



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

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

Различия геномов клеточных форм жизни

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

Различия геномов клеточных форм жизни

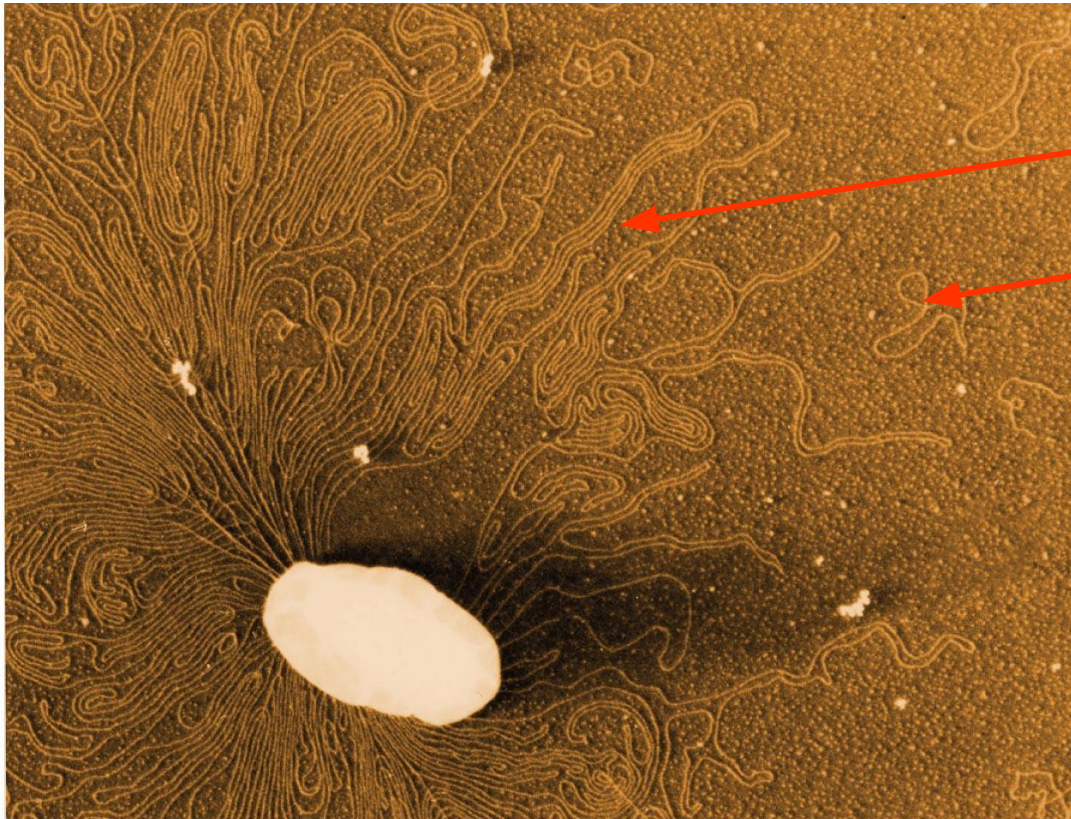
Домен	Бактерии	Археи	Эукариоты
Диапазон длин генома	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
Инициация репликации	в одной точке		во многих точках
Топология хромосом	чаще замкнутая		линейная

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

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

Различия геномов клеточных форм жизни

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

Различия геномов клеточных форм жизни

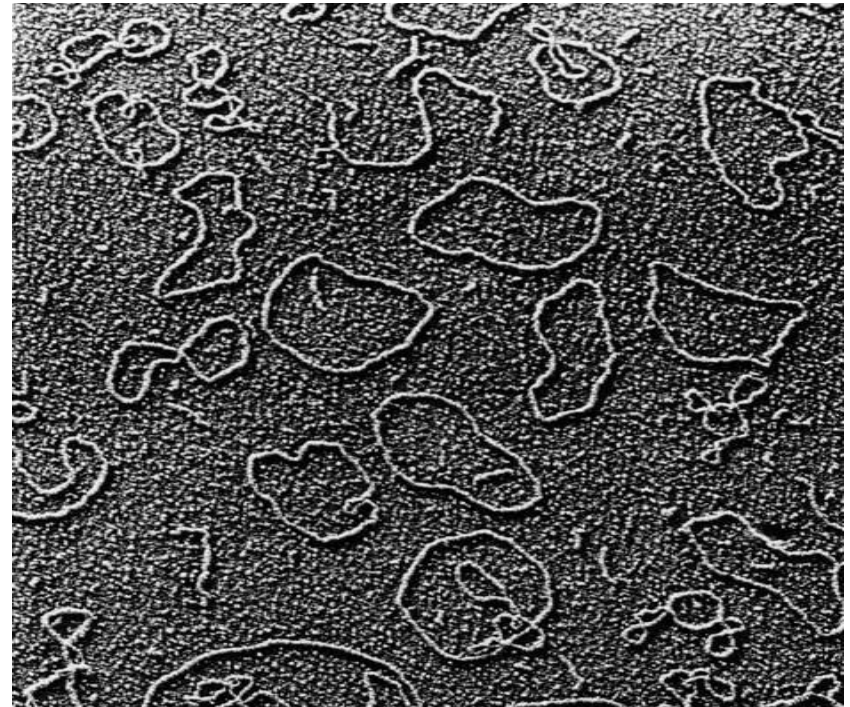
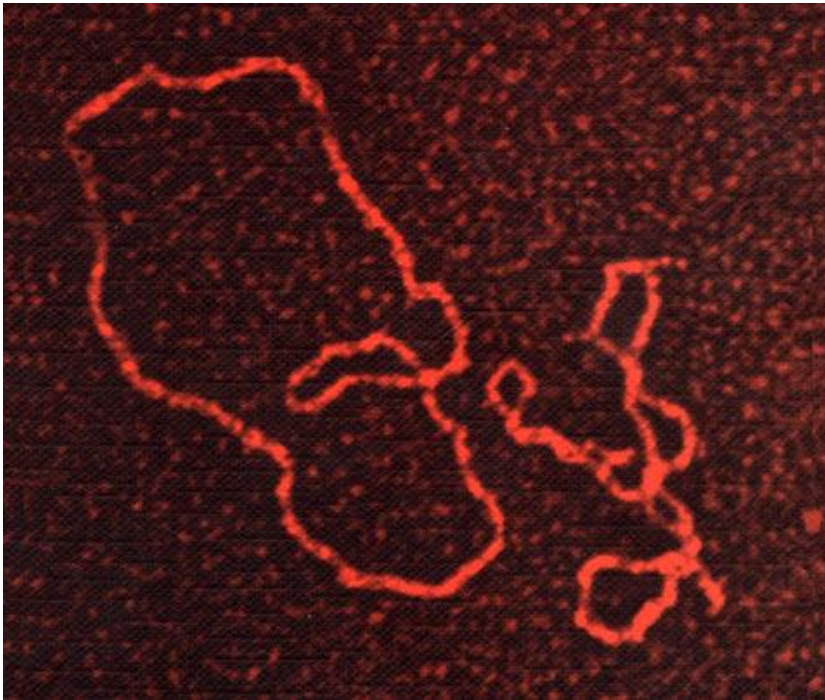
Домен	Бактерии	Археи	Эукариоты
Диапазон длин генома	0,5 – 13 млн. н.п.		0,04 – 50 млрд. н.п.
Инициация репликации	в одной точке		во многих точках
Топология хромосом	чаще замкнутая		линейная
Степень конденсации	низкая		высокая
Процессинг	рРНК, тРНК	рРНК, тРНК, <u>мРНК</u>	

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

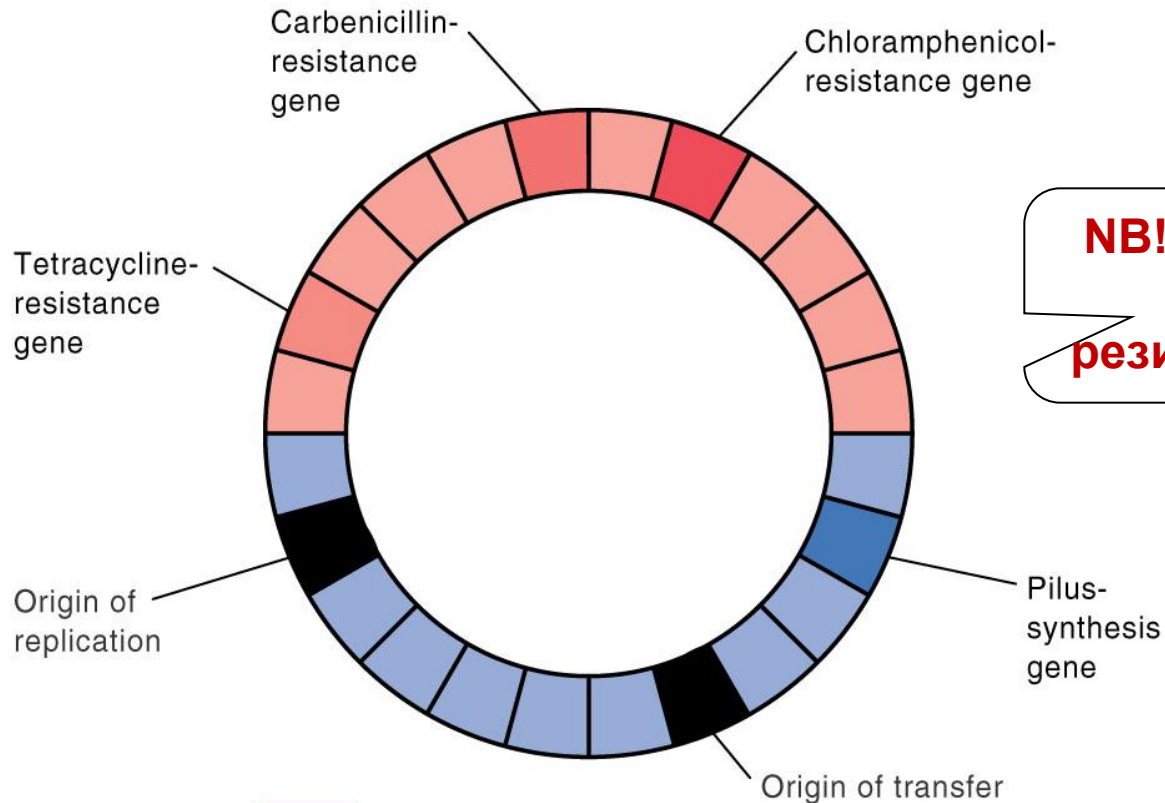
Номенклатура: pBR322, R100, RSF1010



Как устроены плазмиды?

