

**МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ
БАКТЕРИЙ.
*КОНЪЮГАЦИЯ.
ТРАНСФОРМАЦИЯ.
ТРАНСДУКЦИЯ***

Лектор: к.м.н. Буянова Н.И.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

1. Мясопептонный агар - МПА 1,5%
2. Мясопептонный бульон
3. Среда Эндо
4. «Мягкий» агар (50% МПА + 50% МПБ)
5. «Полужидкий» агар (20% МПА + 80% МПБ)
6. Минимальная среда (бактоагар + минимальные соли + 40% глюкоза + аминокислоты)

E. COLI

- ⦿ Род - *Escherichia*
- ⦿ Семейство - *Enterobacteriaceae*
- ⦿ Порядок - *Enterobacteriales*

E. COLI



ФОРМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА

Конъюгация

Трансформация

Трансдукция

КОНЪЮГАЦИЯ

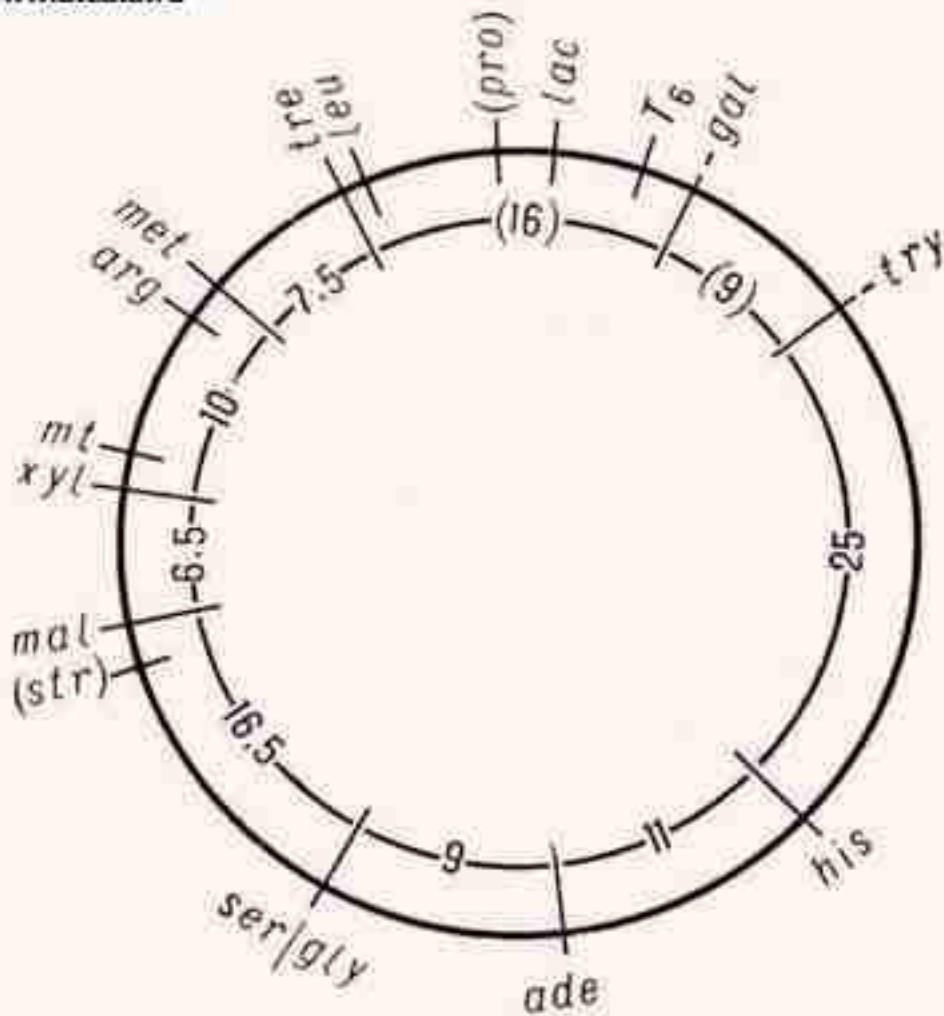
Конъюгация - это перенос фрагмента ДНК от донорских бактериальных клеток к реципиентным при непосредственном контакте этих клеток

