

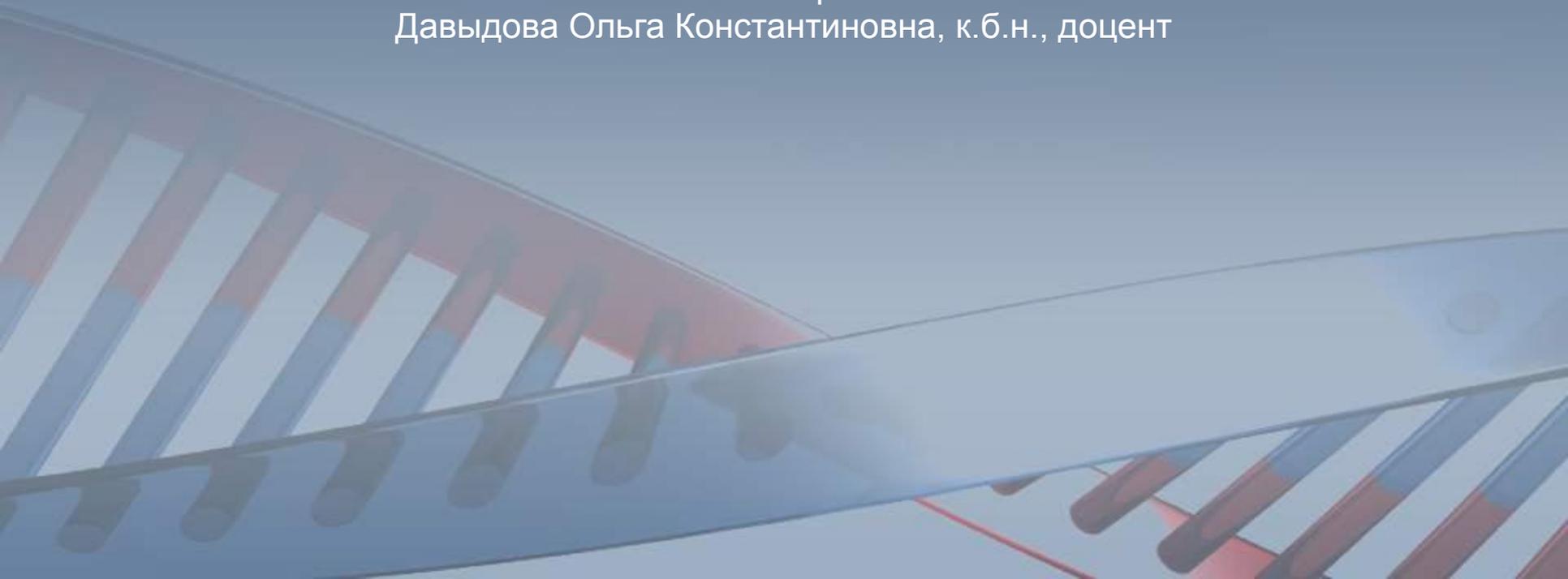
Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное бюджетное государственное образовательное учреждение
высшего образования «Оренбургский государственный университет»
Химико-биологический факультет
Кафедра биохимии и микробиологии

Организация генома прокариот

Лекция №2

Лектор:

