

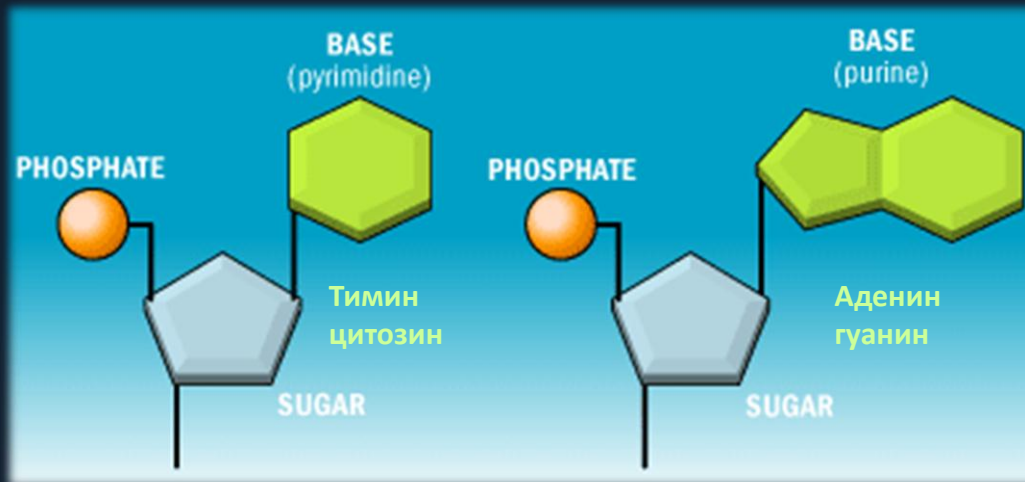
**ПП – Ставрополь, 2020**

# **Генетика бактерий**

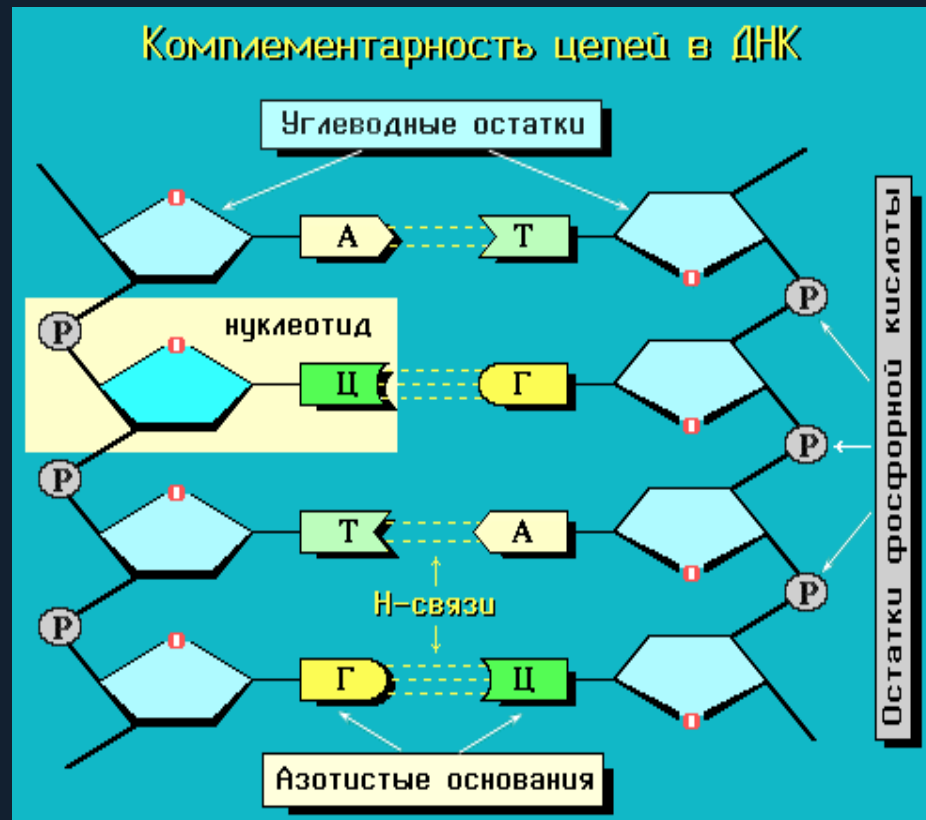
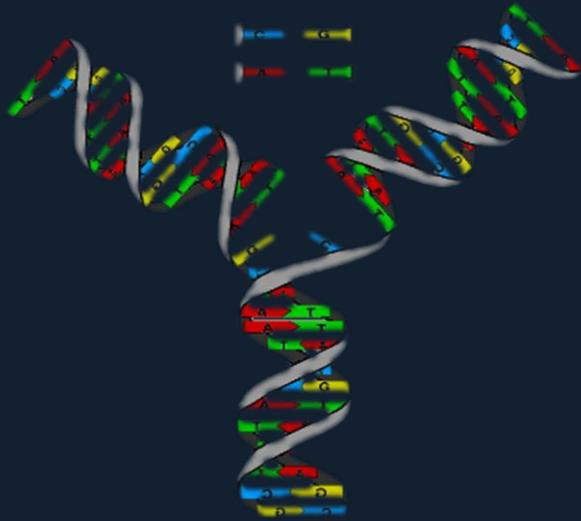
- **Строение генома бактерий**
- **Понятие о гене, генотипе, фенотипе**
- **Мобильные генетические элементы (МГЭ)**
- **Мутации**
- **Рекомбинации**

**докт. мед. наук Таран Татьяна Викторовна**

- Сохранение специфических свойств, т.е. постоянства признаков в ряду поколений, называют **наследственностью**.
- Основу наследственного аппарата бактерий, как и всех других организмов, составляет **ДНК** (у РНК-содержащих вирусов — РНК).
- ДНК — макромолекула, обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов. Содержит **информацию** о структуре различных видов РНК и белков
- Молекула ДНК построена из **двух полинуклеотидных цепочек**. Каждый **нуклеотид** состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы.



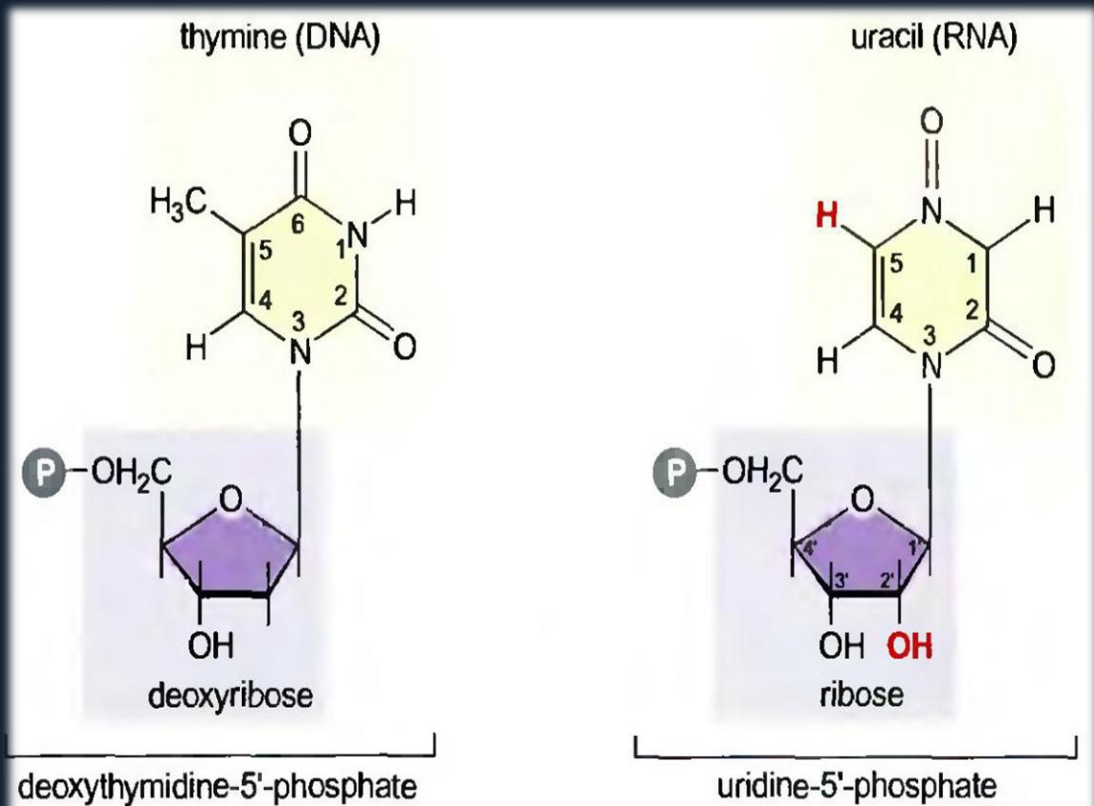
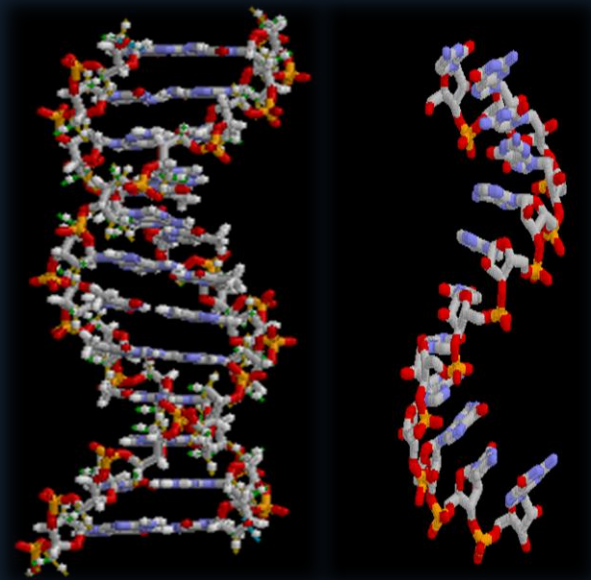
# ДНК



- Азотистые основания представлены **пуринами (аденин, гуанин)** и **пиримидинами (тимин, цитозин)**.
- Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку, соединение между двумя цепочками обеспечивается **водородными связями комплементарных азотистых оснований**:  
**аденина с ТИМИНОМ,**  
**гуанина с ЦИТОЗИНОМ.**

**РНК** отличается от ДНК тремя основными особенностями:

- вместо **дезоксирибозы** содержит близкий к ней сахар – **рибозу**;
- вместо **тимина** – **урацил**;
- в отличие от ДНК, являющейся двойной спиралью, РНК представляет **простую длинную цепь**, в которой нуклеотиды расположены последовательно в ряд.

