

# Секс у низших форм жизни и его использование в молекулярной биологии: передача генов у бактерий

Нет сомнений, что вы провели не одну бессонную ночь, пытаясь найти ответ на вопрос: влюбляются ли бактерии? Существуют ли интимные отношения на уровне одной клетки (Рис. 8.1)?

Биологи считают, что секс способствует перетасовке генетической информации в надежде произвести потомство с комбинацией генов лучшей, чем у родителей. Поскольку микробиологи используют бактерии в качестве инструментов для переноса большинства клонированных генов, будь то гены кукурузы или тараканов, мы должны понимать, как бактерии передают генетическую информацию друг другу.

Прежде чем мы начнем, важно понять, что секс и воспроизводство это не одно и то же. У животных воспроизводство обычно подразумевает секс, однако у бактерий, и даже у растений, это два различных процесса

Бактерии размножаются путем **деления**. Сначала они копируют свою одну хромосому, а затем клетка удлиняется и делится ниже середины (как обсуждалось в главе 3). При этом не происходит пересортировки генов между двумя отдельными бактериями (что не является сексом), поэтому этот процесс называют асексуальным или вегетативным воспроизводством.

## Голая ДНК - трансформация

В самом общем смысле секс означает, что генетический материал передается от одного партнера другому. Таким образом, простейшая возможная версия секса выглядела бы, как передача чистого ДНК от одной клетки другой.

Хотите верить, хотите нет, но у бактерий это возможно. Бактериальные клетки могут поглощать молекулы ДНК в чистом виде и использовать переносимую ими генетическую информацию.

Это явление называется **трансформацией** (Рис. 8.2). Однако обратите внимание, что при трансформации не допускается действительного контакта между клетками.

### 8.1 СЕКС МЕЖДУ БАКТЕРИЯМИ



**деление** - простая форма размножения у бактерий; осуществляется путем разделения ниже середины

**трансформация** - изменение свойств бактериальной клетки в результате поглощения чистой ДНК

Трансформация впервые наблюдалась в 1944 году Освальдом Эвери. Это позволило ему доказать, что чистая ДНК несет в себе генетическую информацию, и поэтому гены состоят из ДНК. Эвери использовал ДНК, полученную из клеток, зараженных вирусом пневмонии. Он очистил ее и добавил в здоровые клетки того же вида бактерий. Некоторые здоровые клетки поглотили ДНК и превратились в вирулентные. Поэтому Эвери назвал этот процесс трансформацией

**Внимание:** Специалисты по раку используют тот же термин «трансформация» в отношении процесса превращения нормальной клетки в раковую, несмотря на то, что в большинстве случаев в такую клетку не поступает дополнительная ДНК.

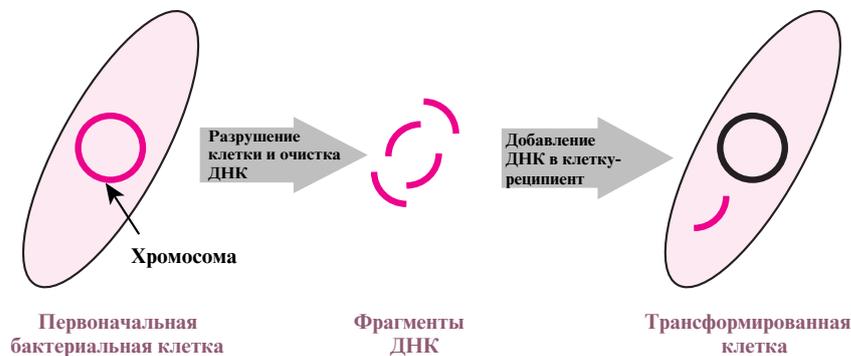
**компетентность** - способность поглотить чистую ДНК из внешней среды.

**электропоратор** устройство, используемое для воздействия током высокого напряжения на клетки, для того чтобы сделать их проницаемыми для ДНК

## Трансформация используется в генной инженерии

После того, как гены или другие полезные сегменты ДНК были клонированы в лабораторной пробирке, почти всегда необходимо поместить их в какую-нибудь бактериальную клетку для анализа или манипуляций. Таким образом, методы лабораторной трансформации являются важным инструментом в генной инженерии.

