



Спирали встречаются во многих областях: в архитектуре, в макромолекулах белков, нуклеиновых кислот и даже в полисахаридах (*Loretto Chapel, Santa Fe, NM/© Sarbo* )

# Генетика бактерий

**В.В. Леонов, 2013**

**Ханты-Мансийская государственная медицинская академия  
Кафедра биологии с курсом микробиологии**

# Различия геномов клеточных форм жизни

---

<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.

# Различия геномов клеточных форм жизни

---

<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
<b>Инициация репликации</b>	в одной точке		во многих точках

# Различия геномов клеточных форм жизни

---

<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
<b>Инициация репликации</b>	в одной точке		во многих точках
<b>Топология хромосом</b>	чаще замкнутая		линейная

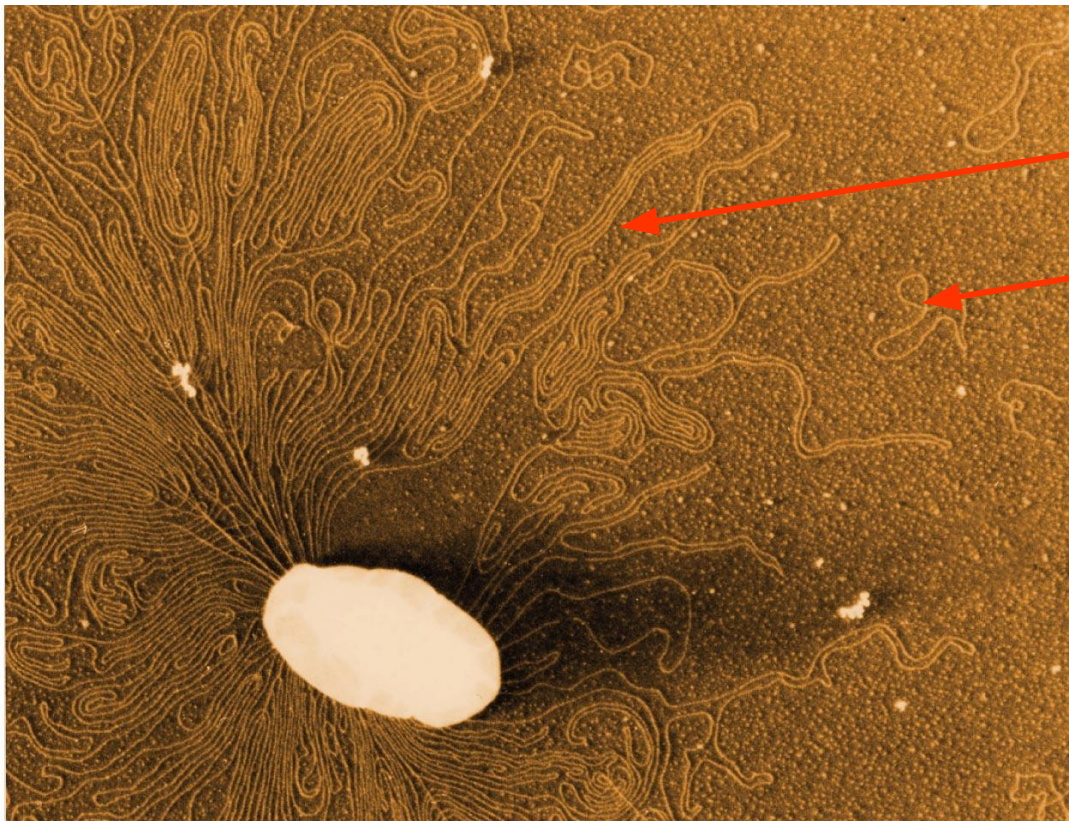
# Генетический аппарат бактерий

---

1. Нуклеоид

2. Плазмиды

3. Мобильные генетические элементы (МГЭ)



Бактериальная  
хромосома

Плазмида

«Тень» *E. coli* после  
осмотического шока и  
высвобождения ДНК

# **Геном бактерий**

---

**Гены «домашнего хозяйства» (от англ. *housekeeping genes*)**

Набор генов, абсолютно необходимых для автономной жизнедеятельности бактерий (как гетеротрофа)

**Гены «роскоши» (от англ. *luxury genes*)**

Все гены, расширяющие адаптивные возможности бактерий для существования во внешней среде (в том числе в организме хозяина)

# Различия геномов клеточных форм жизни

---

<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
<b>Инициация репликации</b>	в одной точке		во многих точках
<b>Топология хромосом</b>	чаще замкнутая		линейная

# Различия геномов клеточных форм жизни

---

<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
<b>Инициация репликации</b>	в одной точке		во многих точках
<b>Топология хромосом</b>	чаще замкнутая		линейная
<b>Степень конденсации</b>	низкая		высокая



# Различия геномов клеточных форм жизни

---

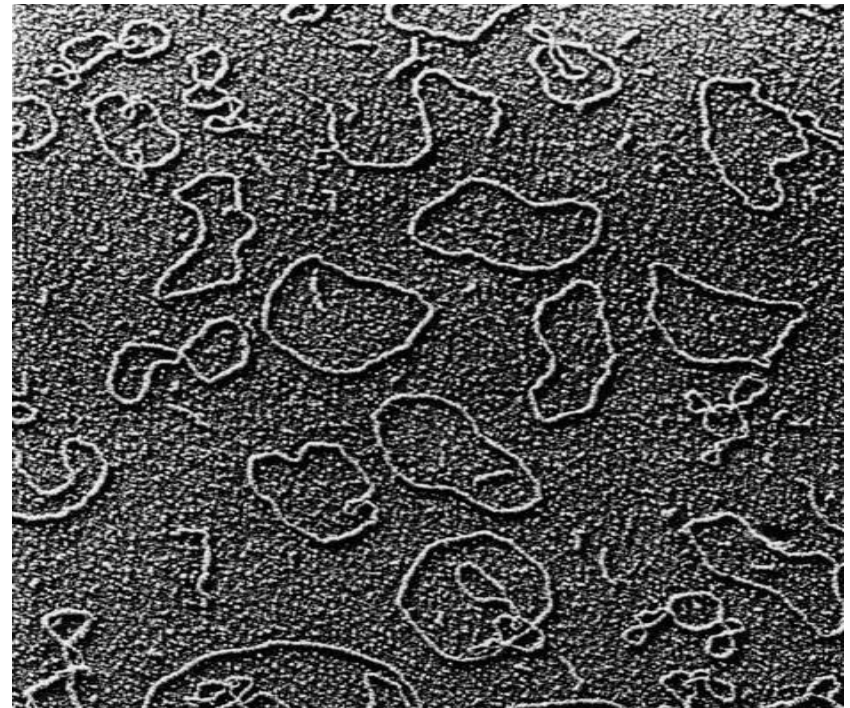
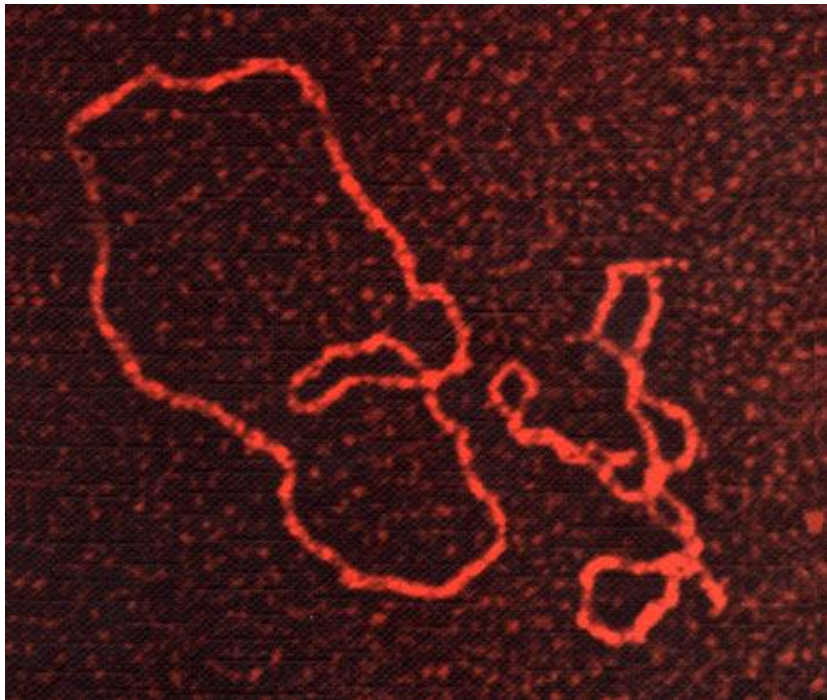
<b>Домен</b>	<b>Бактерии</b>	<b>Археи</b>	<b>Эукариоты</b>
<b>Диапазон длин генома</b>	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
<b>Инициация репликации</b>	в одной точке		во многих точках
<b>Топология хромосом</b>	чаще замкнутая		линейная
<b>Степень конденсации</b>	низкая		высокая
<b>Процессинг</b>	рРНК, тРНК	рРНК, тРНК, <u>мРНК</u>	

# Плазмиды

Независимые от бактериальной хромосомы фрагменты ДНК (от 1 т.п.н. до нескольких сотен т.п.н.) замкнутые в кольцо