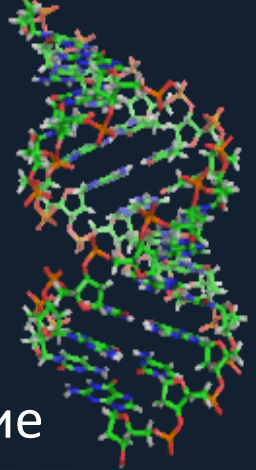


# Открытие ДНК и её структуры

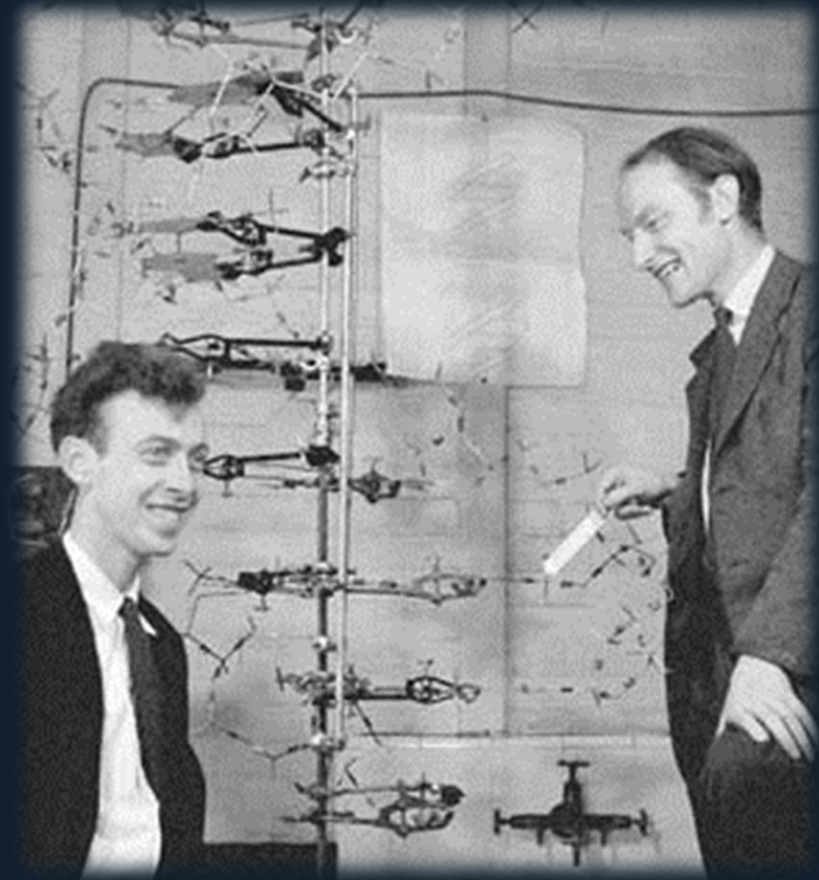
- ДНК как молекула, находящаяся в ядре живой клетки, была открыта очень давно, еще в 60-х гг. XIX века (швейцарский врач Мишер).
- Но по-настоящему история ДНК началась с момента открытия **структуры** ее молекулы, что произошло значительно позже, почти через 100 лет.
- С публикации открытия структуры ДНК Уотсоном и Криком в журнале *Nature*, которая была осуществлена **25 апреля 1953 года**, **начинается отсчет времени новой эры** в истории человеческой цивилизации, эры ДНК, когда мы знаем, что все живые организмы построены согласно инструкции, заложенной в молекуле ДНК, и эта ДНК представляет собой двойную спираль диаметром 2 нанометра, очень длинную — в зависимости от количества звеньев в цепочке.
- Если ДНК взять из одной клетки человека и вытянуть в одну линию, то получится молекула очень маленькой толщины и длиной приблизительно 2 метра.

# Открытие структуры молекулы ДНК

- **Крик Фрэнсис Харри Комптон** (1916-2004) – английский специалист в области молекулярной биологии и
- **Уотсон Джеймс Дьюи** (1928) – американский биолог.
- Нобелевская премия по физиологии и медицине за открытие структуры молекулы ДНК (1962).



**Франклин** Розалинд (1920-1957) известна своей работой над получением **рентгенограмм структуры ДНК**. Сделанные ею снимки отличались особой чёткостью и подготовили почву для выводов о структуре ДНК, сделанных Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком.



## Наследственный аппарат бактерий (прокариот) имеет ряд особенностей:

- Бактерии — **гаплоидные** организмы, т. е. они имеют 1 хромосому (удвоение хромосомы всегда сопровождается делением клетки);
- В связи с этим при наследовании признаков отсутствуют явления **доминантности, рецессивности**;
- **«Половая» дифференциация**, заключающаяся в существовании донорных и реципиентных бактериальных клеток, соответственно отдающих или воспринимающих генетическую информацию.
- Наличие у бактерий **обособленных фрагментов ДНК – плазмид, транспозонов, профагов, Is-последовательностей, островов патогенности.**

Генетическая система бактерий состоит из **«хромосомных»** и **«внехромосомных»** структур.

Аналог ядра прокариотов – бактериальная «хромосома» значительно отличается от ядра эукариотических клеток. Он представлен **нуклеоидом**, лишенным оболочки и включающем в себя почти всю ДНК бактерии.

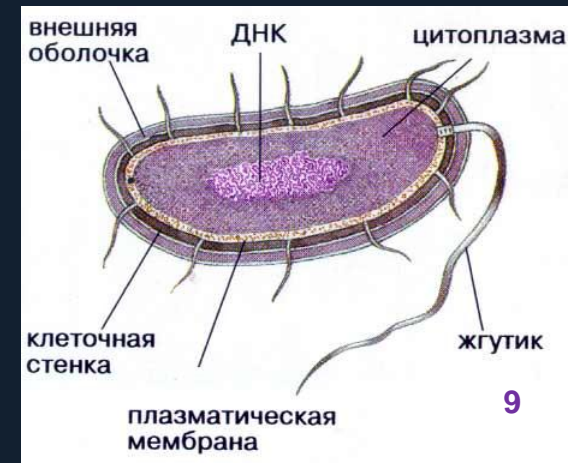
- ☀ Совокупность **всех генов** бактерии называется **геномом**. Размеры генома определяются количеством **нуклеотидных пар оснований** (н.п.).
- ☀ Бактериальный геном состоит из генетических элементов, способных к **самостоятельной репликации** (воспроизведению), т.е. **репликонов**, и неспособных к самостоятельной репликации.
- ☀ **Функциональные единицы генома бактерий:**
  - «Хромосомные» гены (нуклеоид) } **репликоны**
  - Плазмидные гены
  - IS-последовательности
  - Транспозоны, ретротранспозоны
  - Профаги,
  - Геномные острова и др.



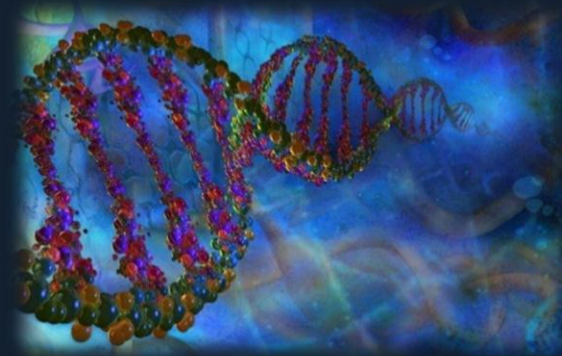


# Бактериальная «хромосома» - нуклеоид

- Бактериальная «хромосома», как правило, представлена **одной двухцепочечной молекулой ДНК**, спирализованной и свернутой в кольцо, в одной точке прикрепленное к ЦПМ; кодирует жизненно важные для бактериальной клетки функции.
- Размеры бактериальной хромосомы у различных представителей царства *Prokaryotae* варьируют от  $3 \times 10^8$  до  $2,5 \times 10^9$  Д.
- Например, у *E. coli* бактериальная «хромосома» содержит  $4,7 \times 10^6$  н.п. На ней располагается около 4300 генов.
- Для сравнения: размеры ДНК вирусов составляют порядка  $10^3$  н.п., дрожжей -  $10^7$  н.п., а суммарная длина хромосомных ДНК человека составляет  $3 \times 10^9$  н.п.



- **Одну кольцевую** «хромосому» имеет также ряд других бактерий: *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*.
- Однако такое строение генома не является универсальным. У некоторых бактерий, в частности у *V. cholerae*, *L. interrogans*, *Brucella* spp., имеется **две кольцевых хромосомы**.
- У ряда других бактерий (*Borrelia burgdorferi*, *Streptomyces* spp.) обнаружены **линейные хромосомы**.



# Плазмиды бактерий

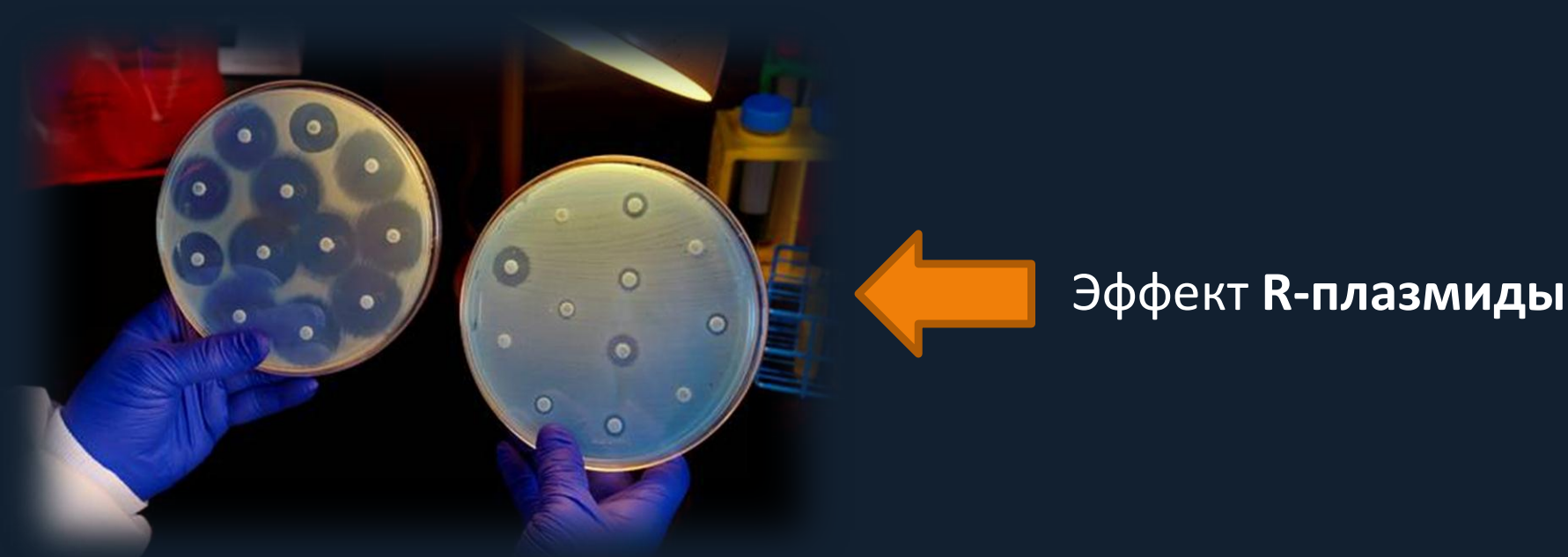
- Плазмиды представляют собой двухцепочечные молекулы ДНК размером от  $10^3$  до  $10^6$  н.п.
- Они могут быть **кольцевой** формой и **линейными**.
- Придают клетке дополнительные селективные преимущества



- Могут элиминироваться (теряться) клеткой, что не влияет на основные свойства микроба и его жизнеспособность
- Большинство плазмид может передаваться от бактерии к бактерии при конъюгации (конъюгативные или трансмиссивные плазмиды) – **горизонтальный перенос генов**.

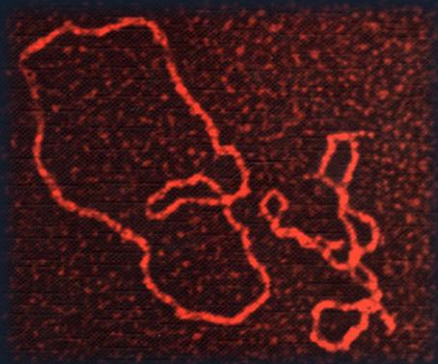
# Виды плазмид

- **R-плазмиды.** Обеспечивают лекарственную устойчивость;
- **F-плазмиды.** «Мужские» клетки (F+) содержат F-плазмиду, «женские» (F-) – не содержат. Мужские клетки выступают в роли донора генетического материала при конъюгации
- **Col-плазмиды.** Кодировать синтез бактериоцинов;
- **Tox-плазмиды.** Кодировать выработку экзотоксинов;
- **Плазмиды биодеградации.** Кодировать ферменты, с помощью которых бактерии могут утилизировать ксенобиотики;
- Плазмиды, кодирующие **факторы вирулентности** бактерий.