Давыдова Ольга Константиновна, к.б.н., доцент



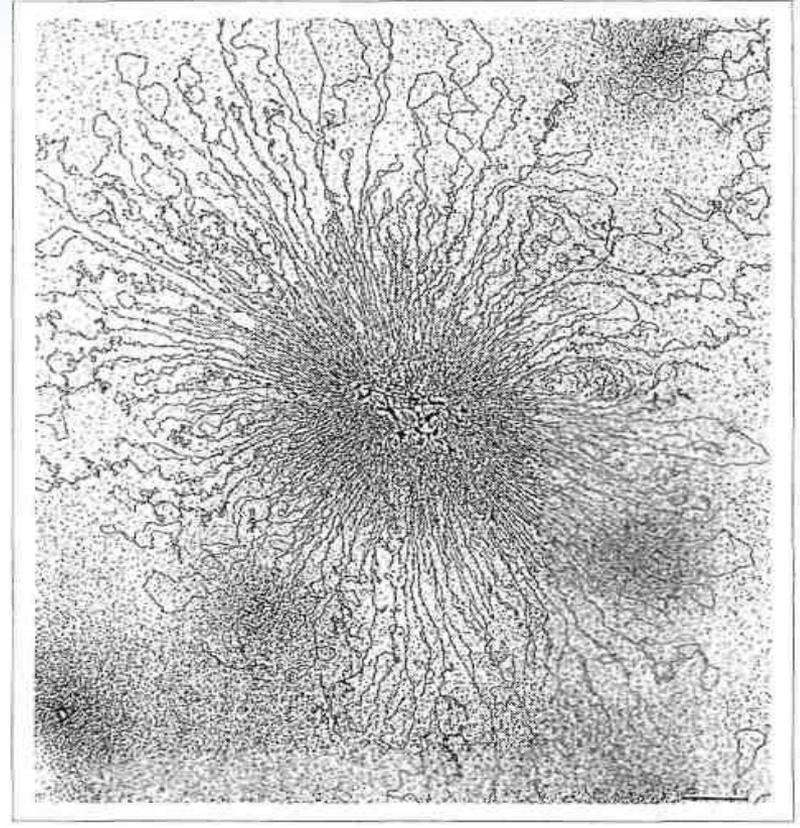
План лекции:

- Строение генетического аппарата клетки
- Размер генома прокариот
- Внехромосомные генетические элементы



Организация генома бактерий

- 1956 г. Ф.Жакоб и Е.Вильман предложили кольцевую модель бактериальной хромосомы
- ДНК прокариот представлена кольцевой двуцепочечной суперспирализованной молекулой, расположенной в цитоплазме в виде клубка - **нуклеоида**.
- Нуклеоид не отделён мембраной, может содержать несколько копий ДНК.
- Нуклеоид состоит из ДНК, белков и РНК. ДНК составляет около 80%. Она свёрнута в петли, которых примерно 100.
- Нейтрализация зарядов осуществляется взаимодействием ДНК с полиаминами (спермином и спермидином), а также с ионами Mg^{2+} . У некоторых археобактерий и цианобактерий обнаружены гистоны и гистоноподобные белки, связанные с ДНК.



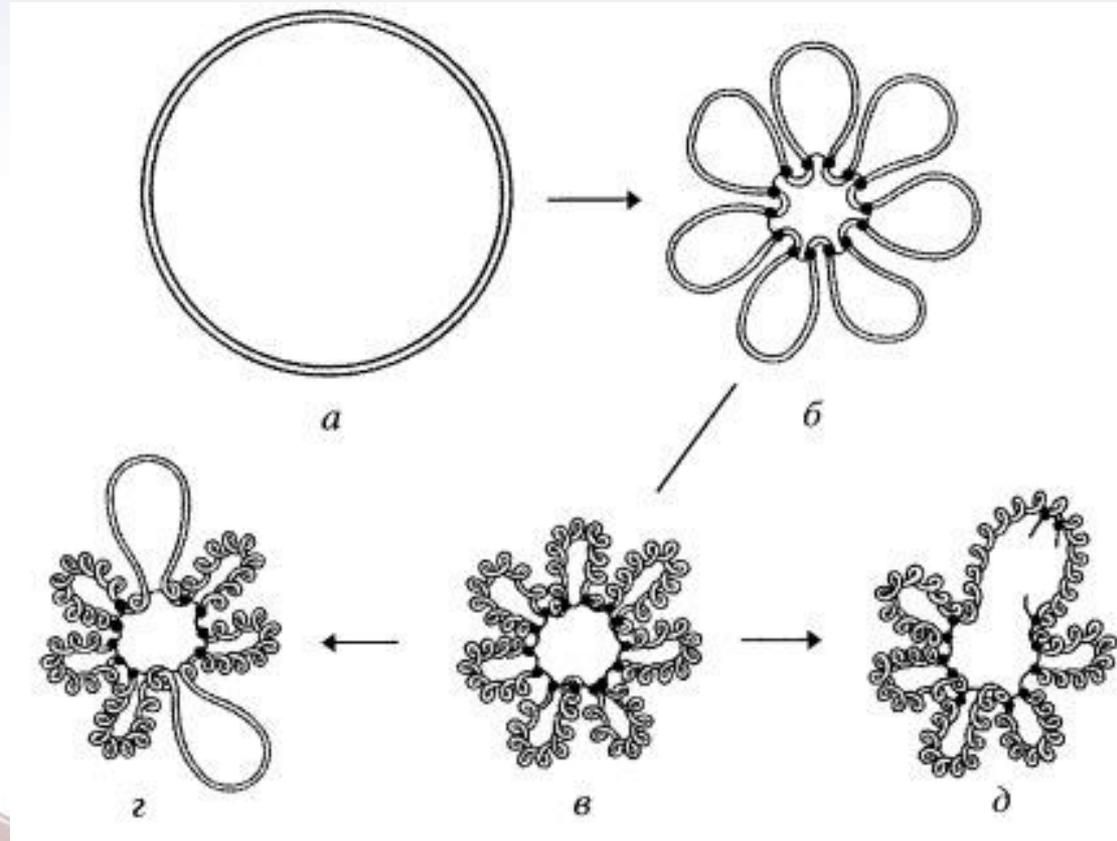
© <http://molbiol.ru/pictures/80886.html>