### 8.2 ПРИНЦИП ТРАНСФОРМАЦИИ

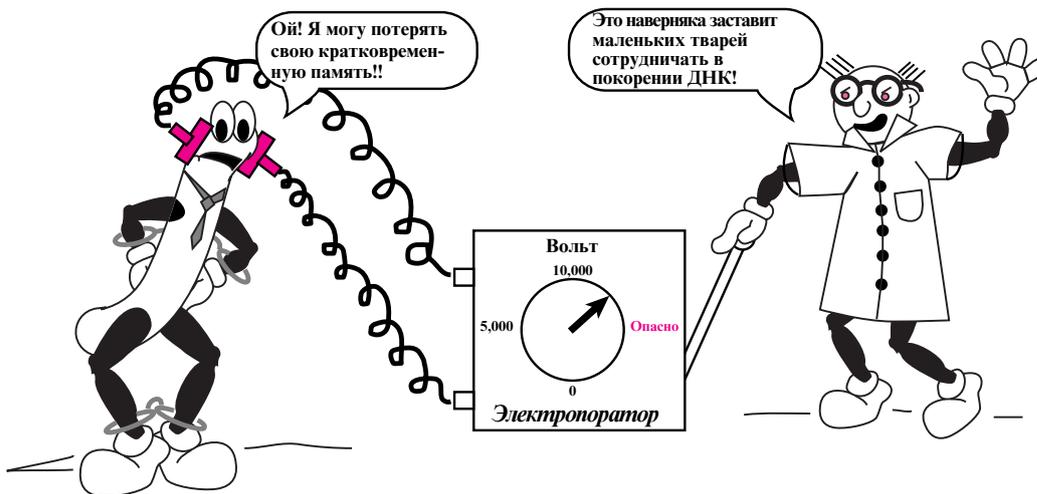


Некоторые бактерии с готовностью принимают внешнюю ДНК. Если они могут делать это, то их называют **«компетентными»**. Другие бактерии необходимо подвергнуть лабораторным мучениям, прежде чем они согласятся сотрудничать. Существует два способа сделать это, оба из них напоминают средства, применяемые для получения информации из политических заключенных или лечения душевнобольных на ранних стадиях заболевания. Старейший способ заключается в замораживании бактериальных клеток с применением химических веществ, разрушающих стенки клеток, и с последующим их резким нагреванием. В результате этого структура клеточных стенок изменяется, что позволяет огромной молекуле ДНК проникнуть в клетку. Современный, высокотехнологичный метод заключается в электрошоковой обработке. Бактерии помещаются в аппарат, который называется **«электропоратор»**, и подвергаются действию высоковольтного разряда. Вы можете увидеть эти бедные бактерии на рисунке 8.3.

### Реально происходящая трансформация

Происходит ли трансформация в реальной жизни? Да, возможно происходит, но только на очень низком уровне. Время от времени в натуральной среде обитания бактерии умирают и разлагаются. При этом они выпускают ДНК, которая может быть поглощена соседними клетками. Некоторые неряшливые бактерии просто берут себе старую ДНК, которую они находят неподалеку. На практике большинство бактерий нуждаются в некотором «дружеском убеждении», описанном выше, прежде чем они согласятся взять чужую ДНК.

### 8.3 ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ БЕСПОМОЩНОЙ БАКТЕРИИ



#### Что происходит с ДНК после поглощения?

Существует два возможных исхода: неудача или успех, которые с технической точки зрения называются **рестрикция** (см. Главу 9) и **рекомбинация** (см. Главу 5). Оба этих процесса относятся также к целому ряду других ситуаций, поэтому мы не будем подробно обсуждать эти понятия. Если говорить коротко:

**Рестрикция** - это разрушение поглощенной чужой ДНК. Большинство бактерий считают, что инородная ДНК, скорее всего, принадлежала врагу, такому как вирус, а не другу, и они разбивают ее на небольшие фрагменты с помощью так называемых **рестрикционных ферментов**. В таком случае трансформация заканчивается неудачей. Только ДНК, которые были **модифицированы** родственными бактериями, путем соответствующей химической метки, воспринимаются, как дружественные.

**Рекомбинация** - это физическое внедрение некоторых поступающих ДНК в бактериальную хромосому (Рис. 8.4). Если это произошло, некоторая часть собственной генетической информации

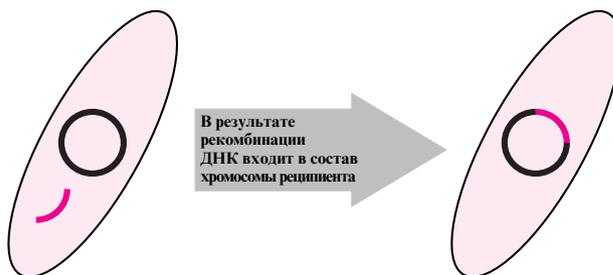
**рестрикция** - разрушение бактериальной клеткой входящей инородной ДНК

**рекомбинация** - слияние генов двух различных молекул ДНК (см. Главу 5)

**рестрикционный фермент** - фермент, разделяющий ДНК в середине цепи и в определенном месте цепи

**модифицированная** - относится здесь к ДНК, помеченной химически с помощью добавления метильных групп, сигнализирующих, что это ДНК родной клетки

#### 8.4 РЕКОМБИНАЦИЯ ВХОДЯЩЕЙ ДНК



заменяется генами из поглощенной ДНК и бактерии постоянно трансформируются. Первоначальная версия этих генов утрачивается. Если какой-либо ген проникает в бактериальную клетку на фрагменте линейной ДНК, он должен быть рекомбинирован на родной хромосоме, чтобы выжить. Если входящая ДНК является частью **плазмиды**, которая может копироваться сама по себе, то ее рекомбинации на хромосоме не требуется.

**плазмида** - кольцевая молекула двойной спирали ДНК, которая копируется независимо от хромосом клетки

На практике считается более удобным избегать рекомбинации. Соответственно, микробиологи обычно помещают гены, с которыми они работают, в плазмиды (см. Главу 9 об использовании плазмид в генной инженерии).

### Путешествие вируса автостопом - трандукция

Когда вирус успешно заражает бактериальную клетку, он производит больше вирусных частиц, каждая из которых должна содержать новую копию собственных генов вируса. Но жизнь редко бывает совершенной, и в ней время от времени случаются ошибки, даже с пронырливыми вирусами. Иногда вместо вирусной ДНК в вирусную частицу попадает бактериальная ДНК. С точки зрения вируса, это приводит к образованию дефектной частицы. Тем не менее, такой вирус, несущий бактериальную ДНК, может продолжить заражение еще одной бактериальной клетки. В таком случае, вместо впрыскивания в нее вирусных генов, он введет в нее ДНК от предыдущей бактериальной жертвы. Эта ДНК может быть уничтожена в процессе рестрикции или присоединена путем рекомбинации, как в случае трансформации (см. выше). Если она успешно встраивается, значит произошла **трандукция**.

