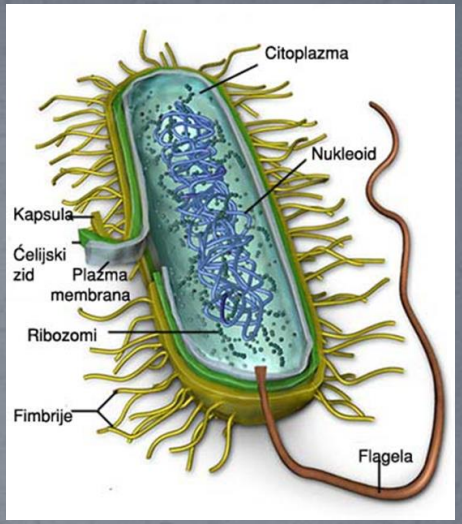
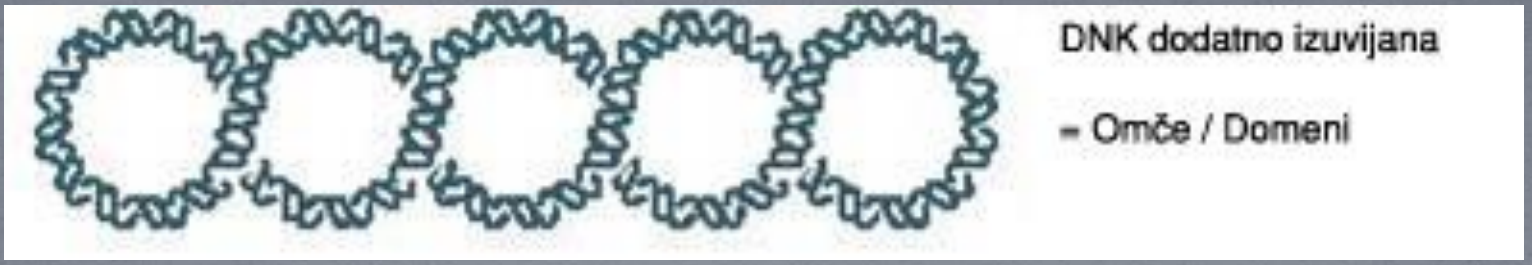
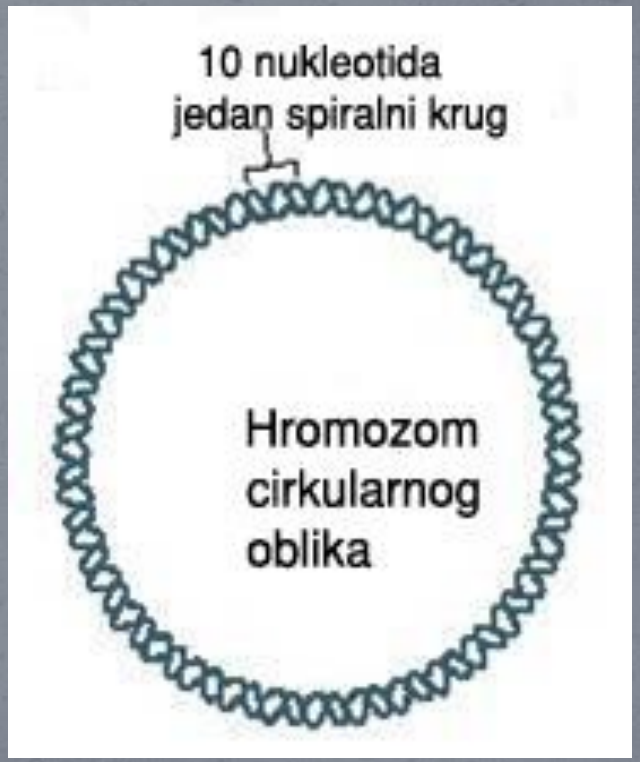
Genetika bakterija



- **Bakterije – prokariote nemaju jedro**
- **Bakterije imaju samo jedan hromozom**
  - haploidna ćelija
- **Hromozom bakterija cirkularni molekul DNK** koji funkcioniše kao samoreplikujući genetski element.
- Linearani hromozom – *Borrelia burgdorferi* i *Streptomyces* vrste
- Esencijalni geni za život bakterija prisutni u hromozomu – 500 – 7500 gena, patogene bakterije 500-1200 gena



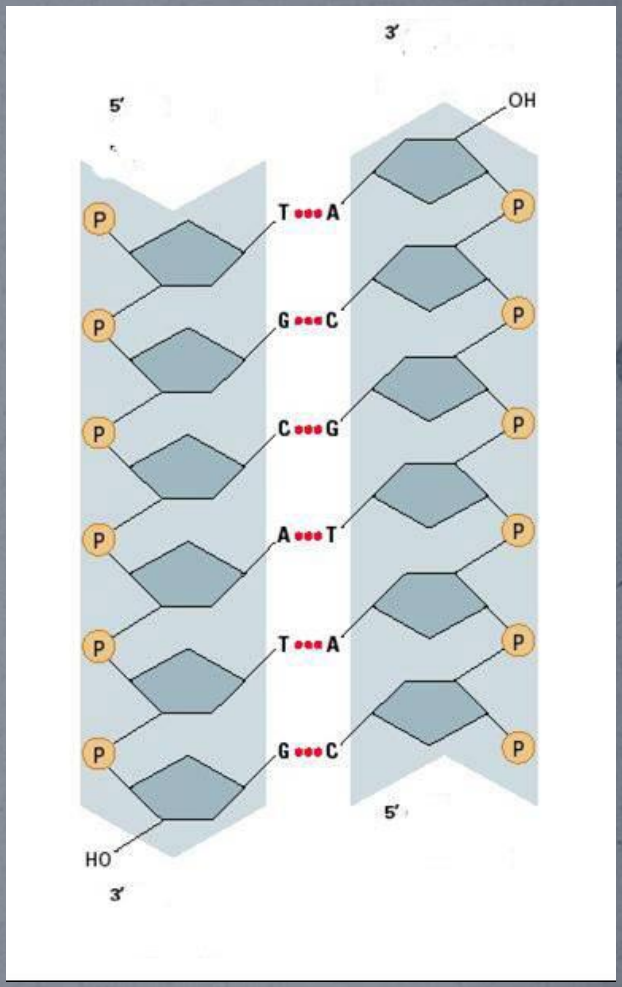
- **Hromozom vezan za citoplazmatičnu membranu**
- **DNK spiralno uvijena**
- Dodatno izuvijana formira **omče-domene**
- *E. coli* – 50 topografski nezavisnih domena
- Dužina hromozoma 1-10 x 10^{6} bp (base pair- parova baza)



Replikacija kod bakterija

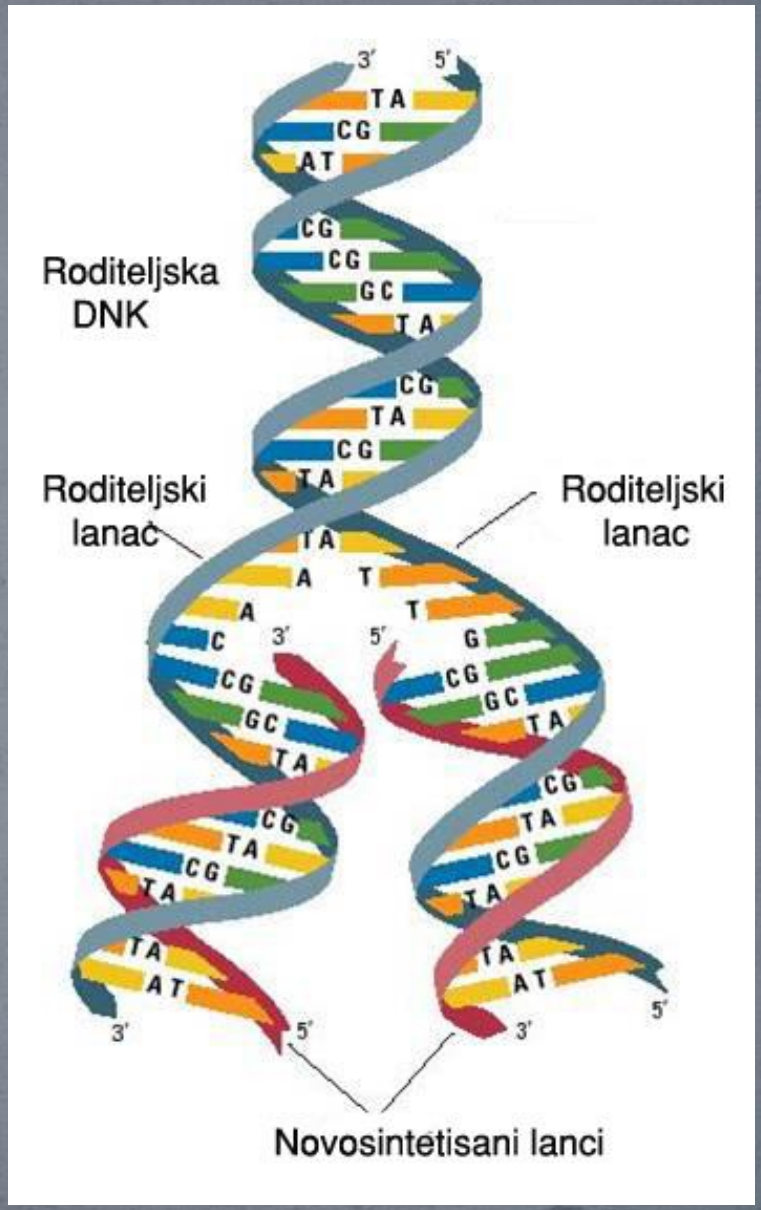
- Replikacija započinje samo na jednom jasno definisanom mestu hromozoma – **origin – specifična sekvenca oriC**

- Bakterijski hromozom i plazmidi imaju sposobnost samostalnog umnožavanja – **replikoni**