# Плазмиды бактерий

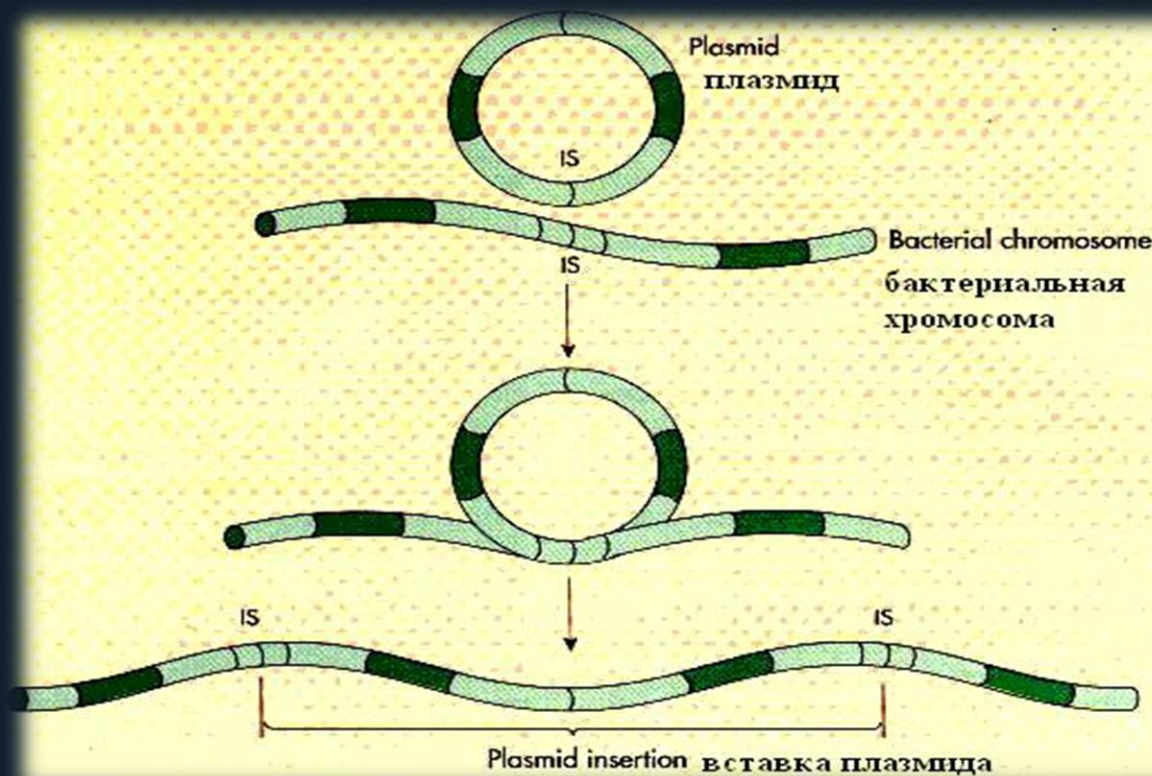
- В одной и той же клетке могут находиться разные плазмиды.
- Плазмиды способны к автономной репликации, т. е. независимо от хромосомы или под слабым ее контролем.
- Число копий плазмид, находящихся под слабым контролем, может достигать 200 на бактериальную клетку (**амплификация**), усиливая кодируемое свойство;
- Некоторые плазмиды находятся под строгим контролем хромосомы. Это означает, что их репликация сопряжена с репликацией хромосомы так, что в каждой бактериальной клетке присутствует только одна или, по крайней мере, несколько копий плазмид.



Плазмиды, визуализированные с помощью электронного микроскопа

# Плазмиды бактерий

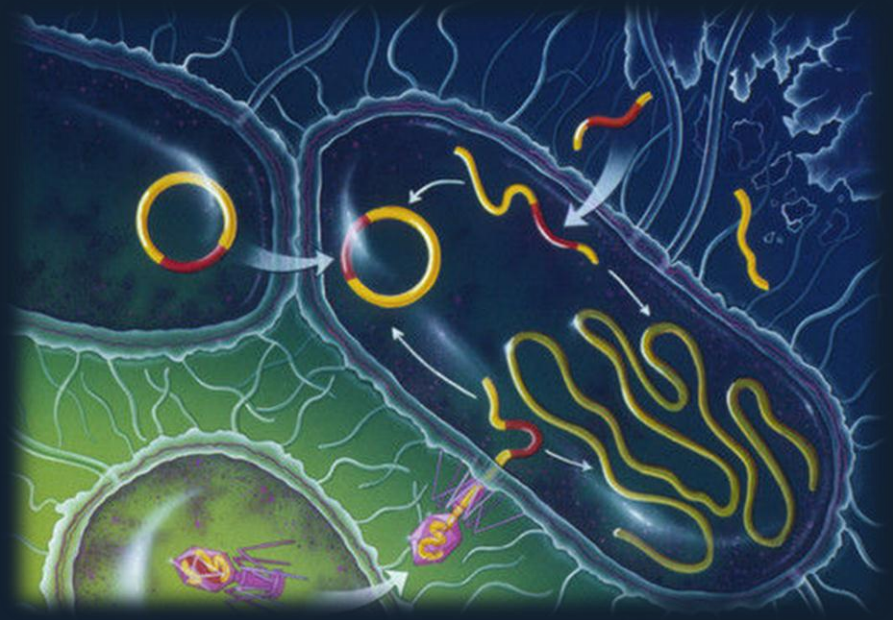
- **Автономное состояние** – плазмиды физически **не** связаны с хромосомой, находятся в цитоплазме;
- **Интегрированное состояние** – некоторые плазмиды могут **обратно** встраиваться в бактериальную хромосому и функционировать в виде единого репликона – **интегративные плазмиды** или **эписомы**.



Будучи в автономном состоянии интегративные плазмиды самостоятельно реплицируются.

# Генетическая изменчивость бактерий включает:

- Мутации
- Рекомбинации



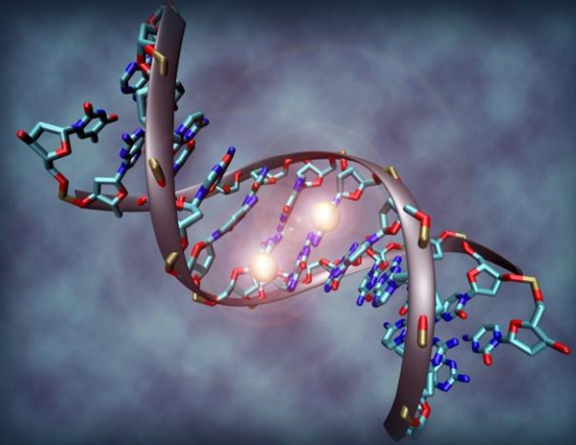
Рекомбинации (передача генетической информации)



Мутации

У бактерий в естественных условиях передача генетической информации происходит не только по **вертикали**, т.е. от родительской клетки к дочерним, но и по **горизонтали** с помощью различных механизмов: конъюгации, трансдукции, трансформации.

**Мутации** – стойкие наследственные изменения свойств микроорганизмов (морфологические, культуральные, антигенные, биохимические, биологические и др.), связанные с изменением соответствующего гена.



По **происхождению** делятся на:

- спонтанные
- индуцированные

По **протяженности** изменений повреждения ДНК:

- точечные – повреждения ограничиваются одной парой нуклеотидов, и
- протяженные (или абберации) – несколько пар нуклеотидов

● Абберации:

- делеция – выпадения нескольких пар нуклеотидов,
- дупликация – добавление нуклеотидных пар,
- инверсии – перемещения фрагментов хромосомы, транслокации и перестановки нуклеотидных пар.



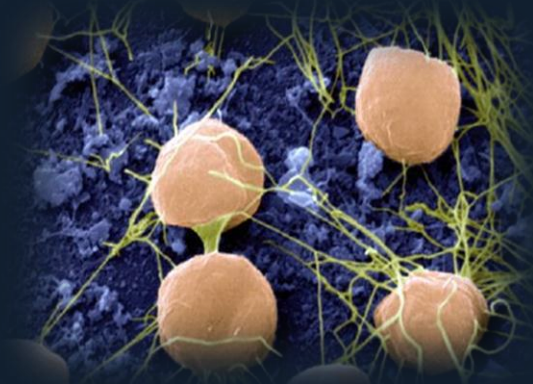
# Генетические рекомбинации



- У бактерий в естественных условиях передача генетической информации происходит не только **по вертикали**, т.е. от родительской клетки к дочерним, но и **по горизонтали** с помощью различных механизмов: конъюгации, трансдукции, трансформации.

Это взаимодействие между двумя геномами, т. е. между двумя ДНК, обладающими различными генотипами, которое приводит к образованию рекомбинантной ДНК, формированию дочернего генома, сочетающего гены обоих родителей.

Генетические рекомбинации - изменчивость, связанная с обменом генетической информацией между двумя клетками – донором и реципиентом – **горизонтальный перенос генов**



# Генетические рекомбинации

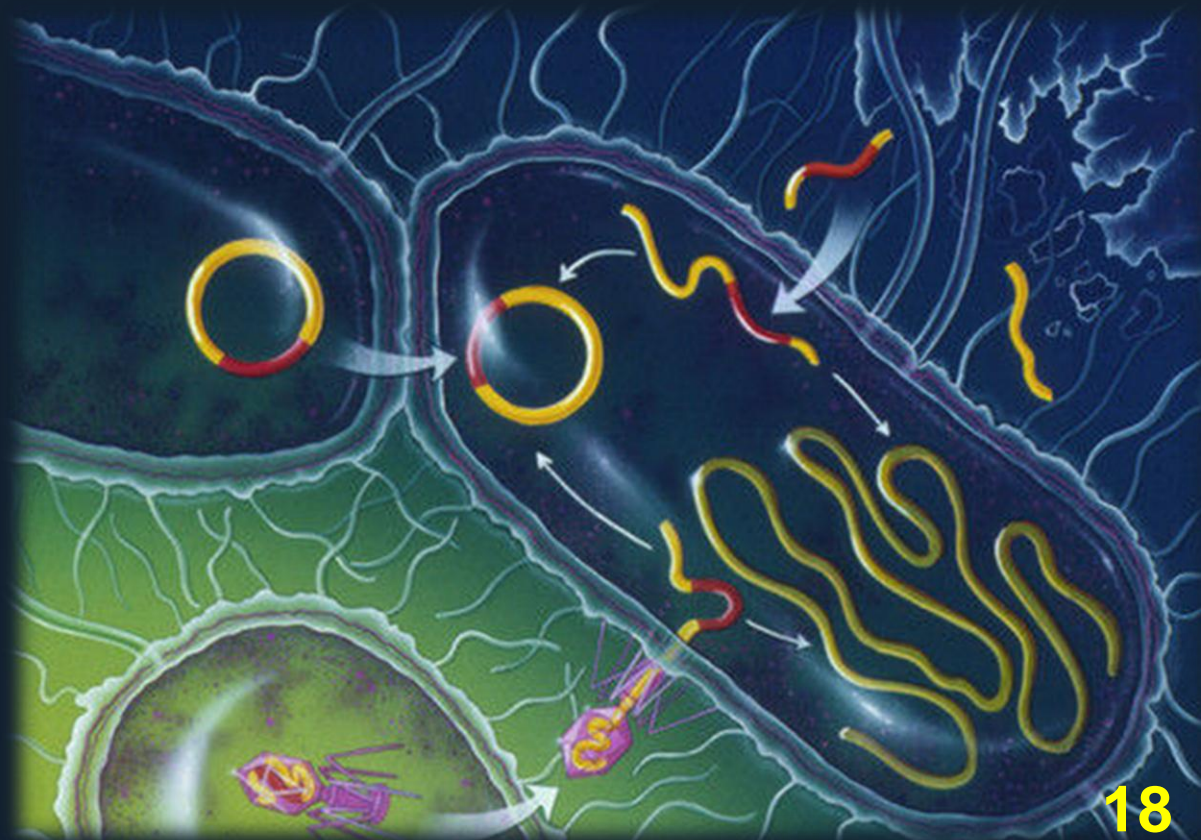
**Трансформация** – захват и поглощение фрагментов чужой ДНК, и образование на этой основе рекомбинанта.