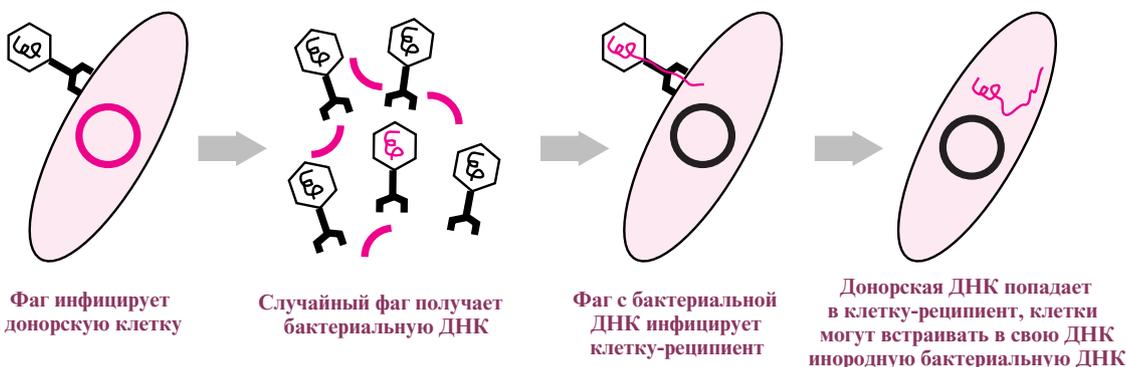
Бактериальные генетики ежедневно осуществляют перенос генов между различными бактериями путем трандукции с использованием бактериальных вирусов, которые называются **бактериофагами** (или **фагами** для сокращения). Если колонии бактерий сходны по строению, входящая ДНК воспринимается как «дружественная» и не уничтожается в процессе рестрикции. На практике трандукция является самым простым способом заменить несколько генов одной линии бактерий родственными.

Для осуществления трандукции бактериофаги выращиваются на культуре донорской бактериальной колонии. Эти бактерии разрушаются фагами, и после них остается лишь ДНК, несущая несколько их генов и содержащаяся внутри частиц фагов. Этот образец фага может храниться в холодильнике на протяжении недель или месяцев, прежде чем он будет использован, также как глубоко замороженная сперма используется в искусственном осеменении. Позднее эти фаги смешиваются с реципиентной колонией бактерий, и так вводится ДНК. Большинство реципиентов получают подлинную ДНК фага и погибают. Однако другие получают ДНК донорской бактерии и успешно трансдуцируются (Рис. 8.5).

**трандукция** - перенос генов от одной клетки к другой внутри вирусных частиц

**бактериофаг** или **фаг** - вирус инфицирующий бактерию

### 8.5 МЕХАНИЗМ ОБЩЕЙ ТРАНСДУКЦИИ



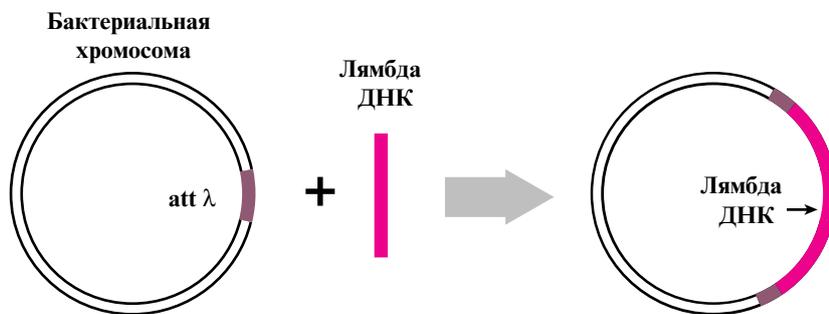
Самый известный пример - это использование фагов для трансдукции самой любимой бактерии микробиологов *Escherichia coli*. Различные бактериофаги ведут себя по-разному. Два самых любимых бактериофага - это **Р1** и **лямбда**.

В **обобщенной трансдукции** вирус подбирает случайные фрагменты бактериальной ДНК; например, бактериофагом Р1. Все бактериальные гены имеют равные шансы для переноса. Р1 совершает ошибку, упаковывая бактериальную ДНК вместо своей собственной, только примерно каждые 10 000 раз. (Не смейтесь! Вы сами не сможете ничего сделать с такой же точностью, впрочем, как и я.)

Каждая частица Р1 может нести 90 kb ДНК, что составляет около 2% бактериальной хромосомы. Поэтому каждый отдельный ген будет трансдуцирован одним из 500000 частиц Р1, произведенных любым вирусом. На практике типичный образец Р1 содержит около тысячи миллионов вирусных частиц на один миллилитр, поэтому трансдукция проходит успешно.

В **специализированной трансдукции** предпочтение отдается определенным специфическим участкам бактериальной хромосомы. Например, когда бактериофаг лямбда (для прилежных учеников  $\lambda$ ) оказывает действие на *E.coli*, он иногда вводит свою ДНК в бактериальную хромосому (Рис. 8.6). Это происходит на отдельном специфическом участке, известном как **участок присоединения лямбда (*att*  $\lambda$ )**.

### 8.6 ВВЕДЕНИЕ ЛЯМБДА В ХРОМОСОМУ



Когда лямбда размножается, первоначальная донорская клетка разрушается, и производится несколько сотен вирусных частиц, содержащих лямбда ДНК. Тем не менее, также как и в случае Р1, маленькая группа вирусных частиц в результате получает в качестве содержимого бактериальную ДНК. Но существует два отличия от случая Р1. Во-первых, **трансдуцируемые частицы** содержат смесь лямбда ДНК и хромосомной ДНК. Во-вторых, только гены хромосомы, расположенные вслед за участком присоединения лямбда, трансдуцируются лямбда (Рис.8.7).