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

R PLASMID



**NB! Несколько
генов
резистентности**

**Модули основного
репликона 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

.....

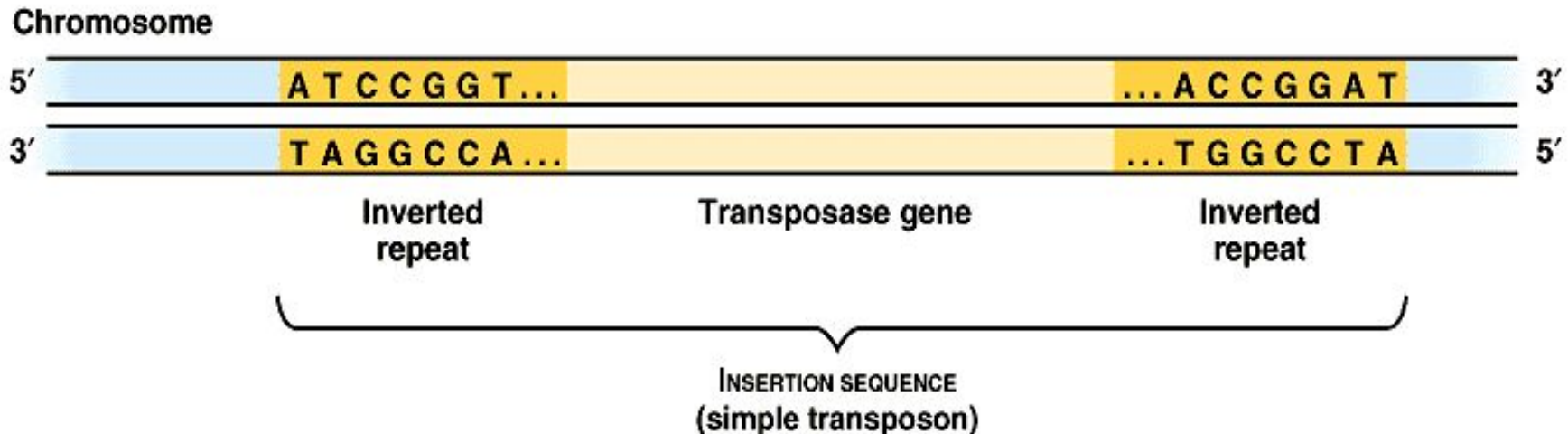
Мобильные генетические элементы

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

(П.Старлинжер, 1970)

1. Простые транспозоны (IS-элементы)

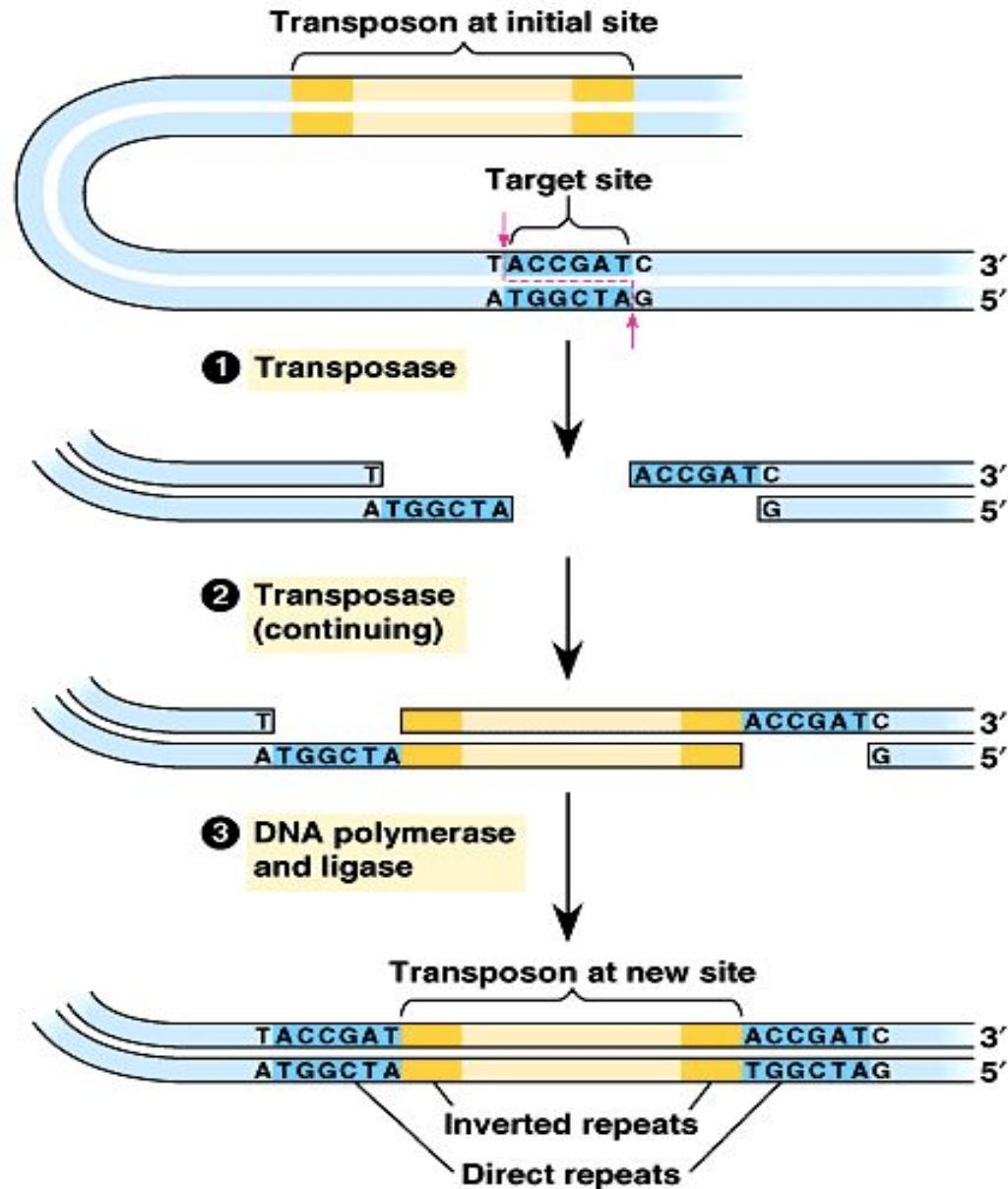
от англ. *Insertion sequences*



Мобильные генетические элементы

2. Сложные транспозоны (Tn)