СКРЕЩИВАНИЯ

- ◎ $F^+ \times F^-$ - фертильные скрещивания
- ◎ $F^+ \times F^+$ - фертильные скрещивания
- ◎ $F^- \times F^-$ - стерильные скрещивания

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА

www.alcala.ru



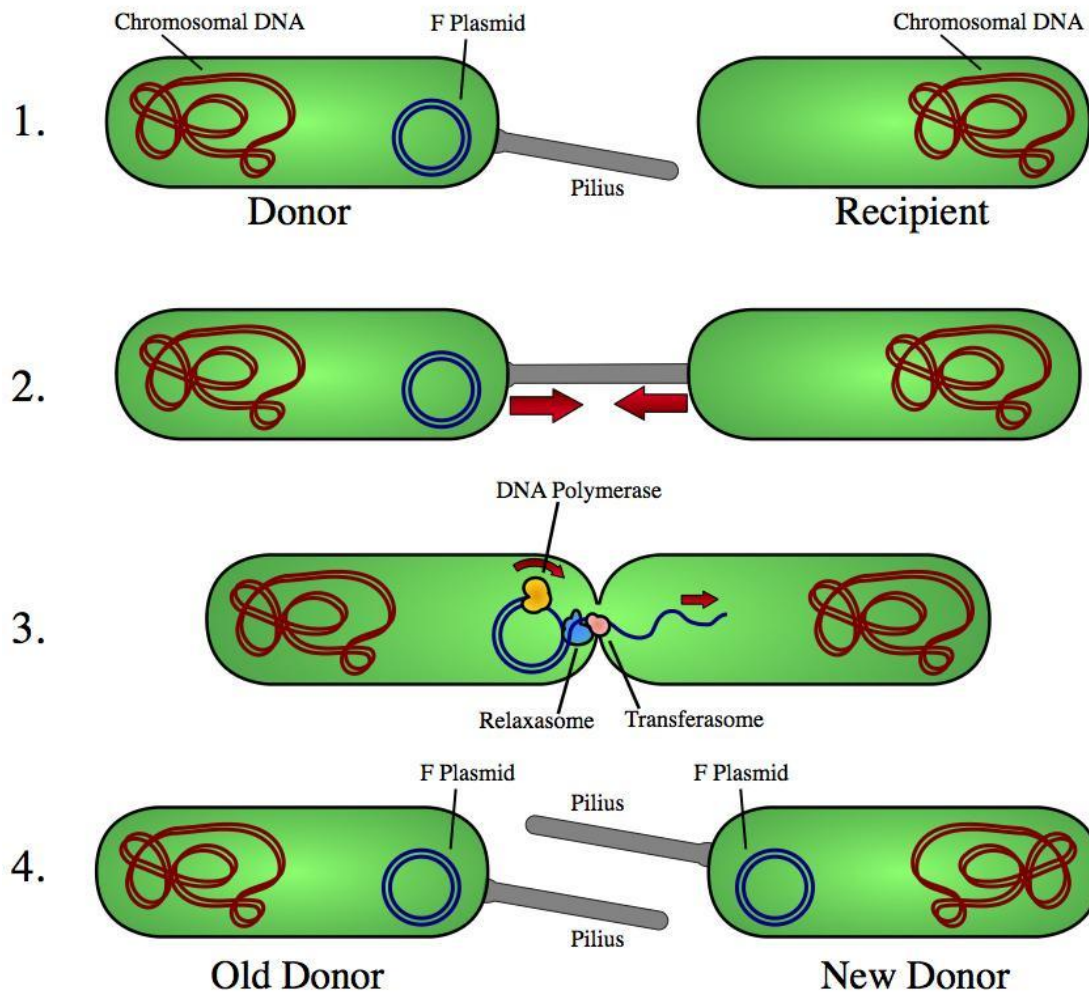
ХАРАКТЕРИСТИКА ДОНОРСКИХ ШТАММОВ

Hfr	F ⁺
Высокая частота передачи хромосомных маркеров	Более низкая частота передачи хромосомных маркеров
Интегрированное состояние - включен в бактериальную хромосому	Автономное состояние - независим от репликации бактериальной хромосомы
При обработке клеток акридиновыми красителями половой фактор не элиминируется	Половой фактор может быть удален при обработке клеток акридиновыми красителями
Передают половой фактор с очень низкой частотой	Половой фактор передается с высокой частотой

