

П. М. Джамбетова

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ДЛЯ ВУЗОВ

*Рекомендовано Учебно-методическим отделом высшего образования
в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений,
обучающихся по естественнонаучным направлениям*

**Книга доступна на образовательной платформе «Юрайт» urait.ru,
а также в мобильном приложении «Юрайт.Библиотека»**

Москва ■ Юрайт ■ 2021

УДК 579(075.8)

ББК 28.4я73

Д40

Автор:

Джамбетова Петимат Махмудовна — доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии биолого-химического факультета Чеченского государственного университета (г. Грозный), заведующая научно-исследовательской лабораторией эколого-генетических исследований «Экоген» ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет».

Рецензенты:

Реутова Н. В. — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный научный центр «Кабардино-Балкарский научный центр РАН»;

Плиева А. М. — доктор биологических наук, профессор кафедры биологии химико-биологического факультета Ингушского государственного университета (г. Назрань).

Джамбетова, П. М.

Д40 Генетика микроорганизмов : учебное пособие для вузов / П. М. Джамбетова. — Москва : Издательство Юрайт, 2021. — 122 с. — (Высшее образование). — Текст : непосредственный.

ISBN 978-5-534-14800-8

Курс составлен с учетом программы курсов, проводимых для студентов бакалавриата, специализирующихся по кафедре клеточной биологии, морфологии и микробиологии ФБГОУ ВО «Чеченский государственный университет». Рекомендуется к лекционным и семинарским занятиям по дисциплинам: «Генетика микроорганизмов», «Микробиология», «Мутагенез и генотоксикология», «Основы биотехнологии».

Соответствует актуальным требованиям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования.

Для студентов биологических факультетов направления подготовки «Биология», профиль «Микробиология».

УДК 579(075.8)

ББК 28.4я73

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

ISBN 978-5-534-14800-8

© Джамбетова П. М., 2021

© ООО «Издательство Юрайт», 2021

Оглавление

Предисловие	5
Тема 1. Введение в генетику микроорганизмов	7
1.1. Основные понятия и термины	7
1.2. Генетическая номенклатура	9
1.3. Ключевые этапы развития генетики микроорганизмов.....	10
1.4. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома	15
1.5. Развитие генетики микроорганизмов и биотехнология.....	21
<i>Контрольные вопросы</i>	22
Тема 2. Геномика микроорганизмов	24
<i>Контрольные вопросы</i>	30
Тема 3. Организация генетического аппарата у бактерий	31
3.1. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот. Основные методы ее определения	31
3.2. Геном прокариот	32
3.3. Мобильные генетические элементы прокариот	36
<i>Контрольные вопросы</i>	42
3.4. Геном эукариот	43
3.5. Геном дрожжей.....	45
<i>Контрольные вопросы</i>	47
Тема 4. Контроль репликации ДНК и деления клетки у микроорганизмов	49
4.1. Прокариоты	49
<i>Контрольные вопросы</i>	56
4.2. Репликация ДНК плазмид	56
4.3. Репликация ДНК эукариот	60
<i>Контрольные вопросы</i>	64
Тема 5. Жизненные циклы эукариотических микроорганизмов и вирусов.....	66
5.1. Дрожжи	66

5.2. Нейроспора.....	70
<i>Контрольные вопросы</i>	74
5.3. Вирусы	74
Этапы жизненного цикла вирусов	76
5.4. Репродукция ДНК-содержащих вирусов.....	78
<i>Контрольные вопросы</i>	83
Тема 6. Мутационный процесс и наследственная	
изменчивость у микроорганизмов.....	85
6.1. Спонтанные мутации	85
Причины возникновения спонтанных мутаций.....	89
6.2. Индуцированные мутации.....	96
6.3. Основные системы репарации спонтанных	
и индуцированных повреждений ДНК	98
<i>Контрольные вопросы</i>	99
Тема 7. Обмен генетической информацией	
у прокариотических микроорганизмов.....	100
7.1. Трансформация.....	100
<i>Контрольные вопросы</i>	105
7.2. Трансдукция	106
<i>Контрольные вопросы</i>	112
7.3. Конъюгация	113
<i>Контрольные вопросы</i>	119
Библиографический список	121

Предисловие

Цели «Генетики микроорганизмов» как учебной дисциплины:

1) формирование у студентов понятия о механизмах и закономерностях наследственности и изменчивости микроорганизмов;

2) ознакомление с генетическими методами их исследования и путями использования в селекции высокопродуктивных штаммов;

3) введение студентов в область молекулярной генетики бактерий, которая является существенным инструментом в познании молекулярных основ биологических процессов.

