

Genetika baktérií - LS-3/05

- Replikácia -DNA - prenos vlastností
- Regulácia
- Zmena vlastností - mutácie
- - výmena génov, - bakteriofágy
- Genetické inžinierstvo v medicíne
- Využitie pre diagnostiku



Genetický materiál - DNA

- Bakteriálna bunka
 - DNA - genetické informácie uložené:
 - * v nukleoide - cirkulárny dvojvláknový chromozóm
 - * plazmidy
- Replikácia DNA prebieha - obojsmerne - nukleotid
 - jednosmerne - plazmid



Plasmidy

- Extrachromozomálne genetické jednotky
- Replikujúce sa samostatne
- cirkulárna DNA - okrem B.burgdorferi
- nekóduje vitálne funkcie a vlastnosti
- nadstavbové genetické informácie
(fenotypové vlastnosti, atb rezistencia, tvorba bakteriocínov a toxínov....)
- *Genotyp - súbor genetických informácií*
- *Fenotyp - súbor vlastností, ktoré sa prejavujú*

Typy plazmidov a ich význam



- Veľké plazmidy - napr. faktor plodnosti (fertility factor, F), faktor prenosu rezistencie - (resistance transfer factor RTF) - nesú informáciu pre
 - *vlastnosť, *vytvorenie nástroja prenosu - pilus
 - *mechanizmus prenosu - konjugácia
- Menšie plazmidy
 - nekonjugatívne - nenesú informáciu pre vytvorenie proteínu prenosu
- Šírenie informácie konjugáciou, transdukciou, inkorporáciou

Replikácia DNK - podmienka prenosu informácie

- Transkripcia - prepis pôvodnej informácie z DNA do mRNA
- Translácia - preklad informácie z mRNA prostredníctvom tRNA na bielkoviny

Regulácia expresie - prejavenia sa - genetickej informácie

- Bunka- aj bakteriálna- musí byť schopná sa adaptovať na meniace sa podmienky:
 - má základné regulačné mechanizmy
 - musí minimalizovať energetické nároky
 - byť schopná sa vypnúť alebo zapnúť podľa potreby
- Zoskupenie génov, ktoré kódujú enzýmy jednej metabolickej cesty
OPERON: promótor, gény, terminátor- sú koordinovane regulované, prepísané aj preložené



Regulácia traskripcie

- 1) Gény sa prepisujú dovtedy, pokiaľ nie je prepis zablokovaný represorom - **negatívna kontrola** - (enzým sa produkuje až, kým nie je jeho produkcia zablokovaná nadbytkom produktu)
- 2) Gény sa nezačnú prepisovať pokiaľ nie je prítomný apoinduktor - aktívny regulačný protein - **pozitívna kontrola** - (enzým sa nezačne produkovať, ak nie je v prostredí substrát, na ktorý by pôsobil)

Typy operónov

- - a) inducibilný - prítomnosť substrátu vedie k expresii enzýmov metabolickej dráhy
 - b) represibilný - prítomnosť konečného produktu redukuje množstvo alebo zastaví produkciu enzýmov

Regulácia translácie

- Zmeny v počte kópií pre každý proteín exprimovaná z každého génu

Zmena genetickej informácie

- Mutácia - náhodné poškodenie DNA. DNA obsahuje reparačný systém
- Výmena génov - rekombinácia

Mutácie

- Akákoľvek zmena sekvencií nukleových báz DNA
 - mutácie jedinej bázy - inzercia, delécia, presun, premena
 - DNA je prepisovaná RNA polymerázou na mRNA, ktorá je potom preložená prostredníctvom tRNA, na ktorú je naviazaná špecifická aminokyselina. Rozpoznáva set 3 nukleotidov (kodón) na mRNA a pridá k reťazcu ďalšiu aminokyselinu a proteín produkovaný v spolupráci s ribozómami

Typy mutácií

- Tichá mutácia - akákoľvek zmena nukleotidových báz alebo aminokyselín v kódovanom proteine bez fenotypového vyjadrenia - viacero tripletov kóduje jeden typ aminokyselín
- Neopdstatnená mutácia - rôzne aminokyseliny vsunutné do proteínu môžu ale nemusia zmeniť fenotyp

Mutácie viacerých génov

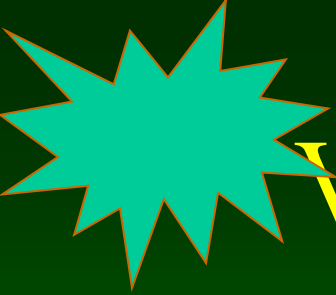
- Delécia alebo inzercia určitého počtu báz, ktorý nie je násobkom 3 - čítanie tripletov je porušené
- Nulová mutácia -zničí funkciu génu - rozsiahle inzercie alebo delécie, alebo prestavba