**Трансдукция** – перенос генетического материала фагами (умеренными фагами – специфическая трансдукция).

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

Схема, показывающая возможные способы обмена генами между бактериями:

- С помощью **вирусов**,
- **внехромосомных плазмидных ДНК**
- или просто через **ДНК от мёртвой клетки**



# Конъюгация



**Конъюгация** – передача генетического материала от клетки-донора в клетку-реципиент путем непосредственного контакта клеток (через конъюгационный мостик)

Необходимым условием для конъюгации является наличие в клетке-доноре **F-плазмиды**, которая является как **трансмиссивной**, так и **интегративной** плазмидой.

Половые пили образуют конъюгационную трубочку (**мостик**) между клеткой-донором и клеткой-реципиентом (не содержащей трансмиссивную плазмиду). По конъюгационной трубочке плазмидная ДНК передается в новую клетку.

# Плазмиды бактерий и конъюгация

- ❖ Многие бактериальные плазмиды способны передаваться из одной клетки в другую, иногда даже принадлежащую иной таксономической единице – **трансмиссивные (конъюгативные)** плазмиды
- ❖ Трансмиссивность присуща лишь крупным плазмидам, имеющим **tra-оперон**, в который объединены гены, ответственные за перенос плазмиды.
- ❖ Эти гены кодируют «половые» пили, которые образуют мостик с клеткой, не содержащей трансмиссивную плазмиду, по которой плазмидная ДНК передается в новую клетку. Этот процесс называется **конъюгацией**.
- ❖ Бактерии, несущие трансмиссивные плазмиды, чувствительны к «мужским» нитевидным бактериофагам.

# Плазмиды бактерий

- ❖ Многие **R-плазмиды** являются **трансмиссивными**, распространяясь в популяции бактерий, делая ее недоступной к воздействию антибактериальных препаратов.
- ❖ **R-плазмиды**, например, могут содержать гены, детерминирующие синтез ферментов, разрушающих антибиотики.
- ❖ В результате наличия такой плазмиды бактериальная клетка становится устойчивой (резистентной) к действию целой группы лекарственных веществ, а иногда и к нескольким группам.
- ❖ Бактериальные штаммы, несущие **R-плазмиды**, очень часто являются этиологическими агентами (госпитальными штаммами) **внутрибольничных инфекций**.

# Плазмиды бактерий

- Мелкие плазмиды, не несущие tra-гены, не могут передаваться сами по себе между бактериальными клетками, но **способны к передаче в присутствии трансмиссивных плазмид**, используя их аппарат конъюгации.
- Такие плазмиды называются **мобилизуемыми**, а сам процесс – **мобилизацией нетрансмиссивной плазмиды**.

Плазмиды используются в практической деятельности, в частности в генной инженерии при конструировании специальных рекомбинантных бактериальных штаммов, вырабатывающих в больших количествах биологически активные вещества

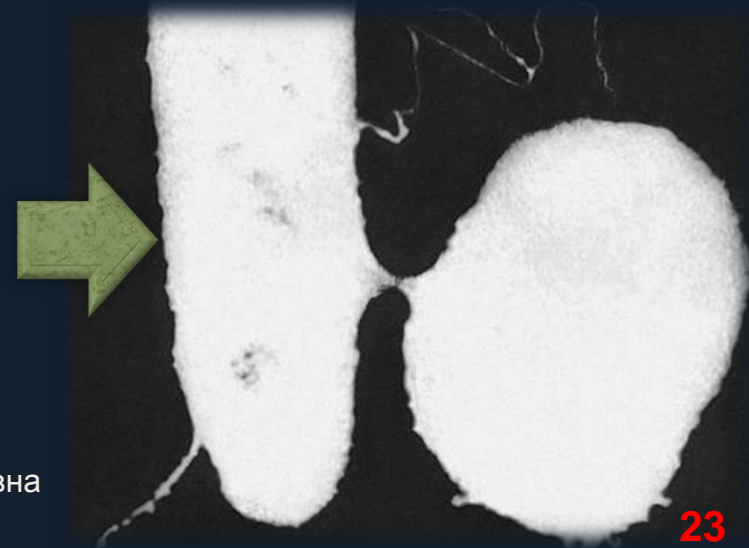
**Фактор плодовитости  $F$**  (*fertility* – плодовитость, англ.), или «половой» фактор.

$F^+$  – это «мужской» или донорский генетический материал, а  $F^-$  – «женский» или реципиентный.

При вступлении в контакт клеток  $F^+$  и  $F^-$  могут осуществляться два совершенно разных процесса:

- I. в одних случаях передаётся только **сам фактор** плодовитости, F-фактор,
- II. в других случаях переносится часть генетического материала **донорской клетки** в клетку-реципиент, а F-фактор не передается.

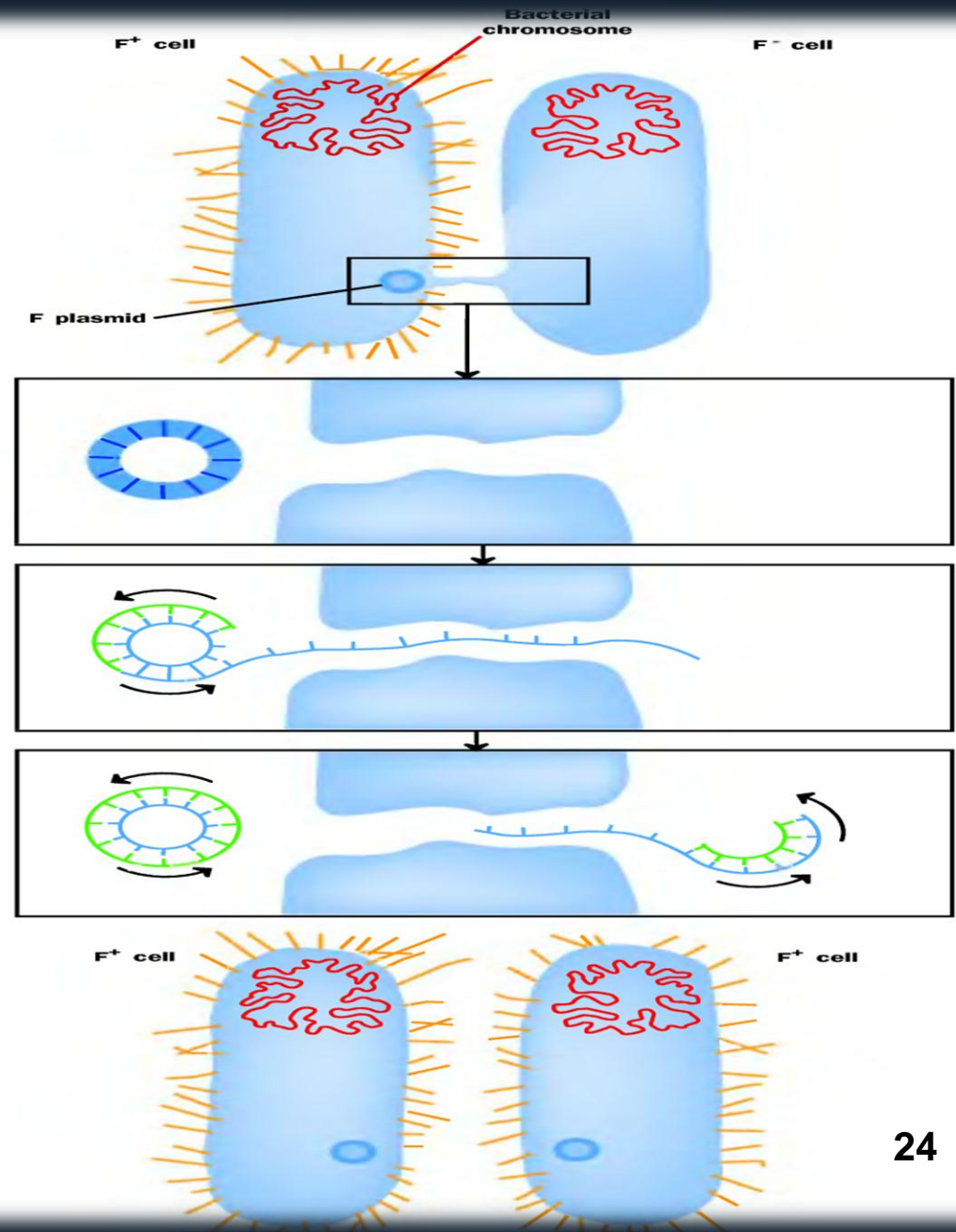
Электронномикроскопическое изображение конъюгации у кишечной палочки; удлинённая клетка — донор, круглая — реципиент.



# I. Перенос F-фактора

Этот процесс осуществляется тогда, когда **F-фактор находится в цитоплазме** бактериальной клетки (**автономно**).

При конъюгации реципиенту передается **только одна цепь ДНК** донора, затем одиночные цепи в клетках и донора и реципиента достраиваются до двухцепочечной структуры

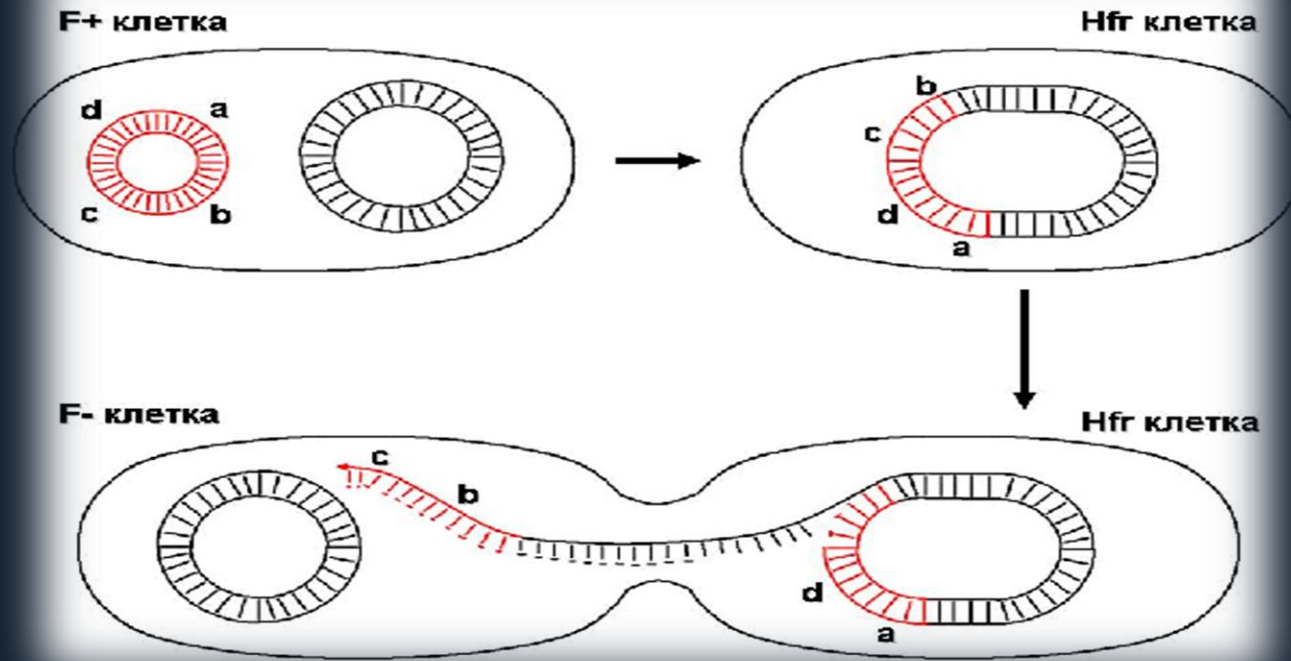




II. Для осуществления **второго** процесса необходимо, чтобы **F-** фактор сначала включился в бактериальную хромосому хозяина (F-фактор является как **трансмиссивной**, так и **интегративной** плазмидой).

- Клетки, в которых плазида находится в интегрированном состоянии, переносят свои хромосомные гены бесплазмидным клеткам с высокой частотой и поэтому называются **Hfr** (от англ. *high frequency of recombination* – **высокая частота рекомбинаций**).
- Если F-фактор или другая трансмиссивная плазида встраиваются в хромосому клетки-донора, то плазида и хромосома начинают функционировать в виде **единого трансмиссивного репликона**, что делает возможным перенос бактериальных генов в бесплазмидную клетку-реципиент в процессе конъюгации.