У *Streptomyces spp.*, *Borrelia spp.* и *Rhodococcus spp.* плазмиды линейные

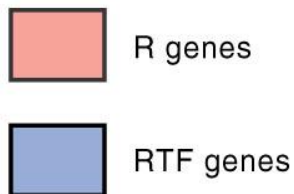
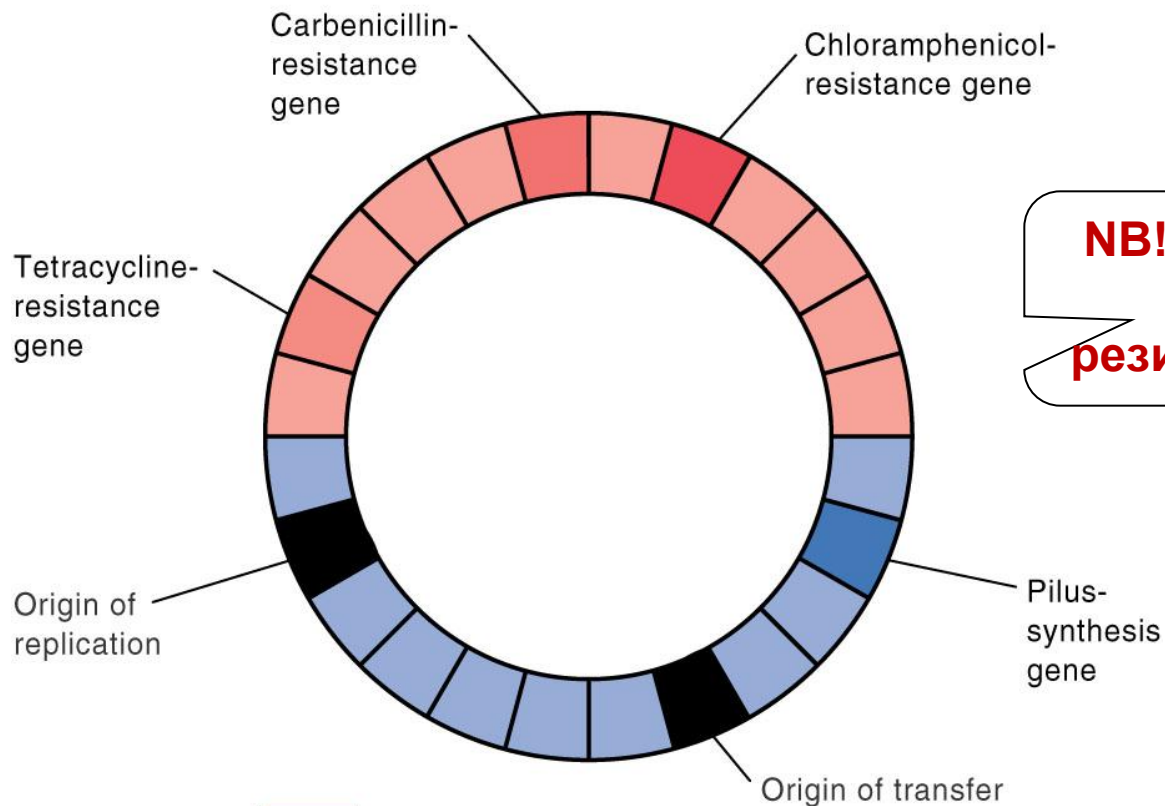
Номенклатура: pBR322, R100, RSF1010



# Как устроены плазмиды?

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

R PLASMID



**NB! Несколько генов резистентности**

**Модули основного репликаона и переноса**

# Классификация плазмид

---

## 1. По способности к самостоятельному горизонтальному переносу в другую клетку-хозяина:

- ✓ Неконъюгативные – не содержащие генов F-фактора
- ✓ Конъюгативные (F-плазмиды) – кодируют F-фактор (половые пили)

# Классификация плазмид

---

## 2. По наличию генов, расширяющих адаптивные возможности клетки-хозяина:

- ✓ Резистентности (**R**-плазмиды)
- ✓ Токсинообразования (**Tox**-плазмиды)
- ✓ Персистенции (**АЛА**-плазида)
- ✓ Бактерициногении (**Col**-плазмиды)
- ✓ Деградации
- ✓ Криптоплазмиды

.....

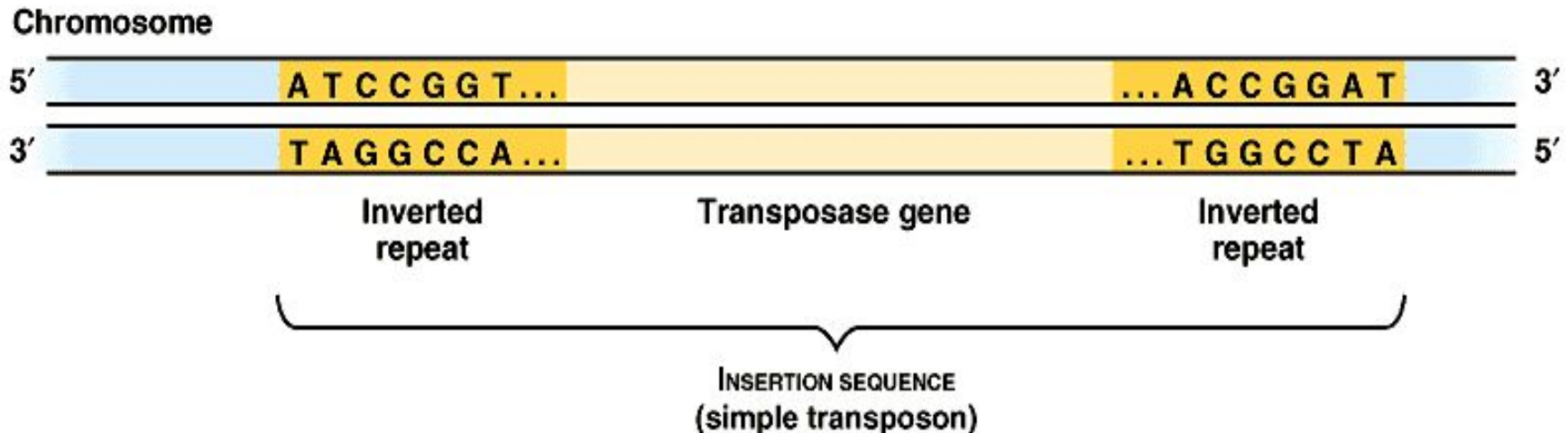
# Мобильные генетические элементы

Мобильные сегменты ДНК, непосредственно перемещающиеся внутри генома из одного сайта в другой называются транспозонами

(П.Старлинжер, 1970)