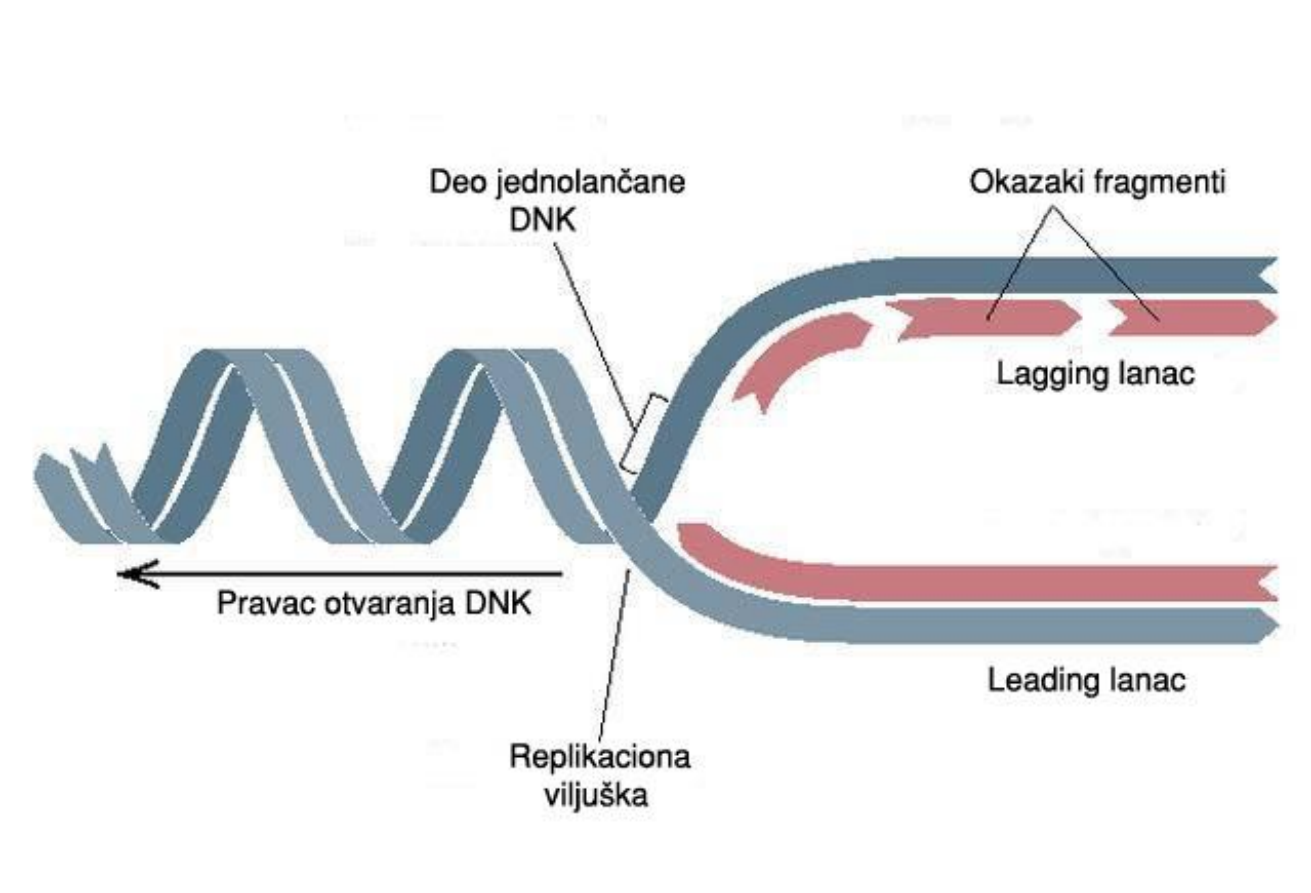


Replikacija hromozoma

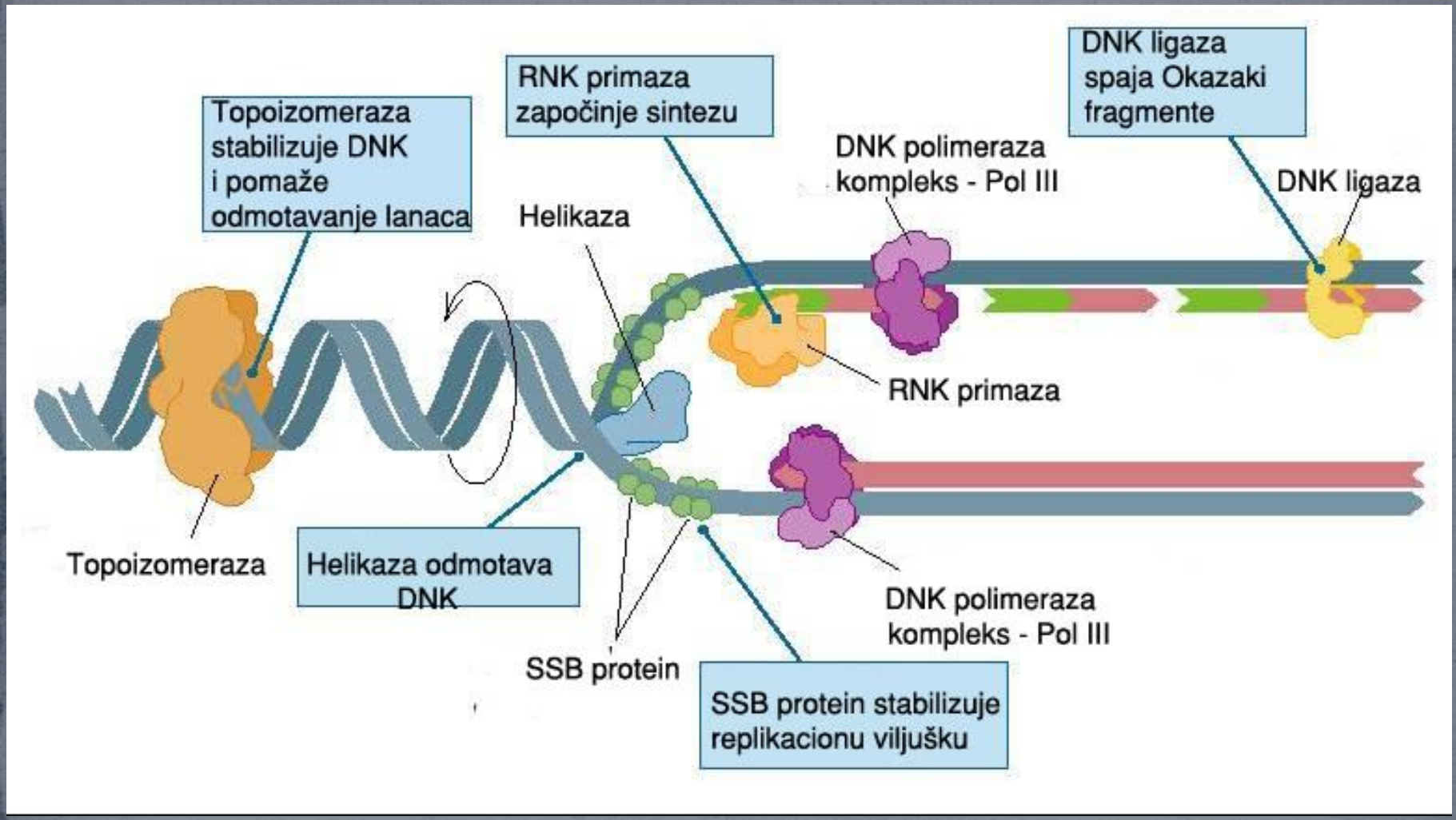
- **semikonzervativan način** pri čemu na modelu roditeljskih lanaca sintetišu novi komplementarni lanci
- **Replikacija- DNK zavisna DNK polimeraza III, I**
- **DNK polimeraza II** uloga u SOS repair



Replikacija se odigrava u oba pravca



- **Kontinuirana elongacija 5’ ⟶ 3 ‘smeru**
- **Fragmentirana sinteza 3’ ⟶ 5 ‘ smeru**

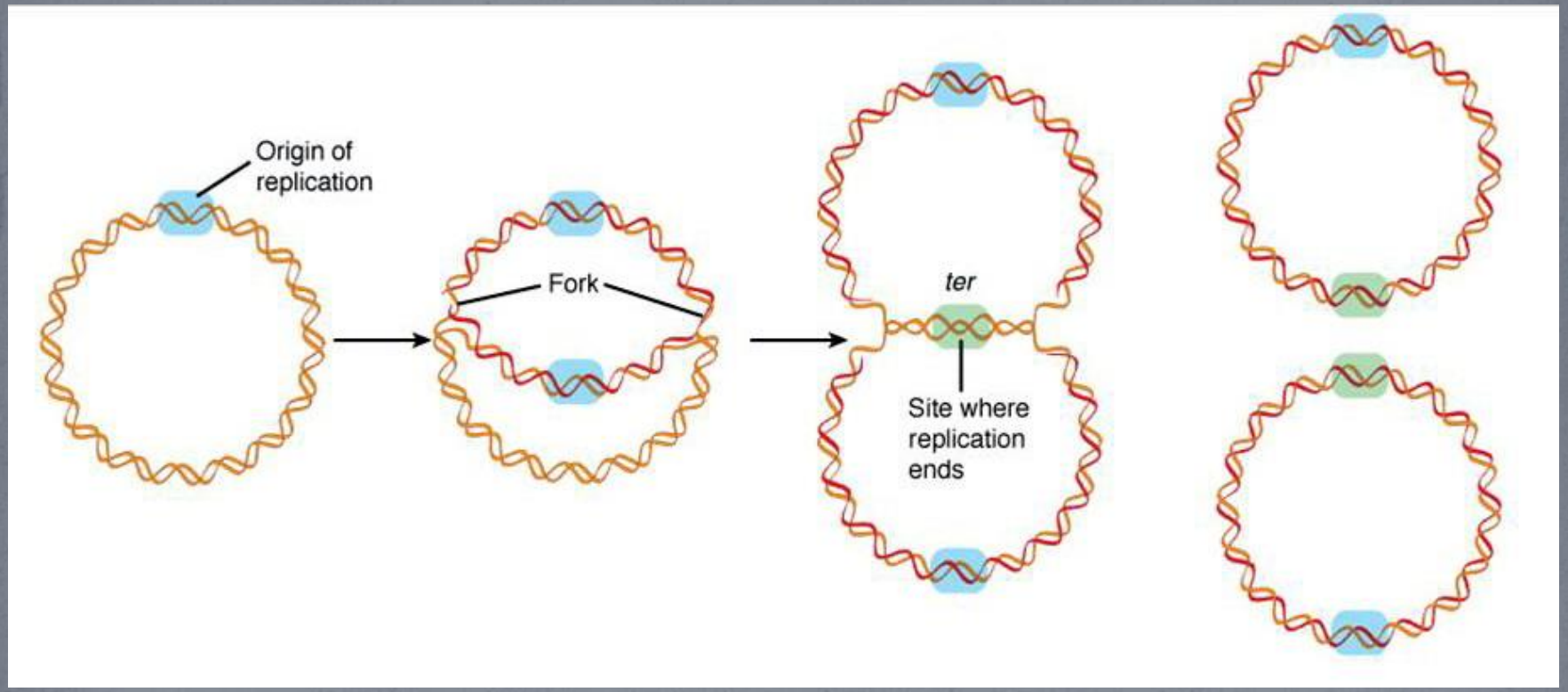

Topoizomeraza stabilizuje DNK i pomaže odmotavanje lanaca
RNK primaza započinje sintezu
DNK ligaza spaja Okazaki fragmente
DNK polimeraza kompleks - Pol III
DNK ligaza
Helikaza
RNK primaza
Topoizomeraza
Helikaza odmotava DNK
DNK polimeraza kompleks - Pol III
SSB protein
SSB protein stabilizuje replikacionu viljušku

Enzimi uključeni u replikaciju *Escherichia coli*

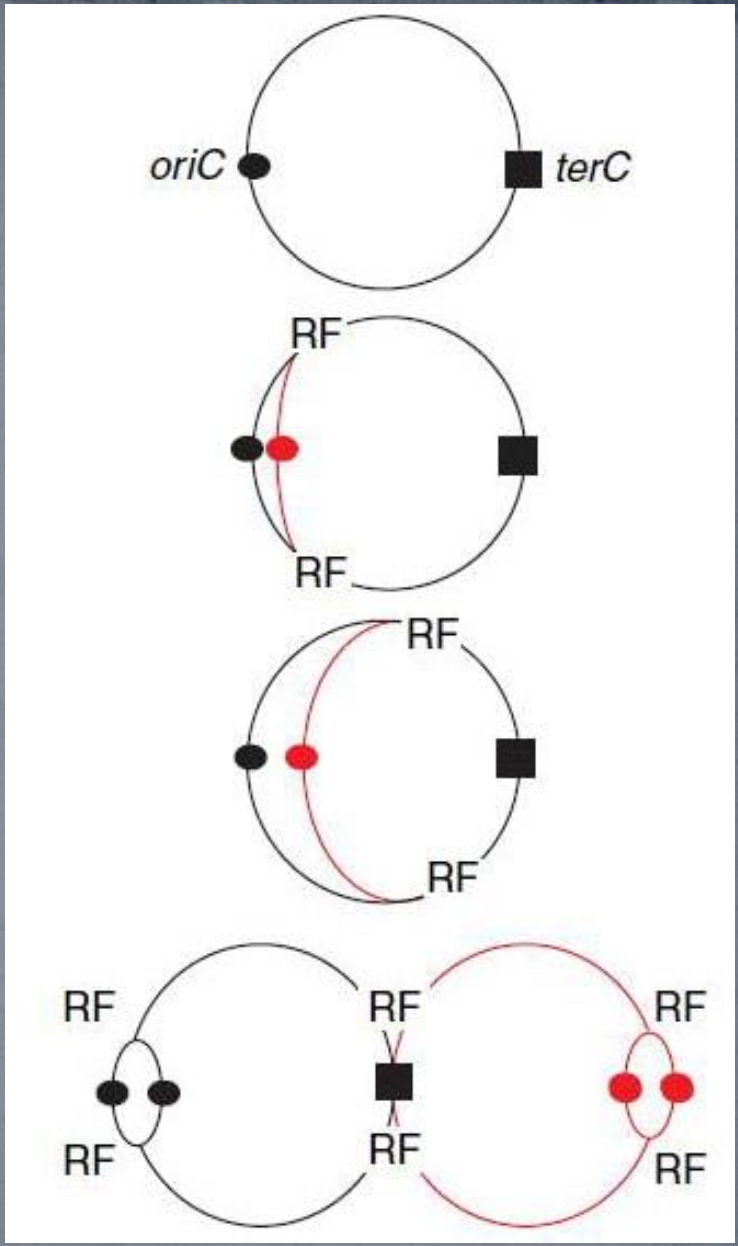
- DNA-polimeraze: Pol III holoenzim, Pol I
- RNA-polimeraza: DnaG (=primaza)
- DNA-ligaza (+NAD)
- Helikaza: DnaB (+ATP)
- Topoizomeraza: giraza (+ATP)
- Protein SSB ("single-strand binding protein")
- Započinjanje sinteze na replikonu (*OriC*):
- Primozom (DnaA, DnaB, DnaC, HU, giraza, SSB)

→ **Za replikaciju hromozoma potrebno je više od 20 različitih proteina!**

Replikacija bakterija



- **Brzina replikacije: približno 50 kb/min (eukarioti 2kb/min!!)**
- Brzina transkripcije: približno 2.4 kb/min !!
- Za replikaciju celog hromozoma potrebno 40 minuta
- Generacijsko vreme može biti < 20 min!!!



