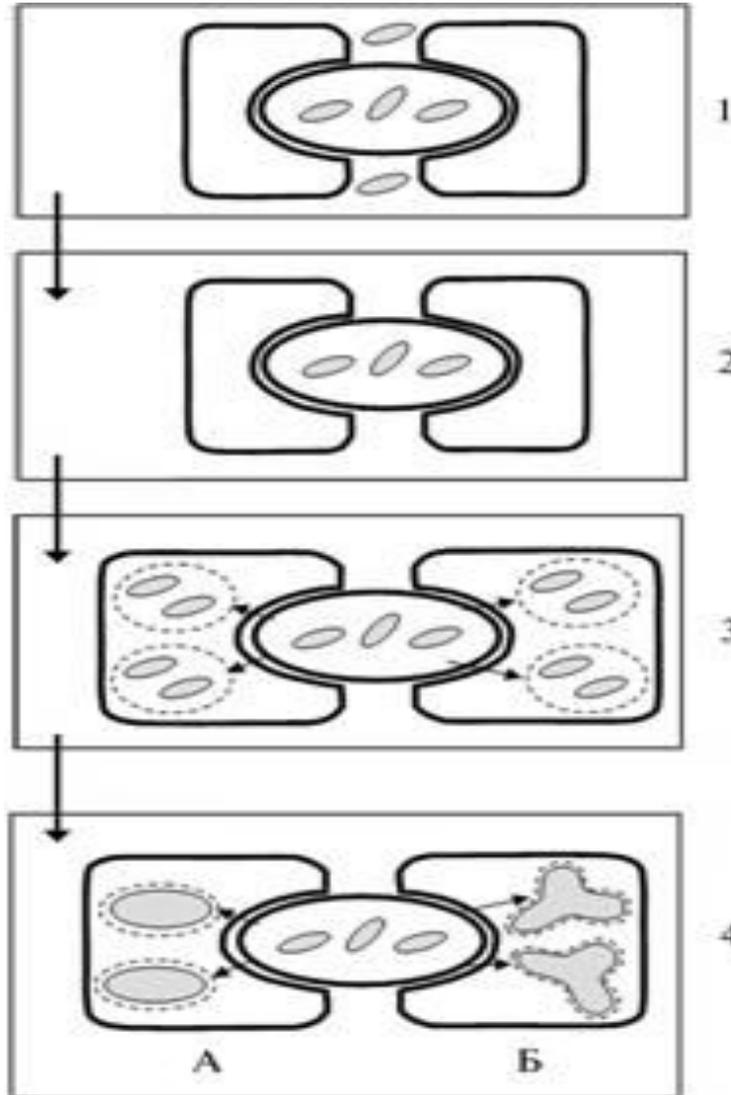


Рис. Повышение целостности бобово-ризобияльного симбиоза в процессе макроэволюции:

1 - бесклубеньковые симбиозы, когда N₂-фиксирующие бактерии поддерживаются в инфекционных нитях (ИН) и в межклеточных пространствах кортекса корня (*Gleditsia*, *Ceratonia*, *Cercis*);