**Хорошо, но существует ли у бактерий настоящий секс?**

**\*\*Предупреждение:** Этот раздел запрещается читать детям младше 13 лет, однако дети могут его читать под присмотром ответственного взрослого!!\*\*

Мы рассказали вам о голой ДНК и вирусной передаче генетической информации. Но вы можете спросить, а как насчет настоящего сексуального контакта между бактериями?

#### **бактериофаг Р1** -

вирус, заражающий бактерию *E. coli*, и который широко используется бактериальными генетиками для трансдукции

#### **бактериофаг лямбда**

(или  $\lambda$ ) - вирус бактерии *E. coli*, который иногда используется для трансдукции, но чаще используется в качестве вектора клонирования в генной инженерии

#### **обобщенная**

#### **трансдукция** -

трансдукция, при которой переносимые гены подбираются случайно

90 килобайт это 90000 пар оснований ДНК. Поскольку бактериальные гены приблизительно имеют длину 1000 пар оснований, 90 kb ДНК может нести 90 генов

#### **специализированная**

#### **трансдукция** -

трансдукция, в которой переносятся несколько специально отобранных генов

#### **участок**

#### **присоединения лямбда**

(*att*  $\lambda$ ) - особый участок хромосомы *E. coli*, на котором К фаг вводит свою ДНК

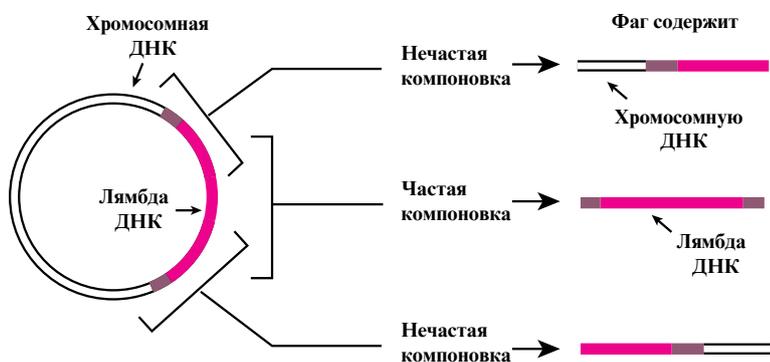
#### **трансдуцируемая**

#### **частица** -

вирусная частица, содержащая ДНК родной клетки вместо собственных генов вируса

В современной генной терапии иногда используется специализированная трансдукция. Человеческий вирус, который с помощью генной инженерии делается безопасным, содержит здоровую версию человеческого гена. В результате он может быть использован для инфицирования жертвы наследственного заболевания. См. Гл. 15, где приводятся некоторые примеры.

## 8.7 СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ТРАНСДУКЦИЯ ЛЯМБДЫ



**конъюгация** - передача генов между бактериями путем непосредственного контакта между клетками

**секс пилус** - длинная, тонкая, спиральная белковая трубка, которую мужская клетка использует, чтобы захватить и удержать женскую клетку

**конъюгационная перемычка** - канал, с помощью которого соединяются спаривающиеся бактерии, и через который передается ДНК

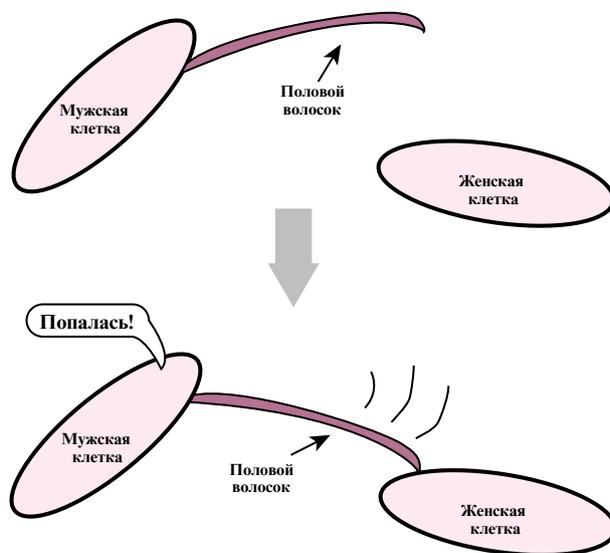
**система переноса (tra)** - группа генов, кодирующих способность плазмиды передаваться от одной клетки другой

**плазмида** - кольцевая молекула двунитовой спиральной ДНК, которая реплицируется независимо от хромосомы клетки носителя

Без ложной скромности скажем, что да - секс между бактериями существует, и он называется **конъюгация**. В конъюгации участвуют две клетки, женская, или клетка реципиент, и мужская, или клетка донор. Мужская клетка имеет удлинённый, полый, трубчатый орган, который называется **секс пилус** (половой волосок). Какой стыд! Однако этот пилус не то что вы думаете! Мужская клетка использует пилус в качестве крючка, чтобы захватить женскую клетку и притянуть ее, также как шлюпочный крюк

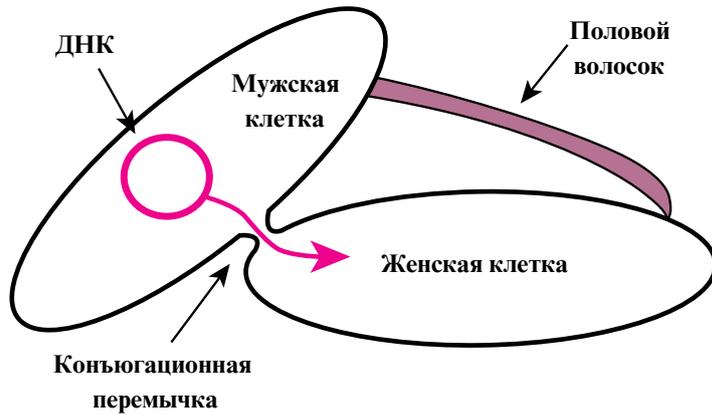
используется, чтобы притянуть шлюпку (Рис. 8.8). Затем эти две клетки образуют **конъюгационную перемычку**, где они соприкасаются (Рис.8.9), и ДНК переходит из мужской клетки в женскую. На практике, спаривающиеся бактерии прижимаются друг к другу группами от 5 до 10.