СТАДИИ КОНЪЮГАЦИИ

1. Столкновение клеток и прикрепление клетки-донора к реципиенту
2. Формирование конъюгационного мостика
3. Переход одной нити ДНК в реципиентную клетку
4. Репликация нити ДНК

КОНЪЮГАЦИЯ



КОНЪЮГИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

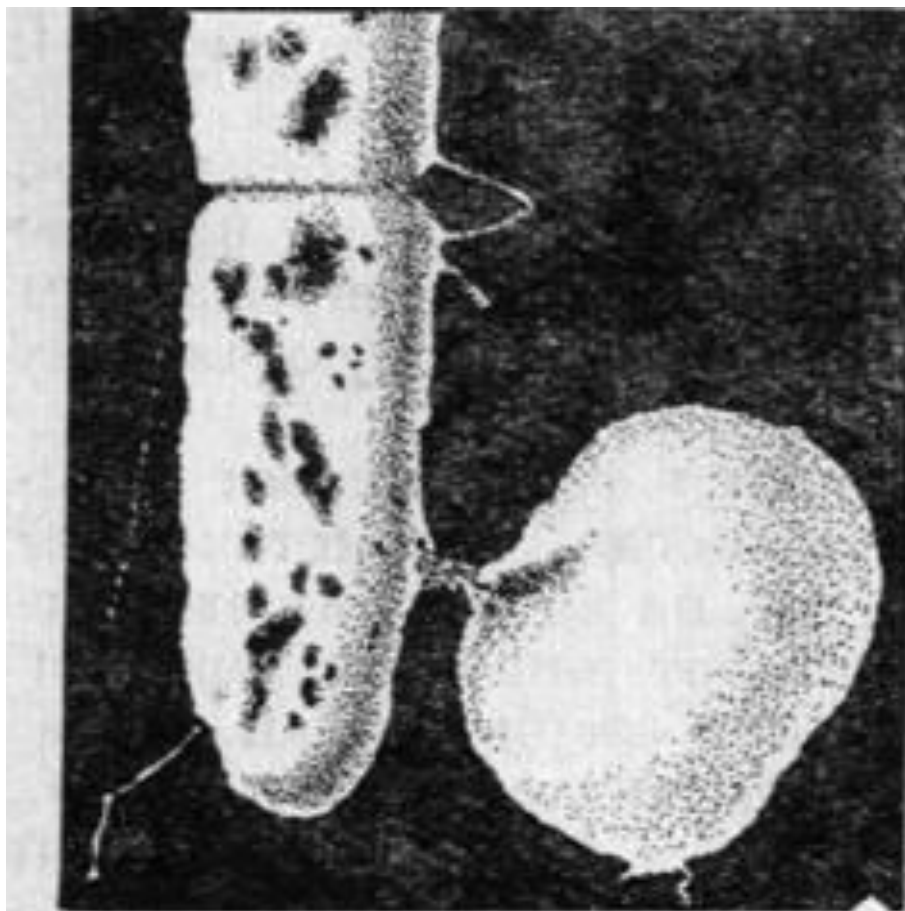
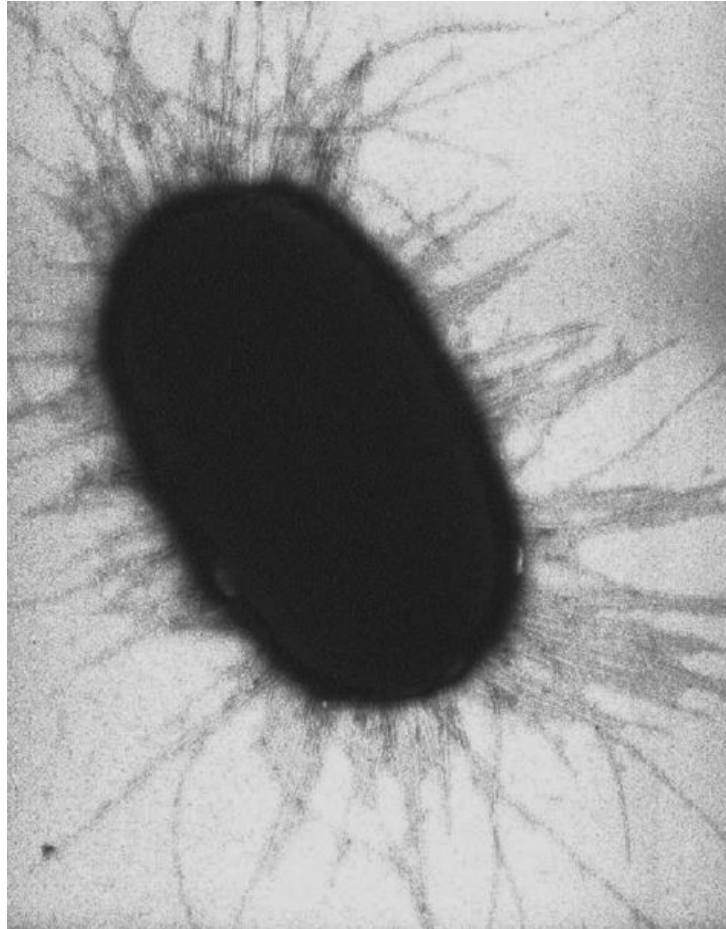


