Содержание

Введение

Открытие конъюгации

Типы донорных клеток

Механизм

Условия для процесса конъюгации

Список литературы

Введение

Бактерии подобно высшим организмам обладают способностью к обмену генетического материала, но существенно отличаются от последних способами передачи его от донорной клетки к реципиентной. Обмен генетического материала у бактерий имеет место при трансформации, конъюгации и трансдукции.

Конъюгация — прямой перенос фрагмента ДНК от донорских бактериальных клеток к реципиентным при непосредственном контакте этих клеток. Биологическая значимость этого процесса стала проясняться после внедрения в медицинскую практику антибиотиков. Устойчивость к антибиотикам можно получить в результате мутации, что происходит один раз на каждые 106 клеточных делений. Однако, однажды изменившись, генетическая информация может быстро распространяться среди сходных бактерий благодаря конъюгации, поскольку каждая третья из близкородственных бактерий способна именно к этому типу генетического переноса. Для реализации процесса необходим F-фактор. F-фактор располагается в цитоплазме в виде кольцевой двухцепочечной молекулы ДНК, т. е. является плазмидой. Размер ее кольцевой ДНК составляет 94,5 тысяч пар нуклеотидов.

Конъюгация требует наличия двух типов клеток: доноров (F+), обладающих F-фактором (от англ, fertility плодовитость), и реципиентов (F-), не обладающих им. При скрещивании клеток F- и F+ фактор фертильности передаётся с частотой, близкой к 100%.

Фактор переноса содержит гены специальных и необходимых при конъюгации структур — F-пилей и ряд других генов, вовлечённых в процесс взаимодействия с F+-клетками.

Открытие конъюгации

Открытие конъюгации бактерий принадлежит Дж. Ледербергу и Е. Татуму (1946). Они использовали два ауксотрофных мутанта Е. coli К-12, каждый из которых в отдельности не обладал способностью синтезировать две аминокислоты. Один был ауксотрофным по аминокислотам *А* и *В,* но синтезировал кислоты С и *D (А Ъ'С D'J,* другой мутант был комплементарен *(A BCD).* На минимальной среде эти мутанты раздельно не росли. При высеве смеси их на ту среду появлялись колонии, клетки которых обладали способностью синтезировать все 4 аминокислоты, т. е. это были генетические рекомбинанты двух реципрокио дефектных (взаимодополняющих) родительских клеток. Однако в этом опыте не исключалась возможность появления рекомбинантного потомства под влиянием веществ, обладающих трансформирующей активностью.

Наиболее убедительные доказательства образования генетических рекомбинантов в результате конъюгации были получены Б. Дэвисом. В одно колено *U-*образной трубки, разделенной стеклянным пористым бактериальным фильтром, помещался один ауксотрофный штамм бактерий, в другое - другой. Наличие пористого фильтра исключало физический контакт бактерий, но не препятствовало диффузии трансформирующих веществ из одного колена в другое. Спустя некоторое время из содержимого каждого колена производился высев бактерий на минимальную среду, однако ни в одном из них прототрофов не было обнаружено, т.е. рекомбинанты не образовывались. Когда же оба родительских штамма засевали в одно и то же колено трубки, что позволяло клеткам вступать в прямой контакт, рекомбинанты появлялись.

Наличие такого контакта между клетками удалось наблюдать в 1957 г. непосредственно с помощью электронного микроскопа. Позже было установлено, что конъюгирующие клетки соединяются через конъюгационный мостик, образованный половой ворсинкой F-пили донорной клетки.

Типы донорных клеток

В зависимости от состояния F-фактора и его положения в клетке различают три типа донорных клеток - F+, Hfr и F'.

В клетках первого типа F-фактор находится в свободном состоянии. При скрещивании их с реципиентными клетками происходит передача F-факторов и F- -клетки превращаются в донорные. F-фактор реплицируется и передается при скрещивании, независимо от репликации хромосомы клетки. Поэтому достаточно небольшого числа F+-клеток в популяции, чтобы в короткий срок все F--клегки превратились в донорные.

Второй тип донорных клеток происходит от F+-клеток в результате включения F-фактора в бактериальную хромосому. Это осуществляется следующим образом. ДНК F-фактора, подобно бактериальной хромосоме, является кольцевой. В F-факторе содержится несколько участков, гомологичных (по нуклеотидной последовательности) ряду участков хромосомы. Эту гомологию обеспечивают IS-элементы, которые содержатся в F-факторе и хромосоме. Всего в F-факторе содержится одна копия IS2, две копии IS3 и транспозон Тn 1000. Эти мигрирующие генетические элементы служат специфическими сайтами интеграции F-фактора в хромосому. По одному из них может совершаться спонтанное спаривание (синапс) F-фактора и хромосомы. Затем путем кроссинговера F-фактор включается в последовательность хромосомы.