от англ. *transposable element*



Функции МГЭ

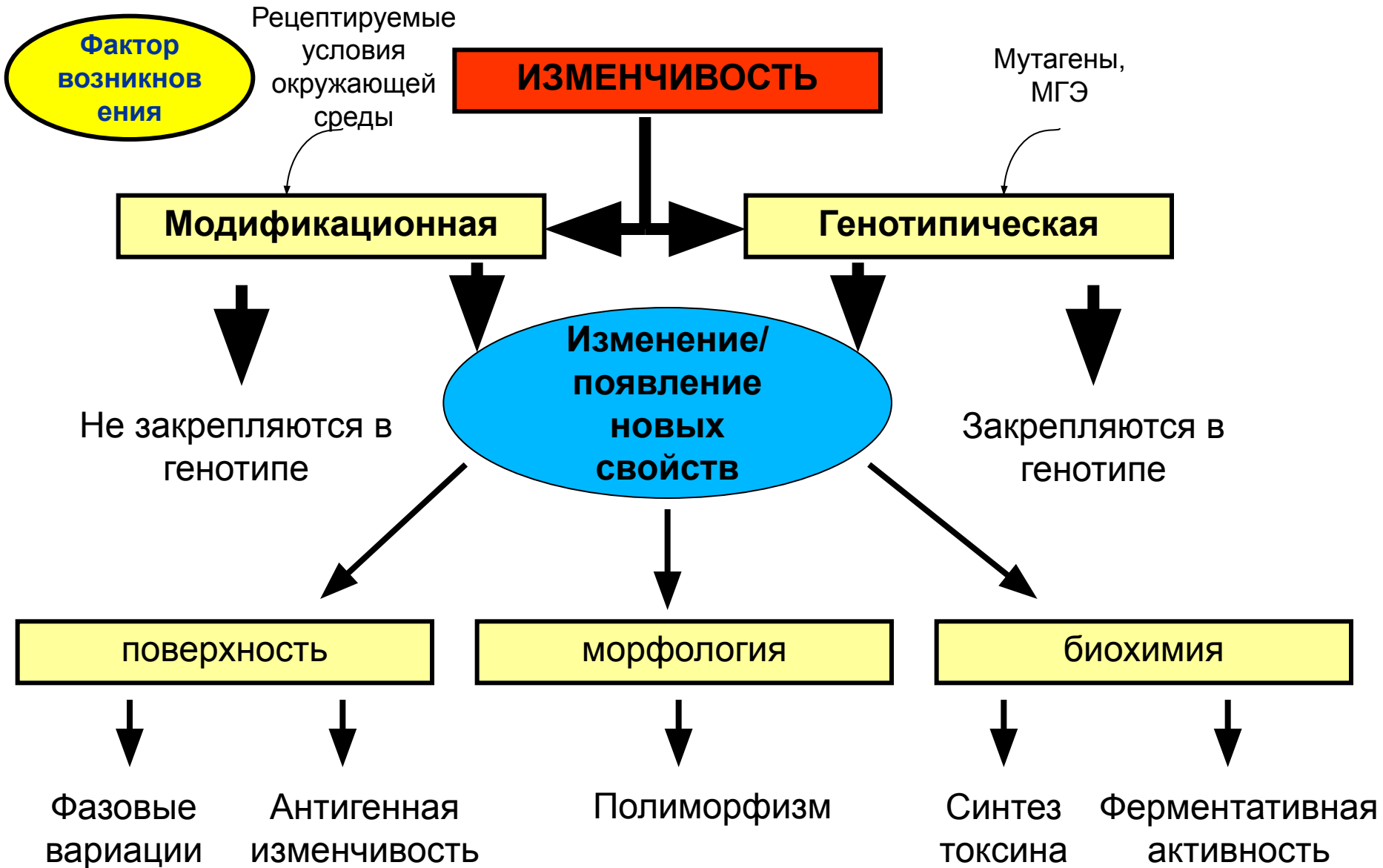
Простые транспозоны

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



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

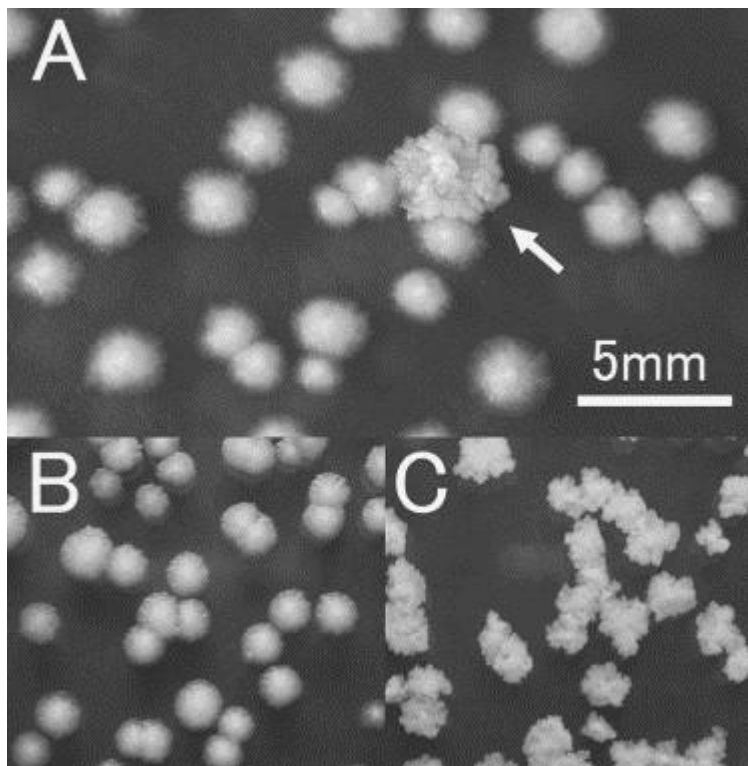
Процессинг белков



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

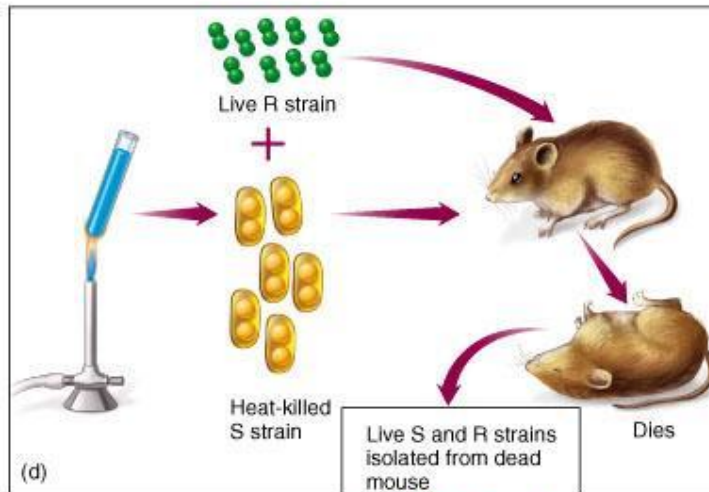
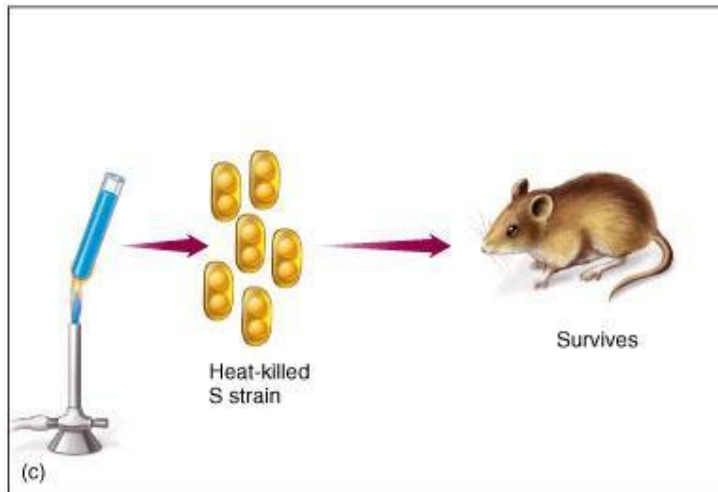
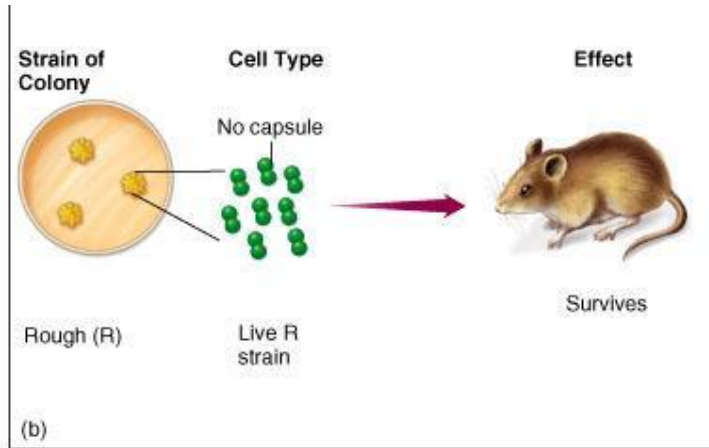
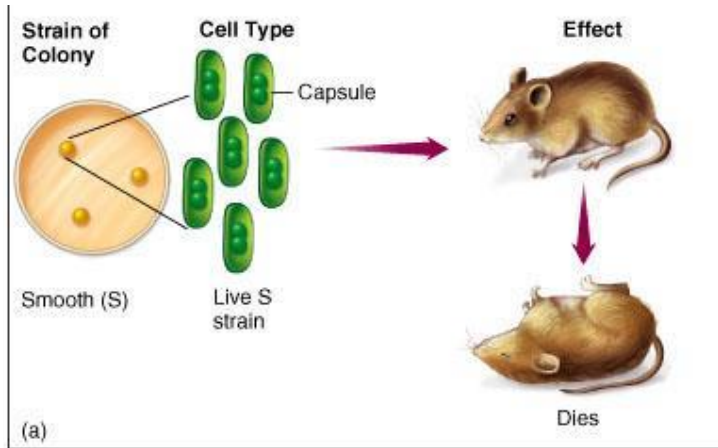
✓ Трансформация

✓ Конъюгация

✓ Трансдукция

Что такое трансформация?