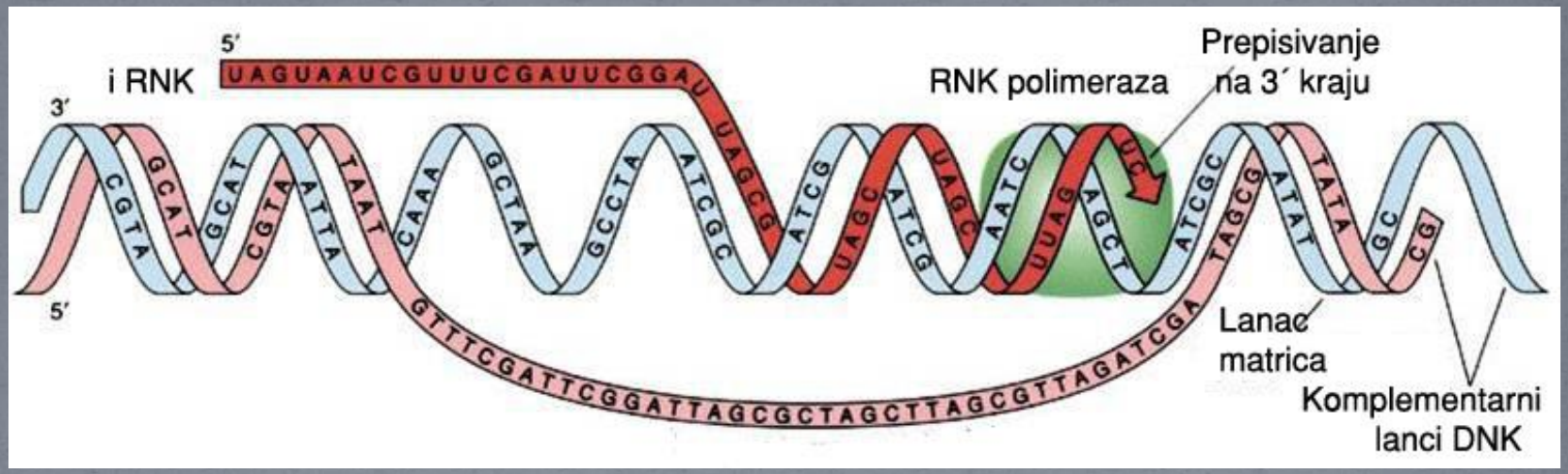
Generacijsko vreme

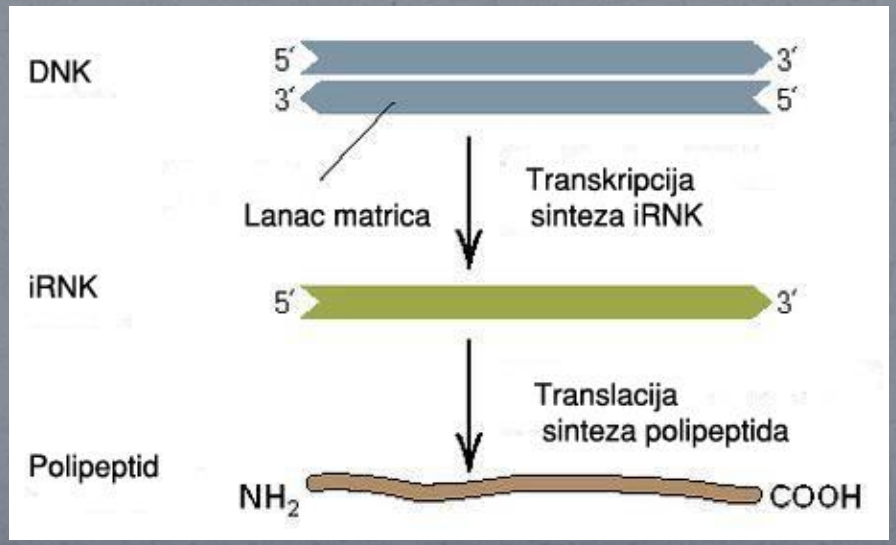
- **Veličina genoma *E.coli* - 4.6 x 10^6 nukleotida**
- Generacijsko vreme u optimalnim uslovima 20 minuta
- Brzina replikacije genoma - 1000nt/s ≈ 1.2 x 10^6 nt/20min
- Oko 25 % genoma se može replikovati za jedno generacijsko vreme

Razlike u ekspresiji gena kod prokariota u odnosu na eukariota

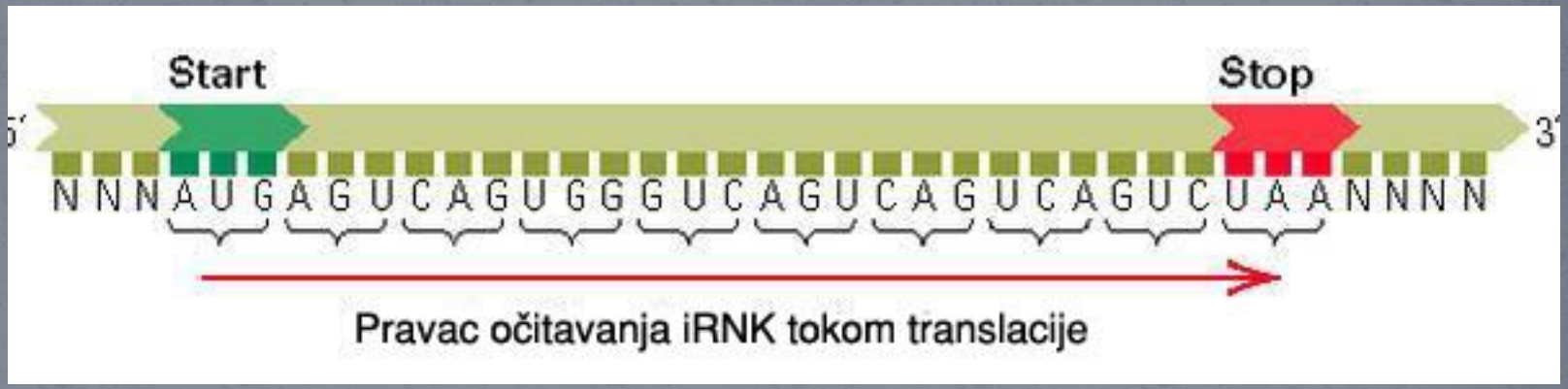
- jedna informaciona RNK policitronična ili kodira više proteina
- DNK nije obložena histonima i nije stalno u kondenzovanom stanju
- nema velikih repetitivnih delova DNK
- 95% genoma kodira proteine – kod ljudi oko 2%
- **nema "nemih" sekvenci -** introna i ekstrona
- transkripcija i translacije se odvijaju u blizini DNK