Рис. 58. Электронномикроскопическое изображение двух конъюгирующих клеток кишечной палочки.

E. COLI С ПЕРИТРИХИАЛЬНО РАСПОЛОЖЕННЫМИ МНОГОЧИСЛЕННЫМИ ПИЛЯМИ



ВИДЫ ПИЛЕЙ

Тонкие гибкие пили
(диаметр около 6 нм)

Плазмиды групп I, B, K

Толстые гибкие пили
(диаметр около 9 нм)

Плазмиды групп C, B, FII,
HI, H2, J, T, V, X

Прямые жесткие
(ригидные) пили

Плазмиды групп M, N, P,
W, U

F-ПОДОБНЫЕ ФАГИ

ДНК-содержащие	нитевидные	Прикрепляются к верхушке (концевой части) пили	f1, fd. M13
РНК-содержащие	изометрические	Локализуются на боковой поверхности пили	f2. MS2, Q β , M12, R17 и др.

I-ПОДОБНЫЕ ФАГИ

Адсорбируются на половых фимбриях, синтезируемых у I-подобных плазмид

If1, If2

ФУНКЦИИ ПИЛИ

- Установление контакта между донорской и реципиентной клетками.
- Облегчают перенос нити ДНК (она, вероятно, протаскивается через ворсинку)
- Стягивают спаривающиеся клетки, что повышает эффективность конъюгации

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СПАРИВАНИЕ КЛЕТОК

температура	Выход рекомбинантов (%)
44 ⁰ C	25%
32 ⁰ C	80%
25 ⁰ C	6%
4 ⁰ C	1%
37 ⁰ C	100%

ТРАНСФОРМАЦИЯ

Направленные генетические изменения, возникающие в результате переноса генетического материала организма-донора организму-реципиенту.

ХАРАКТЕРИСТИКА S-R-ФОРМ

S-форма (гладкая)

R-форма (шероховатая)

вирулентность

авирулентность

Наличие мукополисахаридной капсулы (выполняет функции осмотического барьера)

Отсутствие защитной мукополисахаридной капсулы

При кипячении бактерии не выпадали в осадок (при 100°C в течение 2-часов)