## II. Hfr клетка – перенос части хромосомы (гена)



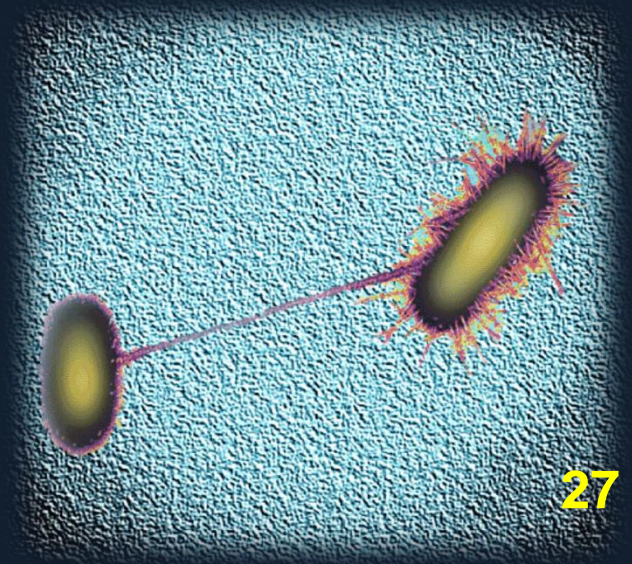
Перенос хромосомных генов при конъюгации всегда имеет одинаковую направленность, противоположную встроенной плазмиде. Сама трансмиссивная плаزمида передается последней.

Переданная в реципиентную клетку и достроенная до двунитевой структуры нить ДНК донора рекомбинирует с гомологичным участком реципиентной ДНК с образованием стабильной генетической структуры.

- При конъюгации реципиенту передается только одна цепь ДНК донора, затем одиночные цепи в клетках и донора и реципиента достраиваются до двухцепочечной структуры.
- Хрупкость конъюгационного мостика объясняет чрезвычайно редкую передачу самого фактора  $F$  от *Hfr*-бактерий к  $F^-$ -клеткам, так как для этого необходимо приобретение реципиентом как начального, так и конечного участка хромосомы донора. Поэтому образовавшийся рекомбинант донорскими функциями, как правило, не обладает.



д.м.н. Таран Татьяна  
Викторовна



# Трансдукция – передача бактериальной ДНК посредством умеренного бактериофага

Трансдукция классифицируется на:

- общую (неспецифическую),
- локализованную (специфическую)
- abortивную.

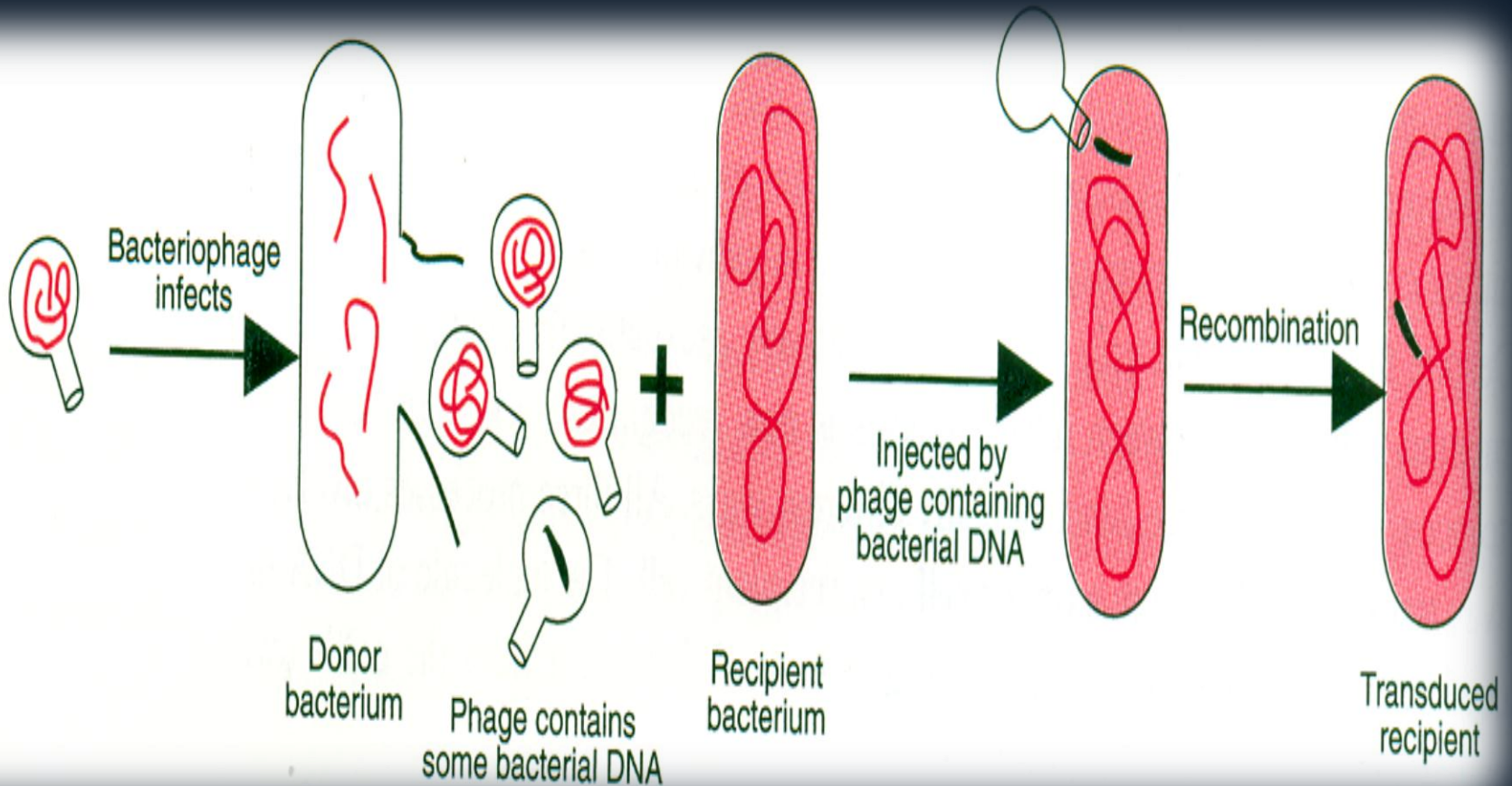
● Главным условием **неспецифической трансдукции** является способность некоторых созревающих фаговых частиц захватывать ограниченный участок генома бактерии-хозяина и переносить его в родственную клетку-реципиент, чувствительную к этому фагу.

● Т.е., общая (**неспецифическая**) трансдукция происходит вследствие того, что в процессе **продуктивной** фаговой инфекции бактериальная ДНК фрагментируется, и фрагмент бактериальной ДНК того же размера, что и фаговая ДНК, проникает в фаговую головку, формируя дефектную фаговую частицу.

● Этот процесс происходит с частотой приблизительно 1 на 1000 фаговых частиц.

# Трансдукция (перенос)

- При **неспецифической** трансдукции возможен перенос от клеток-доноров к клеткам-реципиентам **практически любого гена** или одновременно нескольких генов.



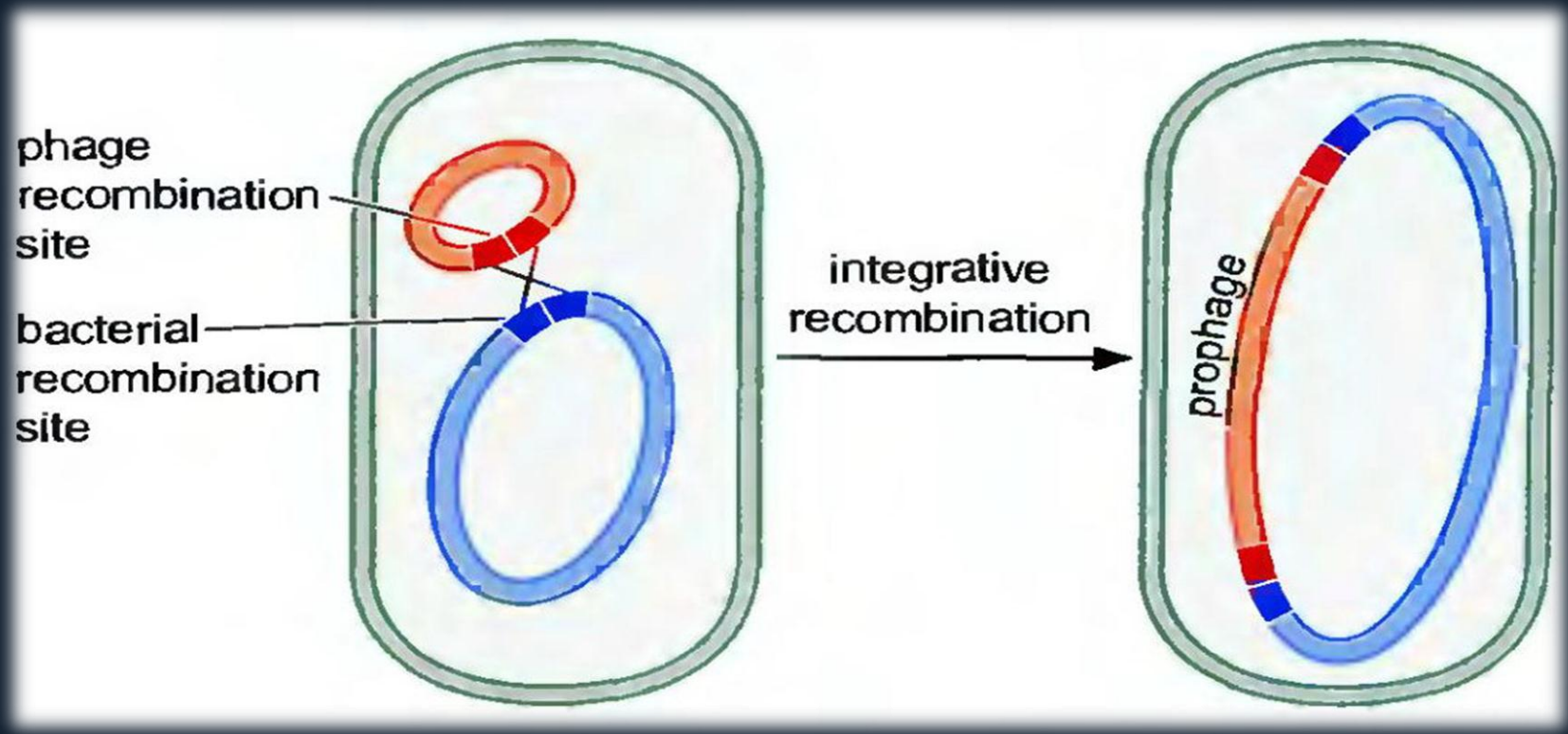
B

■ **Специфическая трансдукция** наблюдается в том случае, когда фаговая ДНК **интегрирует** в бактериальную хромосому с образованием **профага**.

В процессе исключения ДНК-профага из бактериальной хромосомы в результате случайного процесса захватывается прилегающий к месту включения фаговой ДНК фрагмент бактериальной хромосомы (ген), становясь дефектным фагом.

Так как большинство умеренных бактериофагов **интегрирует** в бактериальную хромосому в **специфических участках**, для таких бактериофагов характерен перенос в клетку-реципиент определенного участка бактериальной ДНК клетки-донора.