## 1. Простые транспозоны (IS-элементы)

от англ. *Insertion sequences*

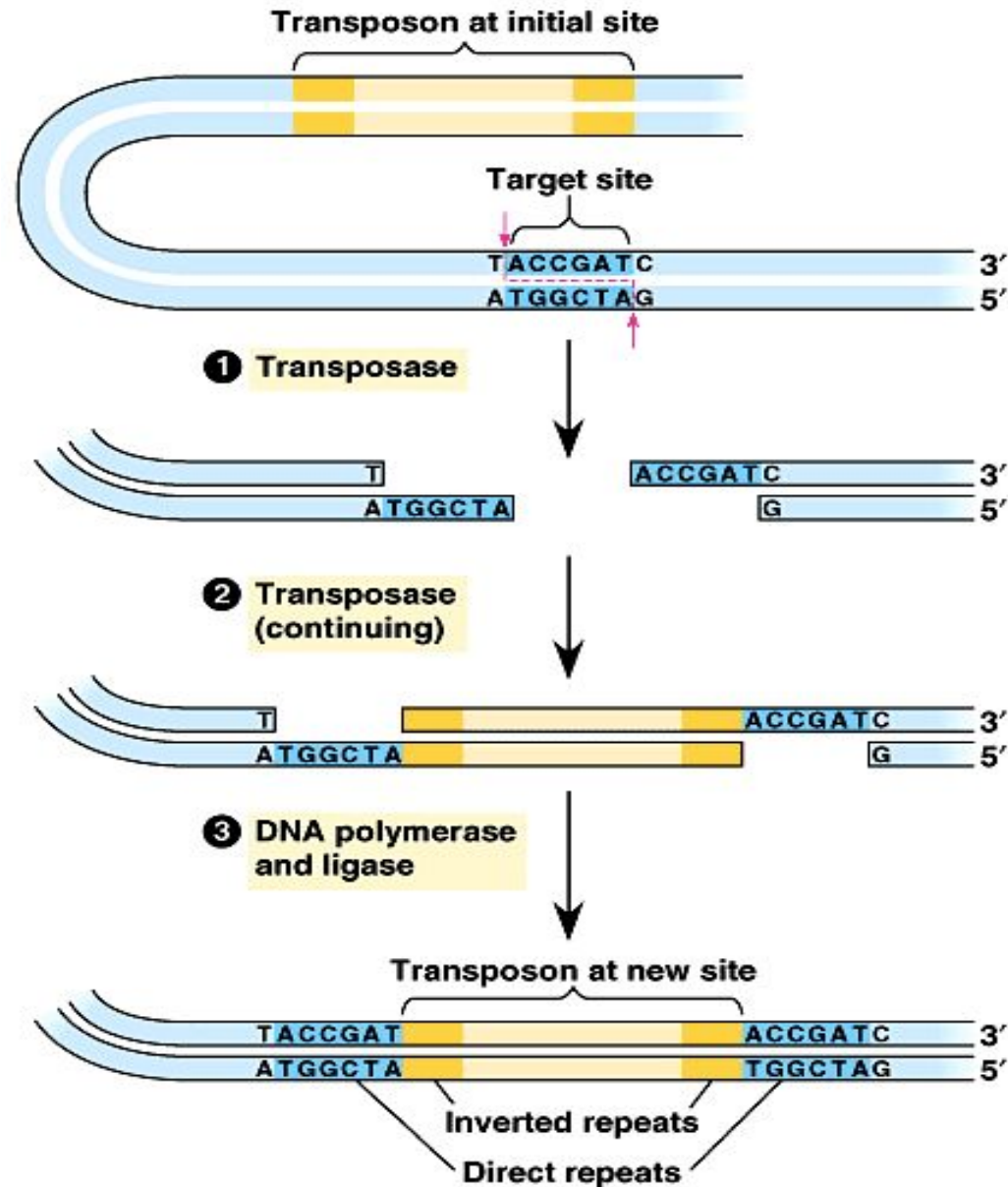




# Мобильные генетические элементы

## 2. Сложные транспозоны (Tn)

от англ. *transposable element*



# Функции МГЭ

## **Простые транспозоны**

1. Индукция мутаций типа делеций или инверсий (при перемещении)
2. Регуляция активности генов
3. Координация взаимодействия сложных транспозонов, бактериофагов, плазмид между собой и с бактериальной хромосомой

## **Сложные транспозоны**

1. Синтез токсинов
2. Устойчивость к антибиотикам
3. Синтез сахаролитических ферментов
4. Индукция мутаций



# Виды изменчивости

Фактор возникновения

Рецептируемые условия окружающей среды

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ**

Мутагены, МГЭ

Модификационная

Генотипическая

Изменение/ появление **НОВЫХ СВОЙСТВ**

Не закрепляются в генотипе

Закрепляются в генотипе

поверхность

морфология

биохимия

Фазовые вариации

Антигенная изменчивость

Полиморфизм

Синтез токсина

Ферментативная активность

# **Виды изменчивости**

- 1. Фазовые вариации** – на поверхность бактериальной клетки поочередно экспрессируются определенные компоненты, взаимозаменяя друг друга
- 2. Антигенная изменчивость** – это модификация в молекуле того или иного поверхностного маркера (антигена)

# Механизмы изменчивости

---

## Геномные перестройки



Фазовая вариация пилей у *Neisseria gonorrhoeae*

# Механизмы изменчивости

---

## 1. Регуляция на транскрипционном уровне

Теория оперона, Ф. Жакоб и Ж. Моно (1961)

## 2. Регуляция на посттранскрипционном и посттрансляционном уровне

Процессинг белков

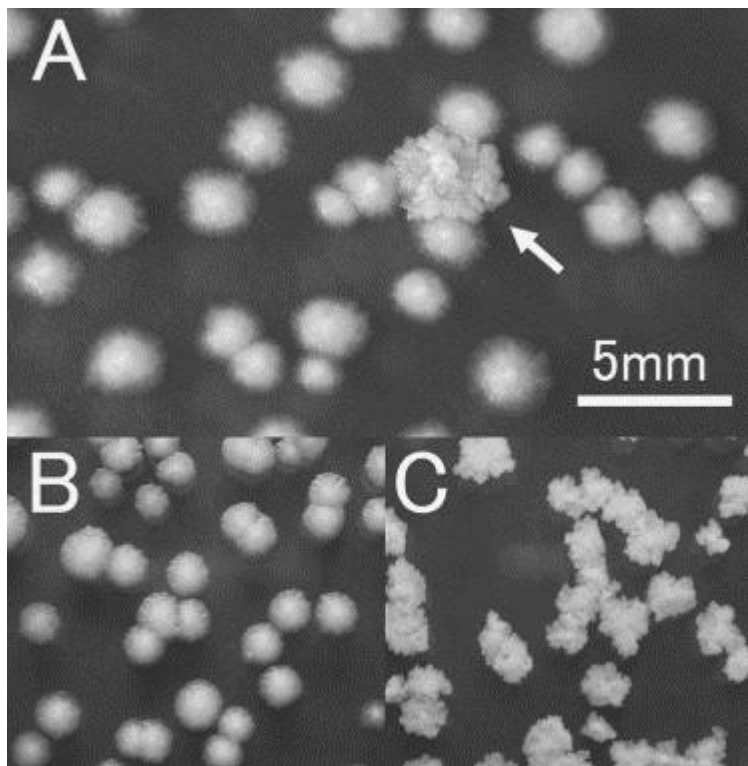


Jacques Monod

# Механизмы изменчивости

---

## R,S-диссоциация бактерий



S (от англ. smooth - гладкий)  
R (от англ. rough - шероховатый)  
M (от англ. mucoid - слизистый)

# Генотипические рекомбинации

---

## Генетические рекомбинации

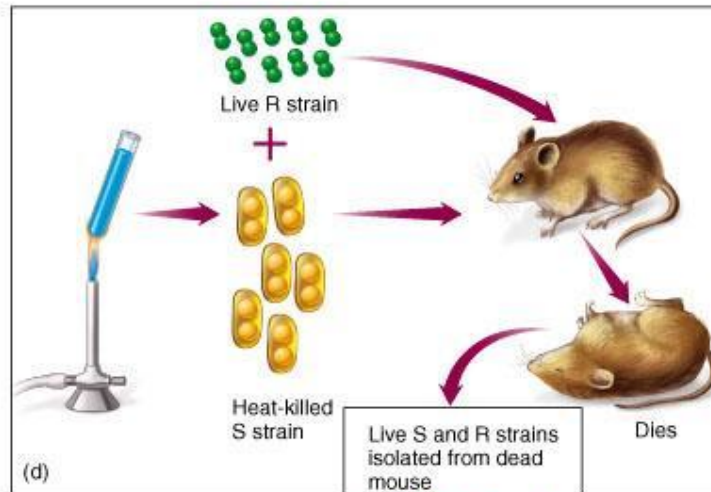
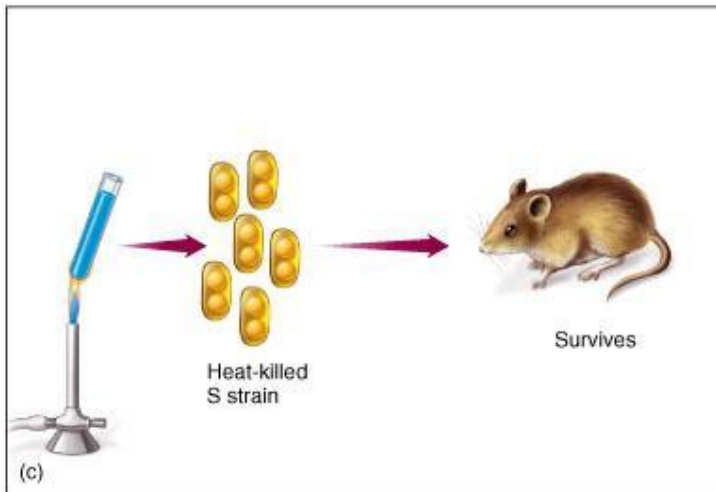
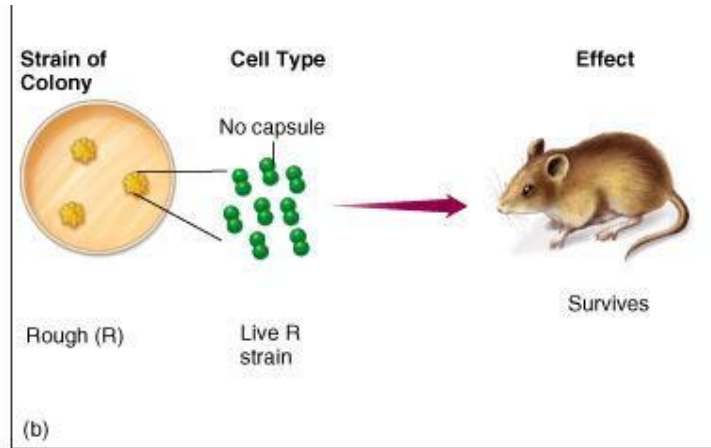
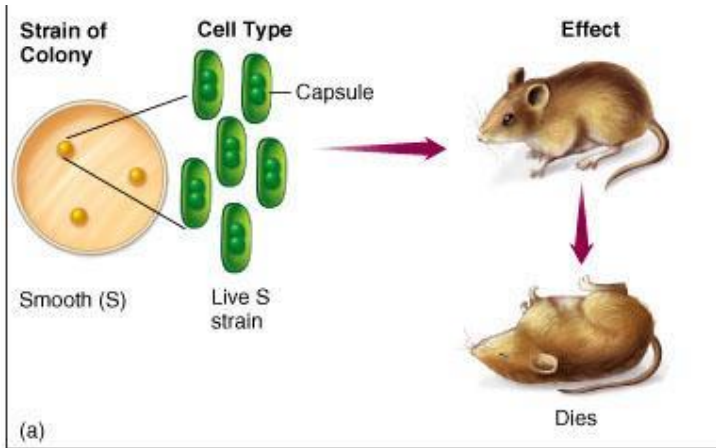
✓ Трансформация