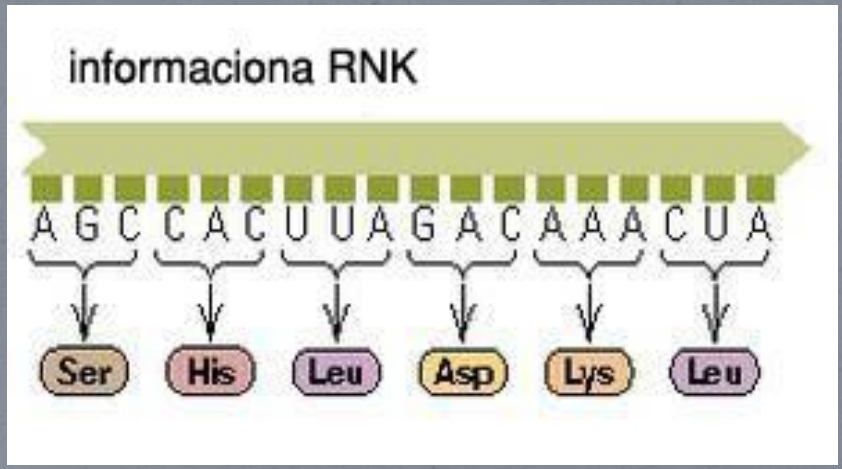
Transkripcija



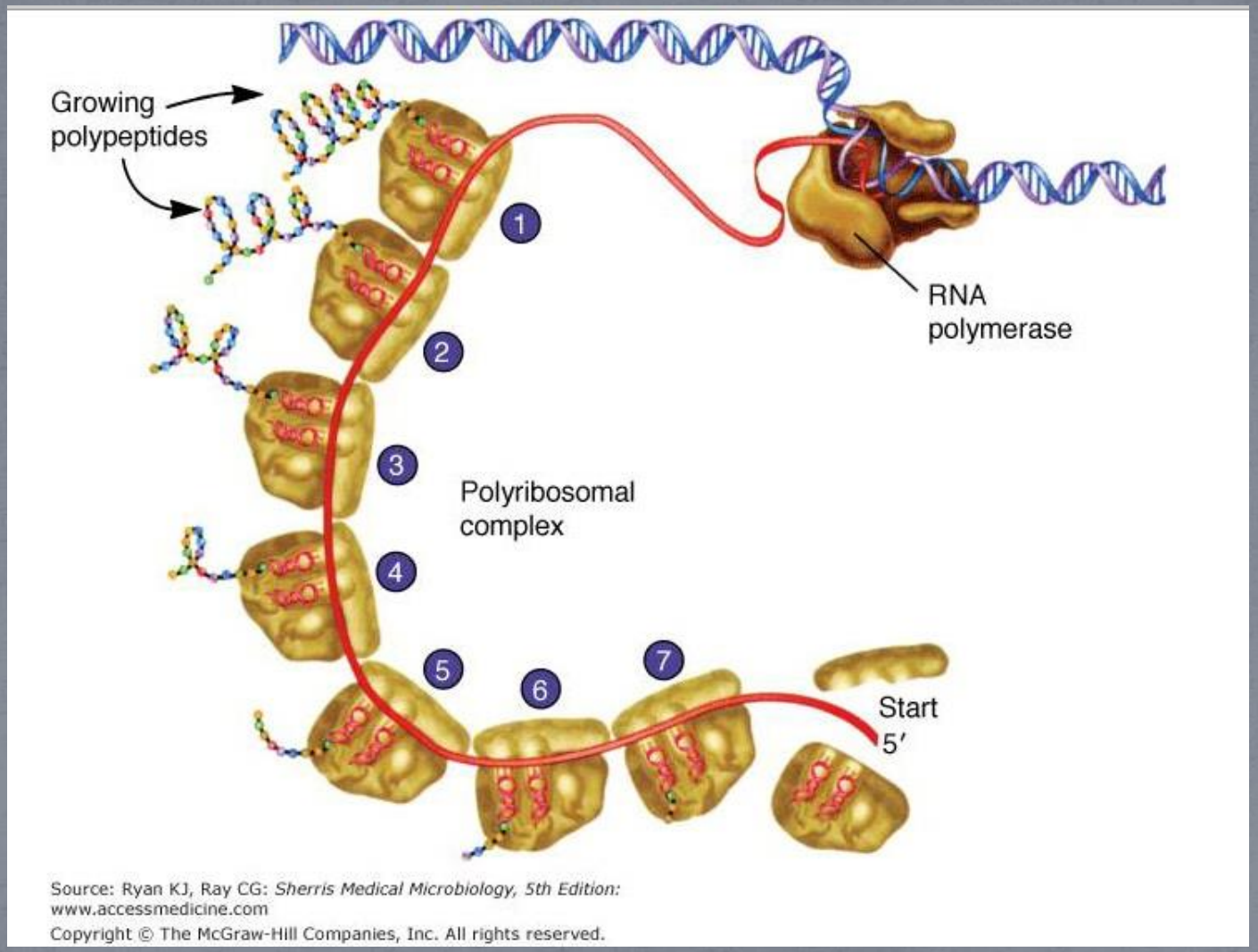


Translacija





Transkripcija i translacija



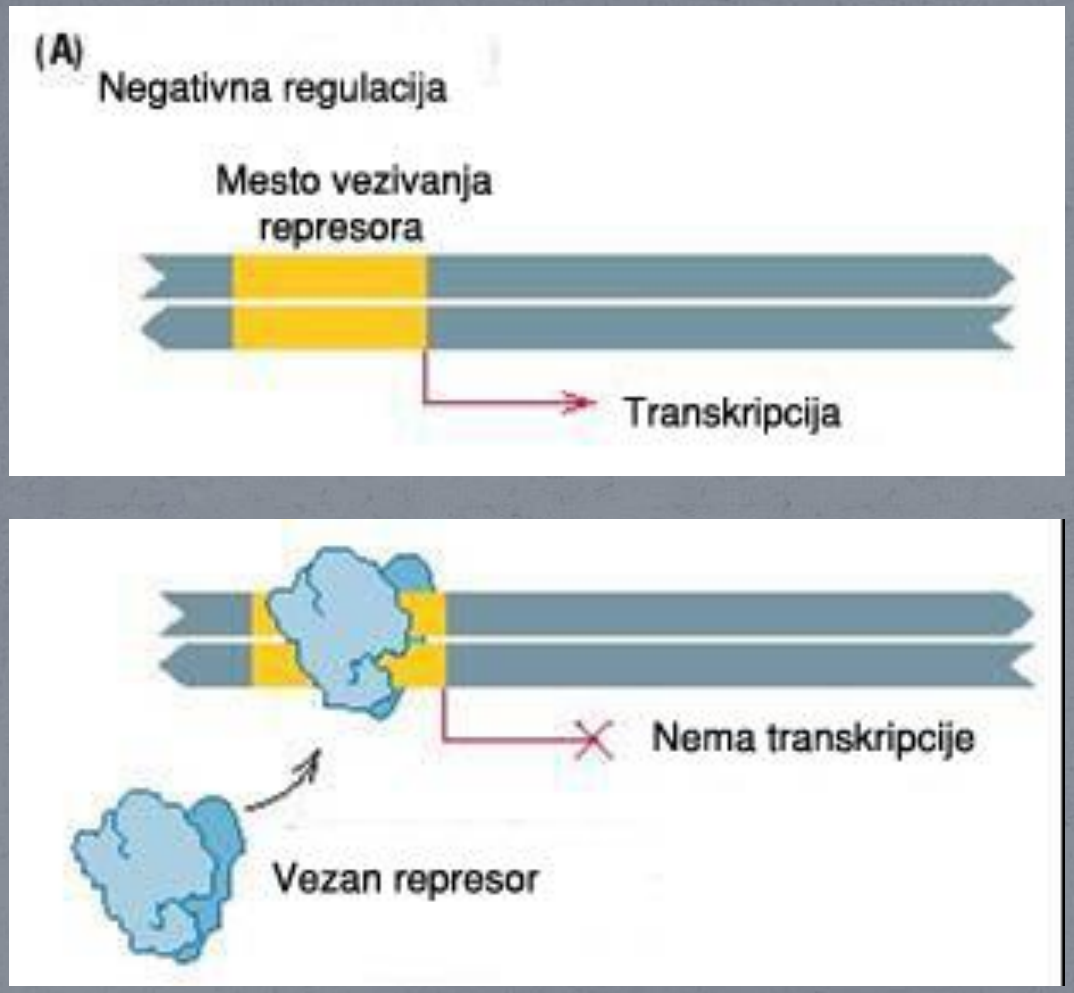
Source: Ryan KJ, Ray CG: *Sherris Medical Microbiology, 5th Edition:*
www.accessmedicine.com

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

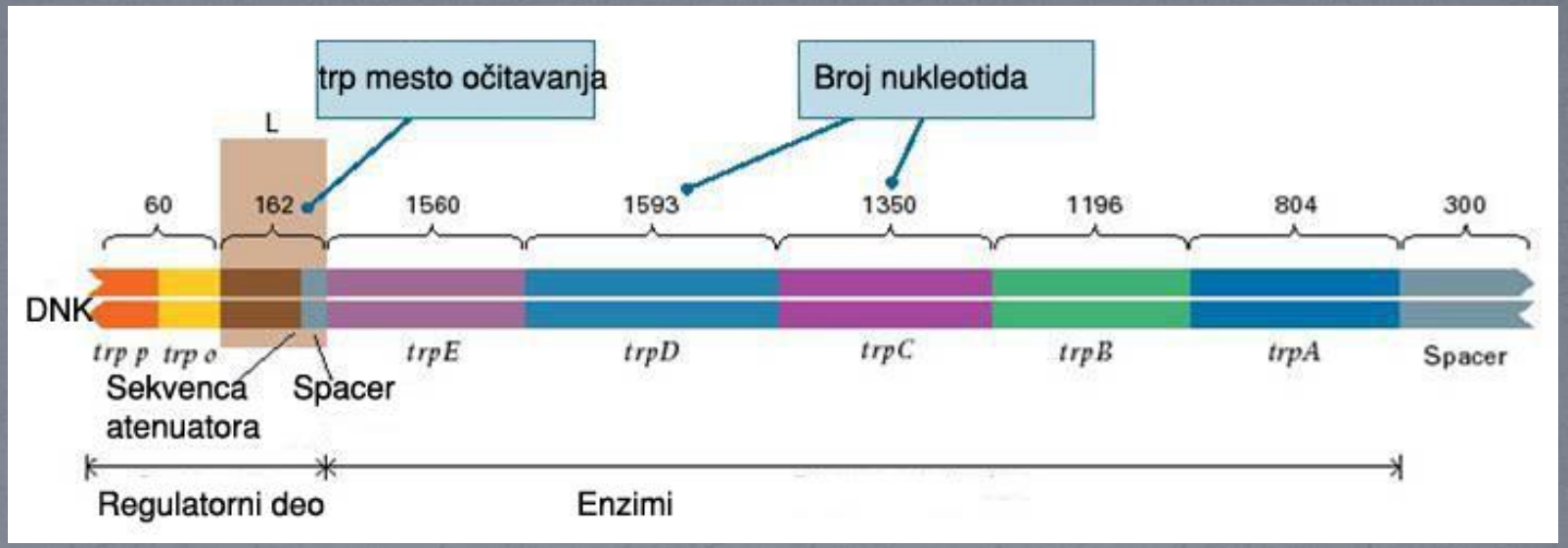
Operon

- Geni slične funkcije često u grupama
- Jedinstveno kontrolisana celina – operon
- Regulacija ekspresije gena
  - **Na nivou transkripcije**
  - Na nivou translacije
- Inducibilni i represibilni operoni

Negativna regulacija ekspresije gena

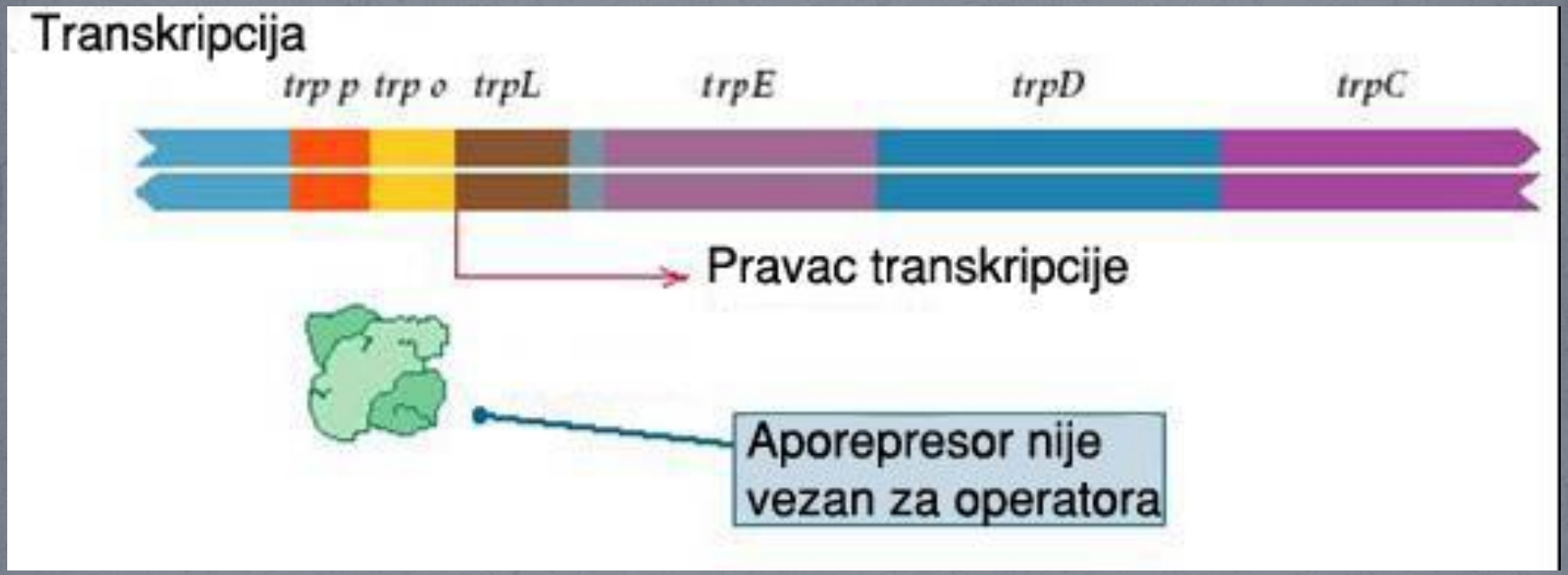


Triptofan operon

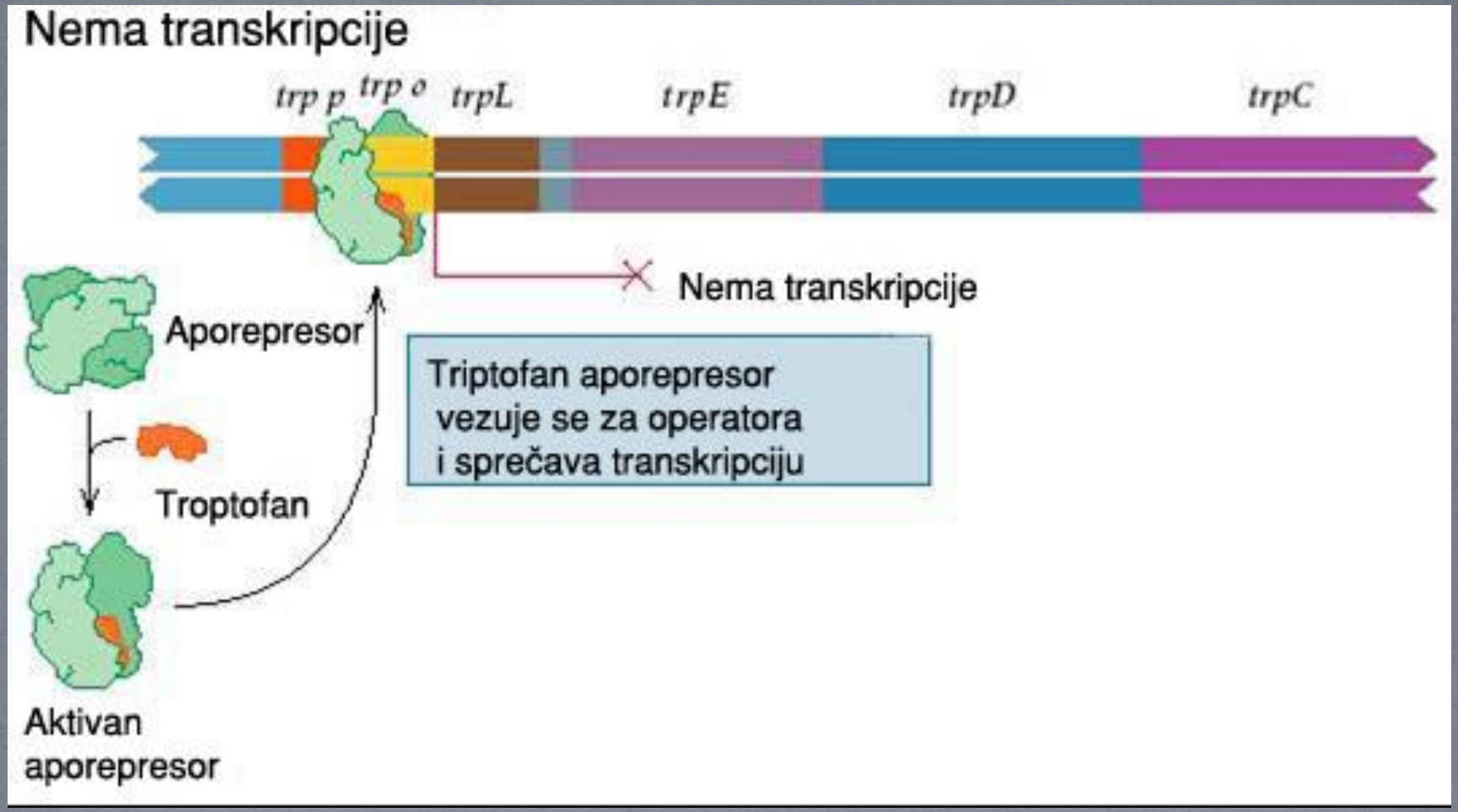


- trp operon sadrži pet strukturnih gena trpE, trpD, trpC, trpB, i trpA, koji kodiraju enzime neophodne za sintezu triptofana. Pored toga sadrže represivni regulatorni gen trpR.