# Лизогения $\lambda$ -типа

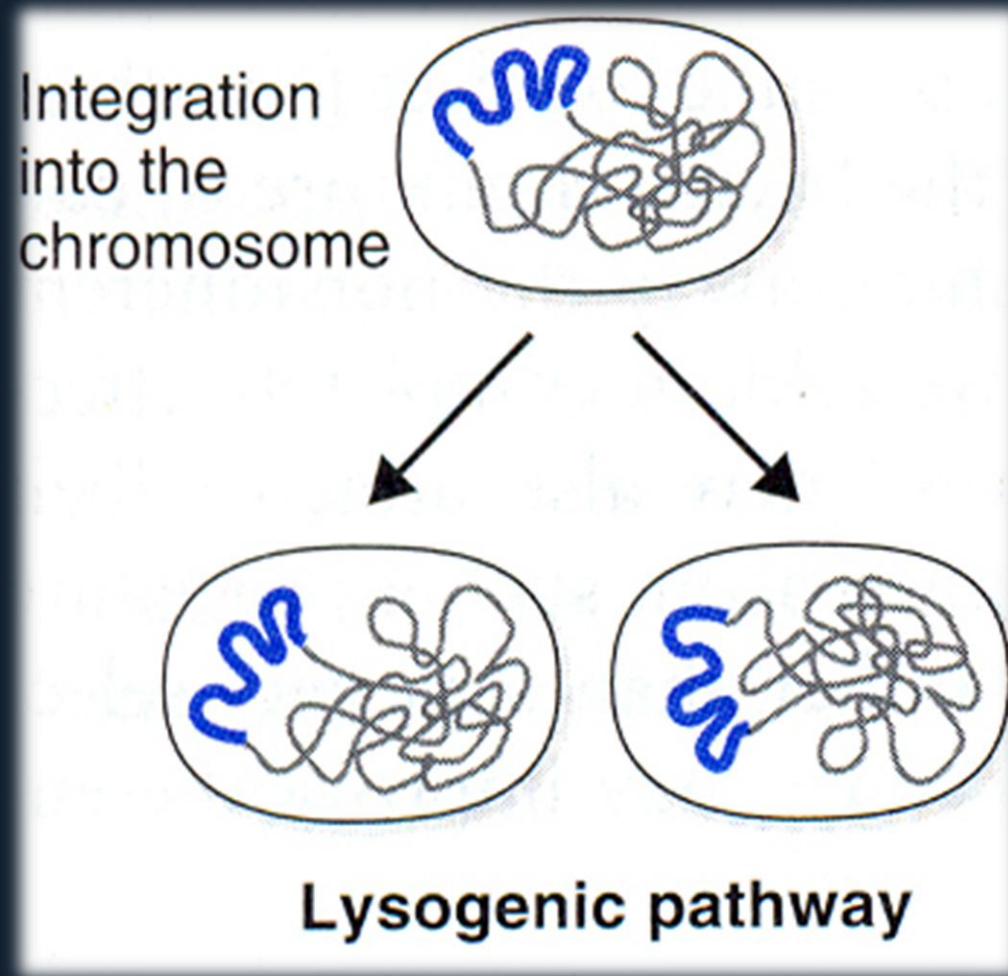


- Профаг  $\lambda$  прикреплен к бактериальной хромосоме и реплицируется синхронно с ней.
- При клеточном делении каждая дочерняя хромосома получает бактериальную хромосому вместе с прикрепленным к ней профагом  $\lambda$ .





# Профаг $\lambda$



- Профаг придает бактерии новые свойства, что получило название **фаговой конверсии** (лат. *conversio* – превращение).
- Конвертироваться могут морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие свойства бактерий.

# Лизогения $\lambda$ -типа

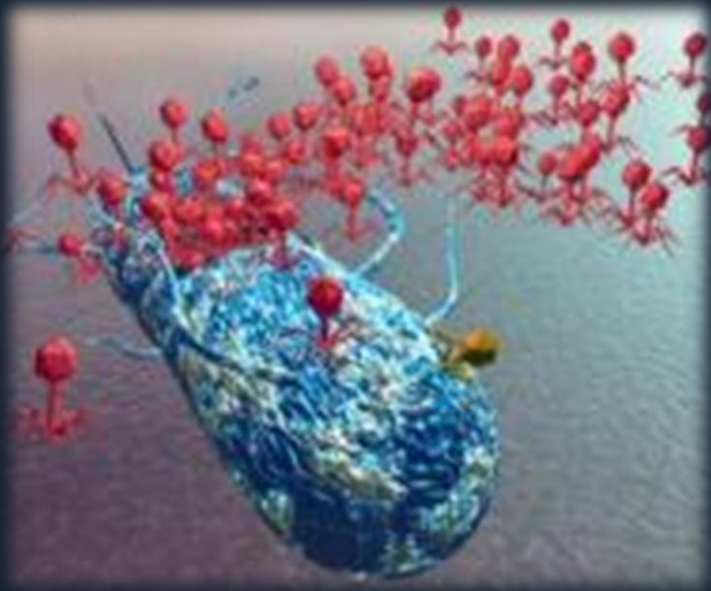
- Наличие профага в составе бактериальной хромосомы не мешает репликации ДНК бактериальной клетки и самого профага. Однако **гены профага**, встроенные в клеточную ДНК, **не транскрибируются**.
- Это связано с образованием в бактериальной клетке **репрессора** – низкомолекулярного белка, блокирующего считывание генетической информации, записанной в фаговой ДНК. Синтез репрессора контролируется генами профага.
- При **инактивации репрессора**, например, УФ-лучами, профаг выходит из состава бактериальной хромосомы и превращается в вегетативный фаг, который вызывает продуктивную инфекцию, заканчивающуюся лизисом клеток хозяина.

# Лизогения Р1-типа

- Многие бактериофаги, из которых лучше всего изучен **фаг Р1**, отличаются от фагов группы  $\lambda$  **локализацией в клетке своего генома**;
- Профаг Р1 имеет **внехромосомную локализацию**, он прикрепляется к клеточной мембране (ЦПМ);
- Литическое действие предотвращается действием фагового репрессора, точно так же, как это происходит в случае лизогении фагами типа  $\lambda$ .
- Например, **фаг Р22** – *Salmonella typhimurium*, *Corynebacterium diphtheriae*

Имеются и другие типы б/ф: Mu-I, N4, X174, X80, R17, T1-T7 (*E. coli*); SP82, 29 (*Bacillus subtilis*). Наиболее простое строение имеет фаг M13.

● При **абортивной** трансдукции принесенный фагом фрагмент хромосомы клетки-донора не включается в хромосому клетки-реципиента, а располагается в ее цитоплазме автономно и в таком виде функционирует. При делении клетки-реципиента фрагмент ДНК-донора может передаваться только одной из двух дочерних клеток и со временем **теряется**



# Дефектные умеренные фаги

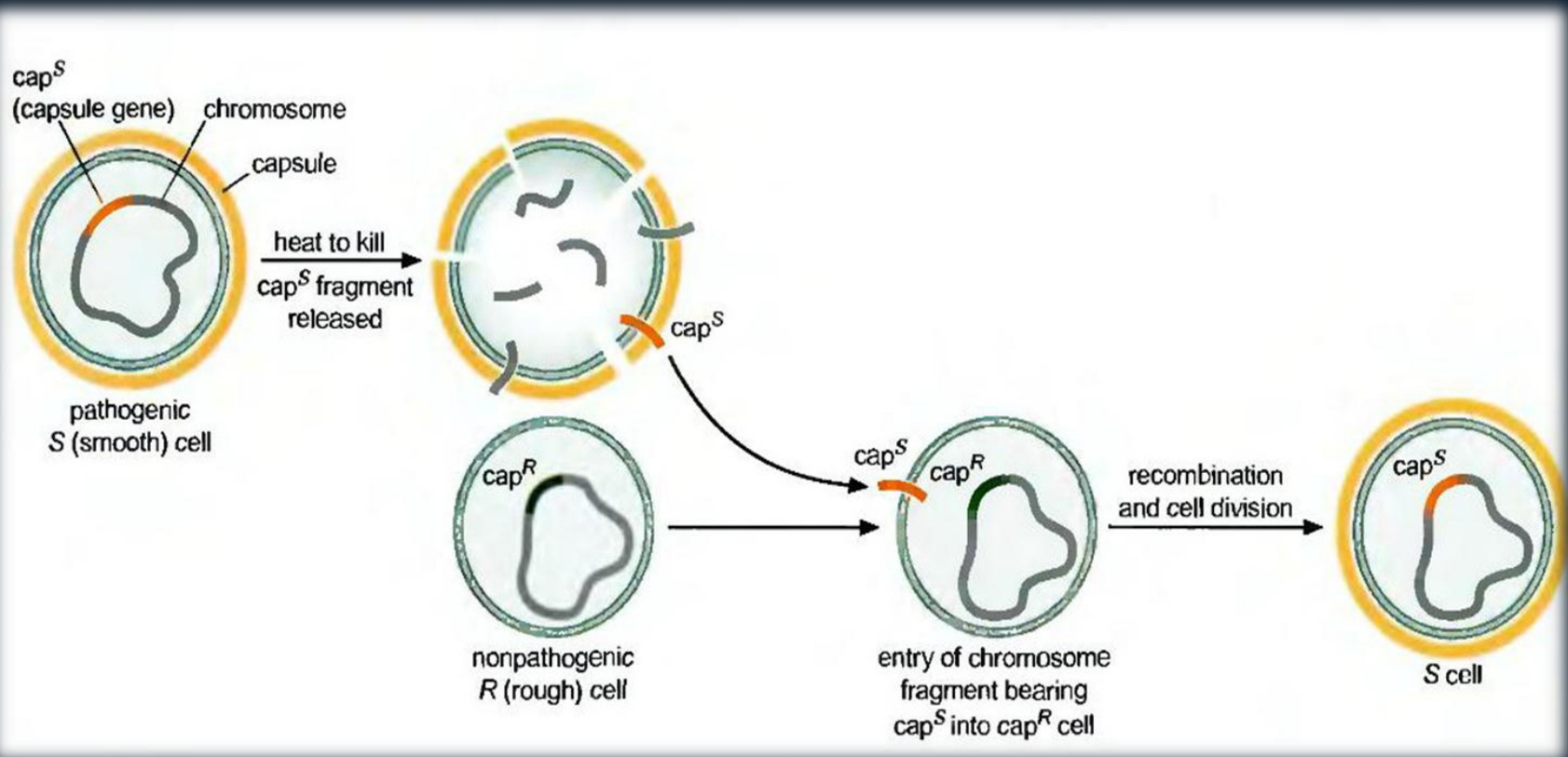
- Умеренные фаги могут быть **дефектными**, т.е. неспособными к образованию зрелых фаговых частиц ни в естественных условиях, ни под влиянием индуцирующих агентов.
- Т.о., дефектный бактериофаг – б/ф неспособный к выполнению тех или иных функций вируса в результате нехватки части генома (например, **при замене части генов фага генами инфицированной бактерии**).
- Такого рода фаги осуществляют **трансдукцию** (но **не лизогенизацию!**) и используются в генной инженерии – вакцина гепатита В.



Дефектные фаговые частицы *Actinomyces streptomycini* – продуцента антибиотика стрептомицина

**Трансформация** – непосредственная передача генетического материала от донора реципиентной клетке.

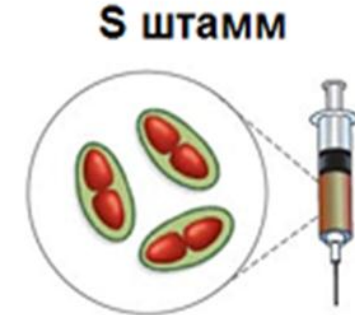
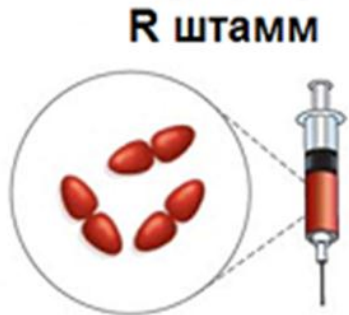
● Впервые установлена Ф. Гриффитсом в 1928 г. в опытах с авирулентным штаммом пневмококка



# Трансформация

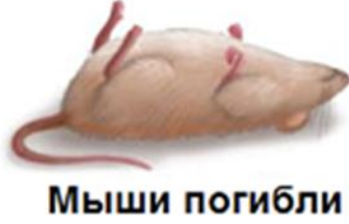
Процесс трансформации зависит от:

- компетентности клетки-реципиента;
- состояния донорской трансформирующей ДНК



**Мыши выжили**

**А**



**Мыши погибли**

**Б**



**Мыши выжили**

**В**



**Мыши погибли**

**Г**

# Трансформация

- **Компетентность** – способность бактериальной клетки поглощать ДНК. Она зависит от присутствия **особых белков** в клеточной мембране, обладающих специфическим аффинитетом к ДНК. Состояние компетентности у грам+ бактерий связано с определенными **фазами роста**.
- Трансформирующей активностью обладают только двунитевые фрагменты ДНК, молекулярная масса которых не менее  $0,5-1 \times 10^6$ .
- Состояние компетентности у клеток непродолжительно и возникает в определенные периоды роста бактериальной культуры, чаще всего совпадающих с концом лаг-фазы. По-видимому, в состоянии компетентности клеточная стенка бактерий является проницаемой, что создает условие для проникновения в нее высокополимерных молекул ДНК.