При кипячении бактерии образовывали осадок

КАПСУЛА ПНЕВМОКОККА

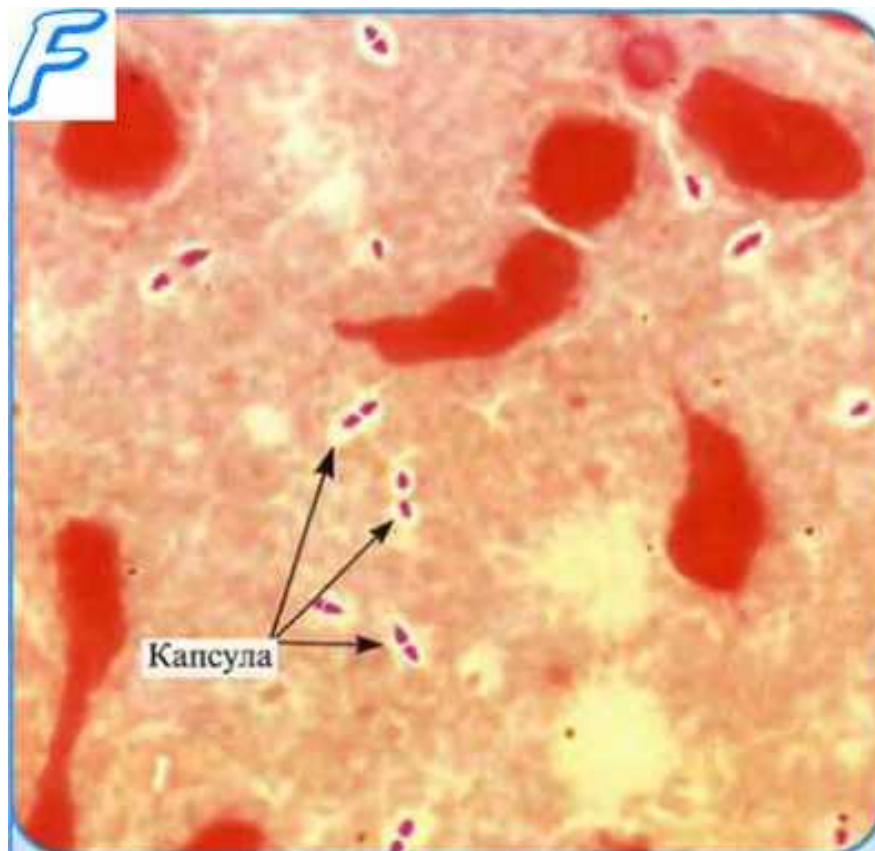
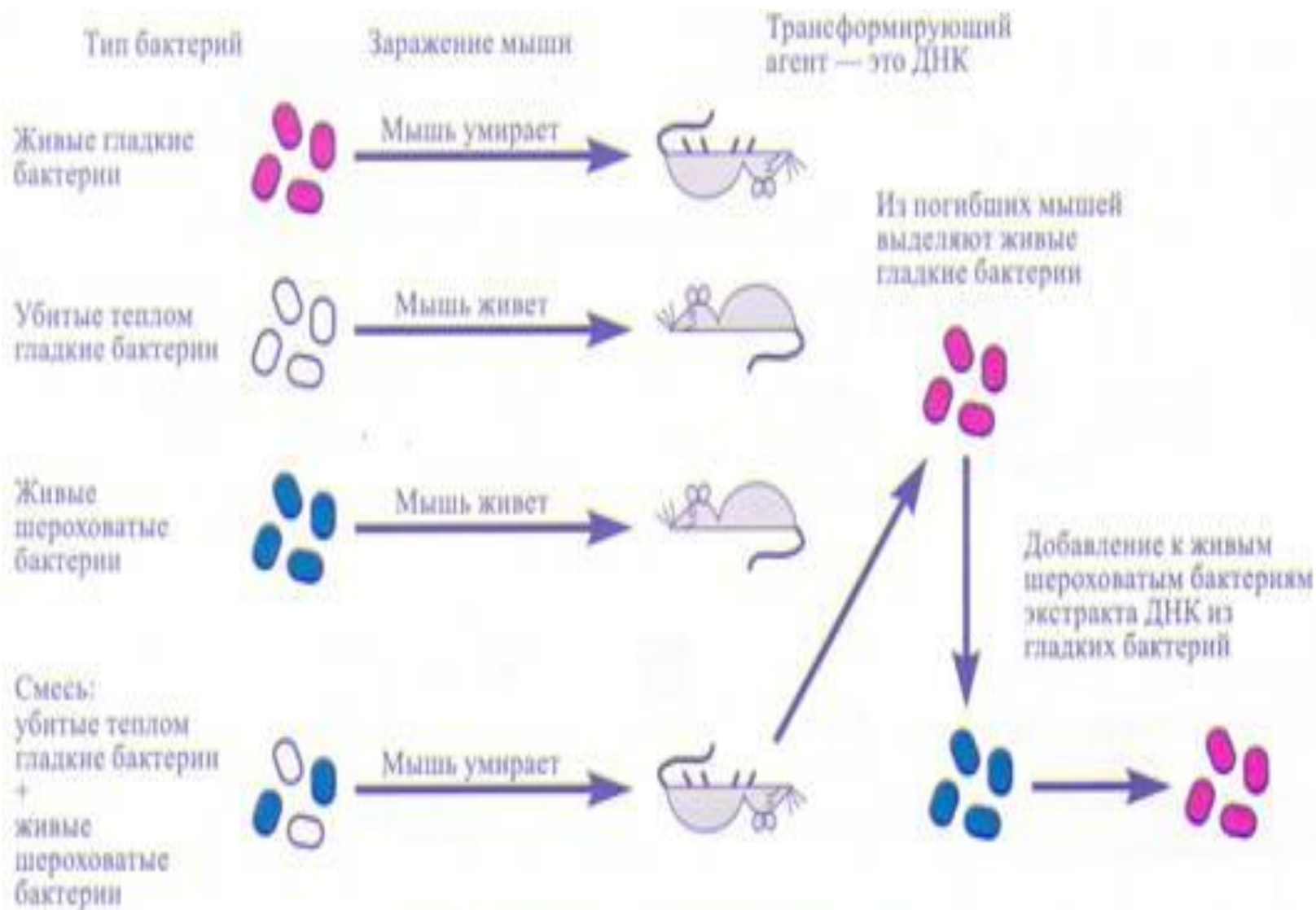