✓ Конъюгация

✓ Трансдукция

# Что такое трансформация?

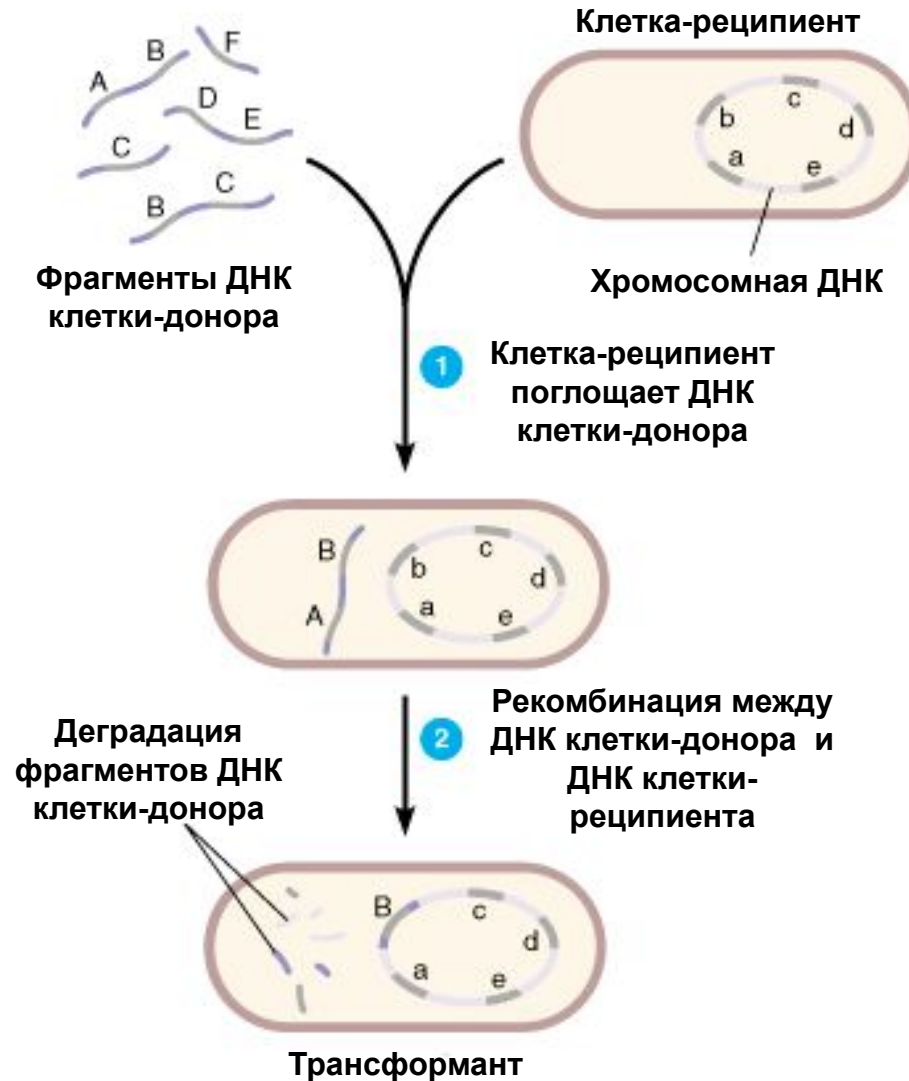
- Гриффит (1928)
  - показал на *Streptococcus pneumoniae*
    - два штамма: вирулентный и авирулентный



Как это могло случиться ???!!

# Что такое трансформация?

- Гриффит (1928)
- показана на *Streptococcus pneumoniae*
- Частота процесса  $10^{-6}$  -  $10^{-8}$





# Что такое конъюгация?

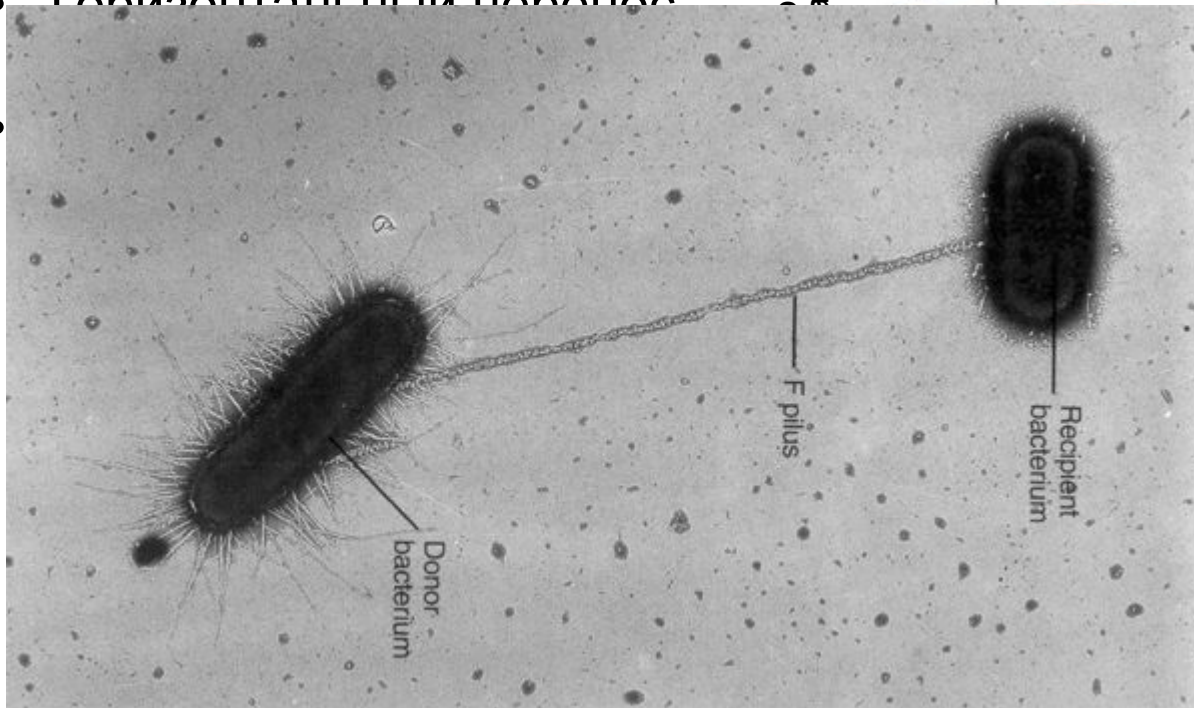
copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

- Дж. Ледерберг, Э. Татум (1946)

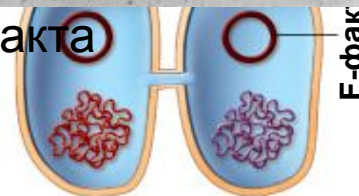
F (от англ. *fertility* – плодovitость)

- Горизонтальный перенос

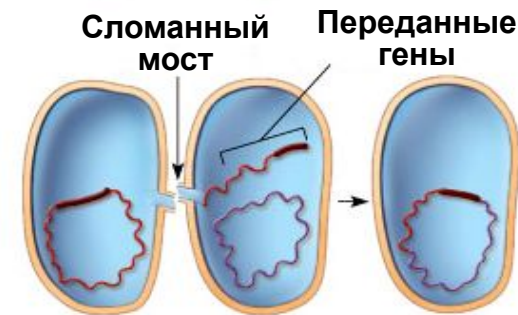
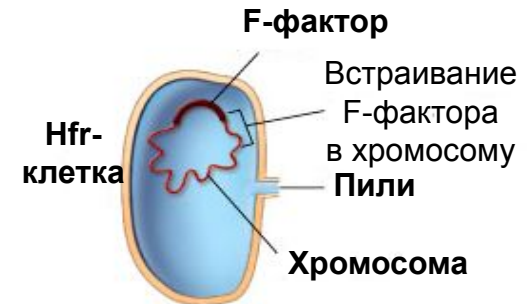
Мост  
 Донор F<sup>+</sup> | Реципиент F<sup>-</sup>