Организация генома бактерий

- Обработка выделенных нуклеоидов РНКазой и протеолитическими ферментами приводит к разрыхлению центральной области нуклеоидов, а короткая обработка ДНКазой — к снятию сверхспирализации петель и декомпактизации всего нуклеоида.
- Таким образом, было показано, что компактизация нуклеоида связана с наличием связок, содержащих РНК и некоторые белки.
- Степень компактизации ДНК в нуклеоиде бактерий достигает 1000 крат, а концентрация ДНК доходит до 10 мг/мл (!).
- Необходимо подчеркнуть, что часть ДНК нуклеоида связана с небольшим числом специальных основных белков, отличных от гистонов эукариот. Одна молекула одного из таких белков приходится на 400 п.н. ДНК.

Организация генома бактерий

- Гигантская кольцевая молекула - хромосома — с помощью РНК и белков многократно складывается, образуя многочисленные петли, ДНК которых подвергается сверхспирализации, что приводит к значительной компактизации всего комплекса, который и представляет собой нуклеоид.

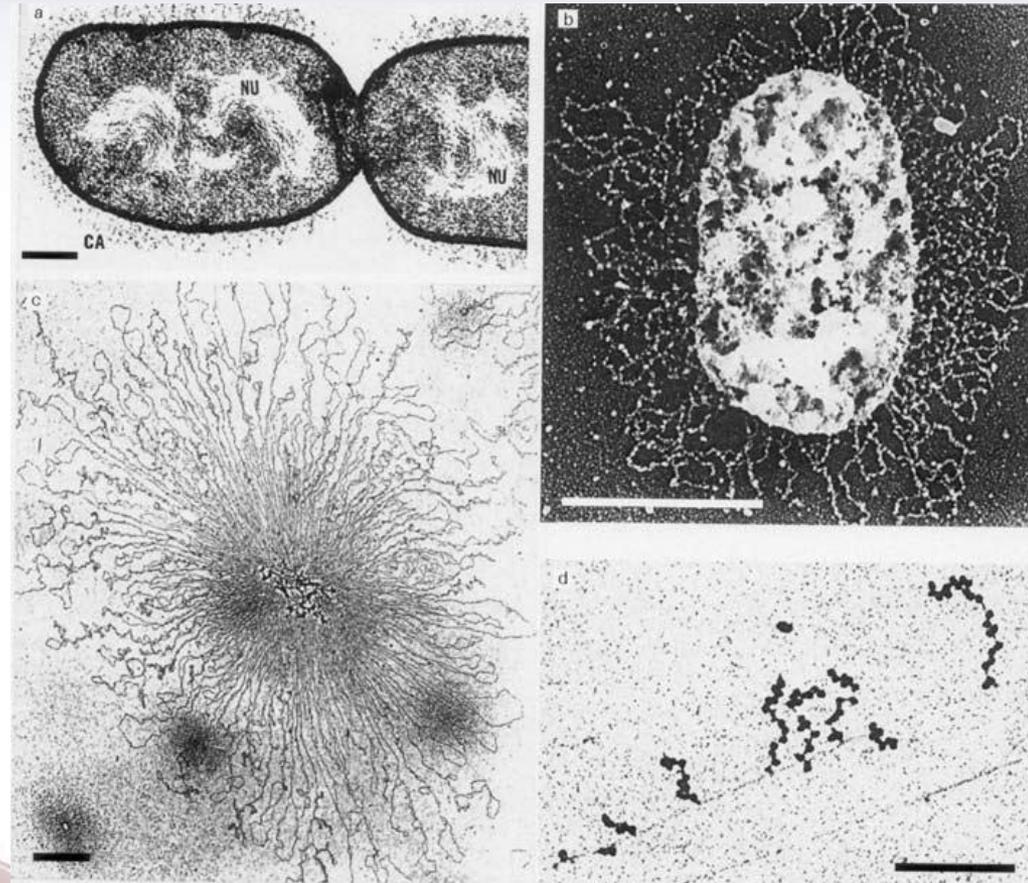


Модель конденсации бактериальной хромосомы (Зенгбуш, 1982)

а — кольцевая хромосома; *б* — белковые сшивки образуют петлевые домены; *в* — сверхспирализация доменов; *г* и *д* — различные формы деконденсации нуклеоида

Организация генома бактерий

- Центральная область нуклеоида представлена суперспирализованной транскрипционно неактивной ДНК, а на расположенных на периферии деспирализованных петлях происходят интенсивные процессы образования различных типов РНК.