Рис. 3.9 а. Мазок из клинического материала капсулы пневмококка контрастируется окружающей тканью, окраска по Граму

ТРАНСФОРМАЦИЯ

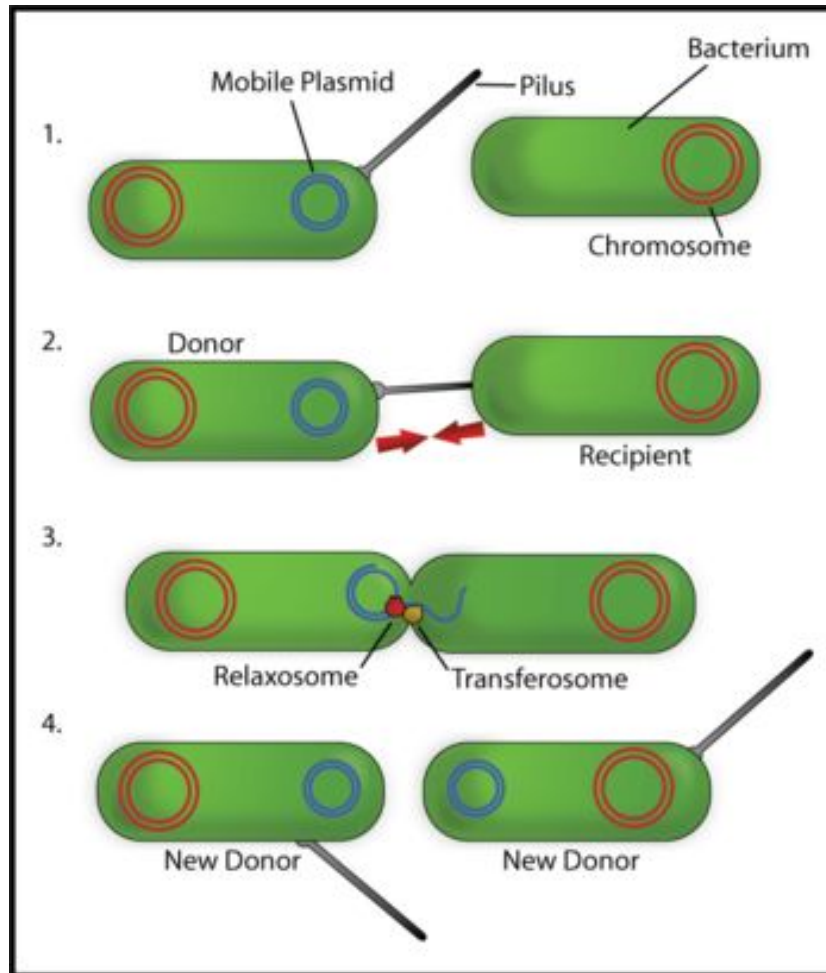


Трансформация у бактерий *Pneumococcus*

ПРИЗНАКИ, ТРАНСФОРМИРУЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ ДНК У БАКТЕРИЙ РАЗНЫХ ВИДОВ

- Капсульные и поверхностные соматические антигены
- Резистентность к антибиотикам
- Резистентность к сульфаниламидам
- Способность синтезировать различные аминокислоты и другие факторы роста
- Способность к использованию углеводов

СТАДИИ ТРАНСФОРМАЦИИ



СТАДИИ ТРАНСФОРМАЦИИ БАКТЕРИИ

- Контакт с поверхностью клетки. Восприятие клетками-реципиентами трансформирующей ДНК-адсорбция двуцепочечной ДНК, ферментативное расщепление связавшейся ДНК.
- Проникновение ДНК в клетку.

Соединение трансформирующей ДНК с соответствующим фрагментом хромосомы реципиента.
- Репликация включенной в хромосому новой информации.
- Экспрессия трансформантов.

КОМПЕТЕНТНОСТЬ

Это такое физиологическое состояние бактерии, когда она может воспринимать экзогенные молекулы ДНК, т.е. быть реципиентом ДНК при трансформации.