Triptofan operon

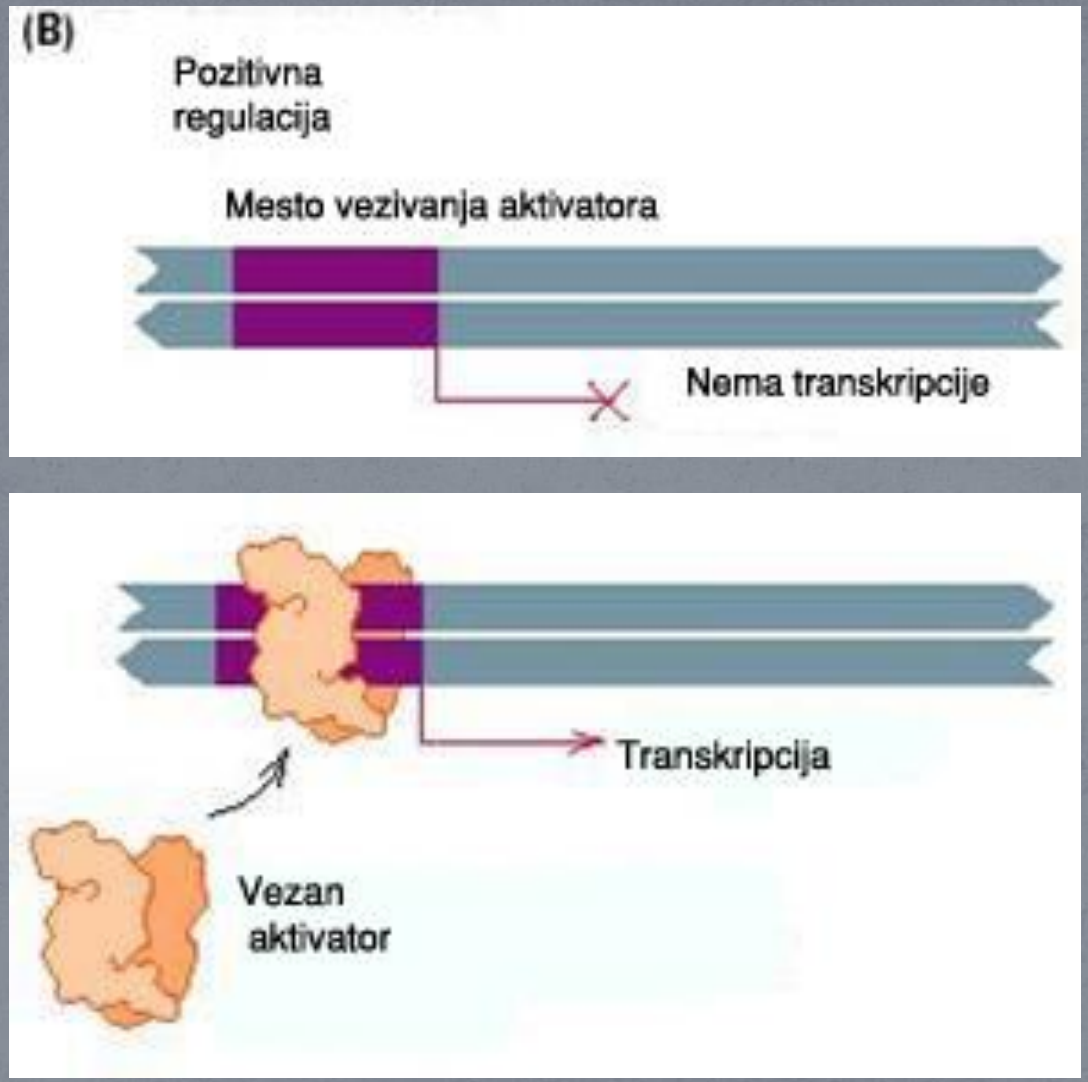


Triptofan operon – negativna regulacija

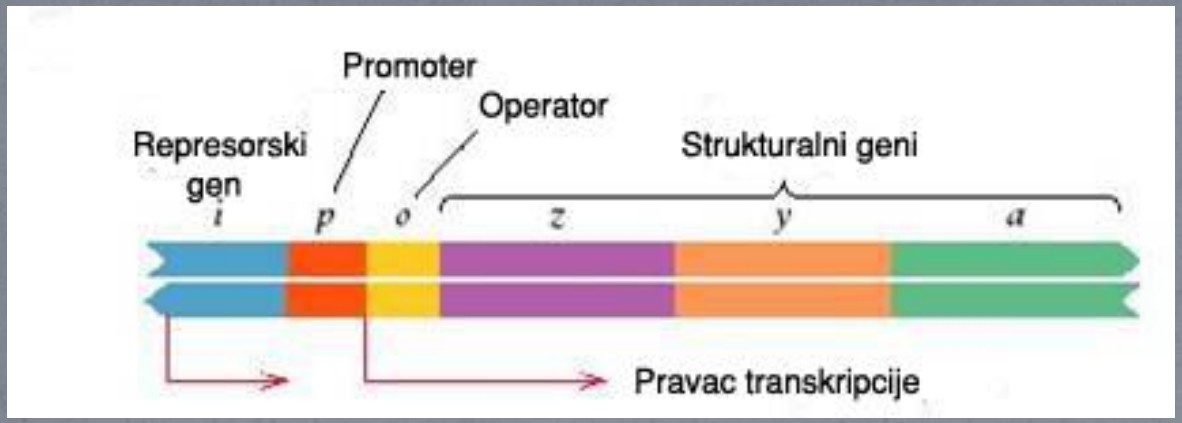


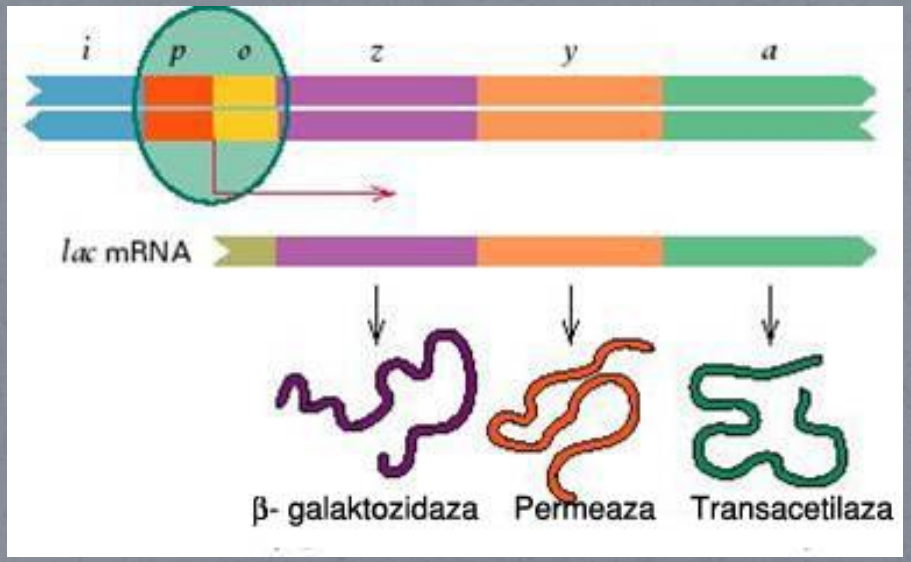
aporepresor + korepresor → aktivan represorski kompleks