- Рибосомы связываются с еще не до конца синтезированными молекулами иРНК и производят на них синтез белка, таким образом, процессы транскрипции и трансляции не разобщены территориально.

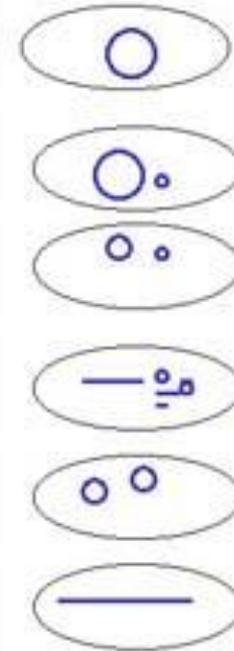


© <http://molbiol.ru/pictures/80886.html>

- a. На ультратонком срезе клеток *Klebsiella pneumoniae* видна фибриллярная ультраструктура нуклеоида. Отрезок соответствует 0,1 μ m.
- b. Разрушенная клетка *E.coli*. Видны регулярно сконденсированные хроматиноподобные волокна ДНК. Отрезок соответствует 0,5 μ m.
- c. Изолированный нуклеоид *E.coli*. Хорошо различимы расправленные петли ДНК. Отрезок соответствует 1 μ m.
- d. Транскрипция участка генома *E.coli*. На элонгирующиеся нити РНК садятся рибосомы. Можно сделать вывод об участке инициации и направлении транскрипции. Отрезок соответствует 0,2 μ m.

Организация генома бактерий

Микроорганизм	Геном
<i>Escherichia coli</i>	1 кольцевая хромосома 4.6 Mb
<i>Bacillus cereus</i>	1 кольцевая хромосома 1 кольцевая мегаплазмида
<i>Brucella melitensis</i>	2 кольцевых хромосомы 2.1 Mb и 1.2 Mb
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Линейная хромосома 0.9 Mb + до 20 плазмид
<i>Rodobacter sphaeroides</i>	2 кольцевых хромосомы
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	1 линейная хромосома