Формирование межклеточного контакта при конъюгации у *E. coli*

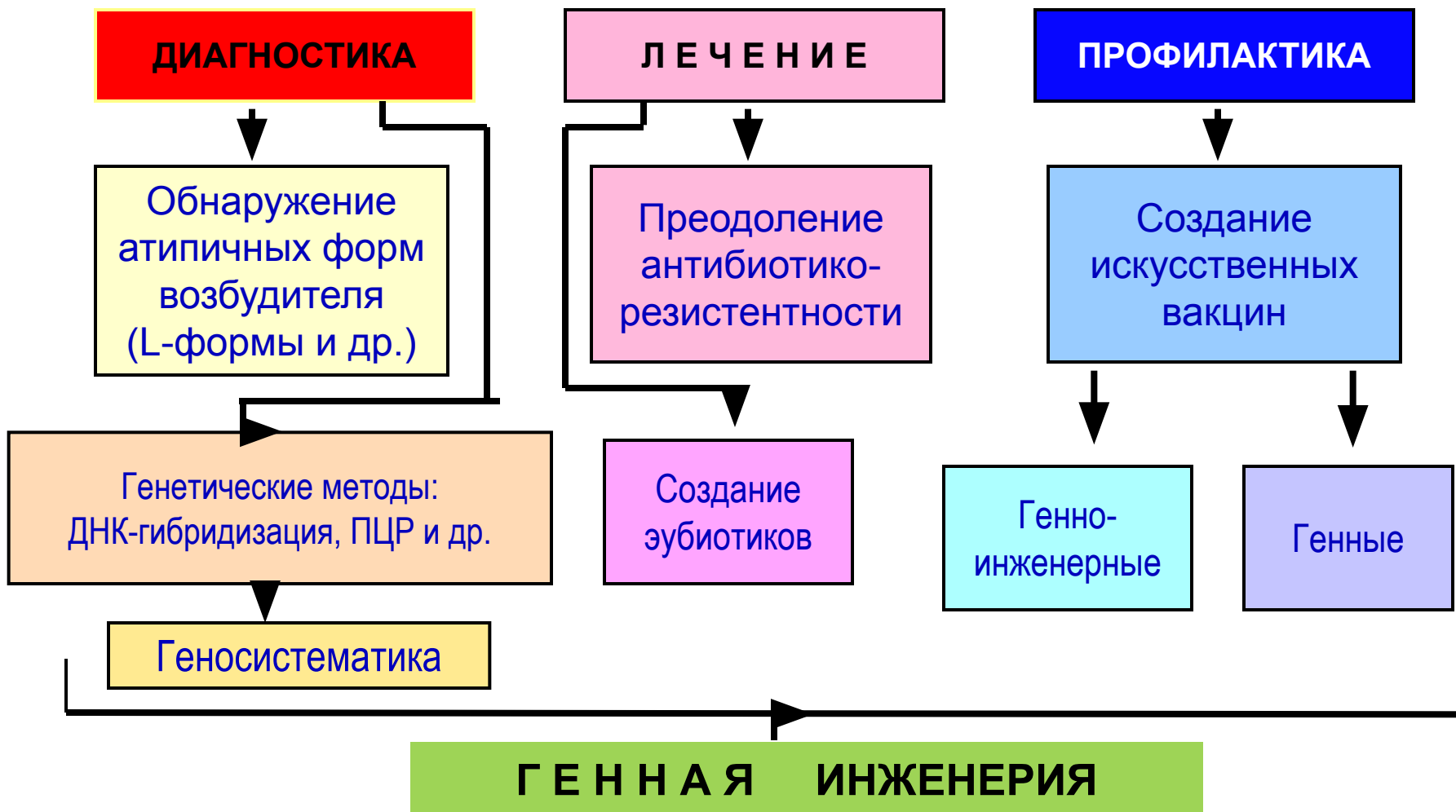


Перемещение F-фактора или конъюгативных плазмид



Hfr (от англ. high frequency of recombination - высокая частота рекомбинаций)

# Прикладные аспекты генетики бактерий

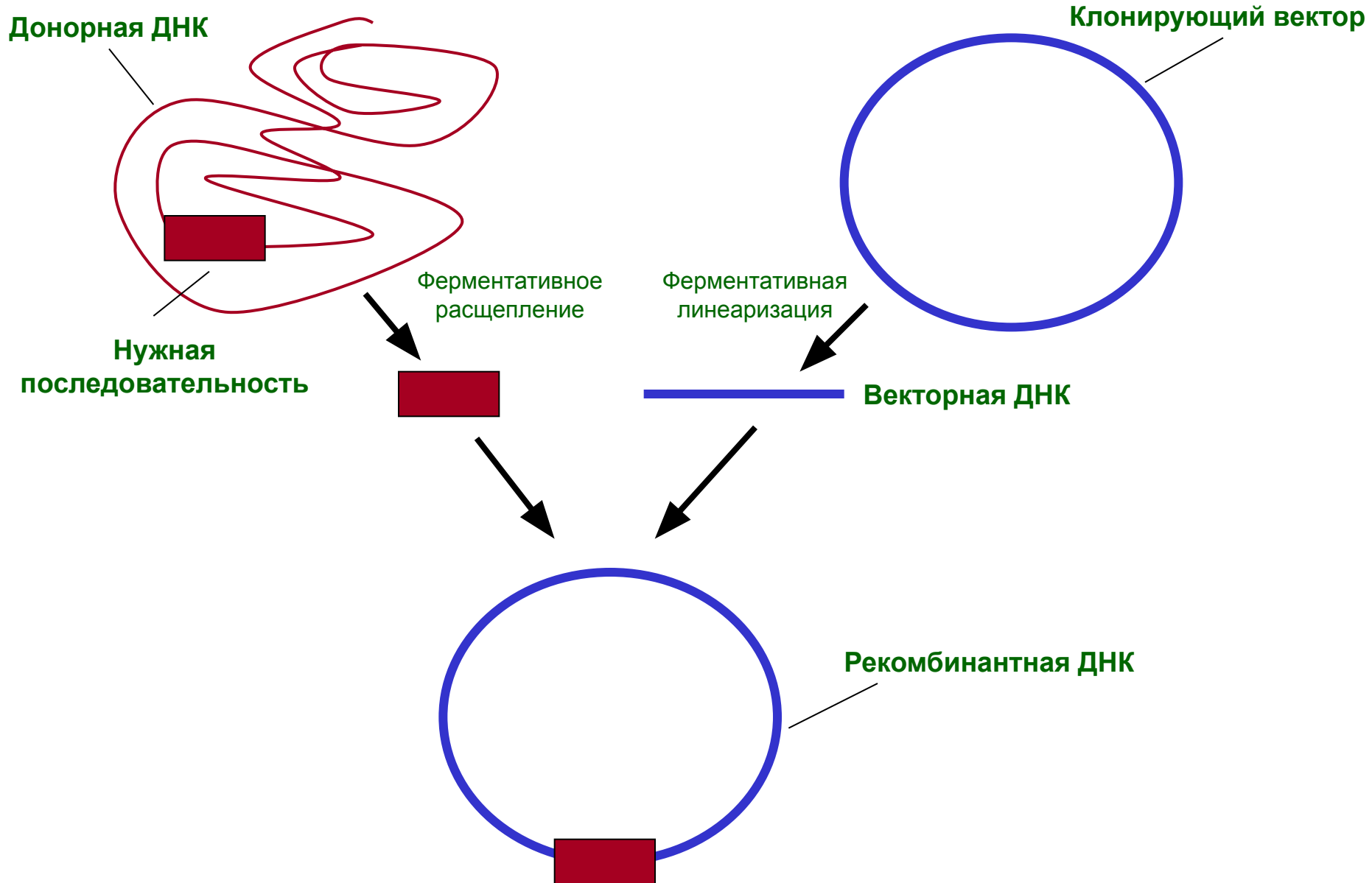


# Технология рекомбинантных ДНК

---

Технология рекомбинантных ДНК (молекулярное клонирование или генная инженерия) – это совокупность экспериментальных процедур, позволяющая осуществить перенос генетического материала из одного организма в другой.

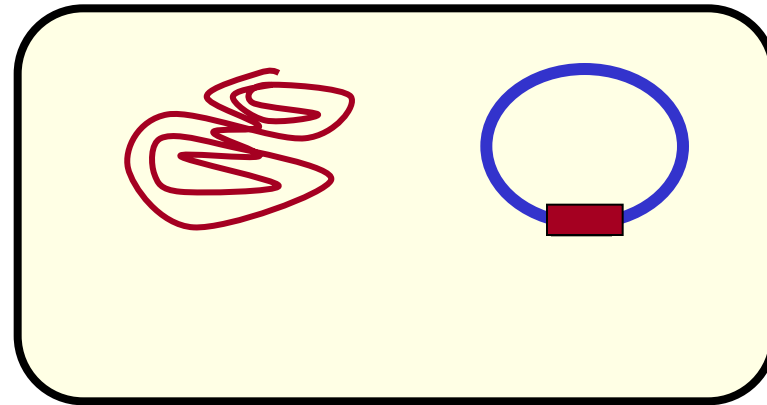
# Технология рекомбинантных ДНК



# Технология рекомбинантных ДНК

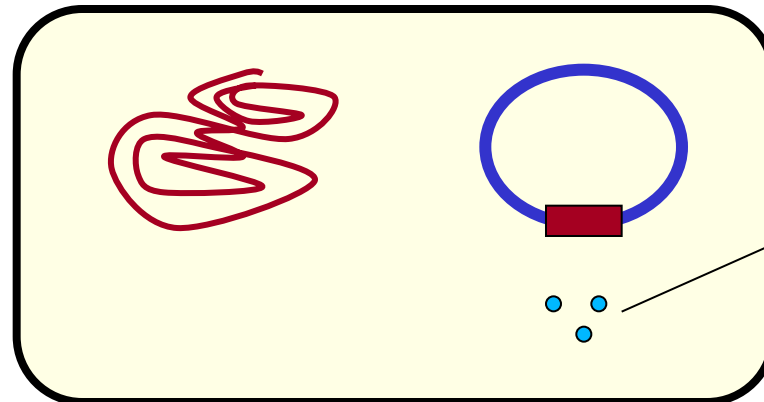
---

Введение рекомбинантной ДНК в  
клетку-хозяина



Клетка-хозяин

Синтез белка, кодируемого  
клонированным геном



Белок

# Гены флуоресцентных белков медузы работают в бактериях

---



# Методы молекулярной диагностики

**Молекулярная диагностика (MDx)** – раздел диагностики *in vitro*, включающий все специфические методы, направленные на анализ **нерегулярных биополимеров**: нуклеиновых кислот и белков

