

Лекция № 6.

Генетика бактерий и вирусов

МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

2014-2015

Молекулярная биология, изучающая фундаментальные основы жизни, является в значительной степени детищем микробиологии. В качестве основных объектов изучения в ней используют вирусы и бактерии, а основное направление- молекулярная генетика основана на генетике бактерий и фагов.

Бактерии - удобный материал для генетики. Их отличает:

- относительная простота *генома* (совокупности нуклеотидов хромосом);
- *гаплоидность* (один набор генов), исключая доминантность признаков;
- различные интегрированные в хромосомы и обособленные *фрагменты ДНК*;
- половая дифференциация в виде донорских и реципиентных клеток;
- легкость культивирования, быстрота накопления биомасс.

Общие представления о генетике.

Ген- уникальная структурная единица наследственности, носитель и хранитель жизни. Он имеет *три фундаментальные функции*.

1. *Непрерывность наследственности* - обеспечивается механизмом

репликации ДНК.

2. *Управление структурами и функциями организма* - обеспечивается с помощью единого *генетического кода* из четырех оснований (А- аденин, Т- тимин, Г- гуанин, Ц- цитозин). Код триплетный, поскольку *кодон*-функциональная единица, кодирующая аминокислоту, состоит из трех оснований (букв).

3. *Эволюция организмов*- благодаря *мутациям и генетическим рекомбинациям*.

В узкоспециальном плане ген чаще всего представляет структурную единицу ДНК, расположение кодонов в которой детерминирует первичную структуру соответствующей полипептидной цепи (белка).

Хромосома состоит из особых функциональных единиц- *оперонов*.

Основные этапы развития (усложнения) генетической системы можно представить в виде следующей схемы:

кодон □ ген □ оперон □ геном вирусов и плазмид □ хромосома прокариот (нуклеоид) □ хромосомы эукариот (ядро).

Генетический материал бактерий.

1. *Ядерные структуры бактерий*- хроматиновые тельца или нуклеоиды (хромосомная ДНК). У бактерий одна замкнутая кольцевидная

хромосома (до 4 тысяч отдельных генов). Бактериальная клетка гаплоидна, а удвоение хромосомы (репликация ДНК) сопровождается делением клетки. Вегетативная репликация хромосомной (и плазмидной) ДНК обуславливает передачу генетической информации по вертикали- от родительской клетки- к дочерней. Передача генетической информации по горизонтали осуществляется различными механизмами- в результате *конъюгации, трансдукции, трансформации, сексдукции.*

2. Внехромосомные молекулы ДНК представлены плазидами, мигрирующими генетическими элементами- транспозонами и инсервационными (вставочными) или IS- последовательностями.

Плазмиды- экстрахромосомный генетический материал (ДНК), более просто устроенные по сравнению с вирусами организмы, наделяющие бактерии *дополнительными полезными свойствами.* По молекулярной массе плазмиды значительно меньше хромосомной ДНК, содержат от 40 до 50 генов.

Их объединение в одно царство жизни с вирусами связано с наличием ряда общих свойств- отсутствием собственных систем мобилизации энергии и синтеза белка, саморепликацией генома, абсолютным внутриклеточным паразитизмом.

Их выделение в отдельный класс определяется существенными

отличиями от вирусов.

1. Среда их обитания- только бактерии (среди вирусов, кроме вирусов бактерий- бактериофагов имеются вирусы растений и животных).
2. Плазмиды сосуществуют с бактериями, наделяя их дополнительными свойствами. У вирусов эти свойства могут быть только у умеренных фагов при лизогении бактерий, чаще же всего вирусы вызывают отрицательные последствия, лизис клеток.
3. Геном представлен двунитевой ДНК.
4. Плазмиды представляют собой “голые” геномы, не имеющие никакой оболочки, их репликация не требует синтеза структурных белков и процессов самосборки.

Плазмиды могут распространяться по вертикали (при клеточном делении) и по горизонтали, прежде всего путем конъюгационного переноса. В зависимости от наличия или отсутствия механизма самопереноса (его контролируют гены *tra*- оперона) выделяют *конъюгативные и неконъюгативные плазмиды*. Плазмиды могут встраиваться в хромосому бактерий- *интегративные плазмиды* или находиться в виде отдельной структуры- автономные плазмиды (*эписомы*).

Классификация и биологическая роль плазмид.

Функциональная классификация плазмид основана на свойствах, которыми они наделяют бактерии. Среди них- способность продуцировать экзотоксины и ферменты, устойчивость к лекарственным препаратам, синтез бактериоцинов.

Основные категории плазмид.

1. F-плазмиды - донорские функции, индуцируют деление (от fertility - плодовитость). Интегрированные F - плазмиды- Hfr- плазмиды (высокой частоты рекомбинаций).
2. R-плазмиды (resistance) - устойчивость к лекарственным препаратам.
3. Col-плазмиды- синтез колицинов (бактериоцинов)- факторов конкуренции близкородственных бактерий (антогонизм). На этом свойстве основано колицинотипирование штаммов.
4. Hly плазмиды- синтез гемолизинов.
5. Ent-плазмиды- синтез энтеротоксинов.
6. Tox-плазмиды- токсинообразование.

Близкородственные плазмиды не способны стабильно сосуществовать, что позволило объединить их по степени родства в Inc- группы

(incompatibility- несовместимость).

Биологическая роль плазмид многообразна, в том числе:

- контроль генетического обмена бактерий;
- контроль синтеза факторов патогенности;
- совершенствование защиты бактерий.

Бактерии для плазмид- среда обитания, плазмиды для них- переносимые между ними дополнительные геномы с наборами генов, благоприятствующих сохранению бактерий в природе.