## 8.8 ОБРАЗОВАНИЕ СКРЕЩИВАЮЩИХСЯ ПАР



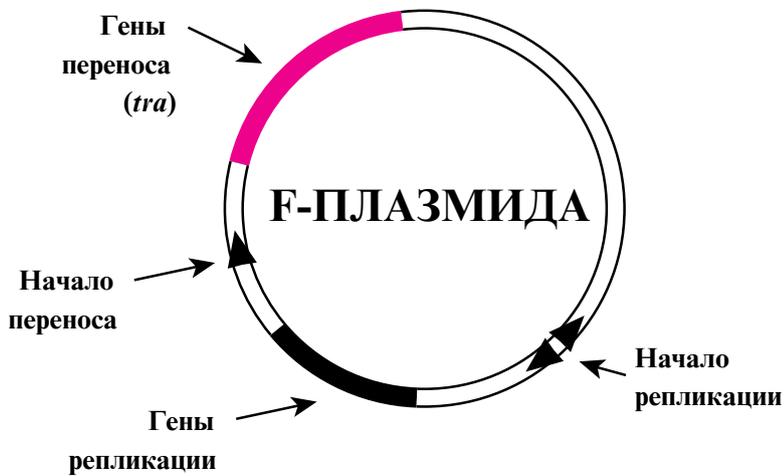
Бактерии в основном являются женскими особями. Для того, чтобы бактерия была мужской особью, ей требуется особый механизм для усовершенствования. Он известен, как **система переноса (tra)** и гены для этой системы расположены на отдельной молекуле ДНК, которая называется **плазмида**. Плазмиды представляют собой кольцевые молекулы ДНК, которые могут реплицироваться в бактериальных клетках, как миниатюрные хромосомы. Тем не менее, они гораздо меньше бактериальных хромосом и не важны для роста и выживания клетки в нормальных условиях. Плазмиды могут переносить множество генов, которые дают содержащей их бактерии дополнительные способности.

8.9 ОБРАЗОВАНИЕ КОНЬЮГАЦИОННОЙ ПЕРЕМЫЧКИ



Плазмиды, делающие клетку мужской, называются **плазмидами плодородия**; наиболее известная из них это **F-плазида** бактерии *E.coli*, которая показана на Рисунке 8.10. Иногда мужские/донорские клетки, называют F+, а женские клетки/реципиенты - F-, чтобы показать, что их роль в коньюгации определяется наличием или отсутствием F-плазмиды.

8.10 F-ПЛАЗМИДА С TRA СИСТЕМОЙ



**Репликация во время передачи плазмиды**

Мы говорили о передаче плазмиды так, как будто бы целая F-плазида просто покидает первоначальную мужскую клетку и переходит в клетку реципиент. В действительности передается только одна нить ДНК F-плазмиды. Это происходит следующим образом (Рис.8.11):

- 1) Одна из двух нитей двунитевой ДНК F-плазмиды раскрывается в месте **начала переноса**.
- 2) Эта линейная одиночная нить ДНК переходит по коньюгационной перемычке в женскую клетку.
- 3) Неповрежденная одностренивая кольцевая ДНК F-плазмиды остается внутри донорской клетки. Она используется в качестве

**плазида плодородия**

- тип плазмиды, наделяющий содержащую его бактерию способностью спариваться

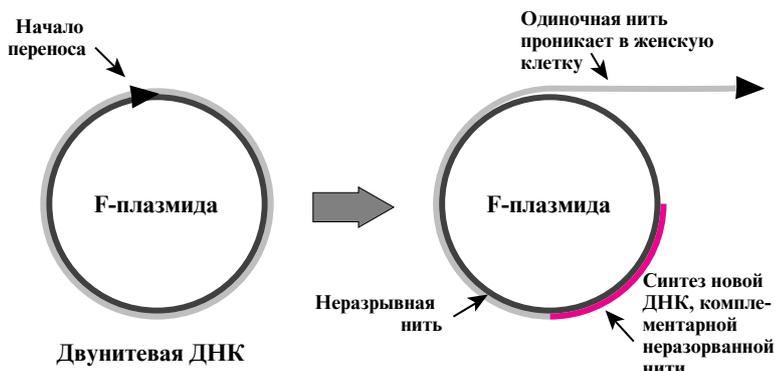
**F-плазида**

- определенная плазида плодородия, наделяющая способностью спариваться несущую ее бактерию *Escherichia coli*

**начало переноса**

**(oriT)** - участок на плазмиде, где ДНК надрывается непосредственно перед началом передачи. Начало переноса входит в клетку-реципиент первым.

### 8.11 F-ПЛАЗМИДА РЕПЛИЦИРУЕТ ВО ВРЕМЯ КОНЬЮГАЦИИ



образца для синтеза новой второй нити для замены только что переданной нити.

4) Когда линейная одиночная нить ДНК F-плазмиды входит в женскую клетку, создается новая комплементарная нить ДНК с использованием переданной нити в качестве образца.