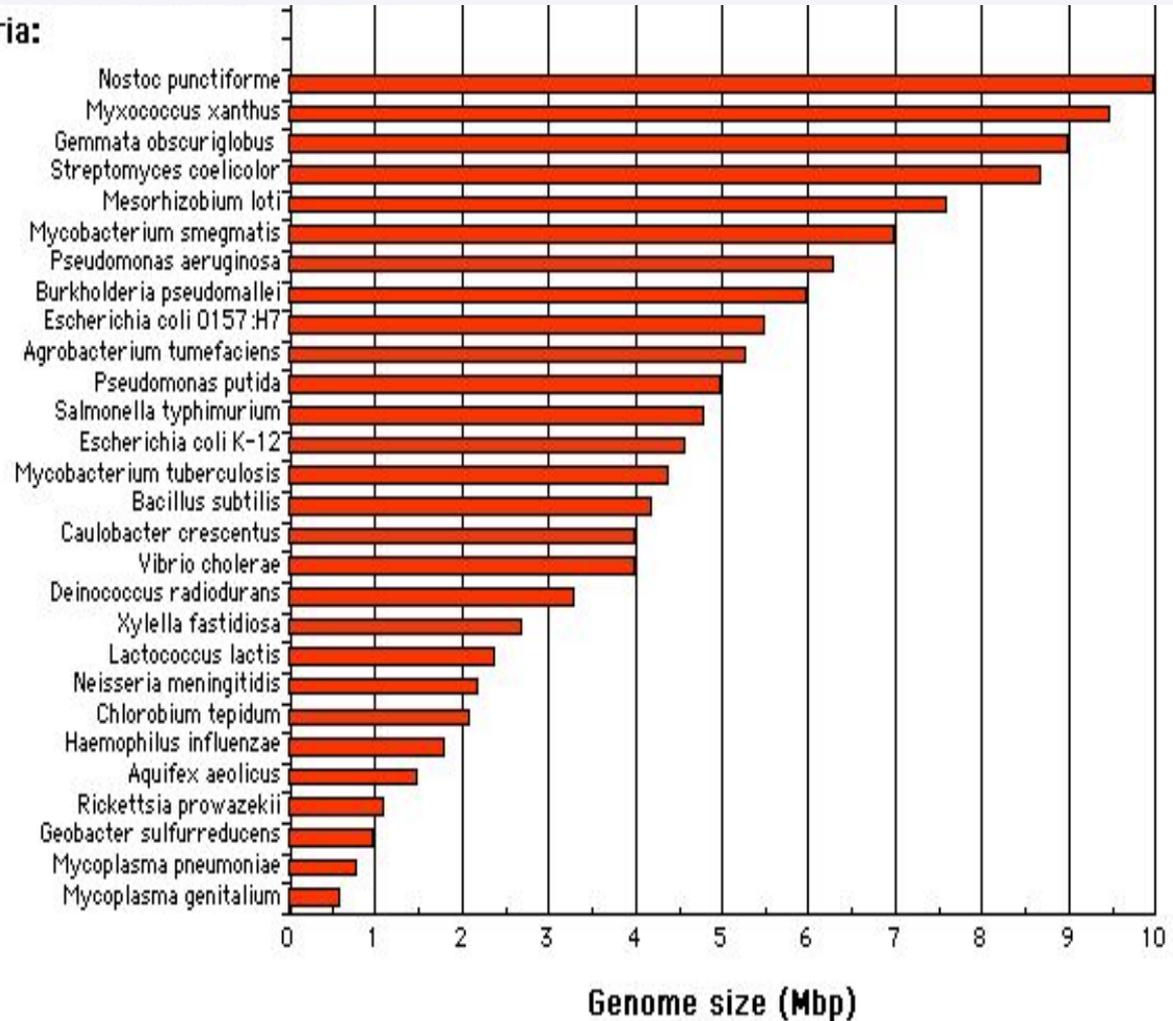


- Хромосомы бывают не только кольцевыми, метод пульс-электрофореза позволил идентифицировать **линейную бактериальную хромосому** у спирохеты из рода боррелий *Borrelia burgdorferi* и у актиномицетов.
- Бактерии могут иметь **больше одной хромосомы на клетку**. У *Agrobacterium tumefaciens* 2 плазмиды (200 тпн и 450 тпн) и 2 очень больших молекулы ДНК ($2,1 \times 10^6$ и 3×10^6 пн). Меньшая из них линейная, большая – кольцевая.

Размер генома

- Размеры бактериальных геномов могут различаться более чем в 20 раз - от $6 \cdot 10^5$ у некоторых облигатных паразитов до более чем 10^7 н.п. у цианобактерий.
- Размеры ДНК от 580 тыс н.п. у *Mycoplasma genitalium* до 9500 тыс. н.п. у *Mycobacterium xanthus*
- *E.coli* - 4600 тыс. н.п.