Основными задачами освоения дисциплины является формирование представления об особенностях микроорганизмов как объектов генетических исследований, об организации и функционирования генетического материала у микроорганизмов и методология их изучения, а также применение методов генетического анализа у микроорганизмов.

В результате теоретического изучения дисциплины студент должен:

знать

- современные взгляды на проблему генетики микроорганизмов и генетические подходы к проблеме идентификации, функционирования и размножения микроорганизмов;

- особенности методологии изучения генетики микроорганизмов;

- основные закономерности наследования признаков и положения хромосомной теории наследственности и основные закономерности изменчивости организмов (мутации, модификации) естественного и индуцированного мутационного процесса;

уметь

- использовать в профессиональной деятельности современные представления о проявлении наследственности и изменчивости;

- представлять возможные пути решения наиболее актуальных проблем генетики микроорганизмов;

владеть

- знаниями о генетическом анализе у прокариот и внеядерном наследовании;
- навыками использования фундаментальных основ и методов генетики микроорганизмов в оценке состояния окружающей среды.

Тема 1

ВВЕДЕНИЕ В ГЕНЕТИКУ МИКРООРГАНИЗМОВ

Генетика микроорганизмов — это раздел генетики, изучающий такие объекты исследования, как бактерии, микроскопические грибы, вирусы растений и животных, бактериофаги и другие микроорганизмы. Генетика микроорганизмов включает в себя довольно обширную область исследований, поскольку объединяет объекты исследования как из группы прокариотических, так и из группы эукариотических организмов. Данный курс в основном посвящен прокариотическим организмам.

Исторически из-за методических особенностей (например: более простой организации, быстрого роста и деления клеток, значимости в медицине и сельском хозяйстве) базовые открытия по структуре и функционированию генетического аппарата были сделаны на микроорганизмах, поэтому генетика микроорганизмов является научной дисциплиной, которая стала основой для исследования организации более сложных организмов.

В начале XX в. считалось, что законы наследования Г. Менделя и хромосомная теория наследственности неприменимы к этим группам организмов, поскольку их наследственный материал был представлен одной циклической молекулой ДНК и отсутствовал механизм мейотического деления. Несмотря на это начиная с 1940-х гг. микроорганизмы становятся самым изучаемым объектом в генетических исследованиях. Благодаря им были решены многие вопросы современной генетики.

1.1. Основные понятия и термины

В генетике микроорганизмов, в отличие от генетики высших организмов, где исследуются особи, обычно изучаются

свойства и признаки не отдельных клеток, а культур в целом, насчитывающих миллионы и миллиарды особей. Микробные культуры могут отличаться друг от друга по морфологическим, физиологическим и биохимическим признакам. Культуры, растущие на наиболее бедной из питательных сред, обеспечивающих рост микроорганизмов данного вида (минимальная среда), называются *прототрофными*. Культуры, требующие добавки к минимальной среде какого-либо вещества (витамина, аминокислоты и т. п.), носят название *ауксотрофных*.

Вид микроорганизма представлен рядом штаммов — культур, каждая из которых в большинстве случаев выделена из одной клетки и отличается от остальных происхождением и нередко — теми или иными признаками, несущественными с точки зрения видовой систематики. Штамм, выделенный из природы и типичный для организмов этого вида, называется *диким типом*, а его признаки — *признаками дикого типа*.

При делении одной клетки образуется клон. Термин «клон» употребляется для обозначения непосредственного потомства клетки: например, колония, развившаяся из одной клетки при посеве ее на плотную среду. Под *клоном* понимается культура, развившаяся в результате вегетативных делений одной одноядерной клетки или клетки с несколькими ядрами в случае мицелиальных организмов. При последующих пересевах в результате естественной изменчивости в клоновой культуре могут появляться варианты, отличающиеся от исходного. Тогда бывшая однородной по своим свойствам клоновая культура клеток превращается в клеточную популяцию.

Однородность клеток клона, сохраняющаяся в течение первых делений после посева на питательную среду, позволяет выявлять признаки и свойства клоновой культуры. Совокупность всех свойств, проявляемых данной культурой, носит название ее *фенотипа*.

Наследственной основой фенотипа является *генотип*, представляющий собой совокупность генов данной клетки. Изменчивость фенотипа зависит как от генотипа, так и от условий внешней среды. Например, устойчивость бактерии к какому-нибудь антибиотiku является наследственным признаком и возникает в результате мутации, т. е. изменения генотипа. Изменения, передающиеся по наследству, называются генотипическими, или мутационными.