Pozitivna regulacija ekspresije gena

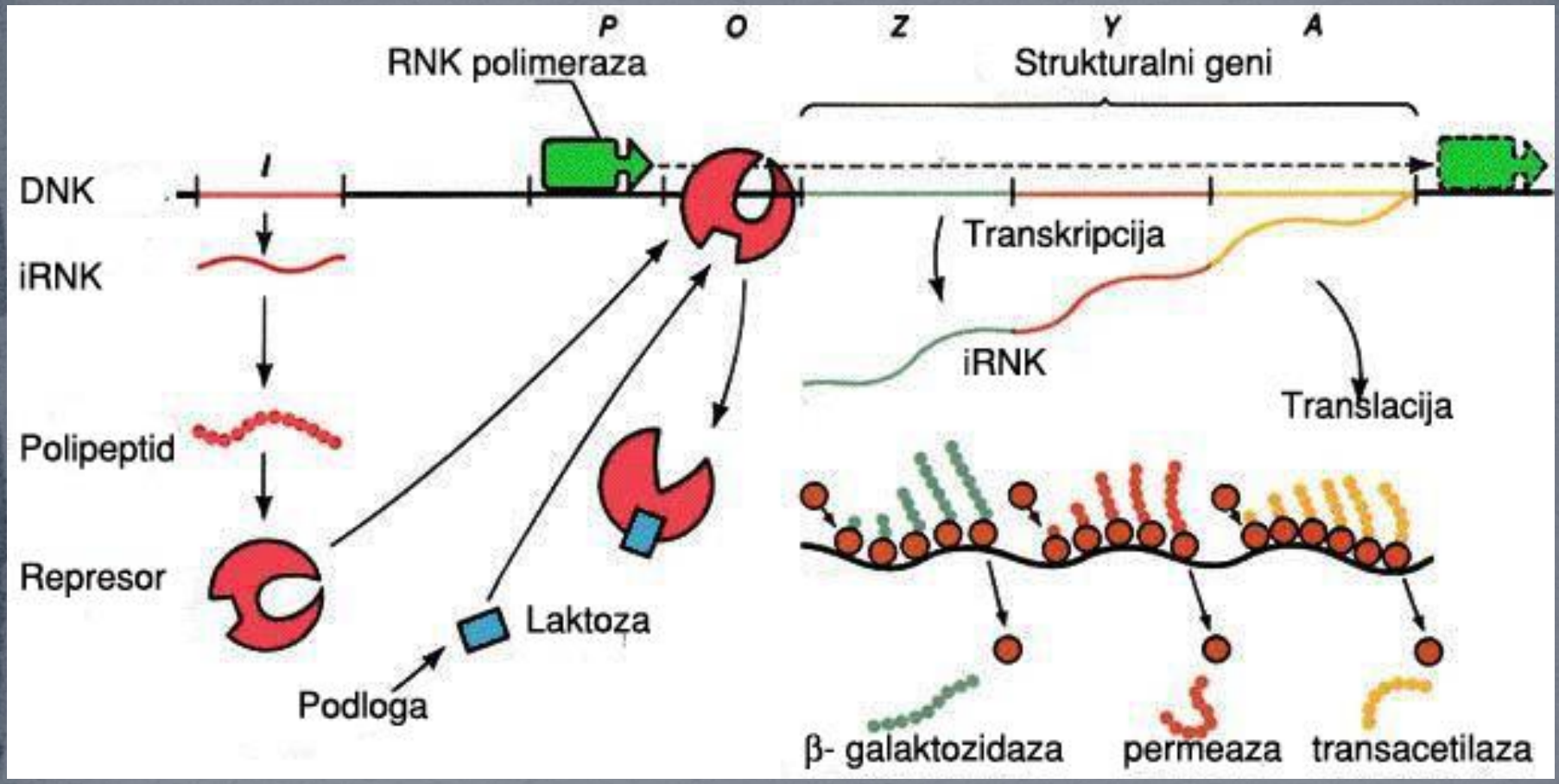


Laktoza operon – pozitivna regulacija





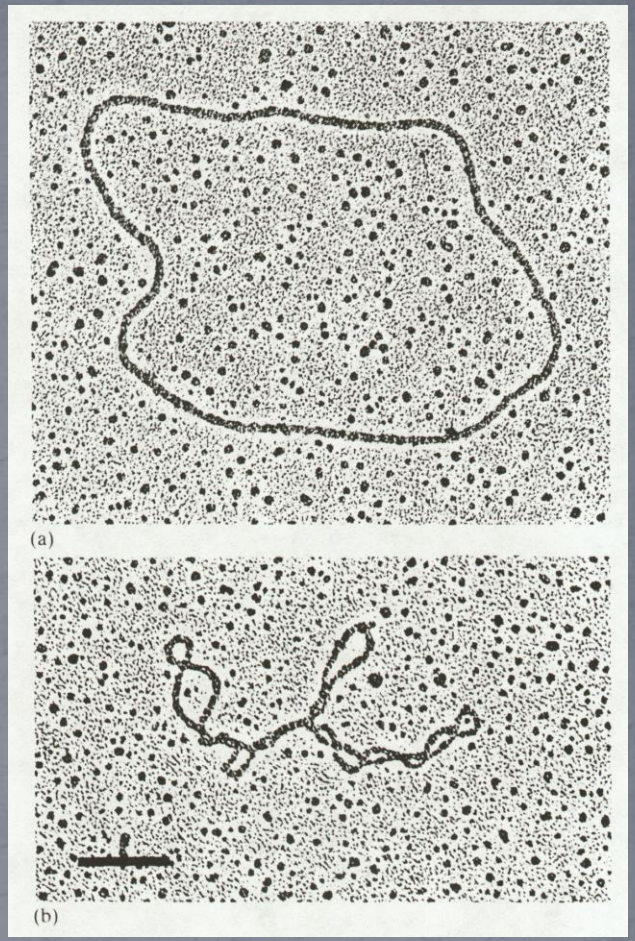
Laktoza operon



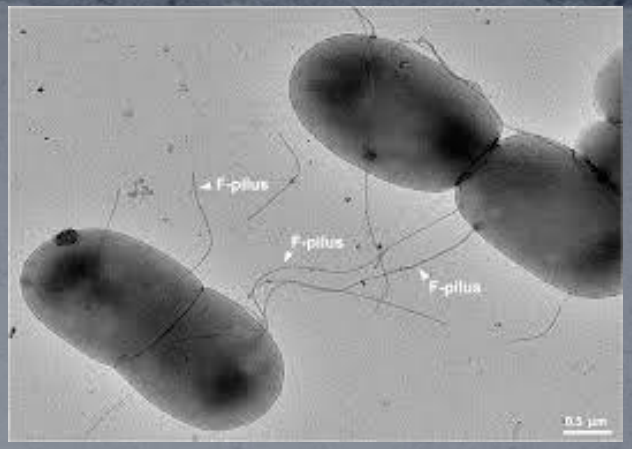
represor + laktoza kao aktivator→ inaktivisani represor

Plazmidi

- **Plazmidi - ekstrahromozomski samoreplikujući materijal**
- Broj gena na plazmidima od nekoliko do nekoliko stotina gena
- **Dele se na konjugativne plazmide i nekonjugativne plazmide**
- **Epizom** – plazmid koji nije samostalan u citoplazmi nego je ugrađen u hromozom (Hfr) ili je vazan za citoplazmatičnu membranu (F+)

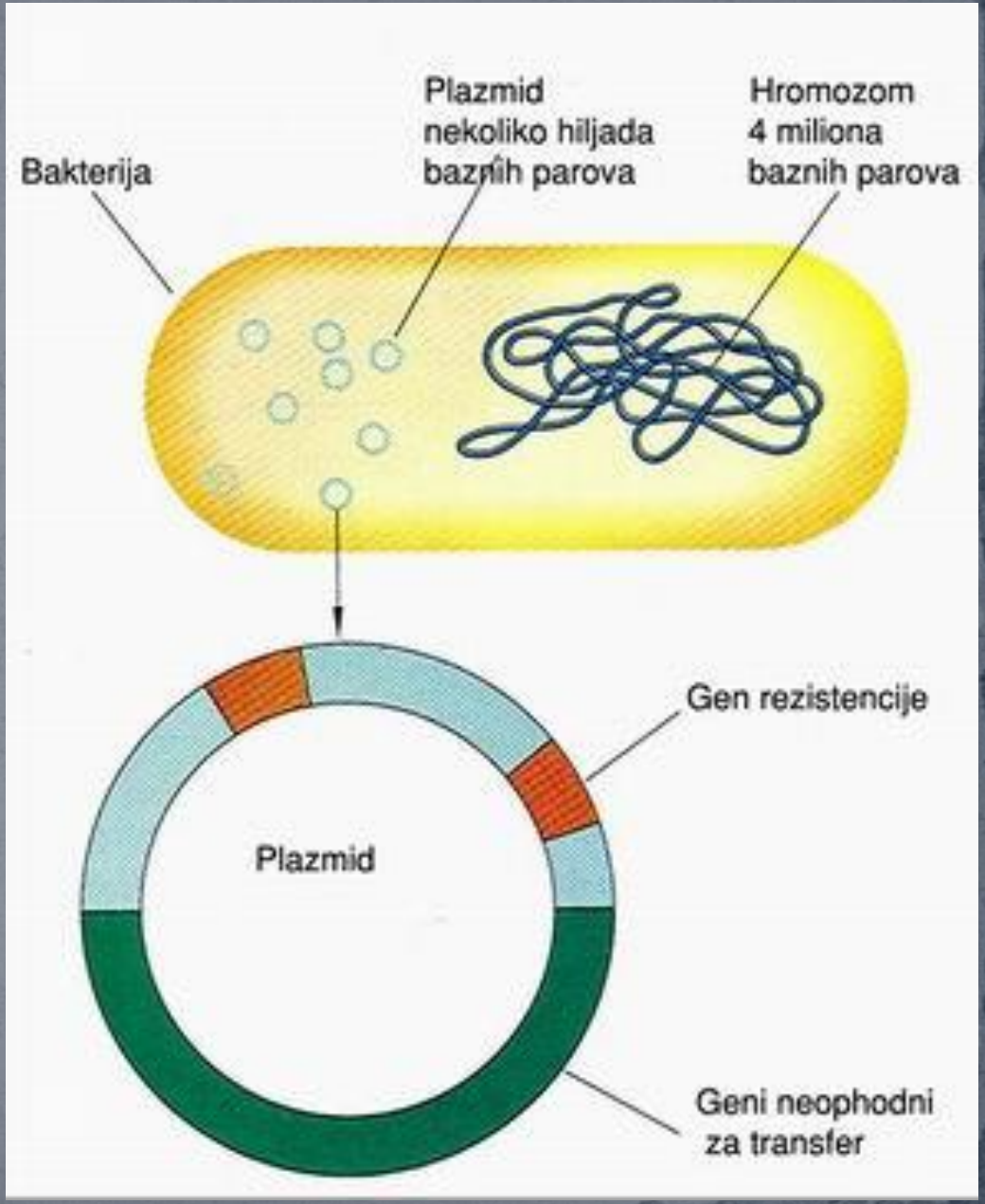


Plazmidi



- **Plazmidi – geni od važnosti u određenim okolnostima.**
- **Molekularno kloniranje - metoda molekularne biologije koja se korist za formiranje molekula rekombinantne DNK i za usmeravanje njene replikacije unutar organizma domaćina.**
- **Plazmidi spadaju u replikone – DNK sposobnu da se autonomno umnožava u odgovarajućem domaćinu.**
- **Plazmidi kao i virusi nisi uvršćeni u žive organizme.**
- **Horizontalni transfer genetskog materijala između bakterija – mobiloni.**
- **Najčešći način prenošenja plazmida – konjugacija.**

Geni na plazmidima determinišu rezistenciju prema antibioticima, faktore virulencije – kolonizacije i toksine.



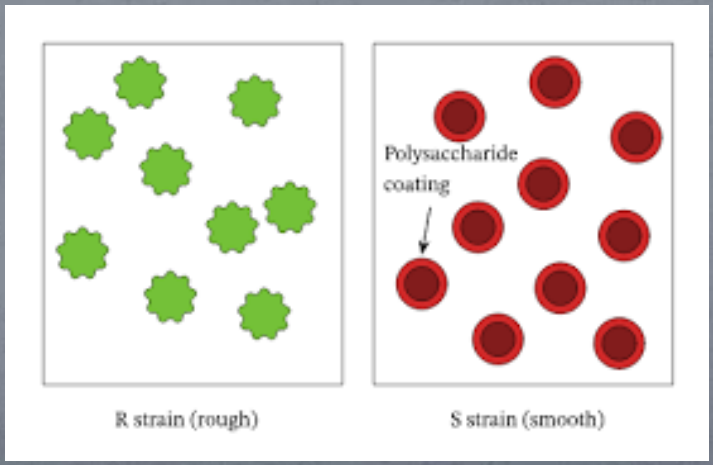
Modifikacije i mutacije

- **Osnovna karakteristika genetskog materijala održavanje identiteta bioloških vrsta koje se prenosi sa roditelja na potomstvo.**
- Sposobnost prilagođavanja uslovima sredine fenotipske promene- **modifikacije.**
- Veća verovatnoća nastanka greške kod bakterija genotipske promene- **mutacije.**
- Repair mehanizmi- polimeraze i SOS sistem

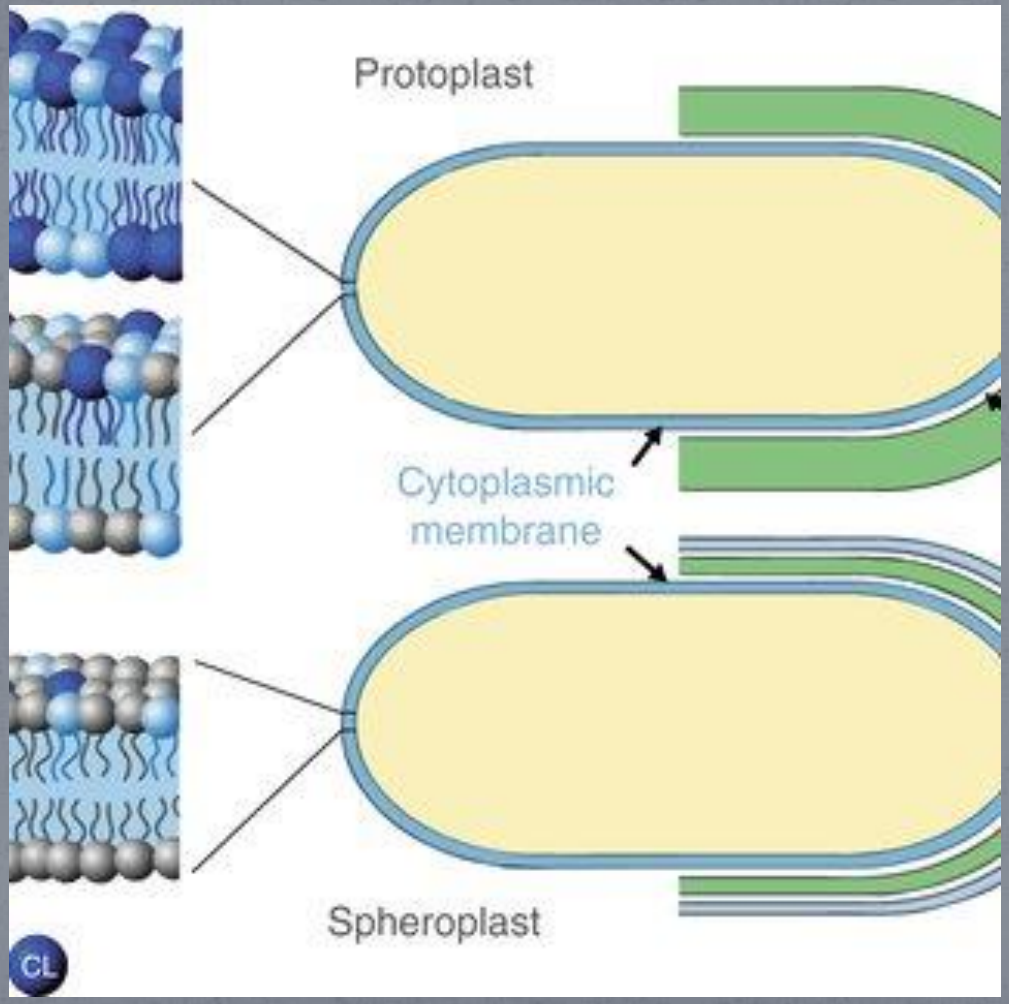
Modifikacije

- **Fenotipske promene reverzibilnog karaktera**
- **L - oblici bakterija - sferoplasti i protoplasti**