Этот процесс имеет один действительно странный результат - когда женская клетка

получает F-плазмиду, она становится F+, то есть мужской клеткой! Соответственно, бактерии остаются вместе еще меньше времени, чем длится большинство голливудских браков!

#### Как передаются гены хромосом?

Хотя многие плазмиды позволяют своим клеткам-носителям спариваться, обычно только сама плаزمида передается через конъюгационную перемычку. Гораздо реже плазмиды способны переносить вместе с собой гены хромосомы носителя, когда они переходят из одной бактериальной клетки в другую.

Для того, чтобы передать хромосомные гены, плазмида должна сначала физически интегрироваться в хромосому бактерии.

Процесс интеграции требует наличия пар идентичных (или очень похожих) последовательностей ДНК, одной - на плазмиде и другой - на бактериальной хромосоме. Существует целый ряд различных возможных последовательностей инсерции или IS-последовательностей (см. Главу 20).

Хромосома *E. coli* имеет семь копий IS1, 13 копий IS2 и шесть копий IS3, разбросанных по ней в достаточно случайном порядке. F-плазмиды, размер которой примерно 1/50 хромосомы, имеет три инсерционных последовательности (Рис. 8.12). Две из них являются идентичными копиями IS3, а третья - является единственной копией IS2. Соответственно, интеграция F может произойти на участках IS2 или IS3, при этом на хромосоме разбросано всего 19 точек. Интеграция F-плазмиды может произойти в любом направлении (Рис. 8.13).

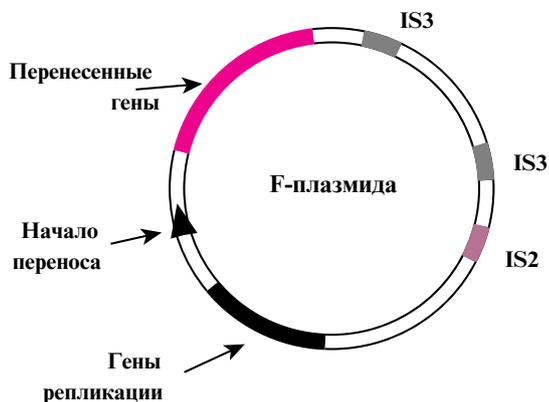
Когда F-плазмиды, интегрировавшаяся в хромосому, передается при конъюгации, она переносит с собой хромосомные гены, к которым она присоединена (Рис. 8.14). (Как и раньше, переходит только одна нить ДНК и клетка реципиент вынуждена сама создавать комплементарную нить).

Соответственно, бактериальные нити с F-плазмидой, интегрированной в хромосому, называются **Hfr-нитями**, поскольку они переносят хромосомные гены с высокой частотой.

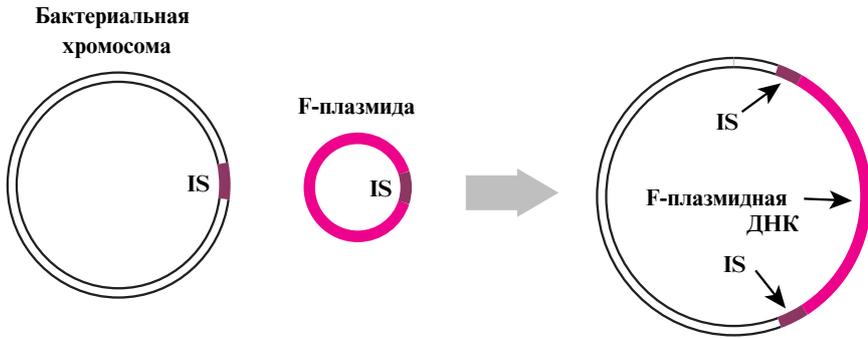
Для передачи всей хромосомы требуется спаривание продолжительностью 90 минут.

**последовательности инсерции** или **IS-последовательности** - особые мобильные отрезки ДНК. Интеграция плазмиды может произойти в совпадающих IS-последовательностях

### 8.12 ВНЕДРЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В F-ПЛАЗМИДУ



**8.13 F-ПЛАЗМИДА ПРОНИКАЕТ В БАКТЕРИАЛЬНУЮ ХРОМОСОМУ**



**Hfr-нить** - бактериальная нить с интегрированной в хромосому F-плазмидой, способствующим высокочастотной передаче хромосомных генов

**передаваемая сопротивляемость к антибиотикам** - сопротивляемость к антибиотикам, передаваемая плазмидами

Чаще всего бактерии разъединяются через более короткое время, примерно от 15 до 30 минут, и переносится только часть хромосомы. Поскольку в различных Hfr-нитях F-плазмиды вставлены в разных местах бактериальной хромосомы, они начинают перенос хромосомных генов в разных точках.

**8.14 КОНЬЮГАЦИОННЫЙ ПЕРЕНОС ХРОМОСОМНОЙ ДНК**



**R-плазмиды** или **R-факторы** - плазмиды, наделяющие бактерий - носителей способностью противостоять действию антибиотиков

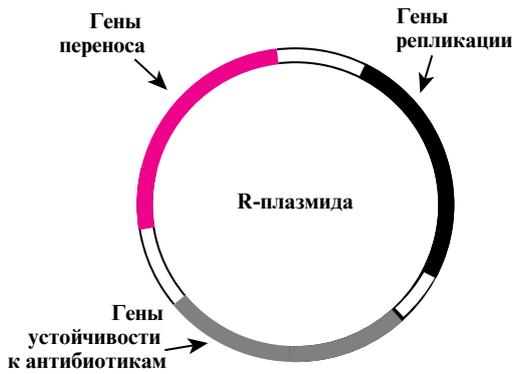
**Шигелла** - бактерия, вызывающая одну из форм дизентерии