Так в процессе сайт-специфической рекомбинации, опосредованной IS-элементами, образуется штамм Hfr (от англ, high frequency of recombination - высокая частота рекомбинаций). Hfr-штаммы обладают той особенностью, что при скрещиаании с F'-клетками передают им хромосомные маркеры (гены) с частотой, в 1000 раз большей, чем клетки F+, т.е. а этом случае в потомстве обнаруживается гораздо больше рекомбинантов, чем при скрещивании F+ и F-.

Характерным для данного типа клеток является и то, что образующиеся рекомбинанты почти всегда являются женскими, т.е. F-фактор передается чрезвычайно редко. Это обусловлено особенностями переноса хромосомы у Hfr-штаммов. Разрыв хромосомы и начало переноса определяются F-фактором. Перенос начинается всегда с проксимального О-конца (от англ. origin - начало) и идет в направлении, противоположном месту включения F-фактора.

Передача маркеров осуществляется последовательно по всей длине хромосомы. Последним передается F-фактор. Для передачи всей хромосомы необходимо 90-120 мин. Так как конъюгационный мостик непрочен (к тому же в процессе столь длительной передачи может нарушиться целостность хромосомы из-за ее хрупкости), F-фактор от Hfr-бактерий к F--клеткам почти не передается.

Третий тип донорных клеток (F)' происходит от Hfr-штаммов следующим образом: F-фактор может спонтанно отделяться, от хромосомы, переходя в свободное состояние, унося при этом хромосомные маркеры. При конъюгации с F--клетками F'-клетки с высокой частотой передают F-фактор. Кроме того, передаются и те хромосомальные маркеры, которые стали частью F-фактора. Это явление - перенос хромосомальных генов от донорной к реципиентной клетке F-фактором - получило название сексдукции. Клетки, в которых включился F-фактор, приобретают свойство донорных, но в отличие от F+-клеток они способны передавать реципиентным клеткам не только F-фактор и собственную хромосому, но и те гены которые привнесены F-факгором, т.е. они обладают свойствами как F+, так и Hfr-штаммами, за что и получили название промежуточных доноров.

Механизм

Первый этап конъюгации — прикрепление клетки-донора к реципиенту с помощью F-пилей. Затем между клетками формируется конъюгационный мостик, через который передаётся F-фактор, а также и другие плазмиды, автономно пребывающие в цитоплазме донора. При попадании F-фактора в реципиентную клетку она становится F+ и приобретает способность передавать фактор фертильности другим F--клеткам. Подобный механизм обеспечивает приобретение популяционной устойчивости к антибактериальным агентам.

В популяции клеток, содержащих F-плазмиду, только те, в которых она интегрирована в бактериальную хромосому - Hft-клетки, способны быть донорами хромосомной ДНК. При переносе генетического материала бактериальная ДНК реплицируется, начиная от места включения F-фактора, одна цепь ДНК переносится в реципиентную F'-клетку двигаясь 5'-концом вперёд тогда как другая остаётся в Hfr-клетке, то есть донор сохраняет своё генетическое постоянство. После начала конъюгации хромосомный материал переносится, начиная от генов, близких к начальной точке транспорта.

В бактерии-реципиенты обычно попадают первые из переносимых генов, размер которых зависит от времени, в течение которого проходила конъюгация, и очень редко — все гены. Позже всех переносится участок плазмиды, содержащий ген переноса кодирующий F-пили. Поскольку полная трансмиссия — явление редкое, реципиентная клетка при Hfr-конъюгации обычно остаётся F-. Вслед за процессом переноса в клетке-реципиенте происходит гомологичная рекомбинация между донорской ДНК и собственной ДНК реципиента.

Условия для процесса конъюгации

• На поверхности реципиентных бактерий должны быть рецепторы пилей, имеющие существенное сродство к F-пилям, что позволяет образовать стабильную связь между пилями и рецепторами.

• Для эффективной конъюгации у F-фактора должна быть точка начала репликации, распознаваемая репликативными системами хозяина.

• Эффективность Hfr-конъюгации зависит от величины гомологии ДНК. Перенос негомологичного хромосомного материала донора не приведёт к его интеграции с ДНК реципиента.

Список литературы

1. Колешко О.И., Завезенова Т. В. Микробиология с основами вирусологии – Иркутск: Изд-во Иркут ун-та, 1999. – 452с.
2. О.К. Позднеев Медицинская микробиология. Под ред. В.И. Покровского. - 2-е изд., испр. - М.: ГЭОТАР-МЕД., 2004 - 780с.