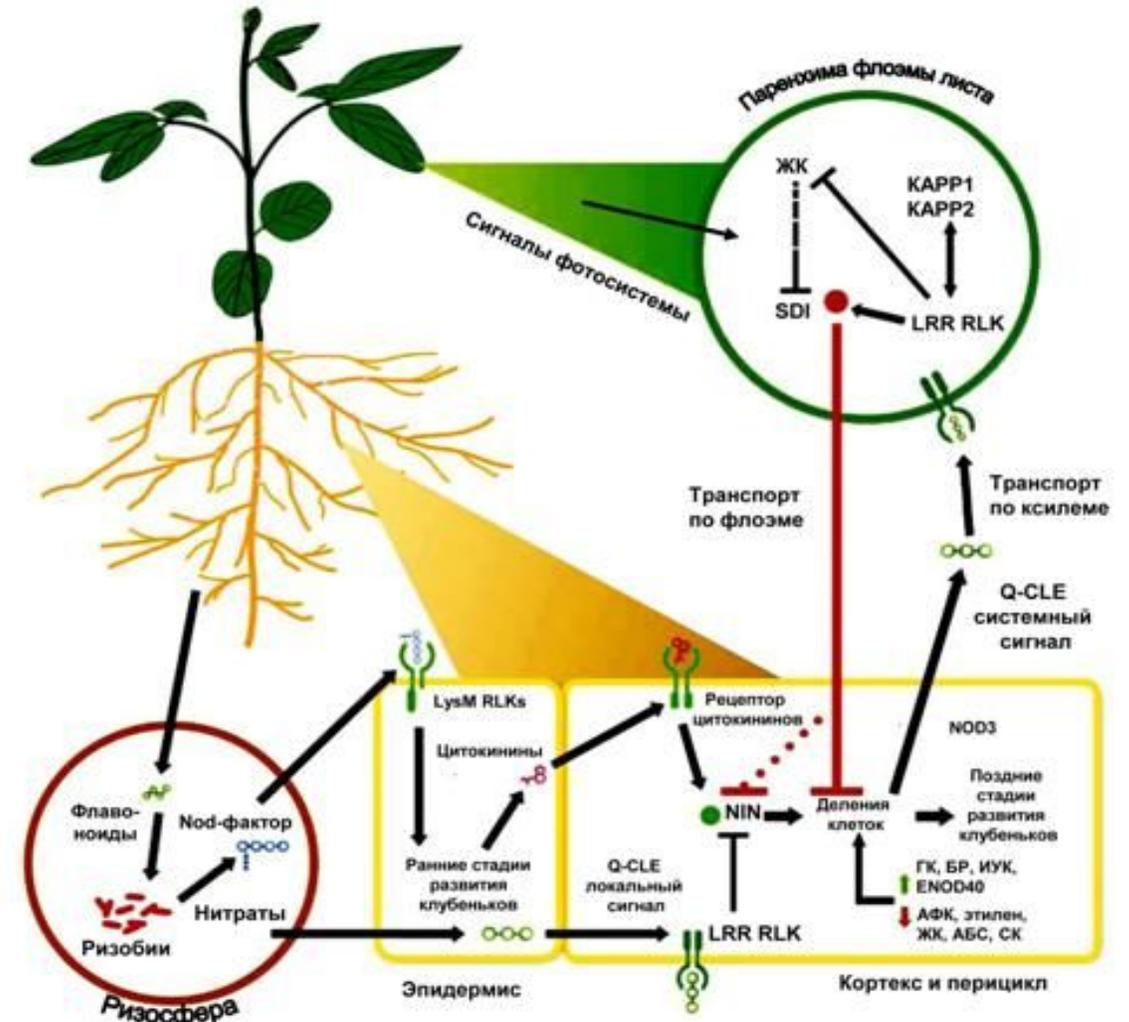
2 - примитивные клубеньки, в которых отсутствует эндоцитоз бактерий в растительные клетки и N₂-фиксация происходит в ИН (*Cassia*, *Andira*, *Hymenolobium*);

3 - эволюционно продвинутые клубеньки с неспециализированными (мультибактериальными) внутриклеточными симбиосомами, содержащими слабо дифференцированные N₂-фиксирующие бактериоиды (большинство бобовых);

4 - то же со специализированными (монобактериальными) симбиосомами, включающими глубоко дифференцированные бактериоиды (А - *Medicago*, Б - *Pisum*).