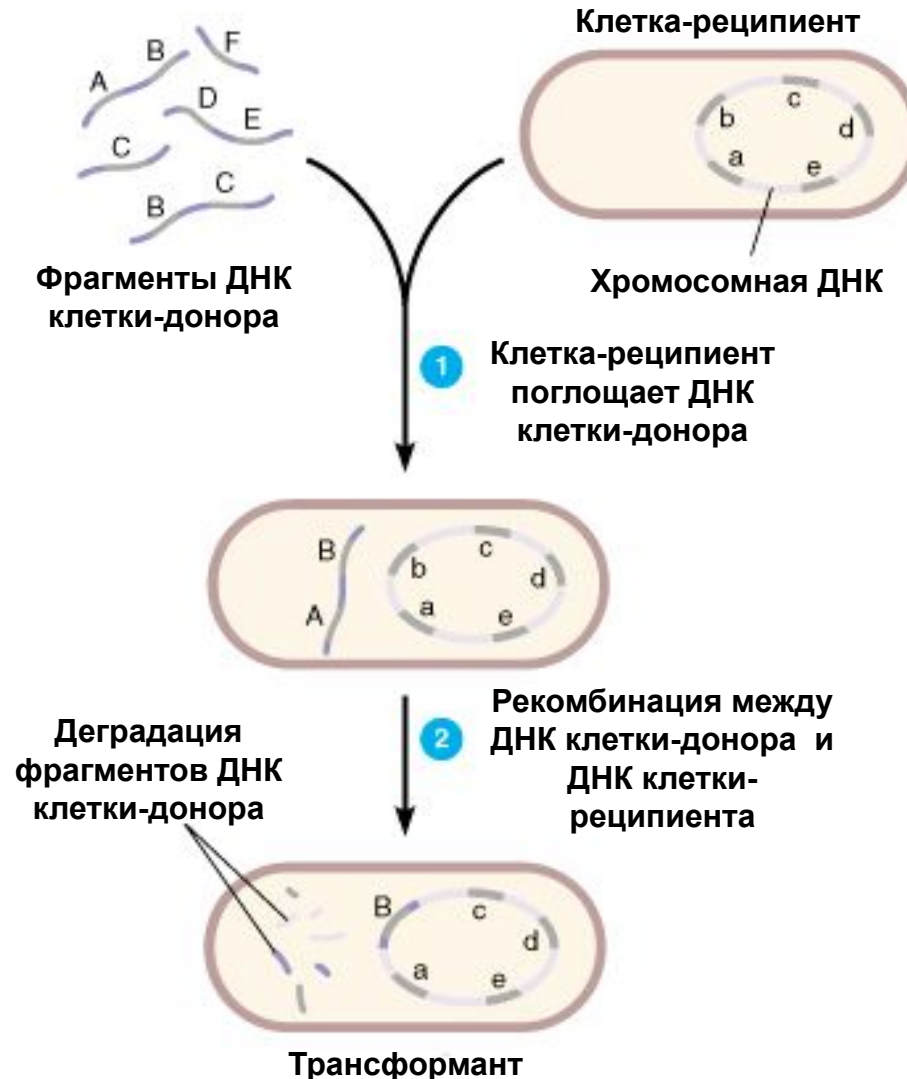
- Гриффит (1928)
 - показал на *Streptococcus pneumoniae*
 - два штамма: вирулентный и авирулентный



Как это могло случиться ???!!

Что такое трансформация?

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



Что такое конъюгация?

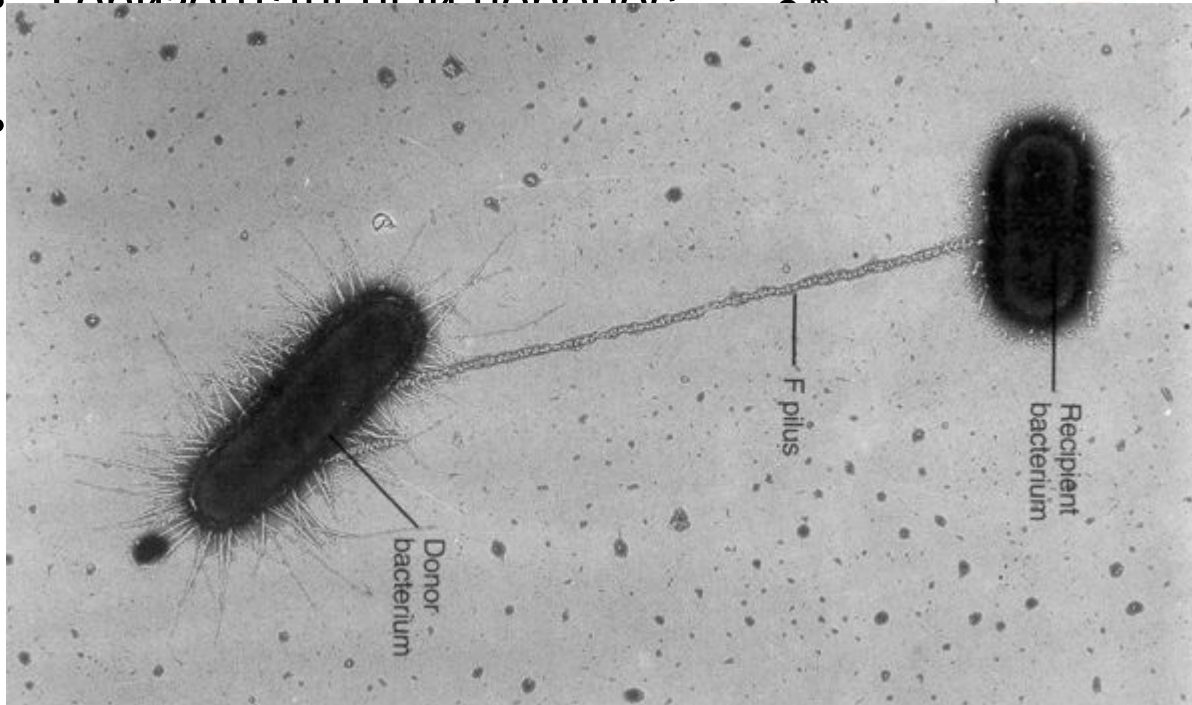
copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

- Дж. Ледерберг, Э. Татум (1946)

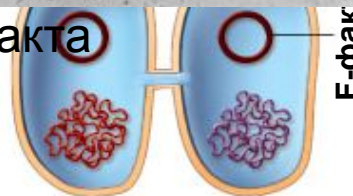
F (от англ. *fertility* – плодovitость)

- Горизонтальный перенос

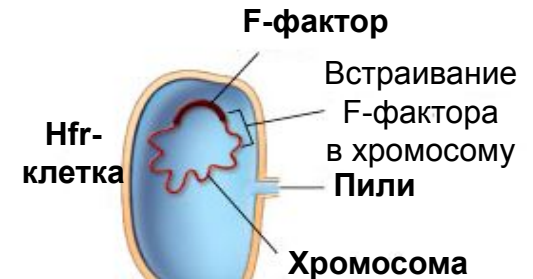
Мост
Донор F⁺ | Реципиент F⁻



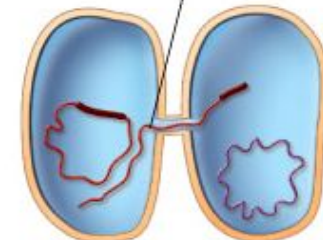
Формирование межклеточного контакта при конъюгации у E.coli



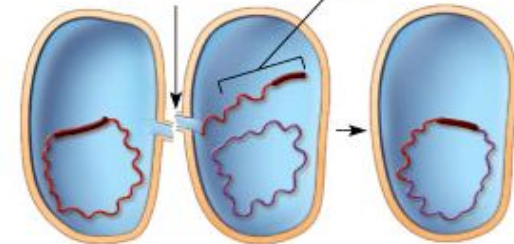
Перемещение F-фактора или конъюгативных плазмид