  - forme bez ćelijskog zida
- Varijacije- izgled kolonija **S-glatke –smooth i R-rapave-rough**
- Povratkom prvobitnih uslova sredine vraćaju se i izvorne fenotipske karakteristike bakterija



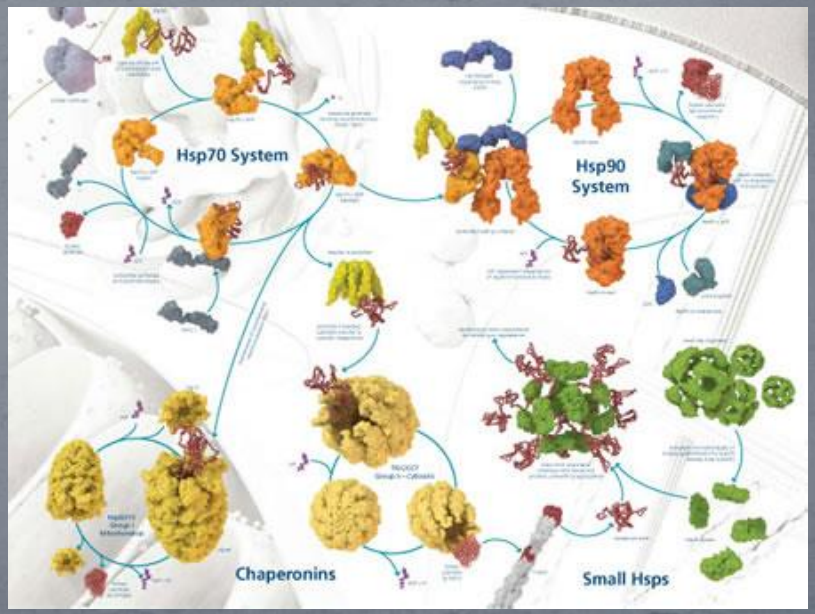
L - oblici bakterija - sferoplasti i protoplasti



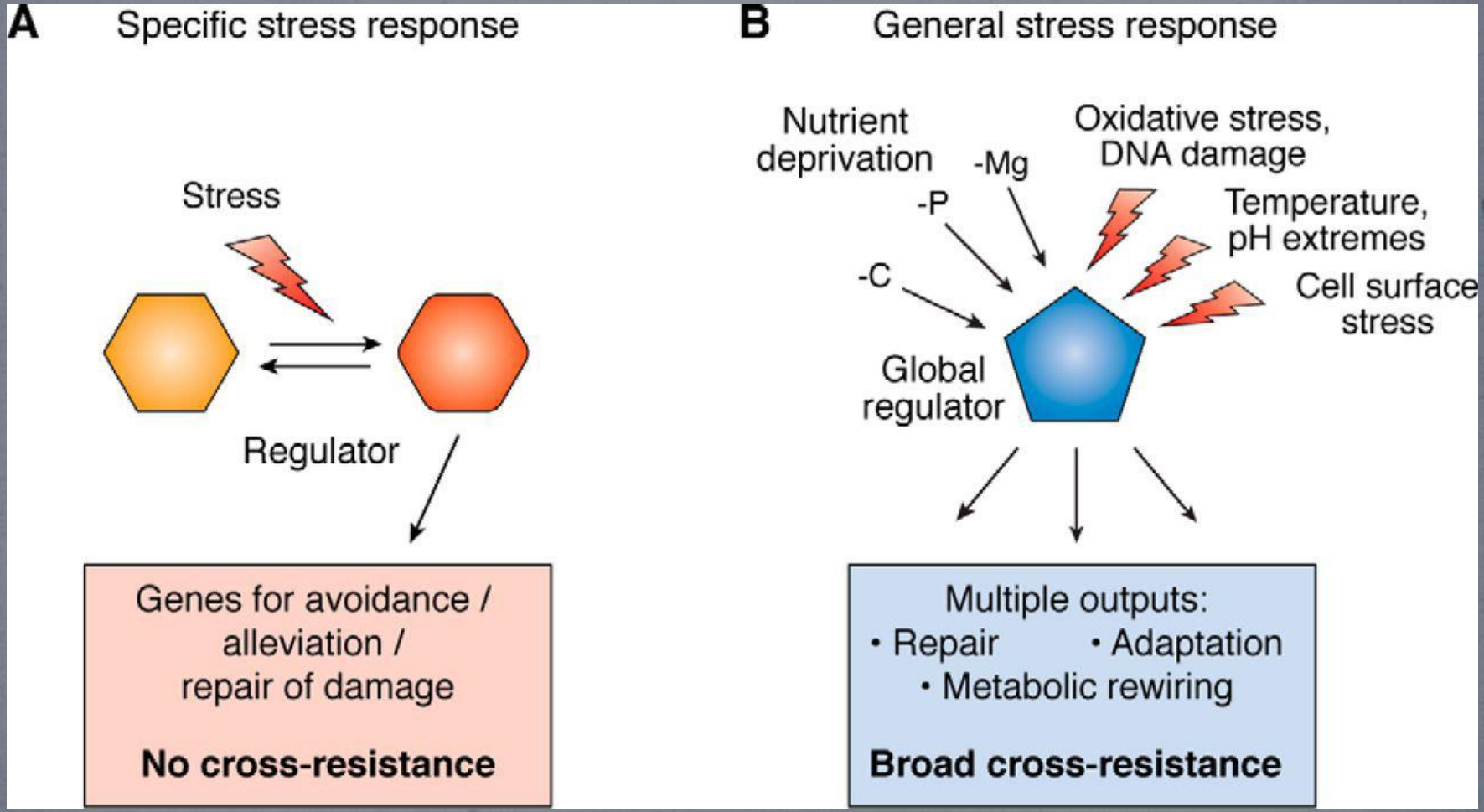
Preživljavanje bakterija

- Stres – nedostatak hrane nrp glukoze, oštećenje DNK
- Odgovor – aktiviranje gena koji obezbeđuju alternativan izvor ugljenika
- Odgovor – aktivirani repair mehanizmi DNK i zaustavljena deoba ćelije
- Odgovor na povišenu temperaturu – heat shock odgovor