Bacteria:



Размер генома

- Количество хромосомной ДНК, приходящейся на один ген у бактерий -1000 п. н. то есть гены упакованы очень плотно

Организмы	Геном (млн п.н.)	Число генов (тысячи)	Размер гена (т.п.н.)	Существенных генов
Бактерии	0,5–5	0,47-4,29	1–1,7	<50%
Дрожжи	12	6	2	<20%
Нематода	97	19	5	<10%
Человек	3000	30	30	<5% ?

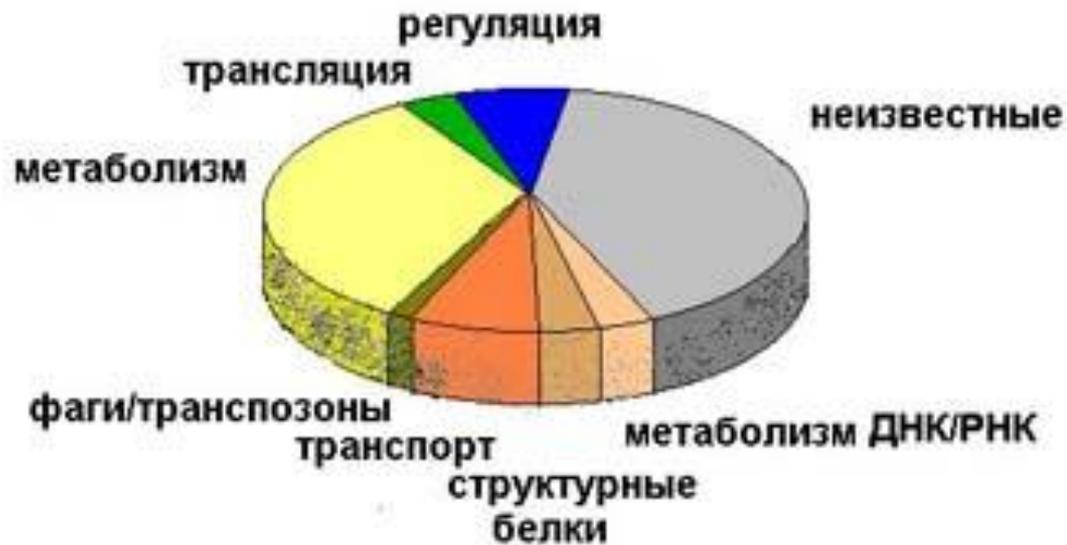
Классификация генов по их функциям

- Одна бактериальная хромосома содержит до 1000 известных генов. Обычно это гены «домашнего хозяйства», то есть необходимые для поддержания жизнедеятельности клетки.
- Все множество известных генов делится на 10 групп, контролирующих следующие процессы (в скобках указано количество изученных генов):
 - 1. Транспорт различных соединений и ионов в клетку (92).
 - 2. Реакции, поставляющие энергию, включая катаболизм различных природных соединений (138).
 - 3. Реакции синтеза аминокислот, нуклеотидов, витаминов, компонентов цепей переноса электронов, жирных кислот, фосфолипидов и некоторых других соединений (221).
 - 4. Генерация АТФ при переносе электронов (15).
 - 5. Катаболизм макромолекул (22).
 - 6. Аппарат белкового синтеза (164).
 - 7. Синтез нуклеиновых кислот, включая гены, контролирующие рекомбинацию и репарацию (49).
 - 8. Синтез клеточной оболочки (42).
 - 9. Хемотаксис и подвижность (39).
 - 10. Прочие гены, в том числе с неизвестной функцией (110).

Классификация генов по их функциям

- У кишечной палочки не понятны функции около 1/3 из 4289 генов.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНКЦИЙ ГЕНОВ *E.coli*, выявленное по полной нуклеотидной последовательности генома



© <http://studopedia.org/index.html>

- Анализ полных геномов позволил определить минимальный набор генов, необходимый каждой живой клетке. Показано, что как минимум 250 генов необходимы для клеточной формы жизни.