Частичная копия хромосомы-донора

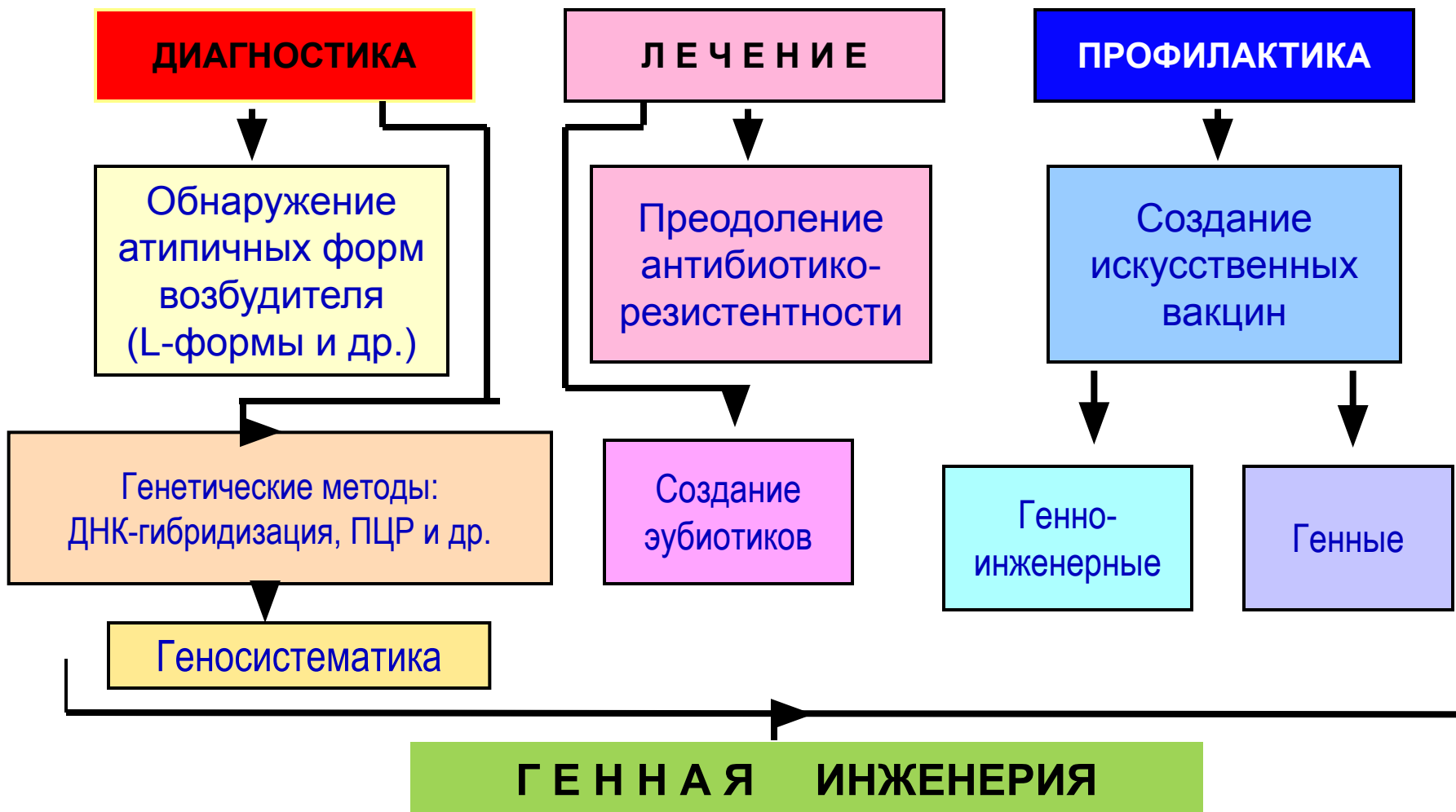


Сломанный мост Переданные гены



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

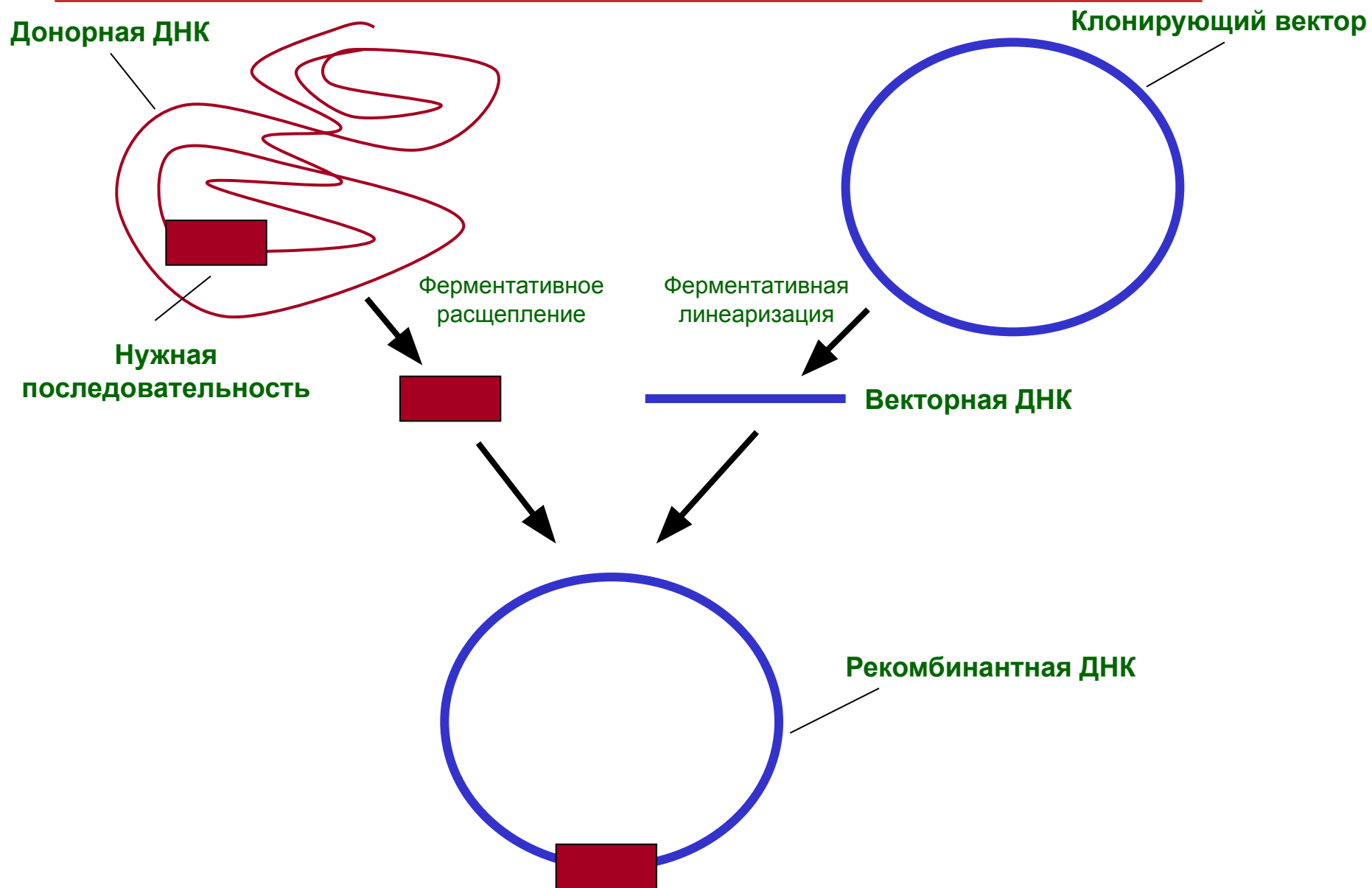
Прикладные аспекты генетики бактерий



Технология рекомбинантных ДНК

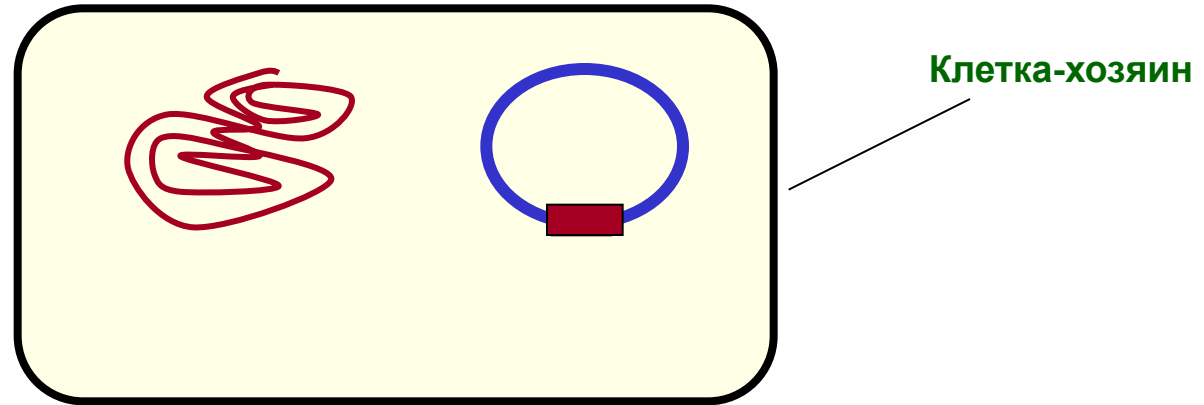
Технология рекомбинантных ДНК (молекулярное клонирование или генная инженерия) – это совокупность экспериментальных процедур, позволяющая осуществить перенос генетического материала из одного организма в другой.