Pôvod mutácií

- Spontánne
- Indukované
 - teplo - deamináciu
 - ultrafialové svetlo - tvorba pyrimidínových dimérov
 - ionizujúce žiarenie - otvorenie reťazca,
 - chemické mutagény - (analógy nukleotidových báz = štrukturálna podobnosť, inzercia alebo delécia jednej báze, DNA reaktívne chemické látky - modifikujú bázu na inú chemickú štruktúru

Reparačné mechanizmy DNA

- Priama reparácia - enzymatické odstránenie poruchy
- Reparácia excíziou - odstránenie poškodeného segmentu a syntéza nového
- Oprava rekombináciou - nahradí chýbajúcu informáciu rekombináciou
- SOS odpoveď - prerušenie replikácie chybného génu



Výmena a prenos genetickej informácie

- Medzi bakteriálnymi bunkami
 - 1) transformáciou - inkorporácia exogénnej DNA
 - 2) transdukcia - prenos z jednej baktérie do ďalších bakteriofágom - vírusom baktérie
 - 3) konjugáciou - quasi sexuálna výmena - prenos informácie z jednej baktérie do druhej prostredníctvom pillusu
- Prenesené gény sú často integrované do DNA nukleoidu alebo plazmidu a prenášané na dcérske bunky



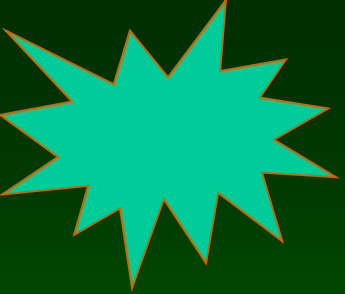
Transformácia

- Griffiths - kolónie opúzdreného a neopúzdreného pneumokoka vedľa seba - prenos vlastnosti tvorby púzdra
- prenos a uchovanie exogénnej DNA
 - 1) prirodzená vlastnosť - schopnosť bunky reagovať na cudziu DNA, nie je to stála vlastnosť, obvykle v čase exponenciálneho rastu - (H.i., Str.pn., Bacillus)
 - 2) chemické metódy