# Фазы трансформации:

- Адсорбция ДНК донора на клетке-реципиенте
- Проникновение ДНК донора внутрь клетки-реципиента
- Соединение ДНК с гомологичным участком хромосомы реципиента с последующей рекомбинацией.



После проникновения внутрь клетки трансформирующая ДНК деспирализуется.

Затем происходит физическое включение любой из нитей ДНК донора в геном реципиента.

Гомологичность донора и реципиента имеет значение при трансформации участка ДНК. Чем выше гомологичность, тем эффективнее спаривание.

# Мобильные генетические элементы (МГЭ)

(англ. *Mobile genetic elements*, *MGE*) — последовательности ДНК, которые могут перемещаться внутри генома – т.н. «прыгающие» гены

- ☀ Большая роль в изменчивости бактерий и других организмов принадлежит так называемым **транспонируемым генетическим элементам**, т.е. генетическим структурам, способным в интактной форме перемещаться внутри данного генома или переходить от одного генома к другому, например от плазмидного генома к бактериальному и наоборот.
- ☀ Различают **несколько классов МГЭ**:
  - IS-последовательности;
  - транспозоны, ретротранспозоны;
  - острова патогенности, эписомы
  - плазмиды
  - профаги и др.

# Биологическая роль МГЭ

- **Горизонтальный перенос** устойчивости к а/б, ядам – у бактерий.
- Мутации генов за счет включения в них МГЭ
- Вмешательство в работу клеточных генов – изменение их активности (рак).
- Перестройки хромосом, перенос генов и целых наборов генов в пределах одного генома и из одного генома (напр., вируса) в другой (хозяина).

Перемещаясь случайным образом, МГЭ существенно влияют на структуру генетического материала хозяина и имеют фундаментальное значение в формировании **генетической изменчивости**.

Считают, что транспозиционная активность МГЭ вызывает до 80 % спонтанных мутаций и является основной причиной их возникновения. Мобильные элементы оказывают различные регуляторные эффекты.

## Мобильные элементы генома прокариот

Распространяют в микробных популяциях устойчивость к физ. и хим. факторам, в том числе УФ и а/б.

Или «дарят» клеткам-реципиентам селективные преимущества, кодируя метаболические пути и факторы патогенности.



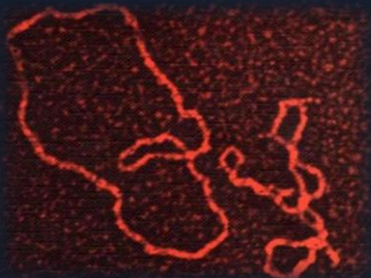
- Эти «путешественники» преодолевают не только межклеточные и межвидовые границы, но даже междоменные, «перетаскивая» внушительный багаж генетической информации.
- Прокариотический мобилом поразительно мозаичен, сложно стратифицирован и напоминает своеобразный «парк юрского периода», предоставляя возможность исследовать ранние этапы эволюции механизмов наследственности и изменчивости.

# МГЭ – способы перемещения

Известно не менее двух способов перемещения МГЭ.

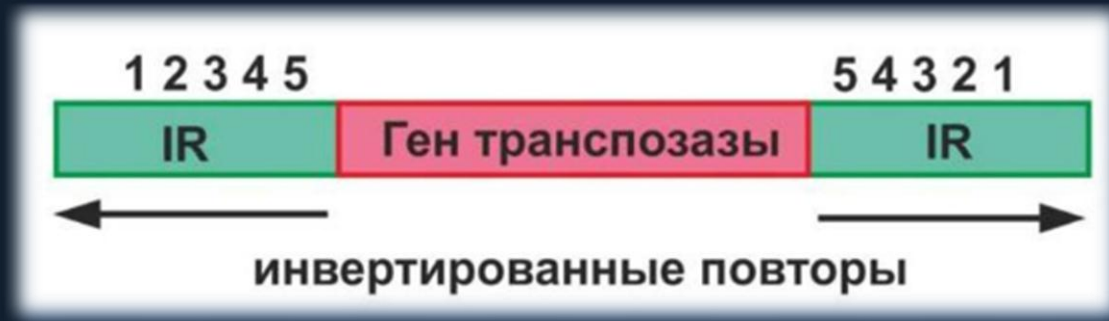
- Первый из них связан с «вырезанием» мобильного элемента в одном месте хромосом и встройкой его в другом месте («вырезать и вставить»). Такие перемещения, по-видимому, имеют обычно случайный, **ненаправленный характер**.
- Второй тип событий представляет собой направленные перемещения генетических элементов. В этом случае в исходном положении мобильный элемент сохраняется, но появляется и в новом, хотя и вполне определенном месте («копировать и вставить») – речь идет о **появлении дополнительной копии мобильного элемента**. Для этого необходимо удвоение молекулы ДНК данного мобильного элемента и его последующее встраивание **в определенное место** генома.
- Роль мобильных генетических элементов еще предстоит тщательно изучить.

- **Плазмиды, транспозоны, инсерционные последовательности, геномные острова** отличаются молекулярной массой, объемом заключенной информации, способностью к автономной репликации и др.
- Они не являются жизненно необходимыми для бактериальной клетки генетическими элементами, но определяют некоторые **селективные преимущества** бактерий (например, резистентность к а/б).
- Отличительной особенностью мобильных элементов является способность существовать как в **интегрированном** в хромосому виде, так и в виде **отдельных** макромолекул - эписом , плазмид , вирусных частиц.



# МГЭ (инсерционные последовательности)

- Вставочные (инсерционные) последовательности IS-элементы – это участки ДНК, способные как целое перемещаться из одного участка репликона в другой, а также между репликонами.
- Центральную часть IS элемента занимает ген, кодирующий фермент **траспозазу**, обеспечивающую процесс исключения IS-элемента из ДНК и его интеграцию в новый локус.
- На обоих концах IS элемента находятся **инвертированные повторы**, или **палиндромы**, размером 10-40 н.п., по которым транспозаза распознает его и вырезает. IS обозначают цифрами: IS1, IS2, IS3 и т.д.
- Оригинальная копия IS-элемента остается на прежнем месте, а ее реплицированный дубликат перемещается на новый участок.
- Содержат только гены, необходимые для собственной миграции, т.е. они не имеют собственного **фенотипического выражения**. Сами не реплицируются



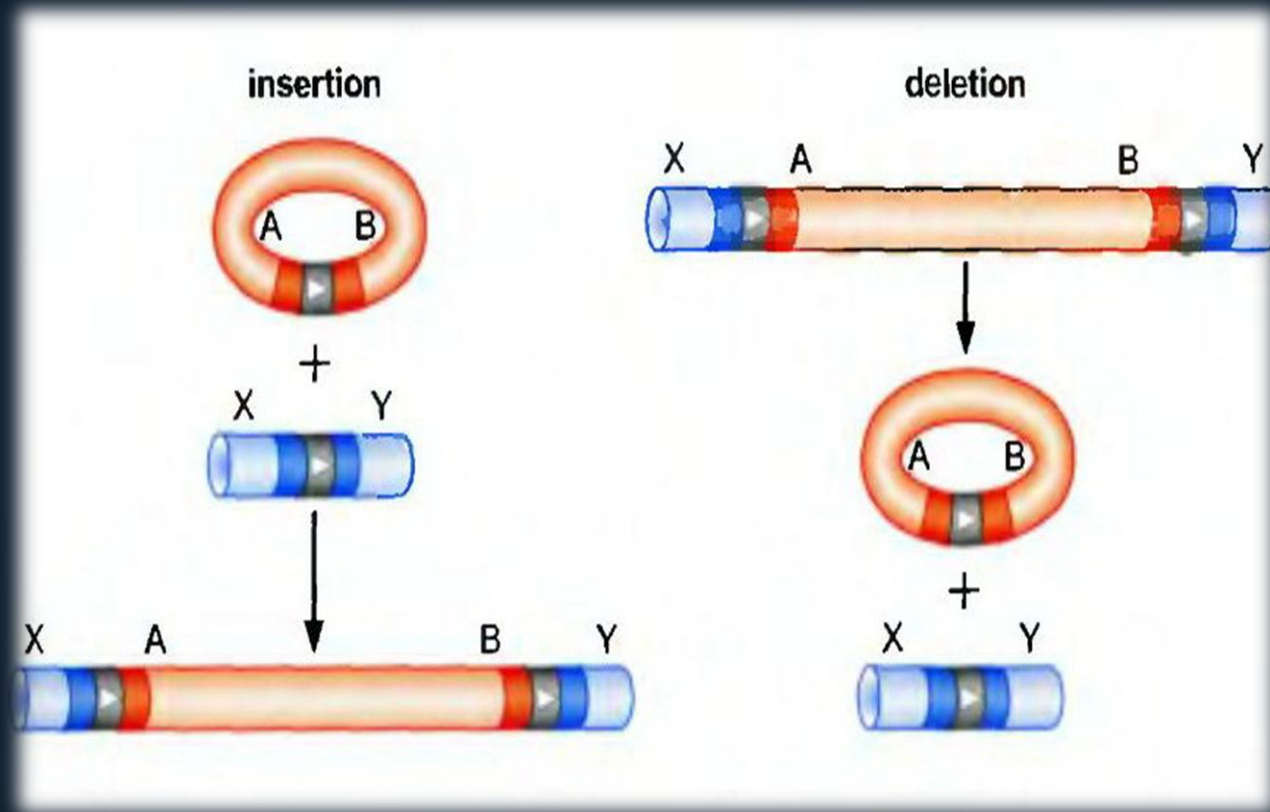
# МГЭ (инсерционные последовательности)

## Функции IS-элементов:

- Координировать взаимодействие транспозонов, плазмид и умеренных фагов как между собой, так и с хромосомой бактериальной клетки и обеспечивать их рекомбинацию.
- Вызывать **инактивацию гена**, в котором произошла интеграция IS-последовательности («выключение гена»), либо, будучи встроенными в определенном положении в бактериальную хромосому, служить **промотором** (участками ДНК, регулирующих экспрессию подлежащих структурных генов бактерий – реципиентов), который включает транскрипцию соответствующих генов, выполняя регуляторную функцию.
- Индуцировать мутации типа делеций или инверсий при перемещении и дупликации в 5-9 парах нуклеотидов при включении в бактериальную хромосому.



# IS-элементы



Известно несколько разновидностей *IS*-элементов, которые различаются по размерам и по типам и количеству инвертированных повторов.

# Транспозоны (Tn)

- **Транспозоны** – мобильные генетические элементы, содержащие **структурные гены** и гены, ответственные за перемещение.
- Структурные гены обеспечивают синтез молекул, обладающих специфическим биологическим свойством, например **токсичность, устойчивость к антибиотикам** – т.е. проявляются фенотипически.
- Транспозоны участвуют в регуляции активности генов, инактивируя их или активируя. Осуществляют **горизонтальный перенос генов**, например, вирулентности или а/б-резистентности, обуславливая распространение устойчивости к антибиотикам среди популяции микроорганизмов.
- Частота транспозиций Tn сравнима с частотой мутаций.