Технология рекомбинантных ДНК

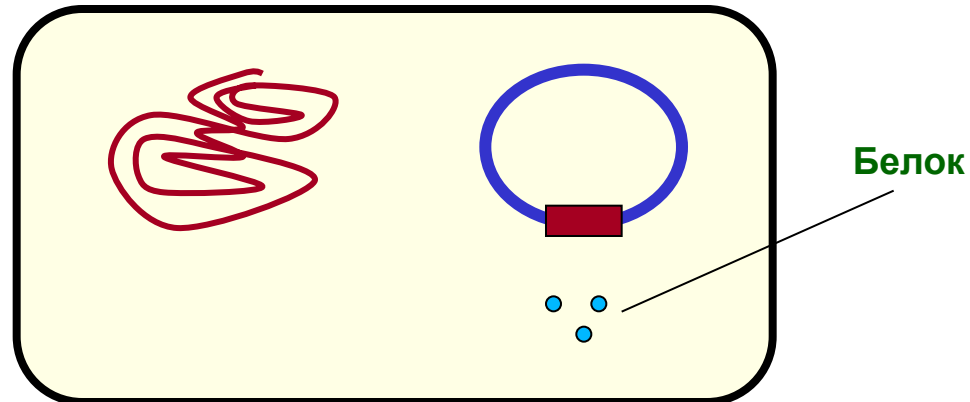


Технология рекомбинантных ДНК

Введение рекомбинантной ДНК в
клетку-хозяина



Синтез белка, кодируемого
клонированным геном



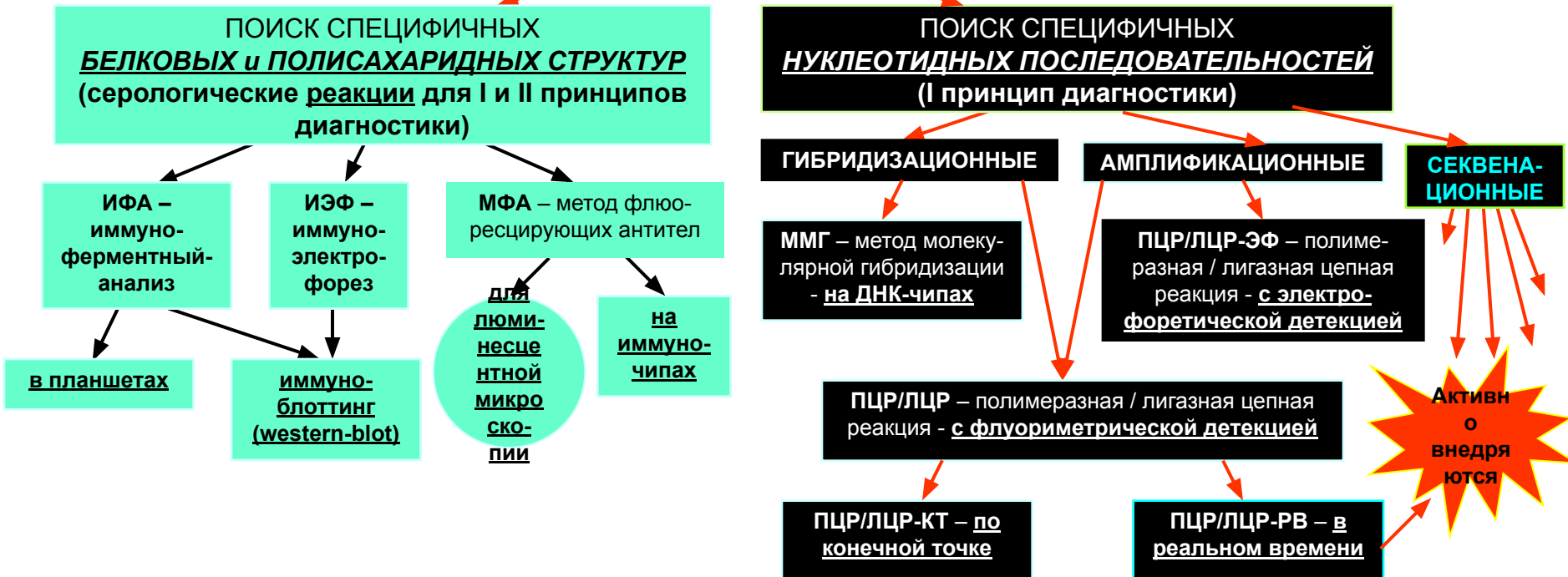
Гены флуоресцентных белков медузы работают в бактериях



Методы молекулярной диагностики

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

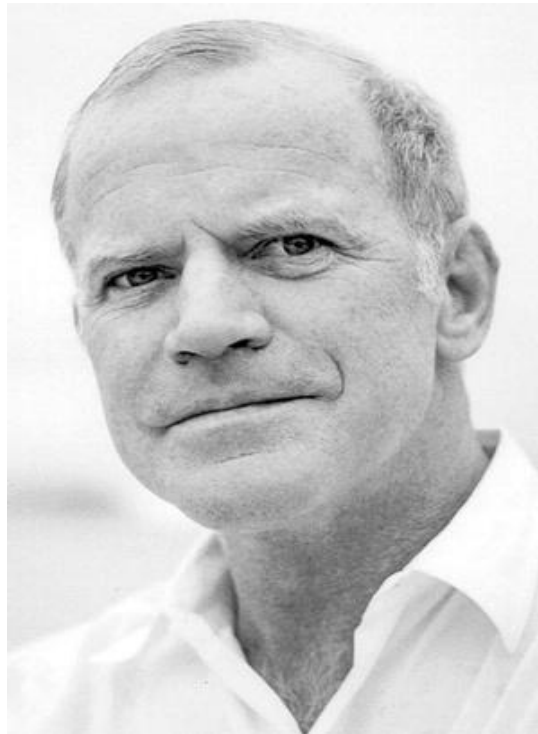
MDx



Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

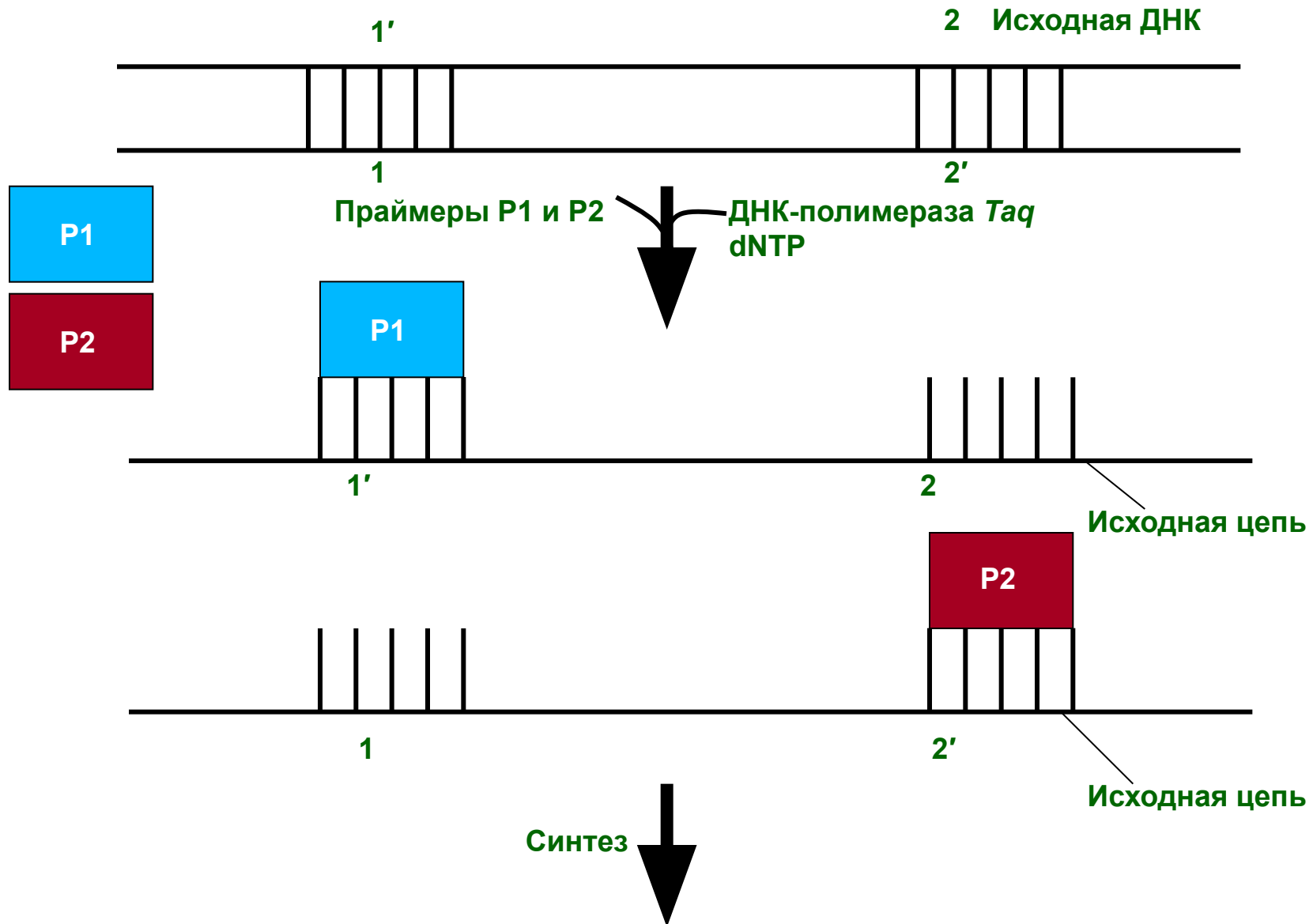
К. Маллис (1985)