**Как были обнаружены плазмиды?**

Плазмиды были впервые обнаружены в японских бактериях вскоре после окончания Второй Мировой Войны. Они были причиной **передаваемой сопротивляемости к антибиотикам**. Дизентерия, вызванная бактериями, первоначально лечилась сульфонидами, ранним типом антибиотиков. Тем не менее, вскоре люди вновь оказались в опасности, так как появилась бактерия, способная противостоять действию антибиотиков! Но во много раз хуже было то, что если появлялась сопротивляемость, она с высокой частотой передавалась от одной нити бактерии к другой. Оказалось, что гены, ответственные за сопротивляемость к антибиотикам передавались от одной бактерии к другой на плазмидах. Плазмиды, вызывающие сопротивляемость к антибиотикам, называются **R-плазмидами** или **R-факторами** (Рис. 8.15).

К 1953 году, когда Уотсон и Крик открыли двойную спираль, 80% дизентерийных бактерий **Шигелла**, обнаруженных в Японии, выработали устойчивость к сульфонидам. Одна плазмида может нести в себе гены, ответственные за способность сопротивляться более, чем одному антибиотику. К 1969 году треть бактерий Шигелла в Японии могли противостоять действию четырех антибиотиков: сульфонидамов, хлорамфеникола, тетрациклина и стрептомицина.

### 8.15 ТИПИЧНАЯ R-ПЛАЗМИДА



Основным фактором в распространении плазмид сопротивляемости среди бактерий является практика добавления антибиотиков в корм свиней и кур для повышения прироста мяса.

**множественная сопротивляемость к антибиотикам** - одновременная сопротивляемость к нескольким антибиотикам, часто переносимая одной плазмидой

**вегетативная репликация** - тип репликации, возникающий при отсутствии переноса плазмид

Сегодня перенос плазмид с **множественной сопротивляемостью к антибиотикам** между бактериями стал основной клинической проблемой. Пациенты с инфекционными заболеваниями после хирургических операций или тяжелыми ожогами, в которые попала инфекция, подвержены наибольшему риску.

### Основные свойства плазмид

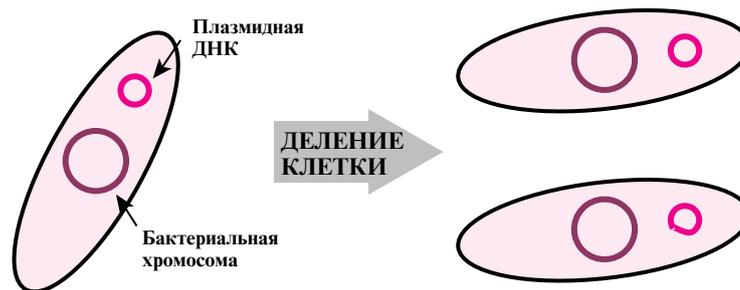
Плазмиды представляют собой кольцевые молекулы ДНК, способные реплицироваться независимо от бактериальной хромосомы. Они могут размножаться только внутри материнской бактериальной клетки. Они несут гены для управления своих собственных жизненных

циклов, а также обычно гены, влияющие на свойства материнской клетки. Эти свойства значительно варьируются от плазмиды к плазмиде, при этом самое известное свойство - сопротивляемость к различным антибиотикам.

Благодаря своим уникальным свойствам, плазмиды бесценны для микробиологов и используются для передачи генов в генной инженерии. Соответственно, множество плазмид, модифицированных для различных целей, широко используется во всех микробиологических лабораториях.

Когда содержащая плазмиду клетка делится, данная плазмида должна тоже делиться. Плазмида реплицирует себя параллельно с материнской хромосомой, поэтому при делении клетки каждая дочерняя клетка получает копию этой плазмиды, а также копию своей собственной хромосомы (Рис. 8.16). Эта **вегетативная репликация** в значительной мере отличается от типа репликации, происходящей во время передачи плазмиды (см. выше). Вегетативная репликация начинается в точке *oriV*, начальная точка вегетативной репликации, которая расположена на плазмиде в другом месте по сравнению с *oriT* - начальной точкой переноса. Все плазмиды должны иметь вегетативное свойство, поскольку они должны делиться, чтобы выжить. Однако специфичное начало переноса имеется только у тех плазмид, которые способны переносить себя.

### 8.16 ПЛАЗМИДЫ РЕПЛИЦИРУЮТСЯ ОДНОРЕМЕННО С ДЕЛЕНИЕМ КЛЕТКИ



**Серия материнских бактерий** для плазмид очень разнообразна. Некоторые плазмиды ограничиваются несколькими родственными бактериями; например, F-плазмида может содержаться только в бактериях *E. coli* и в родственных **кишечных бактериях**, таких как Шигелла и Сальмонелла. Другие плазмиды имеют широкую серию материнских бактерий; например, плазмиды R-семейства могут жить в сотнях различных типах бактерий.

Плазмиды Р-типа первоначально были обнаружены в бактериях Псевдомонас (*Pseudomonas*), которые иногда инфицируют пациентов с тяжелыми ожогами. Они часто отвечают за сопротивляемость к многим антибиотикам, включая пенициллины.

Когда плазмида поселяется в бактериальной клетке, она начинает ревностно охранять свою материнскую бактерию. Живущая в бактериальной клетке плазмида не подпускает к ней других родственных плазмид. Таким образом, две плазмиды, принадлежащие одному семейству, не могут мирно сосуществовать в одной бактериальной клетке. Это явление называется **несовместимостью** (Рис. 8.17), а такие семейства называются **группами несовместимости** и обозначаются различными буквами; например, плазмиды F-типа включают F-плазмиду и родственные ей плазмиды. Плазмиды из одной группы несовместимости имеют почти идентичные последовательности ДНК в копируемых генах, несмотря на то, что их гены, предназначенные для различных функций, могут сильно отличаться.