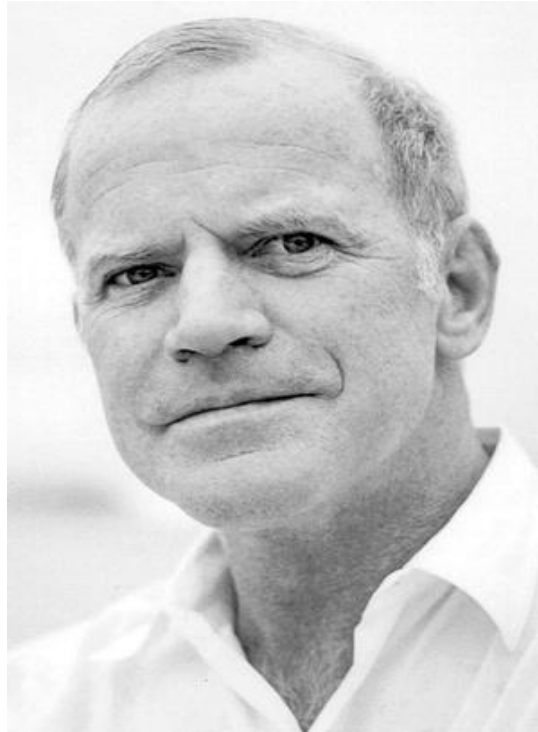


# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

---

К. Маллис (1985)

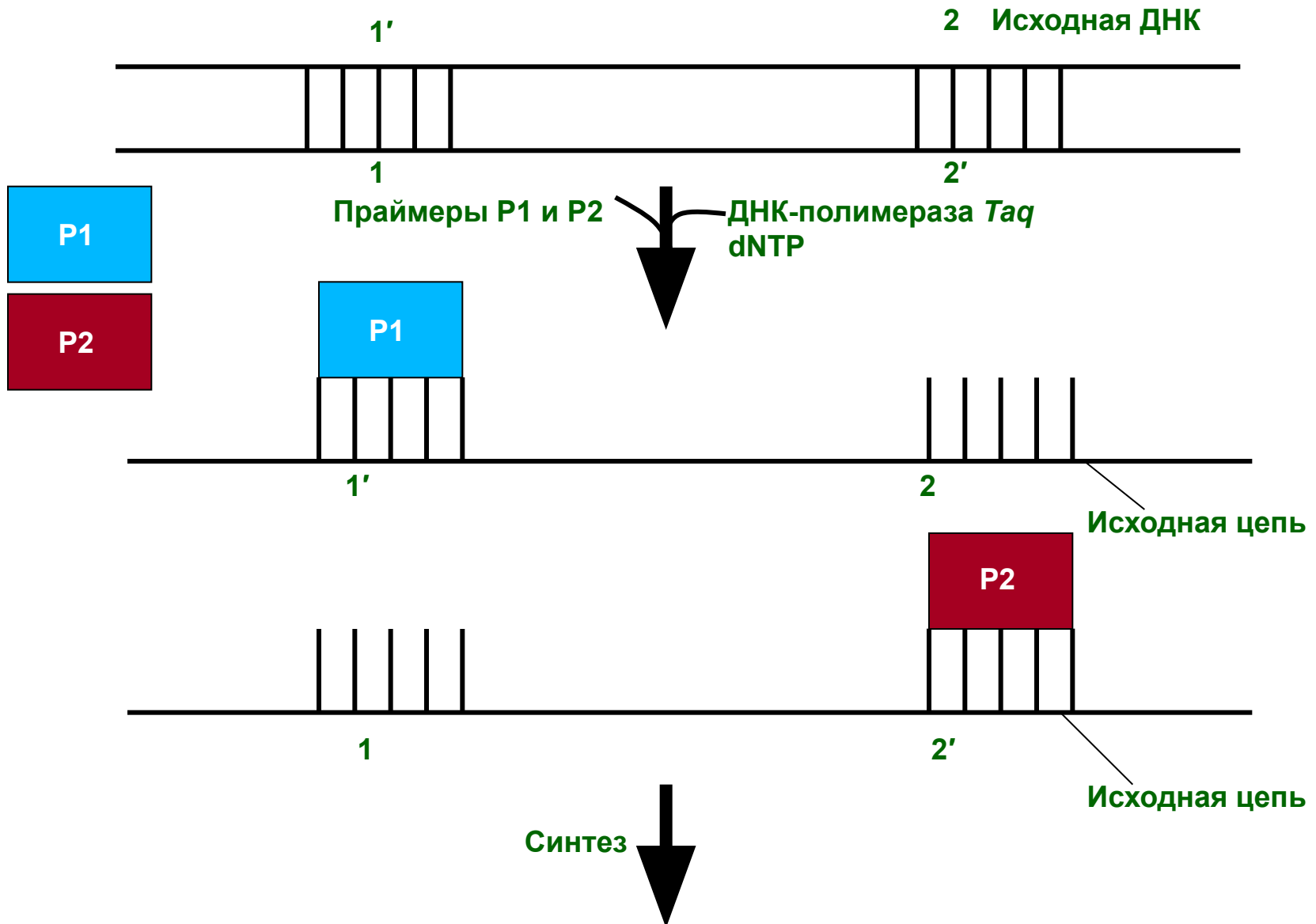
**ПЦР** – это эффективный способ получения *in vitro* большого числа копий специфических нуклеотидных последовательностей.



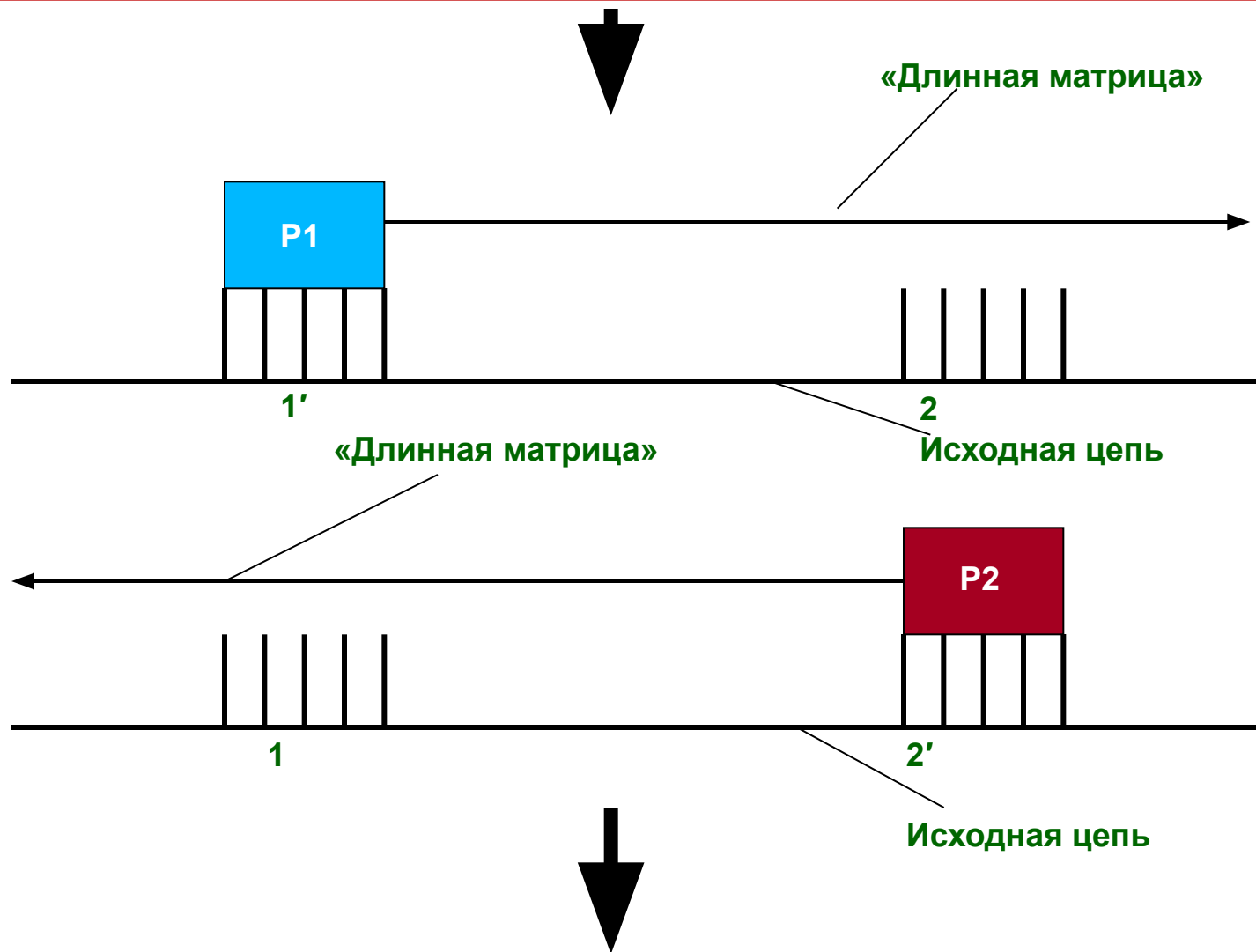
Кэрри Маллис  
Нобелевская премия по химии 1993 г.