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

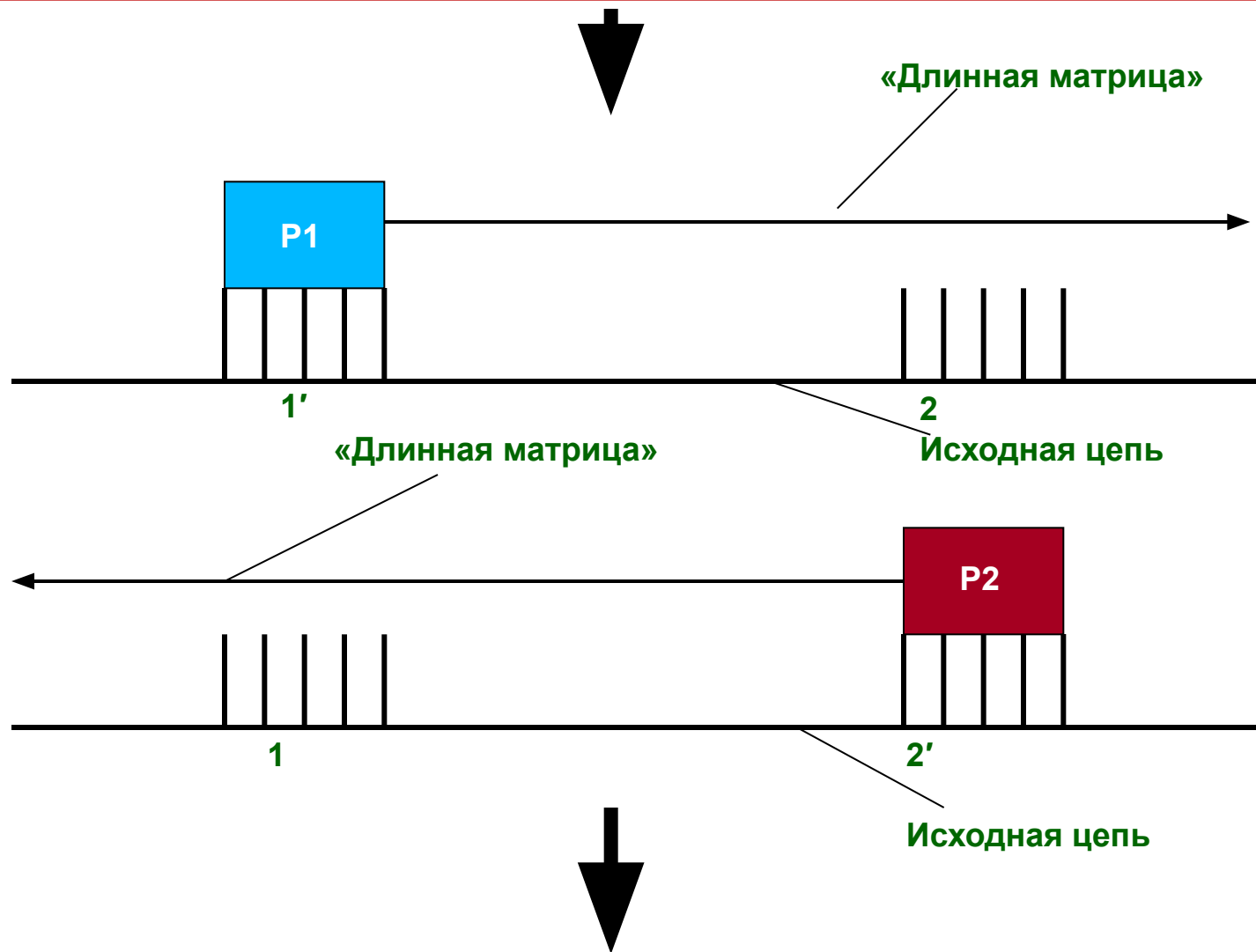


Кэрри Маллис
Нобелевская премия по химии 1993 г.

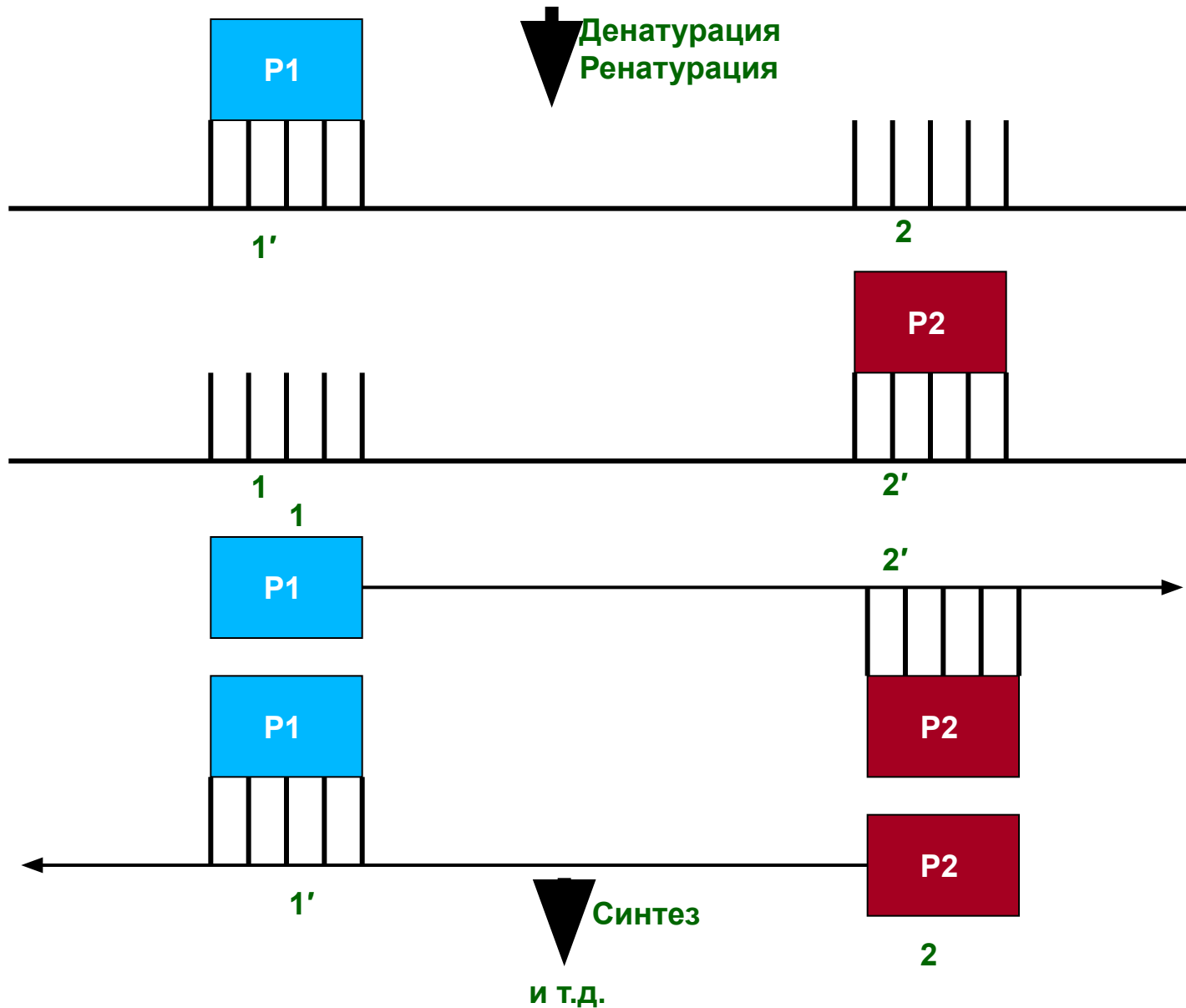
Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