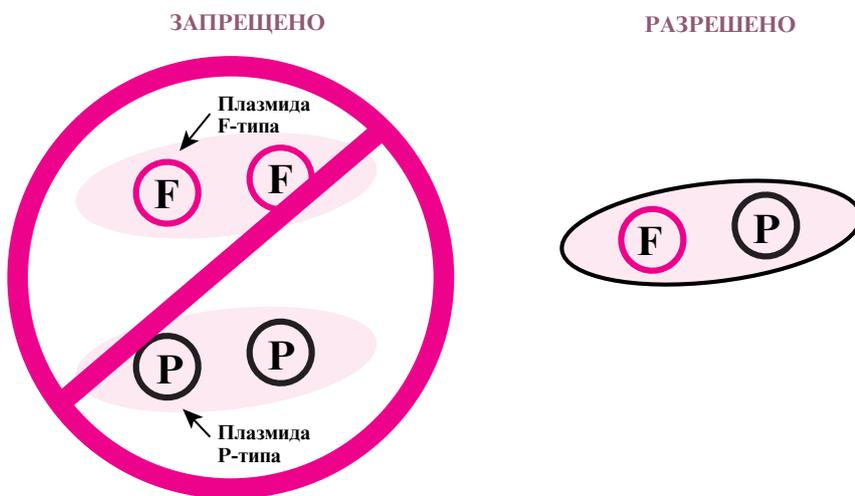
Вполне возможно, что в одной клетке могут быть две или даже больше плазмид, но при условии, что они принадлежат к разным семействам. Поэтому плазмиды Р-типа прекрасно уживаются в одной клетке с плазмидами F-типа.

Термин **число копий** говорит сам за себя, то есть это количество копий плазмид в каждой бактериальной клетке. Обычно на одну хромосому приходится одна или две плазмиды (как в примере с F- и Р-плазмидами), но в некоторых случаях их количество может достигать 50 и более (как в случае **ColE-плазмид**).

Число копий оказывает определяющее влияние на степень выраженности порожденных плазмидами характеристик, особенно на их сопротивляемость к антибиотикам. Чем больше число копий плазмиды приходится на одну клетку, тем больше будет экземпляров генов, ответственных за сопротивляемость к антибиотикам и тем выше будет итоговый уровень сопротивляемости к антибиотикам.

Размер плазмид сильно варьирует. Размер F-плазмид относительно средний, и составляет примерно 1% от размера хромосомы *E. coli*. Большинство высококопийных плазмид гораздо меньше (ColE-плазмиды имеют размер 10% от размера F-плазмиды). Иногда встречаются очень крупные плазмиды, достигающие до 10% размера хромосомы, но с ними трудно работать и немногие из них были охарактеризованы надлежащим образом.

### 8.17 НЕСОВМЕТИМОСТЬ ПЛАЗМИД



**серия материнских бактерий** - ряд бактерий различных типов, которые могут быть инфицированы плазмидой (или вирусом)

**кишечные бактерии** - семейство родственных бактерий, часто содержащихся в кишечнике животных

**несовместимость** - неспособность двух родственных плазмид сосуществовать в одной бактериальной клетке

**группа несовместимости** - семейство родственных плазмид. Два представителя одного семейства не могут одновременно жить в одной клетке

**число копий** - число копий плазмиды в каждой материнской клетке

**ColE-плазмида** - небольшая, высококопийная плазмида, несущая гены токсина, известного под названием колицин E (см. Главу 20)

Плазмиды, такие как ColE-плазмида, с высококопийным числом очень распространены в генной инженерии, поскольку они производят гораздо больше копируемых элементов

**переносимость** - способность плазмиды перемещаться от одной клетки к другой

**способность к переносу** - способность небольшой плазмиды перемещаться в другую бактериальную клетку при помощи самопередающейся плазмиды

## Перенос плазмид

**Переносимость** - это способность определенных плазмид передаваться из одной бактериальной клетки в другую. Для этого им требуется произвести секс пилус и образовать конъюгационный мост с подходящей клеткой-реципиентом. Многие плазмиды среднего размера, такие как плазмиды F- и R-типов, могут это делать и называются Tra+ (перенос положительный).

Поскольку передача плазмиды требует действия большого количества генов, только средние или крупные плазмиды обладают этой способностью. Очень мелкие плазмиды, такие как ColE-плазмиды, просто не имеют достаточно ДНК для переноса необходимых генов.

Несмотря на то, что мелкие плазмиды не могут передаваться сами, они иногда могут перейти вместе с более крупными экземплярами плазмид, что называется **способностью к переносу**.

Например, плазида ColE1 может быть перемещена F-плазмидой.. Некоторые, но не все неперемещающиеся самостоятельно плазмиды могут переноситься другими.

Теперь, когда мы можем перемещать гены между бактериями, давайте обратимся к настоящей генной инженерии. В следующей главе мы действительно клонируем некоторые гены. Наконец-то!!

## Дополнительная литература

*Microbial Genetics* by Maloy SR, Cronan JE, & Freifelder D. 2<sup>nd</sup> edition, 1994. Jones & Bartlett Publishers, Boston & London.

*Bacterial and Bacteriophage Genetics* by Birge EA. 3<sup>rd</sup> edition, 1994. Springer-Verlag, New York, Berlin & Heidelberg.