Штамм нейроспоры дикого типа быстро растет на обычных питательных средах. При посеве клеток на плотную питательную среду отдельных колоний не образуется — среда покрывается сплошным мицелием. Однако добавление к среде сорбозы вызывает появление компактных колоний при посеве конидий того же штамма. Пересев их на обычную среду восстанавливает простирающийся рост. Такие изменения, возникающие под влиянием определенных внешних условий и не сохраняющиеся при переносе клеток в исходные условия, носят название модификационных.

1.2. Генетическая номенклатура

Для краткого описания отдельных признаков и генетических локусов микроорганизмов разработана система символов, позволяющая обозначать различия между генетическими детерминантами штаммов дикого типа и их мутантов. В рамках этой номенклатуры термины «ген» и «локус» используют на равных правах, обозначая участок молекулы ДНК с определенной последовательностью нуклеотидов, кодирующих определенную последовательность аминокислот в пептиде или нуклеотидов в молекуле мРНК¹.

Генетические локусы штаммов микроорганизмов дикого типа обозначают тремя малыми буквами латинского алфавита (курсивный шрифт). Поскольку идентификация того или иного локуса возможна лишь в результате мутаций в нем, для обозначения локусов, мутации которых имеют одинаковый фенотип, к трехбуквенному символу локуса добавляют еще заглавную букву (курсивный шрифт). Например, символом *ara* обозначают любые мутантные локусы, мутации которых поражают способность бактерий утилизировать арабинозу в качестве источника углерода. Символы *araA*, *araB* и *araD* используют для обозначения родственных локусов, каждый из которых контролирует отдельный фермент в метаболическом цикле утилизации (сбраживания) арабинозы.

Знаком «+» обозначают аллель дикого типа. Например, символ *met*+ означает аллель дикого типа локуса *metA* или другого

¹ ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота; РНК — рибонуклеиновая кислота; мРНК — матричная РНК.

родственного локуса *met*. Для обозначения мутантных аллелей часто используют знак «-». Например, штамм бактерий с генотипом *trp*⁻, *his*⁻, *metA*⁻ часто обозначают как штамм *trp*⁻, *his*⁻, *metA*⁻.

Мутантные сайты обозначают символом локуса и следующим за ним числом (через дефис), являющимся порядковым номером выделенного мутанта. Если неизвестно, в каком из нескольких локусов, детерминирующих сходные функции, произошла мутация, то вместо заглавной буквы между символом локуса и числом следует ставить дефис. Например, мутанты *Escherichia coli*, неспособные утилизировать арабинозу в качестве источника углерода и энергии, обозначают как *ara*-1, *ara*-2, *ara*-3, *ara*-4 и т. д. В случае идентификации локусов последние в таких мутантах будут обозначены символами *araB*1, *araA*4, *araB*2, *araC*3 и т. д. При этом, однако, важно избегать дублирования обозначений.

Для обозначения локусов, детерминирующих чувствительность или устойчивость микроорганизма к антибиотикам, применяют символы из трех букв, входящих в название антибиотика, а для обозначения самой чувствительности или устойчивости — буквы *s* или *r*. Например, символ *str*^r обозначает устойчивость к стрептомицину, а символ *str*^s — чувствительность к этому антибиотику.

Для обозначения фенотипа также используют аналогичные символы (без курсивного шрифта), начинающиеся с заглавной буквы. Например, сокращения Gal (galactose), Arg (arginine), Rgh (rough). Символы Gal⁺, Arg⁺, Rgh⁺ обозначают соответственно способность дикого типа усваивать галактозу, синтезировать аргинин, а последний — гладкую поверхность колонии; Gal⁻, Arg⁻, Rgh⁻ — альтернативные им признаки.

1.3. Ключевые этапы развития генетики микроорганизмов

Доказательства того, что материальным носителем служат нуклеиновые кислоты, были получены в опытах с микроорганизмами.

1. Опыты Ф. Гриффита. Ф. Гриффит в 1928 г. работал с двумя штаммами пневмококков: капсульными и бескапсульными. Вирулентный штамм является капсульным и при инфицировании мыши погибает, в противоположность — бескапсульный

штамм не патогенен. Опыт заключался в инфицировании мышей смесью капсульных пневмококков, потерявших при нагревании вирулентность, и непатогенных бескапсульных штаммов.