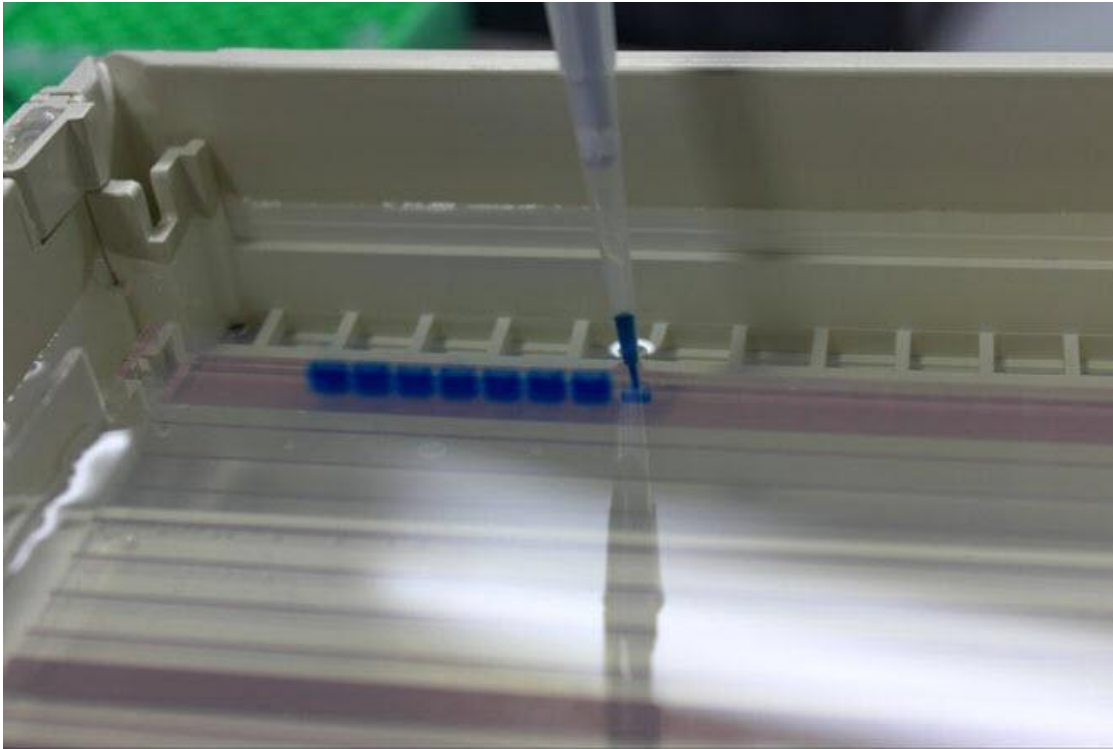


Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



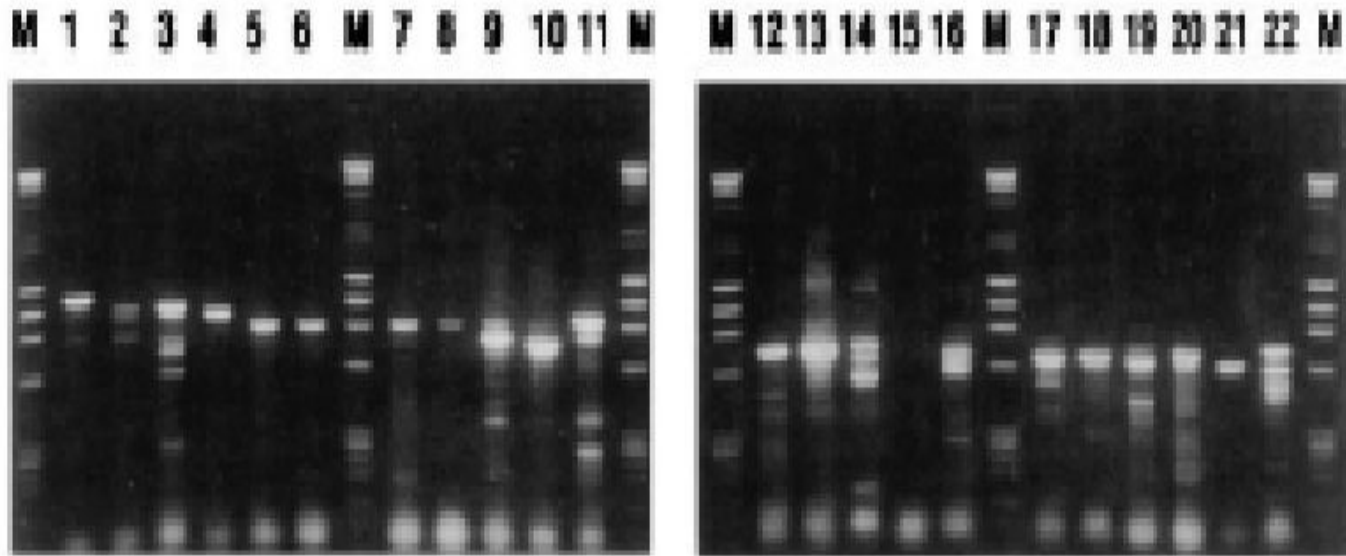
Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

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. Дрекса, 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 *stx* 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)

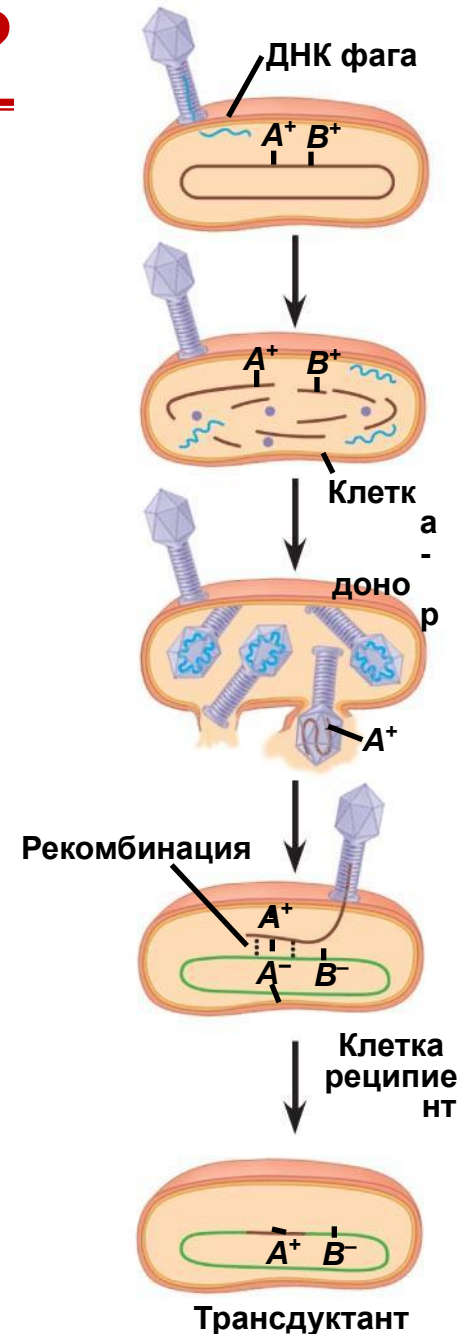
Осуществляется перенос любого фрагмента ДНК

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

0,04- 50 млрд. н.п

Гистоны H2A,
H2B, H3, H4

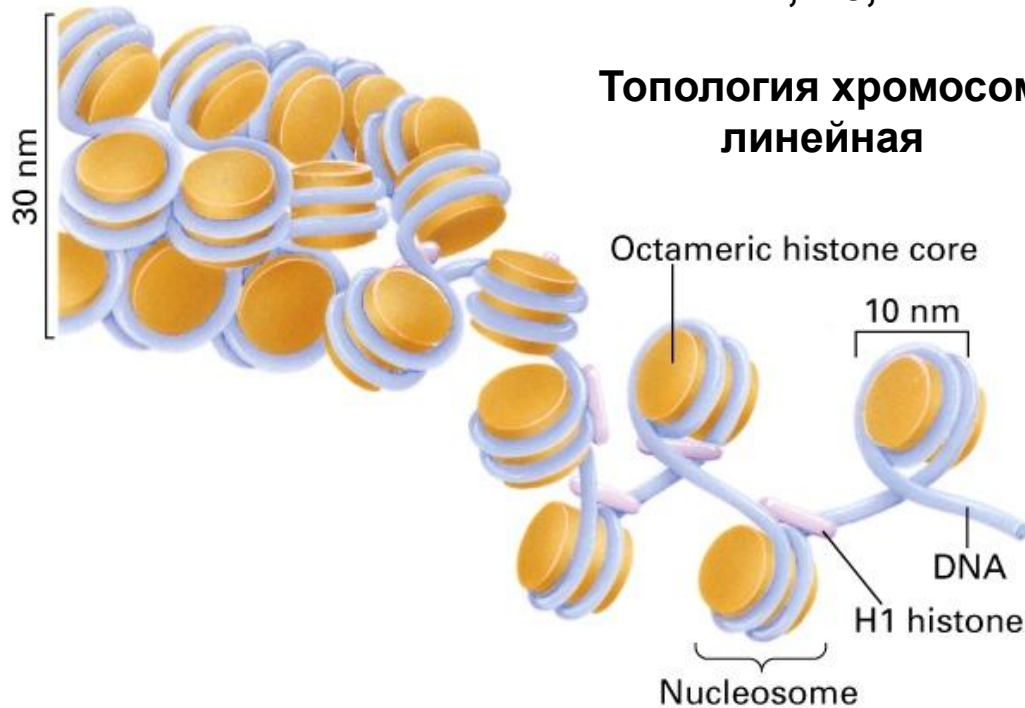
Топология хромосом:
линейная

ПРОКАРИОТЫ

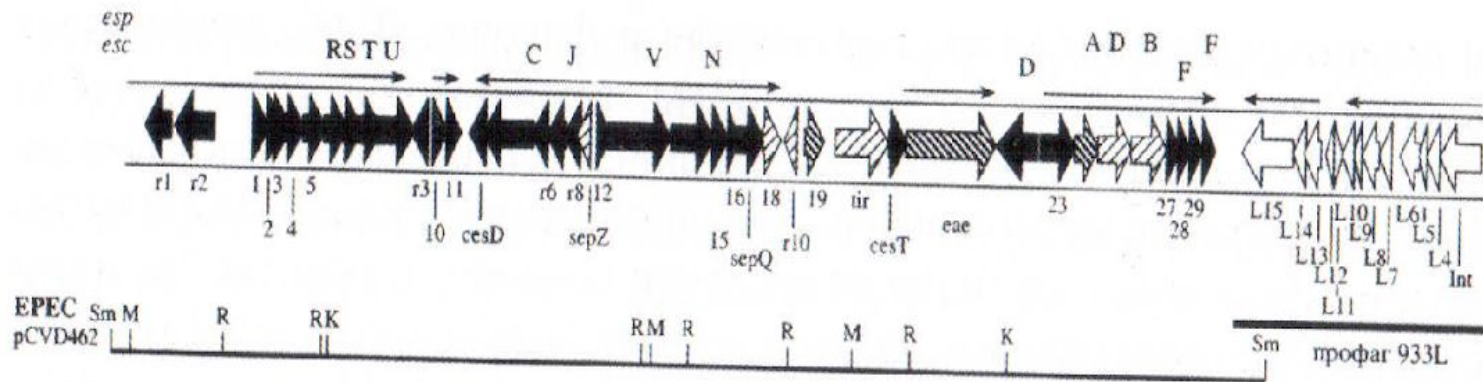
0,5-13 млн. н.п

Гистоноподобные
белки HU, H-NS

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 секретируемые белки *Esp*
3. Область (большая) с генами *esc* и *sep*, кодирующими аппарат секреции III типа