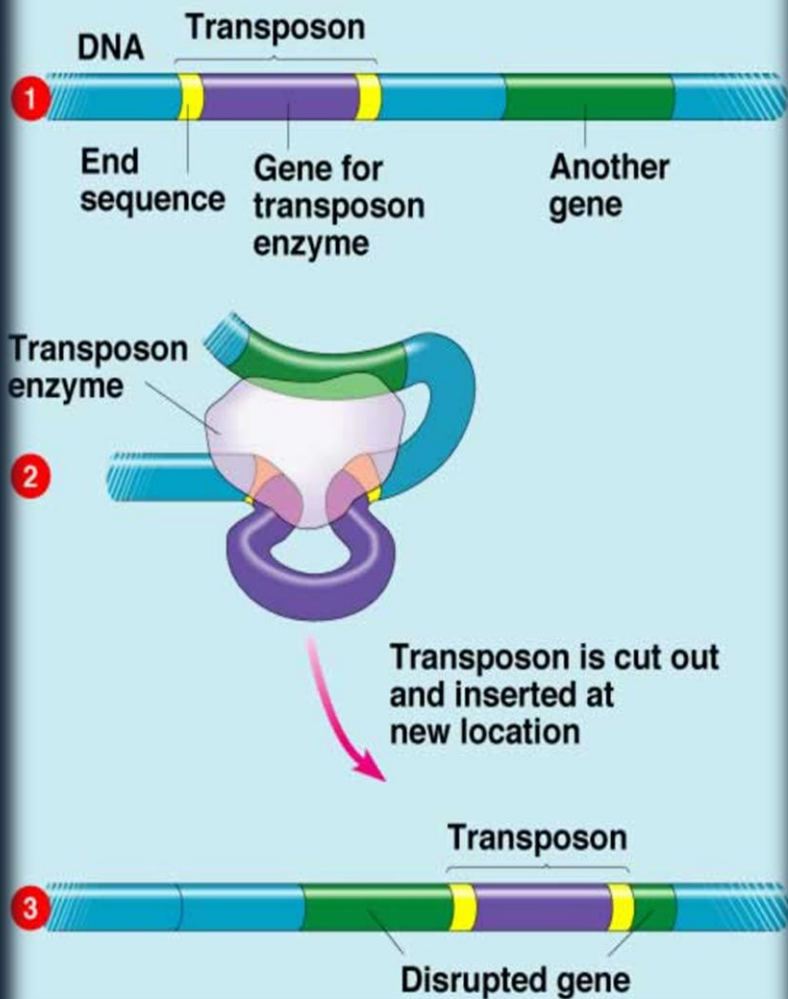


2020

# Транспозоны

- Разные механизмы перемещения транспозонов позволяют отнести их к разным классам.
- При прямой транспозиции «вырезание» мобильного элемента (**ДНК-транспозона**) и его «встраивание» в др. участок генома обеспечивает **фермент транспозаза**. В ряде случаев донорная копия ДНК-транспозона может сохраняться в геноме на старом месте, в то время как другая перемещается в реципиентный сайт.
- Транспозоны др. класса – **ретротранспозоны** – используют для перемещений РНК, образуящуюся после транскрипции транспозона. Такие МГЭ кодируют **фермент – обратную транскриптазу**, которая копирует ДНК на матрице РНК, после чего копия ДНК интегрируется в новые участки генома.

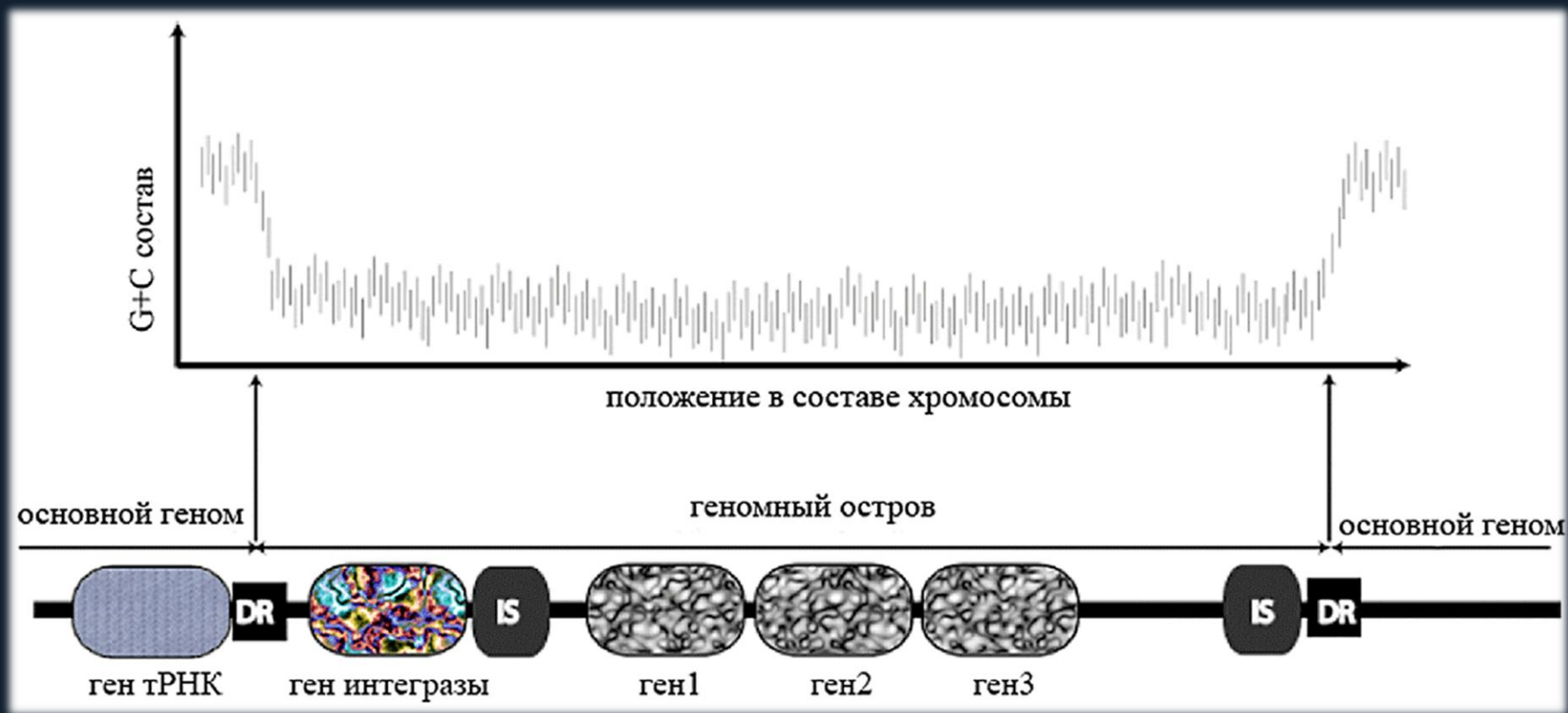
# Транспозоны – (Tn)



- Перемещаясь по репликону или между репликонами, **транспозоны** вызывают:
- Инактивацию генов тех участков ДНК, куда они, переместившись, встраиваются.
  - Повреждения генетического материала.
  - Слияние репликонов, т. е. встраивание плазмиды в хромосому.
  - Распространение генов в популяции бактерий, что может приводить к изменению биологических свойств популяции, смене свойств возбудителей инфекционных заболеваний, а также способствует эволюционным процессам среди микробов.
  - Перемещение подвижных генетических элементов принято называть репликативной или **незаконной рекомбинацией**.

# Геномные острова (*genomic islands, ГО*)

- Это сегменты ДНК, присутствующие в геноме одних штаммов и отсутствующие у других, даже близкородственных штаммов одного вида.



Схематическое изображение **структуры геномного острова** в составе бактериальной хромосомы. DR — прямые повторы ДНК хромосомы, фланкирующие ГО; IS — инсерционные элементы.

# Геномные острова (ГО)

Для геномных островов характерно:

- Размеры 10–500 т.п.н. (< 10 т.п.н. — геномные островки (genomic islets));
- Отличные от ДНК-мишени нуклеотидные характеристики: G+C состав, частоты тетрануклеотидов и использование кодонов;
- Несут ген **интегразы** (тирозиновой рекомбиназы), обеспечивающей встраивание ГО в специфические районы хромосомы.
- Иногда ГО не содержат или утратили ген интегразы, в результате чего оказались «**заякоренными**» в хромосоме хозяина. Пример такого острова — SGI1, «подаривший» штамму *Salmonella enterica* sv. Typhimurium DT104 множественную устойчивость к антибиотикам. Похоже, до утраты рекомбиназы этот ГО был интегративной конъюгативной плазмидой;
- Часто фланкированы 16-20-п.н. **повторами ДНК-мишени**, которые могут использоваться для вырезания острова.

# Геномные острова (ГО) – острова патогенности

- Часто содержат IS-элементы и транспозоны, участвующие в приобретении или удалении генетической информации в пределах острова;
- Играют важную роль в эволюции и адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды обитания, кодируя **факторы патогенности**, симбиотического «стиля жизни», резистентности к тяжёлым металлам и антибиотикам, ферменты деградации ксенобиотиков и т.п.
- Считается, что ГО обеспечивают **«эволюцию квантового скачка»**, драматически меняя фенотип хозяина, например, с непатогенного на патогенный или с несимбиотического на симбиотический.
- Так, предполагается, что развитие паразитического способа существования у изначально сапрофитных свободноживущих микобактерий происходило с участием ГО. Именно на ГО Rv0986 локализованы гены, кодирующие способность *M. tuberculosis* прикрепляться к эукариотическим клеткам.

# Главные «нарушители границ»

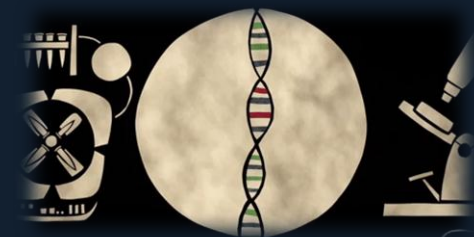
- Крупнейшие из самых подвижных «платформ» для сборки всевозможных мобильных элементов и модулей — **плазмиды** и **бактериофаги**, но б/ф обычно имеют очень ограниченный круг хозяев.
- **Плазмиды** — наиболее широко представленный и разнообразный МГЭ прокариотического мира, поскольку этот элемент способен преодолевать не только межвидовые барьеры, но и междоменные (энциклопедический пример — **Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens***, инфицирующие эукариотические клетки).
- Плазмидные модули входят в состав конъюгативных транспозонов и геномных островов, а в самих плазмидах находят приют IS-элементы, транспозоны, интегроны, фаговые модули и даже геномные острова — «**принцип матрёшки**»).



## Главные «нарушители границ»

- Можно выделить несколько «горячих точек», в том числе это ризосфера растений, **биоплёнки (в т.ч. микробиота)**, сточные воды, которые обеспечивают селективное давление для обмена МГЭ в условиях высокой бактериальной плотности и метаболической активности.
- Процесс **трансформации** клеток молекулами ДНК происходит в среде постоянно. Свободная ДНК может сохраняться в окружающей среде тысячелетиями, а **природной компетентностью** обладает как минимум 90 видов почвенных и водных прокариот.
- Однако ведущую роль в распространении между бактериями детерминант резистентности и биodeградации играют **конъюгативные и мобилизуемые плазмиды**.

- ❖ Потенциал МГЭ прокариот как объектов исследования почти неиссякаем. На какие же аспекты функционирования «мобильного социума» будут направлены взгляды учёных в будущем?
- ❖ Разумеется, микробиологи продолжают «вербовать» эти элементы для удовлетворения **биотехнологических нужд** общества (векторы и т.д.)
- ❖ Поиск способов борьбы с негативными для человека последствиями горизонтального генетического переноса (бактериальная **резистентность** и **вирулентность**).
- ❖ Дальнейшее изучение **вклада МГЭ в эволюцию** организмов.
- ❖ В последние годы, наряду с интенсивным изучением **микробиома**, имеет место массовое обращение микробиологов к **мобиному кишечной микробиоте**: публикации о циркуляции плазмид в этих загадочных бактериальных коллективах уже появились в самых уважаемых изданиях.



# Спасибо!!!