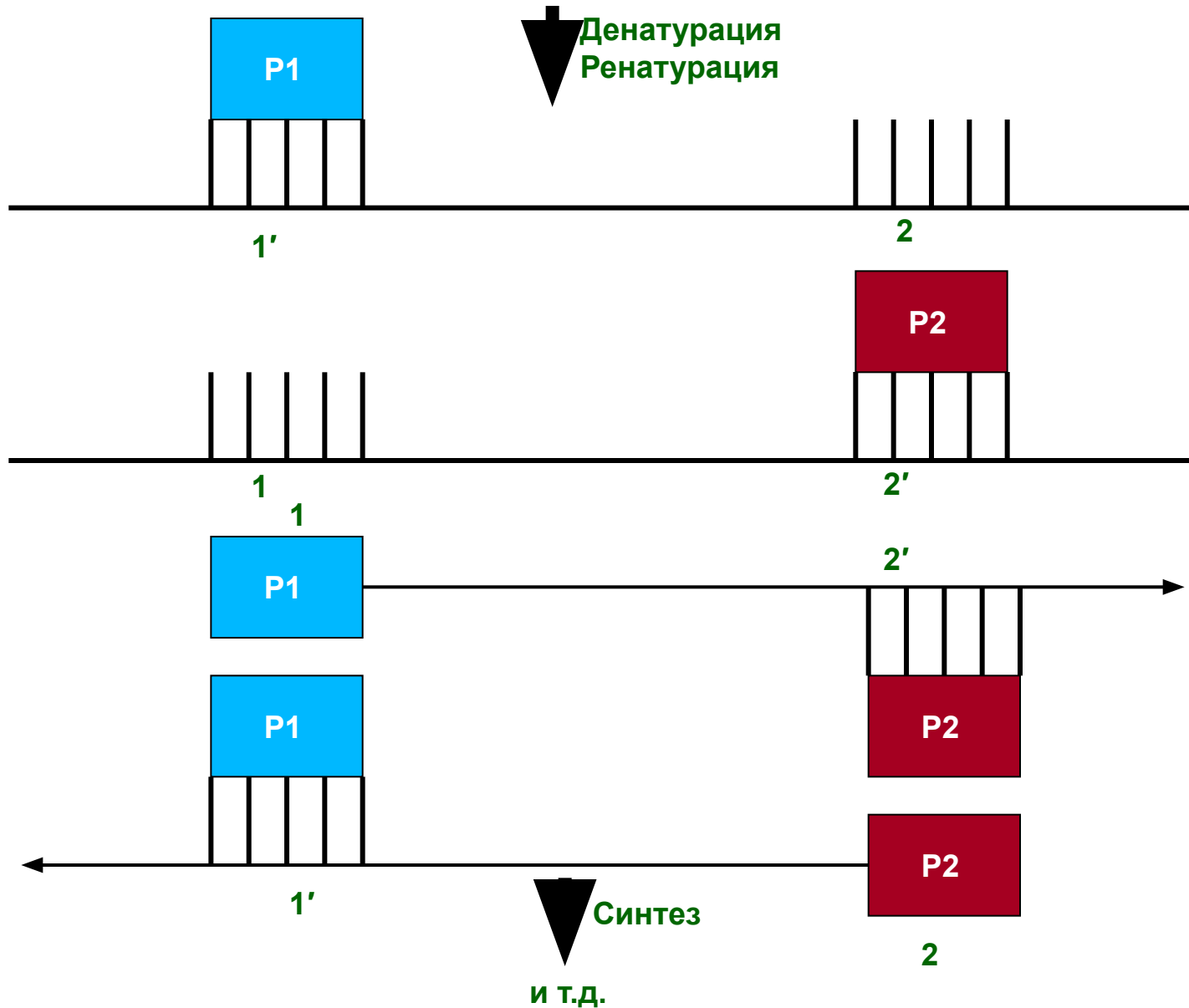
# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



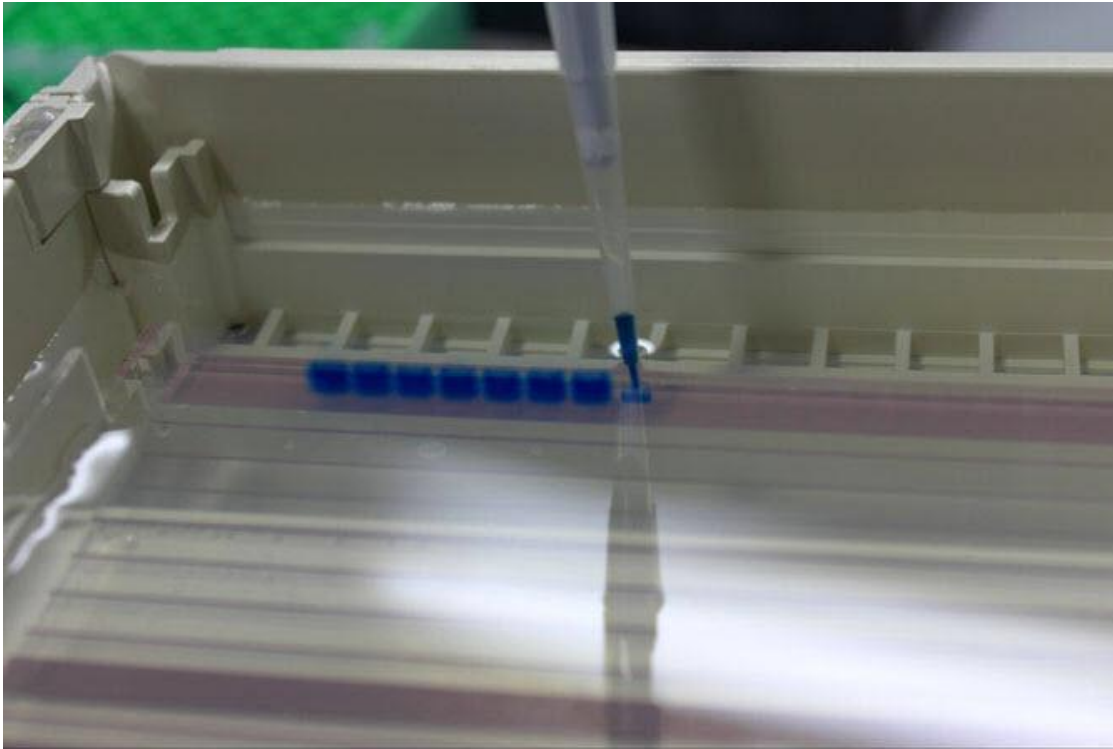
# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

---

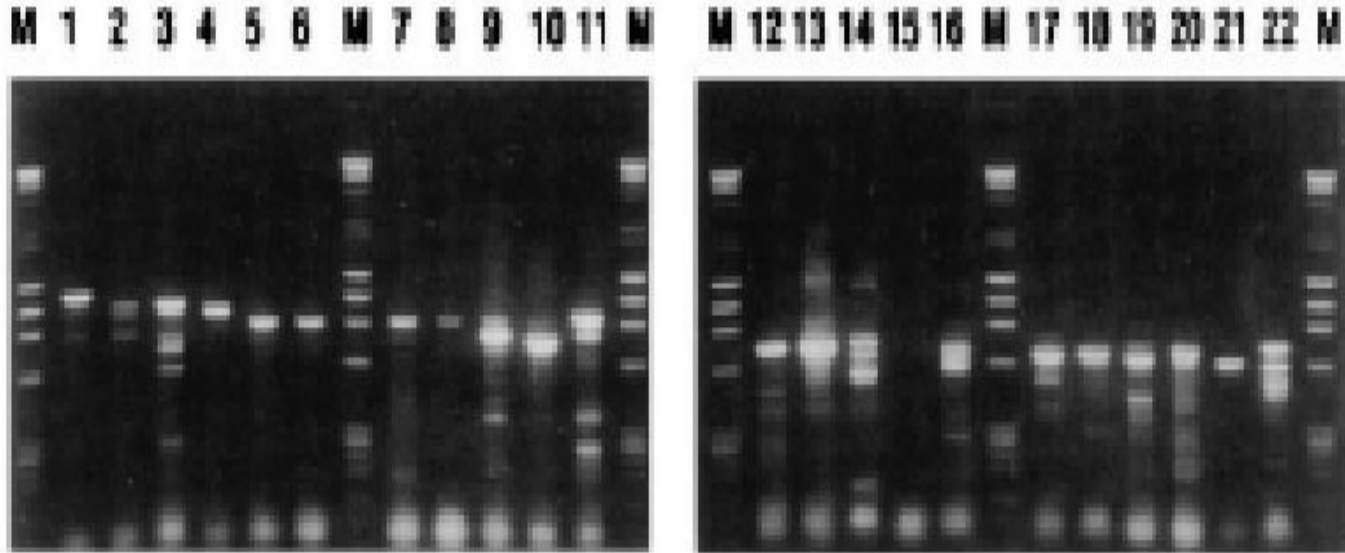
## Детекция продуктов ПЦР



# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

---

## Детекция продуктов ПЦР



# Если есть вопросы?



- Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В. 2-х томах. Т. 1: учебник для мед вузов / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 448 с.
- Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х томах. Т.1,2. Пер. с англ. / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. М.:Мир, 2005. 656 с.
- Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед вузов / СПб.: СпецЛит, 2008. – 767 с.
- Salyers, A., and D. Whitt. 1994. Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach, ASM Press, Washington D.C. pp.141-155,169-181.