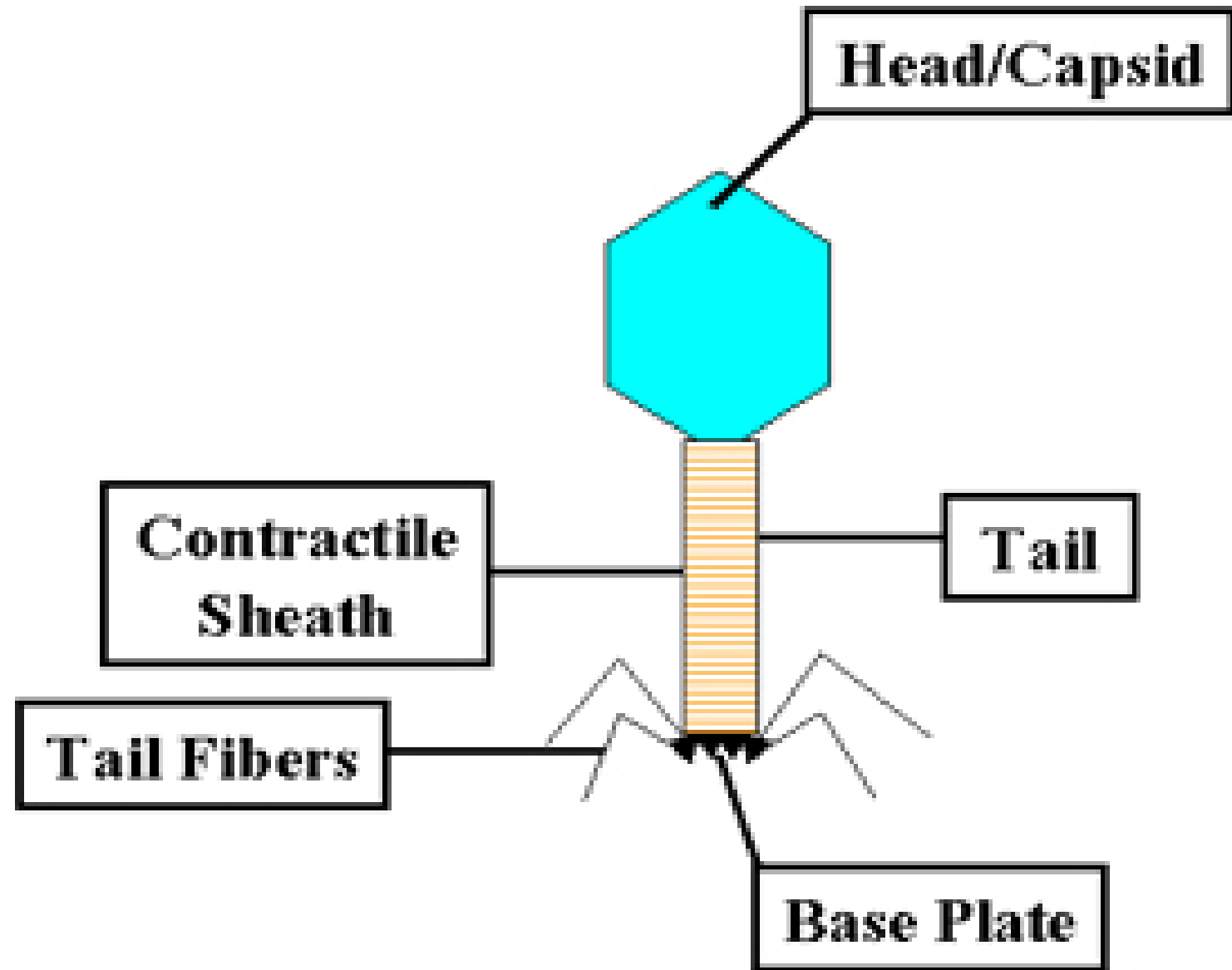
Konjugácia

- Medzibunková interakcia, jednosmerný prenos zo „samčej“ na „samičiu“
- Rôzne konjugatívne plazmidy:
 - 1) Faktor fertility: kontakt medzi F^+ a F^- , tvorba konjugačného pillusu
 - 2) R plazmid: u G^+ , adhezíny na povrchu donornej bunky



Transdukcia - prenos bakteriofágom

- Bakteriofág - vírus bakteriálnej bunky, využíva ich energetický systém a syntézu proteínov. Baktériu infikuje len nukleová kyselina, ktorá sa replikuje a môže dôjsť k rekombinácii medzi NK baktérie a fágu.



Životný cyklus bakteriofágov

- lytický - po napadnutí bunky a replikácii fágovej NK dôjde k lýze bunky. Nové fágy sú virulentné, napádajú ďalšie baktérie
- lysogénny - nelytický - fágová DNA je integrovaná do NK baktérie - temperovaný fág - po viacerých generáciách dôjde ku konverziii a zmene na virulentný



Transdukcia

- Prenos bakteriálnej DNA z jednej baktérie do druhej prostredníctvom infekcie bakteriofágom
 - 1) špecializovaná - hybridný fágovo bakteriálny genóm - bakteriálny genóm sa dostane do fágovho genómu, keď je tento zle uvoľnený z hostiteľského chromozómu
 - 2) generalizovávajú - náhodné pribalenie hostiteľskej DNA do kapsidy fágu, (takmer) celý bakteriálny genóm a (takmer) žiadna fágová DNA

Transpozóny

- Segmenty DNA schopné prejsť z jednej pozície do inej v genome alebo z chromozomálnej DNA do plazmidovej a v.v.:
 - inzerčné sekvencie - genetická informácia pre vlastný prenos
 - komplexné transpozóny - gény pre rôzne druhy rezistencie, časť R plazmidu
 - fágové transpozóny

Genetické inžinierstvo v mikrobiológii

- Vytvorenie vektorov alebo nástrojov schopných klonovať rôzne DNA sekvencie
- Eukaryotické gény môžu byť prenesené a exprimované prokaryotickými systémami
- Mnohé genetické metabolické ochorenia sú spôsobené chýbaním enzýmov a proteínov - ich produkcia baktériami
- Produkcia rekombinantných vakcín baktériami

Využitie molekulárnych a genetických technológií v diagnostike mikrobiálnych infekcií

- *Využitie genetických sond na diagnostiku ochorení - nukleová kyselina - typická pre ochorenie je inkorporovaná do baktérie, kde je pomnožená, označená napr. radionuklidom, fluorescenčným farbivom, aby sa dala detekovať
- *in situ hybridizácia - pomnoženie genetickej informácie vírusu priamo v odobratom tkanive
- *PCR - vytvorenie miliónov kópií nukleovej kyseliny alebo typickej sekvencie suspektného mikroorganizmu