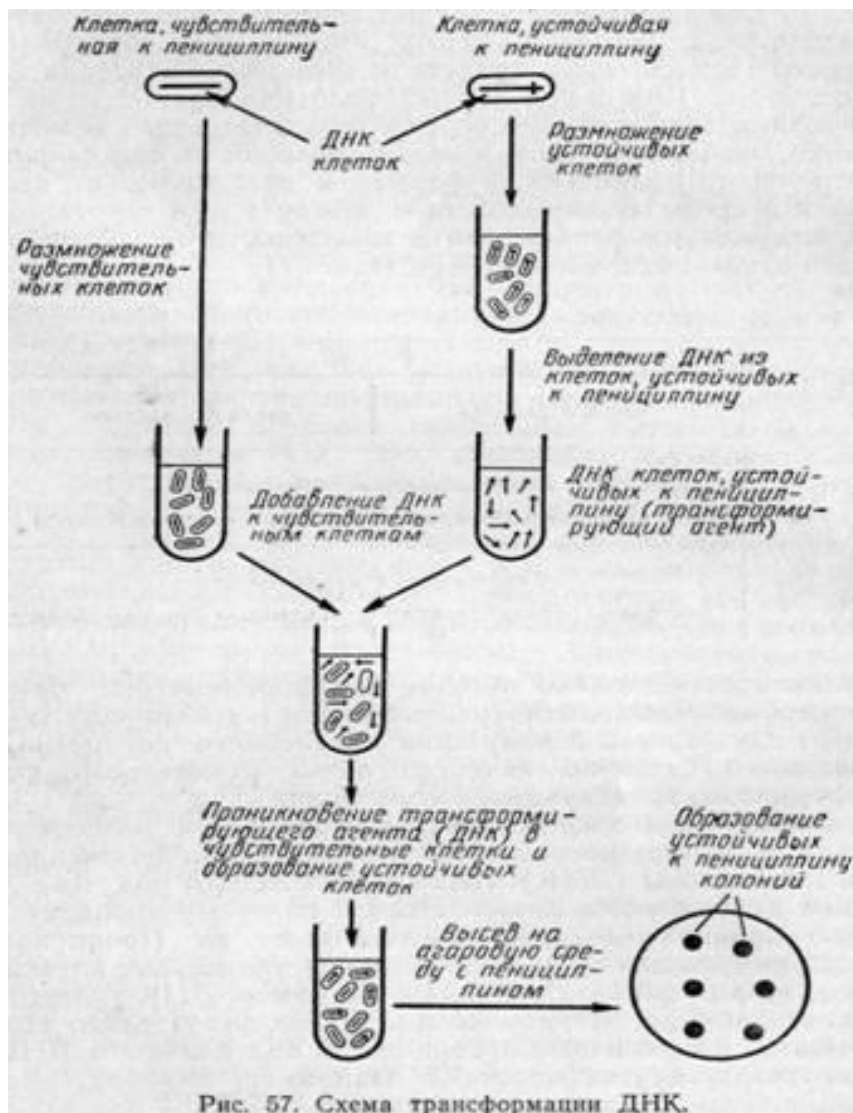
СТЕПЕНИ КОМПЕТЕНТНОСТИ

1. Микроорганизмы, у которых компетентность возникает лишь в определенной фазе роста культуры (например, стрептококки, бациллы).
2. Микроорганизмы, клетки которых компетентны в любой фазе роста (например, гонококки, менингококки).
3. Микроорганизмы с отсутствием естественной компетенции. Клетки таких микроорганизмов становятся компетентными только после специальной обработки (например, клетки *E. coli* становятся компетентными после обработки на холоде хлористым кальцием).

ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ

Это введение ДНК в клетки с помощью электрических импульсов, создаваемых специальной аппаратурой.

ТРАНСФОРМАЦИЯ



ТРАНСДУКЦИЯ

Перенос генетического материала осуществляется с участием фага-переносчика

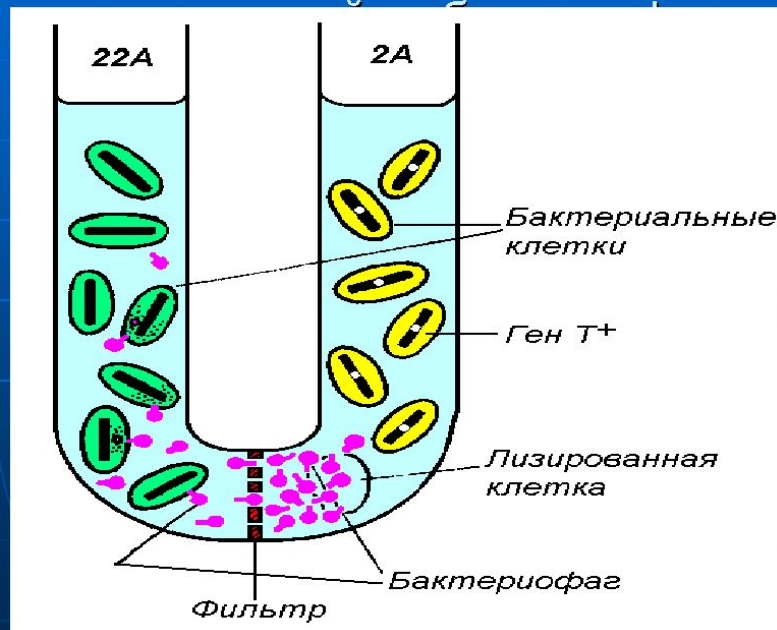
БАКТЕРИОФАГИ

1. Вирулентные (проникают в клетку, размножаются и лизируют бактерию, т.е вызывают литическую реакцию)

2. Умеренные (могут вызвать как литическую, так и лизогенную реакцию)

СХЕМА ТРАНСДУКЦИИ

Salmonella typhymyrium штаммы бактерий 22A-не способный синтезировать триптофан (T⁻); 2-A способный синтезировать триптофан (T⁺) и



ВИДЫ ТРАНСДУКЦИИ

1. **Общая или неспецифическая** - профаг включается в любой из фрагментов ДНК пораженной бактерии.

2. **Специфическая**-профаг включается в определенное место хромосомы.

3. **Абортивная**-фрагмент хромосомы донора может сохраняться в цитоплазме клетки.