**СПАСИБО ЗА  
ВНИМАНИЕ**

# Механизмы изменчивости

---

## 3. Амплификация генов

Гены холерогена *ctx* и шигаподобных токсинов *slt* способны амплифицироваться в процессе инфекции или перед инфекцией

## 4. Делеция генов

У *Haemophilus influenzae* может делетироваться из генома участок (1,5 т.п.н.), ответственный за капсулу  
Делетироваться могут «острова патогенности»



# Что такое трансдукция?

Показал Э. Ледерберг с фагом P22 и *Salmonella typhimurium* (1951)

## 1. Специфическая трансдукция (общая)

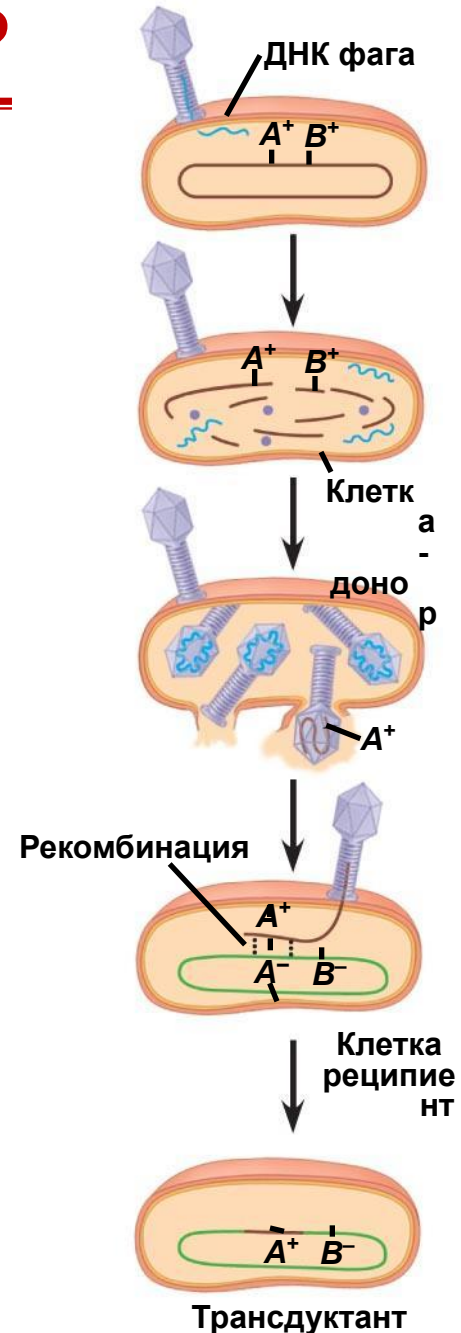
Осуществляется перенос любого фрагмента ДНК

## 2. Специфическая трансдукция (частная)

Осуществляется перенос определенного фрагмента ДНК

## 3.Abortивная трансдукция

Фрагмент ДНК-донора не встраивается в хромосому реципиента, а остается в цитоплазме (в конечном счете утрачивается в потомстве)



# Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

---

## Компоненты ПЦР:

1. Два синтетических олигонуклеотидных праймера (длиной примерно по 20 нуклеотидов), комплементарные участкам ДНК-мишени.
2. ДНК-мишень длиной от 100 до ~35 т.п.н (исследуемый материал).
3. Термостабильная ДНК-полимераза из бактерии *Thermus aquaticus*.
4. Четыре дезоксирибонуклеотида.

# Классификация плазмид

---

## 3. По относительной длине:

- ✓ Небольшие – до нескольких десятков тысяч пар нуклеотидов
- ✓ Мегаплазмиды – от ста тысяч пар нуклеотидов

# Нуклеоид

ЭУКАРИОТЫ

ПРОКАРИОТЫ

0,04- 50 млрд. н.п

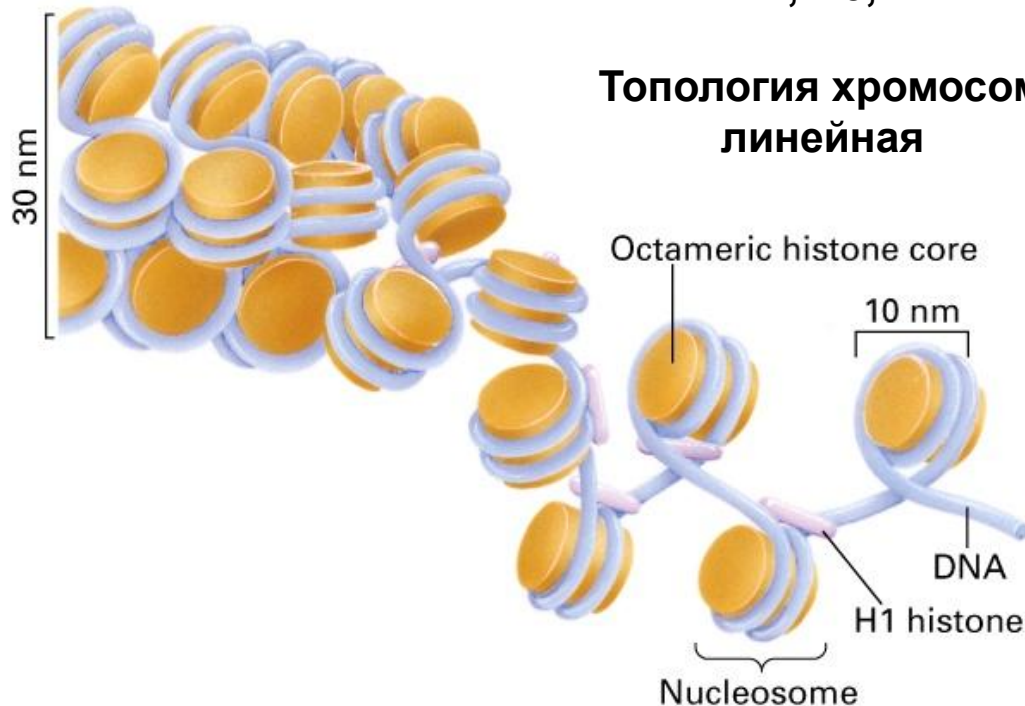
0,5-13 млн. н.п

Гистоны H2A,  
H2B, H3, H4

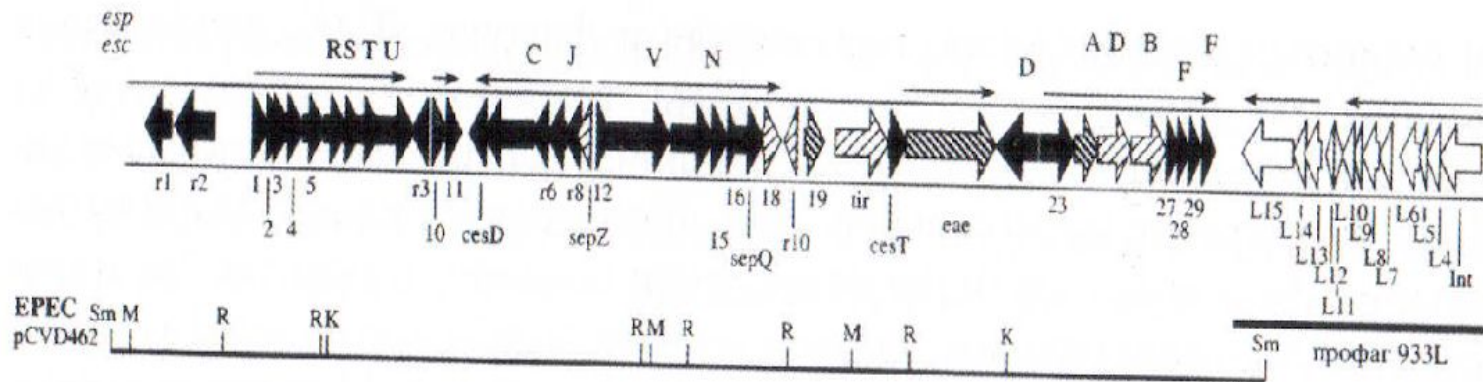
Гистоноподобные  
белки HU, H-NS

Топология хромосом:  
линейная

Топология хромосом:  
кольцевая



# Функции МГЭ



Elliott S.J., Yu J., Kaper J.B. // Infect. Immun., 1999. V.67. P. 4260-4263

Карта островов патогенности LEE ЭПКП (от англ. «*locus enterocyte effacement*»)

Функционально LEE разделен на три домена:

- 1.Центральный *eae*, кодирующий интимин, способствующий контакту *E.coli* с клеткой хозяина
- 2.Область, кодирующую секретлируемые белки *Esp*
3. Область (большая) с генами *esc* и *sep*, кодирующими аппарат секреции III типа