Ф. Гриффит объяснил полученные результаты захватом живыми бактериями части генетической информации из окружающей среды и способностью активировать эту информацию и назвал это явление *трансформацией*.

Позже, в 1944 г. это явление было изучено О. Эйвери, К. Мак-Леодом и М. Мак-Карти и экспериментально, используя смесь бескапсульных пневмококков с белками, полисахаридами и молекулами ДНК вирулентных пневмококков, было доказано, что трансформирующим агентом является молекула ДНК.

2. Опыты Херши и Чейз. В 1952 г. А. Херши и М. Чейз провели опыты с фагами кишечной палочки (*E. coli*). Использовались фаги, в белковой оболочке которых была включена радиоактивная сера (S^{35}), а в ДНК — радиоактивный фосфор (P^{32}). Фаги были инкубированы с *E. coli*. После опыта, в смывной воде бактерий определяли содержание фосфора и серы. Однако в смывной воде оказалась только радиоактивная сера. Это означало, что радиоактивный фосфор вошел в состав молекулы ДНК. Через некоторое время из бактериальной клетки выходили полноценные фаги, содержащие белки и ДНК.

Результаты эксперимента свидетельствовали о том, что только молекула ДНК несет информацию как о создании новых молекул ДНК, так и о синтезе белков оболочки фагов.

3. Опыты Френкеля-Конрата. Х. Л. Френкель-Конрат в 1957 г. проводил свои эксперименты с вирусом табачной мозаики (ВТМ), содержащим в качестве генетического материала молекулу не ДНК, а РНК. Разные штаммы ВТМ вызывали различную картину поражения листьев табака. Опыты показали, что тип поражения зависел от того штамма, РНК которого была использована. Это означало, что носителем генетической информации могут быть молекулы не только ДНК, но и РНК.

Сегодня уже доказана роль нуклеиновых кислот в передаче наследственной информации в ряду поколений.

Параллельно проводились интенсивные генетические исследования с использованием хлебной плесени — нейроспоры. Американские ученые Дж. У. Бидл и Э. Л. Тейтем изучали многочисленные мутантные штаммы и вывели положение: «один ген — один фермент».

Американские ученые С. Лурия и М. Дельбрюк (1943) показали на примере *E. coli*, что бактерии также подчиняются мутационным закономерностям. Они ввели новый принцип изучения наследственной изменчивости микроорганизмов — клональный анализ. Использование клонального анализа предполагает исследование изменчивости у потомства одной клетки — родоначальницы отдельного клона.

Американские генетики Дж. и Э. Ледерберги (1952) разработали метод реплик по непрямому отбору фагоустойчивых мутантов, который доказал, что возникающие новые мутации не зависят от условий культивирования, а в большинстве случаев имеют спонтанный характер.

В 1940-е гг. научная группа в Кембридже под руководством А. Тодда проводит широкие синтетические исследования в области химии нуклеотидов и нуклеозидов. Э. Чаргафф установил закономерность содержания в нуклеиновых кислотах нуклеотидов разных типов, получившую впоследствии название «Правило Чаргаффа». М. Уилкинс и Р. Франклин провели рентгеноструктурный анализ ДНК. Однако в итоге все лавры достались в 1953 г. двум американским ученым — Дж. Уотсону и Ф. Крику, которым удалось разгадать, как устроена молекула ДНК.

В 1950—1970 гг. независимо друг от друга С. Вайс и Дж. Хурвиц открыли РНК-полимеразу — фермент, осуществляющий синтез молекулы РНК. С. Очоа и А. Корнберг (1959) получили Нобелевскую премию по медицине за открытие в области молекулярной генетики. Открытое ими вещество было отнесено к РНК-полимеразам, однако позже было выяснено, что это рибонуклеаза. Имеются работы по изучению транскрипции и трансляции генов, триплетного кода РНК, ферментов рестриктаз (Б. Сидней, Ж. Франсуа, А. Львов, Ж. Моно, В. Арбер и др.). В 1977 г. Ф. Сенгер предложил метод расшифровки первичной структуры ДНК, основанный на синтезе высокорadioактивной комплементарной последовательности ДНК на изучаемой одонитевой ДНК, как на матрице. Это стало толчком к огромному количеству новых работ, посвященным определению первичной структуры ДНК многих живых организмов.

Современнейшая история генетики микроорганизмов — это уже описание полного генома микроорганизмов, составление баз данных геномов, исследование более детальных механизмов наследственности и работы генетического материала.