Минимальный набор 256 генов, необходимый живой клетке

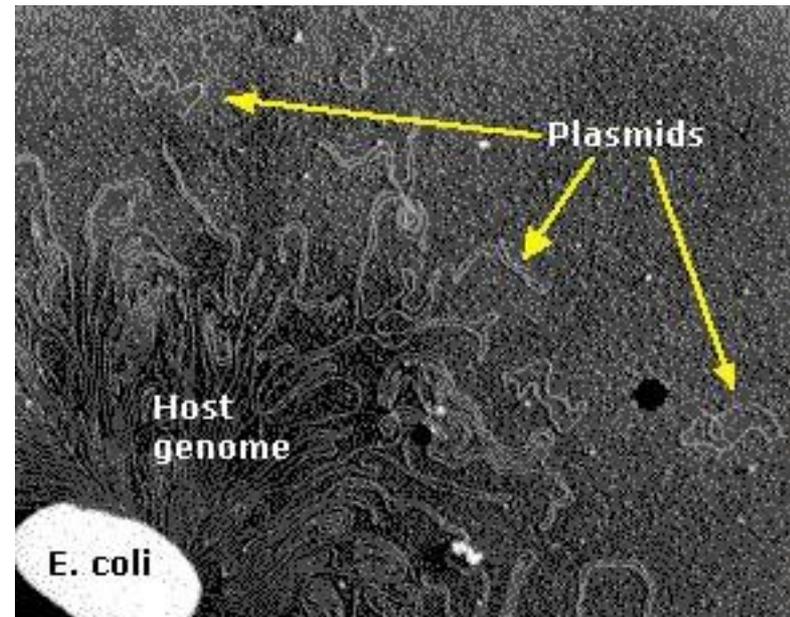
Функция белков	Число белков
Преобразование энергии	28
Транспорт и метаболизм аминокислот	11
Транспорт и метаболизм нуклеотидов	20
Транспорт и метаболизм углеводов	5
Метаболизм липидов	6
Метаболизм кофакторов	8
Биогенез рибосом и трансляция	94
Репликация, рекомбинация, Репарация, транскрипция	35
Структурная функция	7
Секреция и адгезия	5
Шапероны	13
Транспорт неорганических ионов	4
Предсказана гипотетическая функция	15
Функция неизвестна	4

Установлен по сравнению наборов генов *M.genitalium* и *H.influenzae*.

Экспериментально исследован по инактивации генов *B.subtilis* (существов. часть генома 318 kb)

Внехромосомные генетические элементы

- **Плазмида** - способный к автономной репликации внехромосомный генетический элемент, существующий у многих видов бактерий, обычно дающий преимущество клетке-хозяину (например, устойчивость к антибиотикам, тяжелым металлам и т.п.) – «гены роскоши». Это линейные или кольцевые ковалентно замкнутые молекулы ДНК. Для них характерно стабильное существование и наследование в бактериях в ряду клеточных поколений.
- Размеры плазмид варьируют от нескольких тысяч до сотен тысяч пар оснований, а число копий на клетку - от одной до нескольких сотен. Хотя многие плазмиды дают клеткам-хозяевам ощутимые селективные преимущества, большинство из них являются криптоическими, т.е. не проявляющимися в фенотипе клеток.