Физиологическая целостность симбиоза

- Рис. Системная регуляция бобово-ризобиального симбиоза: LysM RLKs — рецептор-подобная киназа с доменами, связывающими олигохитиновые остатки; Q-CLE — сигнальные белки; LRR RLK — рецептор-подобная киназа с лейцин-богатыми повторами (узнает сигнальные факторы белковой природы); NIN — белок, активирующий развитие клубеньков при азотном голодании (гомологичен белку Mid Chlamydomonas, активирующему гаметогенез на безазотной среде); NOD3 — нодулин (клубенек-специфичный белок), накапливающийся в паренхиме клубенька; ENOD40 — нодулин, регулирующий баланс ауксинов и цитокининов при развитии клубенька; ГК — гибберелловая кислота; БР — brassinостероиды; ИУК — индолилуксусная кислота; АФК — активные формы кислорода; ЖК — жасмоновая кислота; АБС — абсцизовая кислота; СК — салициловая кислота; SDI — сигнальный фактор, синтезируемый в листьях и мигрирующий в корень, где он подавляет деление клеток, приводящее к образованию клубеньковых примордиев; KAPP1, KAPP2 — фосфорилазы



Целостность симбиоза как объекта действия отбора

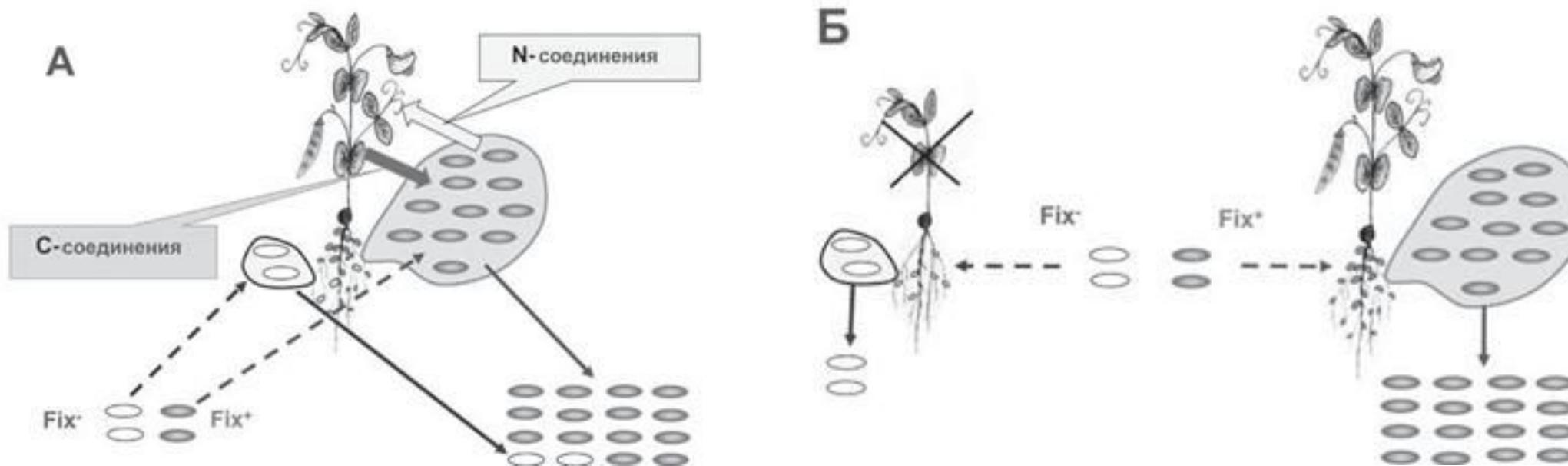


Рис. Междомовый отбор в клональной эндосимбиотической популяции ризобий, основанный на их обратных связях с растением. Фиксирующие (Fix⁺) и не фиксирующие (Fix⁻) N₂ штаммы ризобий подвергаются действию метаболических обратных связей (А), основанных на обмене партнеров С- и N-соединениями, либо популяционных обратных связей (Б), основанных на полиморфизме растительной популяции по восприимчивости к инокуляции Fix⁺ и Fix⁻ штаммами (обозначены темными и белыми овалами соответственно).