Мигрирующие генетические элементы - отдельные участки ДНК, способные определять свой перенос между хромосомами или хромосомой и плазмидой с помощью фермента рекомбинации *транспозазы*. Простейшим их типом являются *инсерционные последовательности (IS- элементы)* или *вставочные элементы*, несущие только один ген транспозазы, с помощью которой IS- элементы могут встраиваться в различные участки хромосомы. Их функции- координация взаимодействия плазмид, умеренных фагов, транспозонов и генофора для обеспечения репродукции, регуляция активности генов, индукция мутаций. Величина IS- элементов не превышает 1500 пар оснований. *Транспозоны (Tn- элементы)* включают до 25 тысяч пар нуклеотидов,

содержат фрагмент ДНК, несущий специфические гены, и два *Is*-элемента. Каждый транспозон содержит гены, приносящие важные для бактерии характеристики, как и плазмиды (множественная устойчивость к антибиотикам, токсинообразование и т.д.). Транспозоны-самоинтегрирующиеся фрагменты ДНК, могут встраиваться и перемещаться среди хромосом, плазмид, умеренных фагов, т.е. обладают потенциальной способностью распространяться среди различных видов бактерий.

Понятие о генотипе и фенотипе.

Генотип - вся совокупность имеющихся у организма генов.

Фенотип- совокупность реализованных (т.е. внешних) генетически детерминированных признаков, т.е. индивидуальное (в определенных условиях внешней среды) проявление генотипа. При изменении условий существования фенотип бактерий изменяется при сохранении генотипа.

Изменчивость у бактерий может быть ненаследуемой (*модификационной*) и генотипической (*мутации, рекомбинации*).

Временные, наследственно не закрепленные изменения, возникающие как адаптивные реакции бактерий на изменения окружающей среды, называются *модификациями* (чаще - морфологические и биохимические

модификации). После устранения причины бактерии реверсируют к исходному фенотипу.

Стандартное проявление модификации- распределение однородной популяции на две или более двух типов - *диссоциация*. Пример- характер роста на питательных средах: S- (гладкие) колонии, R- (шероховатые) колонии, M- (мукоидные, слизистые) колонии, D- (карликовые) колонии. Диссоциация протекает обычно в направлении S \rightarrow R. Диссоциация сопровождается изменениями биохимических, морфологических, антигенных и вирулентных свойств возбудителей.

Мутации- скачкообразные изменения наследственного признака. Могут быть спонтанные и индуцированные, генные (изменения одного гена) и хромосомные (изменения двух или более двух участков хромосомы). Одновременно у бактерий имеются различные механизмы *репарации мутаций*, в том числе с использованием ферментов- эндонуклеаз, лигаз, ДНК- полимеразы.

Генетические рекомбинации- изменчивость, связанная с обменом генетической информации. Генетические рекомбинации могут осуществляться путем *трансформации, трансдукции, конъюгации, слияния протопластов*.

1. Трансформация- захват и поглощение фрагментов чужой ДНК и рекомбинанта.

2. Трансдукция- перенос генетического материала фагами (умеренными фагами- специфическая трансдукция).

3. Конъюгация- при непосредственном контакте клеток. Контролируется tra (transfer) опероном. Главную роль играют конъюгативные F- плазмиды.

Генетика вирусов.

Геном вирусов содержит или РНК, или ДНК (РНК- и ДНК- вирусы соответственно). Выделяют позитивную (+) РНК, обладающую матричной активностью и соответственно- инфекционными свойствами, и негативную (-) РНК, не проявляющую инфекционные свойства, которая для воспроизводства должна *транскрибироваться* (превращаться) в +РНК. Механизмы репродукции различных вирусов очень сложные и существенно отличаются. Основные их схематические варианты представлены ниже.

1. Вирионная (матричная) +РНК \square комплементарная -РНК (в рибосомах) \square вирионная +РНК.

2. РНК \square вирусная (информационная) +РНК \square - РНК (формируется

на геноме зараженной клетки).

3. Однонитевая ДНК: +ДНК □ +ДНК -ДНК □ +ДНК -ДНК +ДНК □ +ДНК.

4. Ретровирусная однонитевая РНК: РНК □ ДНК (провирус) □ РНК.

5. Двунитевая ДНК: разделение нитей ДНК и формирование на каждой комплементарной нити ДНК.

Генофонд вирусов создается и пополняется из четырех основных источников: двух внутренних (мутации, рекомбинации) и двух внешних (включение в геном генетического материала клетки хозяина, поток генов из других вирусных популяций).

Комплементация - функциональное взаимодействие двух дефектных вирусов, способствующее их репликации и горизонтальной передаче.

Фенотипическое смешивание - при заражении клетки близкородственными вирусами с образованием вирионов с гибридными капсидами, кодируемыми геномами двух вирусов.

Популяционная изменчивость вирусов связана с двумя разнонаправленными процессами - мутациями и селекцией, связанными с внешней средой как индуктором мутаций и фактором стабилизирующего отбора. Гетерогенность вирусных популяций -

адаптационный генетический механизм, способствующий пластичности (устойчивости, приспособляемости) популяций, фактор эволюции и сохранения видов во внешней среде.

Генофонд вирусных популяций сохраняется за счет нескольких механизмов:

- восстановления изменчивости за счет мутаций;
- резервирующих механизмов (возможность перехода любых, даже негативных мутаций в следующую генерацию)- комплементация, рекомбинация;
- буферных механизмов (образование дефектных вирусных частиц, иммунных комплексов и др.), способствующие сохранению вируса в изменяющихся внешних условиях.