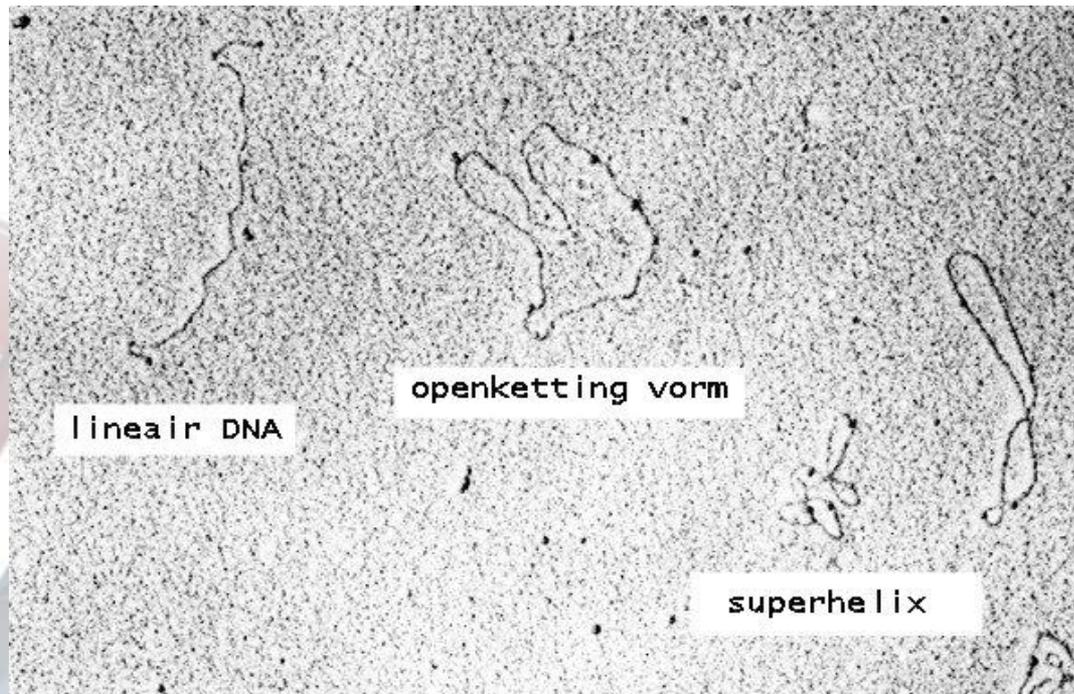


©

http://www.apsnet.org/edcenter/K-12/TeachersGuide/DNA_Easy/Pages/Background.aspx

Внехромосомные генетические элементы

- Большинство плазмид состоит из трех групп генов:
 - участка ДНК, ответственного за автономную репликацию плазмиды в клетке;
 - системы генов, обеспечивающих возможность переноса плазмид из одной клетки в другую;
 - генов, определяющих свойства, полезные для клетки-хозяина.
- Термин предложен Дж.Ледербергом в 1952 г.



Плазмидная несовместимость

- Плазмидная несовместимость – механизм регуляции числа копий плазмид разного типа в бактериальной клетке. Плазмидная несовместимость определяет невозможность внутриклеточного сосуществования близкородственных плазмид.
- Несовместимость плазмид обуславливается подавлением репликации одной из них и (или) блокированием распределения дочерних молекул ДНК по клеткам перед их делением. Эти оба механизма действуют независимо друг от друга.
- Несовместимость, вызванная подавлением репликации, наблюдается у плазмид как со строгим, так и с ослабленным контролем репликации. Она обусловлена существованием у плазмид генетического механизма поддержания числа плазмидных копий на определенном уровне, который приводит к тому, что в клетке только одна из двух плазмид (резидентная или с меньшей вероятностью вошедшая) сохраняет способность к удвоению.
- Несовместимость, вызванная блокированием распределения дочерних молекул ДНК по клеткам, характерна для низкокопийных плазмид. В ее основе лежит факт конкуренции плазмид за сайты на цитоплазматической мембране, обеспечивающие их распределение при делении клеток.

Биологическое значение плазмид

- Способность плазмид быстро копироваться и передаваться из клетки в клетку при внутривидовой, межвидовой и межродовой конъюгации бактерий определяет важную роль плазмид в эволюции этих организмов.
- Так в 60-70 годы прошлого века накопилось множество фактов, свидетельствующих о роли плазмид, в процессе быстрого распространения в клинике устойчивых штаммов бактерий. Формирование плазмид, несущих гены множественной лекарственной устойчивости, происходило путем внедрения в их ДНК различных мобильных элементов. В плазмидах «современных» штаммов бактерий обычно обнаруживают интегроны, содержащие длинные цепочки генов устойчивости, иногда до 9 генов.

Заключение

- Прокариоты (археи и бактерии, в том числе митохондрии и пластиды, постоянно обитающие в клетках большинства эукариот) не имеют хромосом в собственном смысле этого слова. У большинства из них в клетке имеется только одна макромолекула ДНК, замкнутая в кольцо (эта структура получила название нуклеоид), расположенная в центре клетки и ориентированная вдоль ее продольной оси.
- Помимо нуклеоида ДНК может присутствовать в цитоплазме прокариотных клеток в виде плазмид, содержащих обычно незначительное, по сравнению с бактериальной хромосомой, число генов.
- Модель строения кольцевой бактериальной хромосомы была предложена Ф. Жакобом и Е. Вильманом в 1956 году. Согласно существующим представлениям суперспирализованные петли соответствуют неактивным в данное время участкам ДНК и находятся в центре нуклеоида.