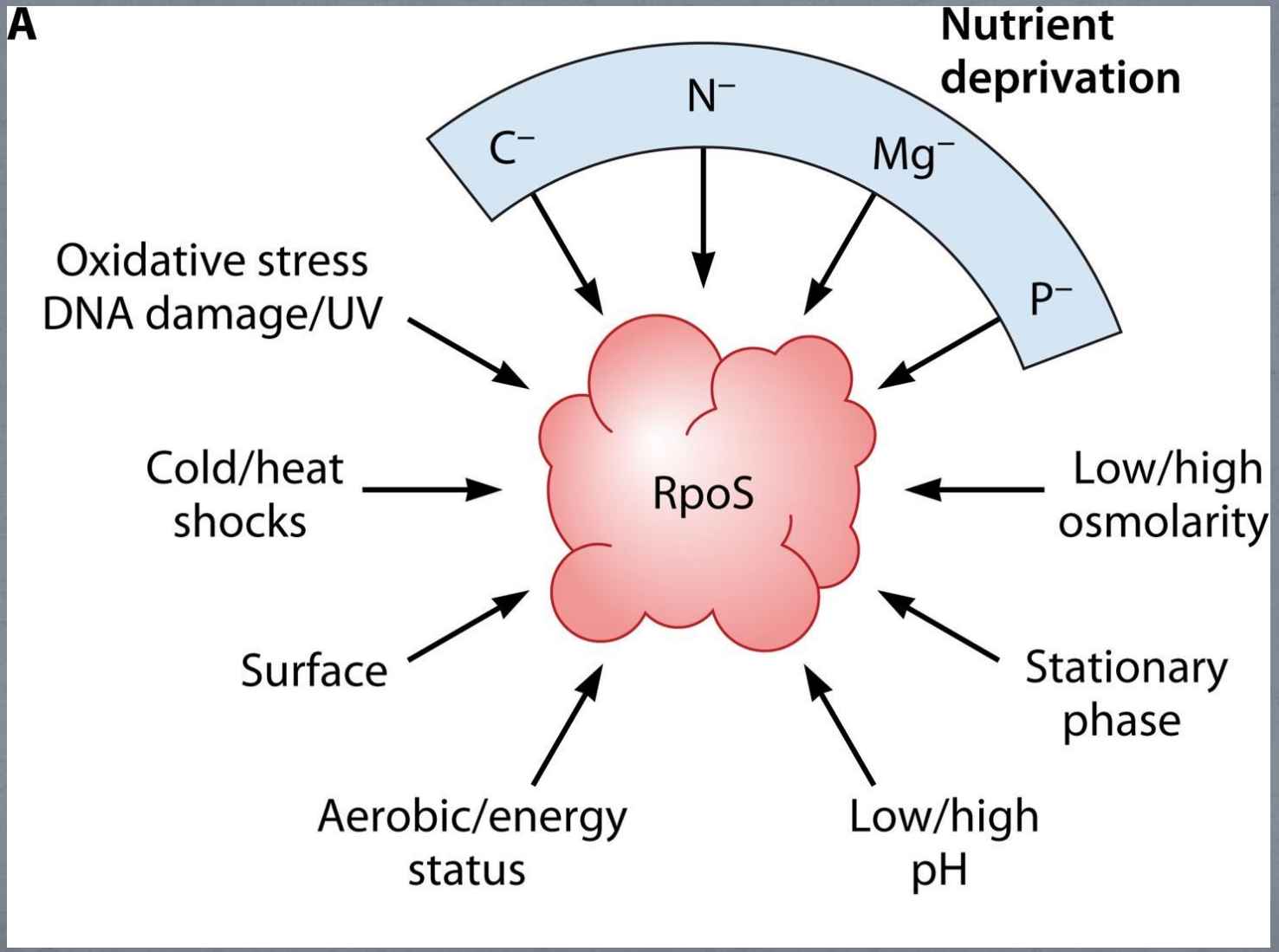




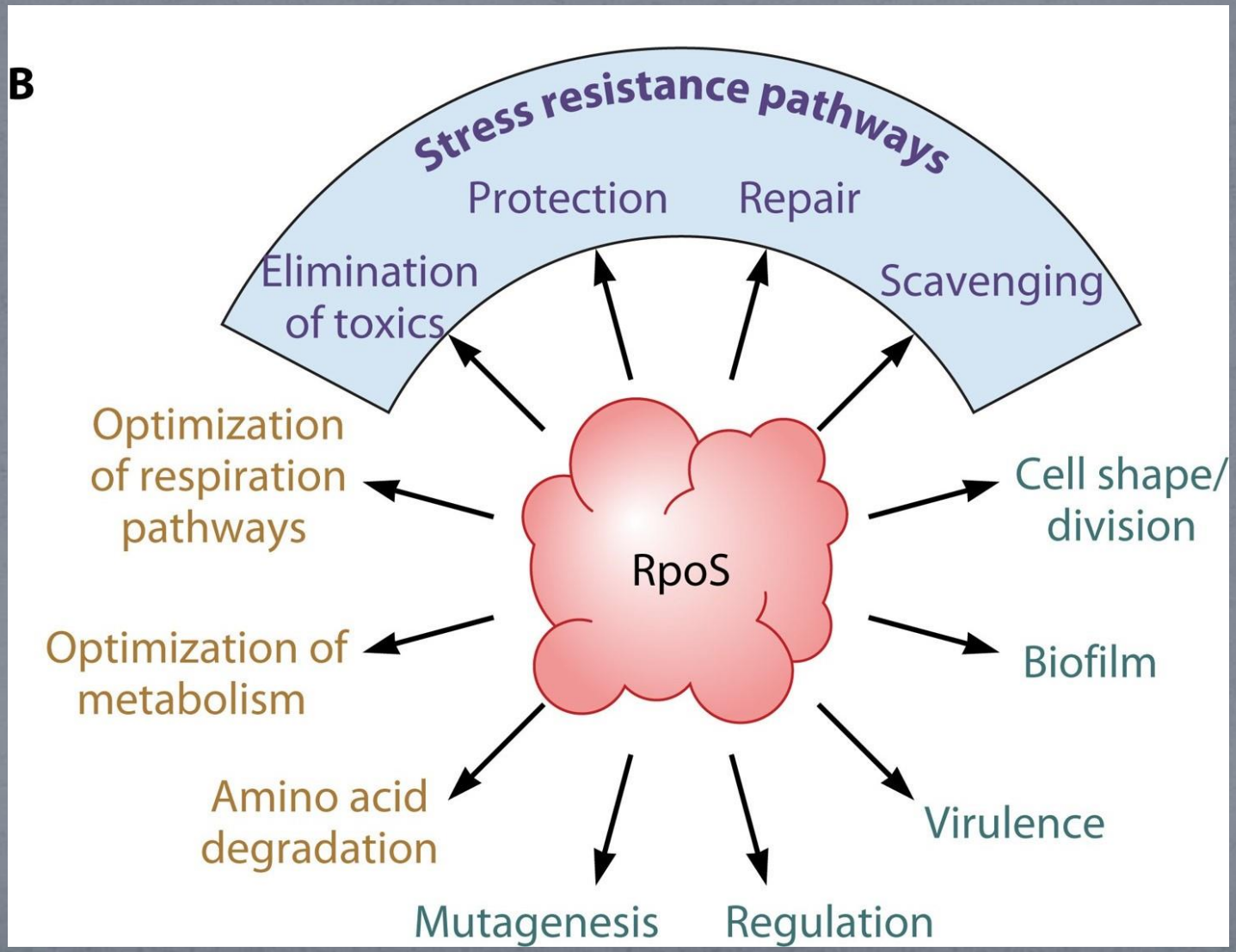
Odgovor na stres – specifičan i generalni odgovor



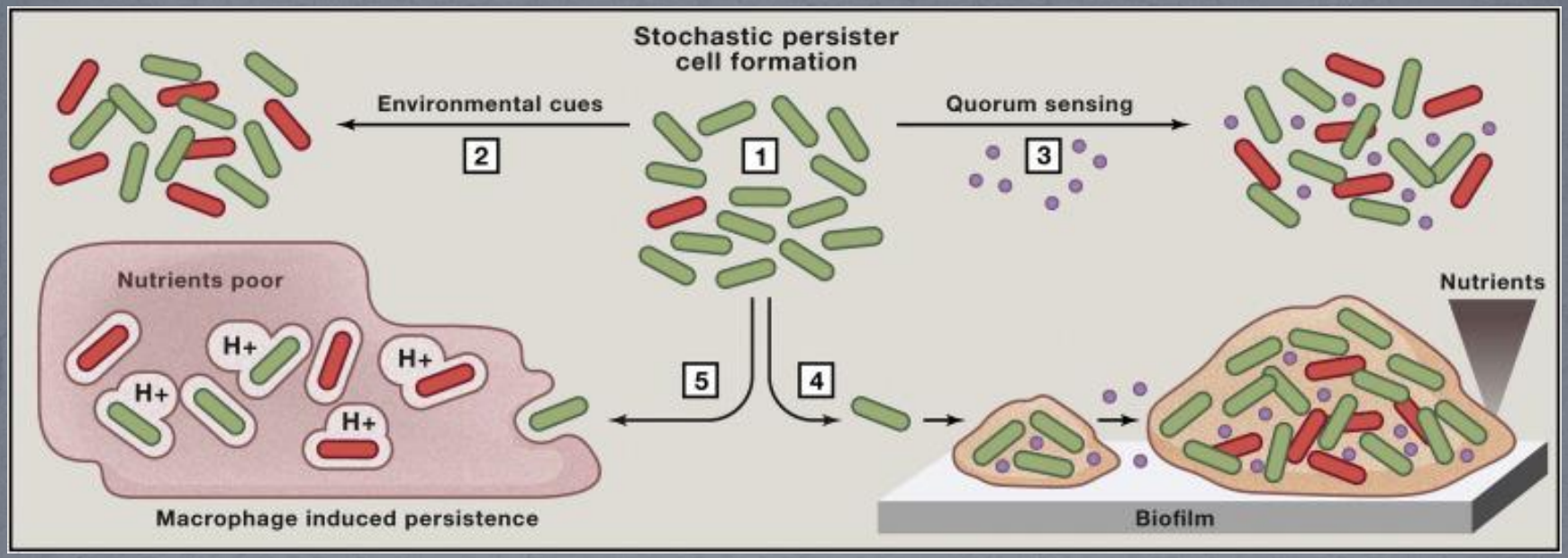
Generalni odgovor na stres



Generalni odgovor na stres

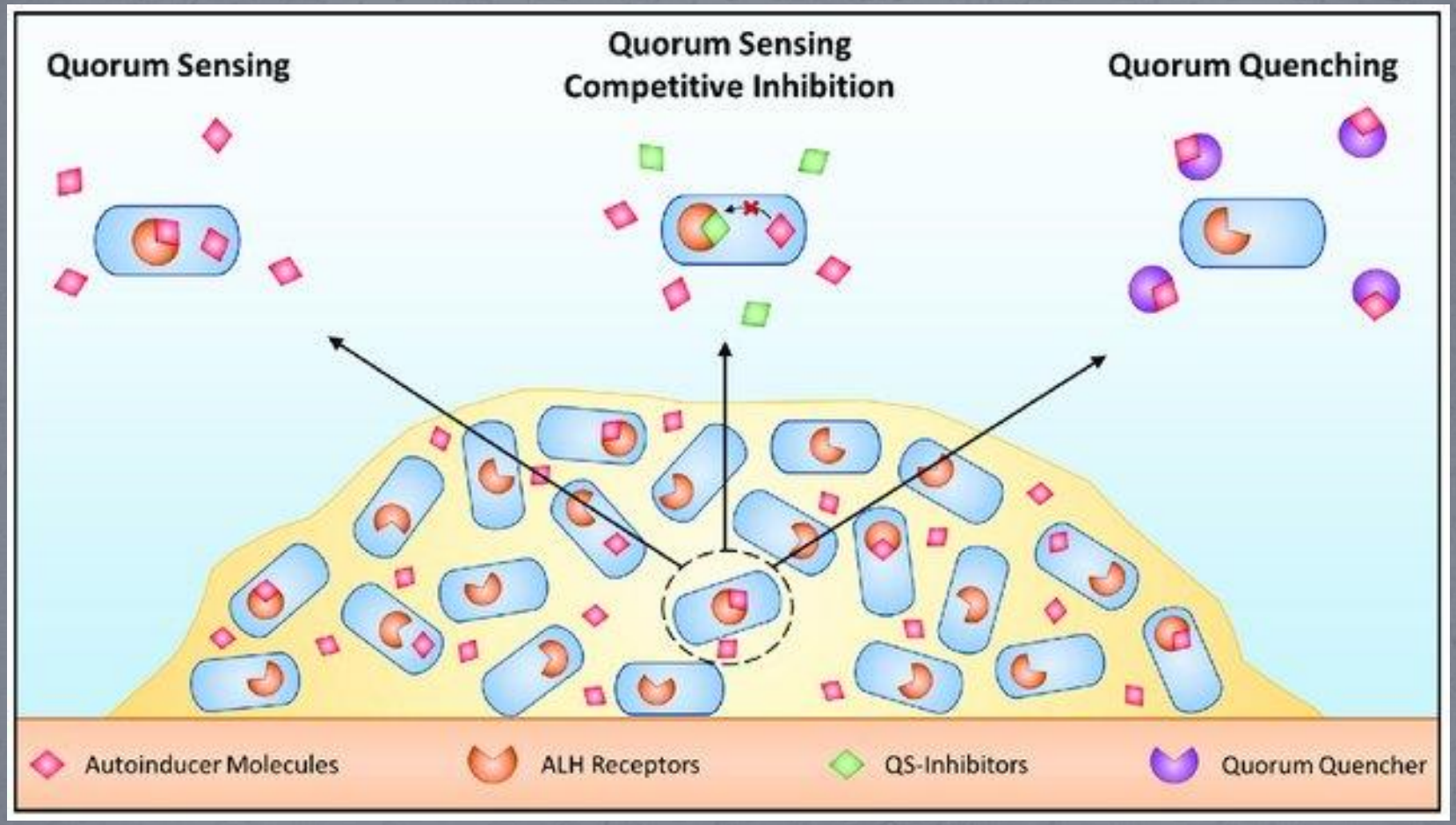


Perzistencija i perzistori

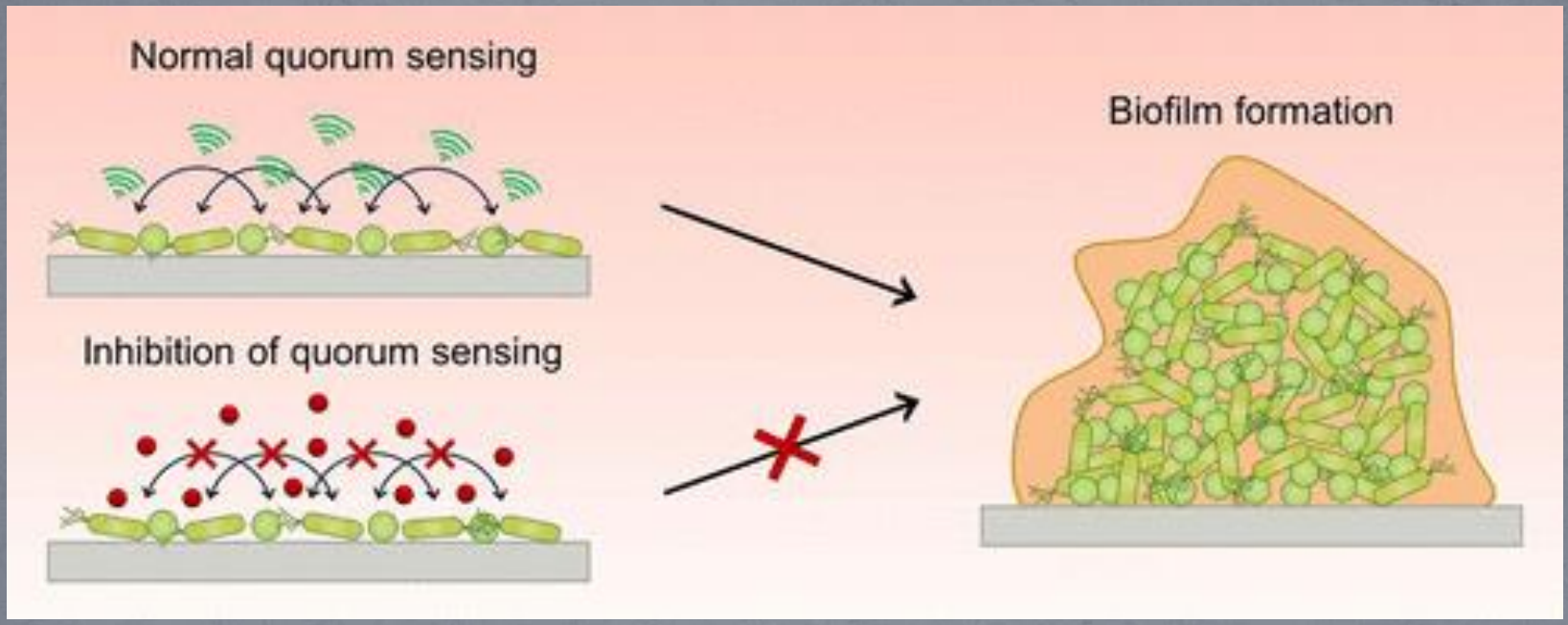


(1) Perzistentnost bakterija može se pojaviti stohastički u bakterijskim kulturama bez stresa kao rezervna strategija preživljavanja
(2) Stres - nedostatak hranljivih materija, oksidativni i pH stres, toplotni šok...
(3) Komunikacija bakterija - quorum sensing
(4) Biofilm
(5) Interakcija domaćin-patogen takođe izaziva stvaranje perzistera.

Biofilm i quorum sensing



Biofilm i quorum sensing

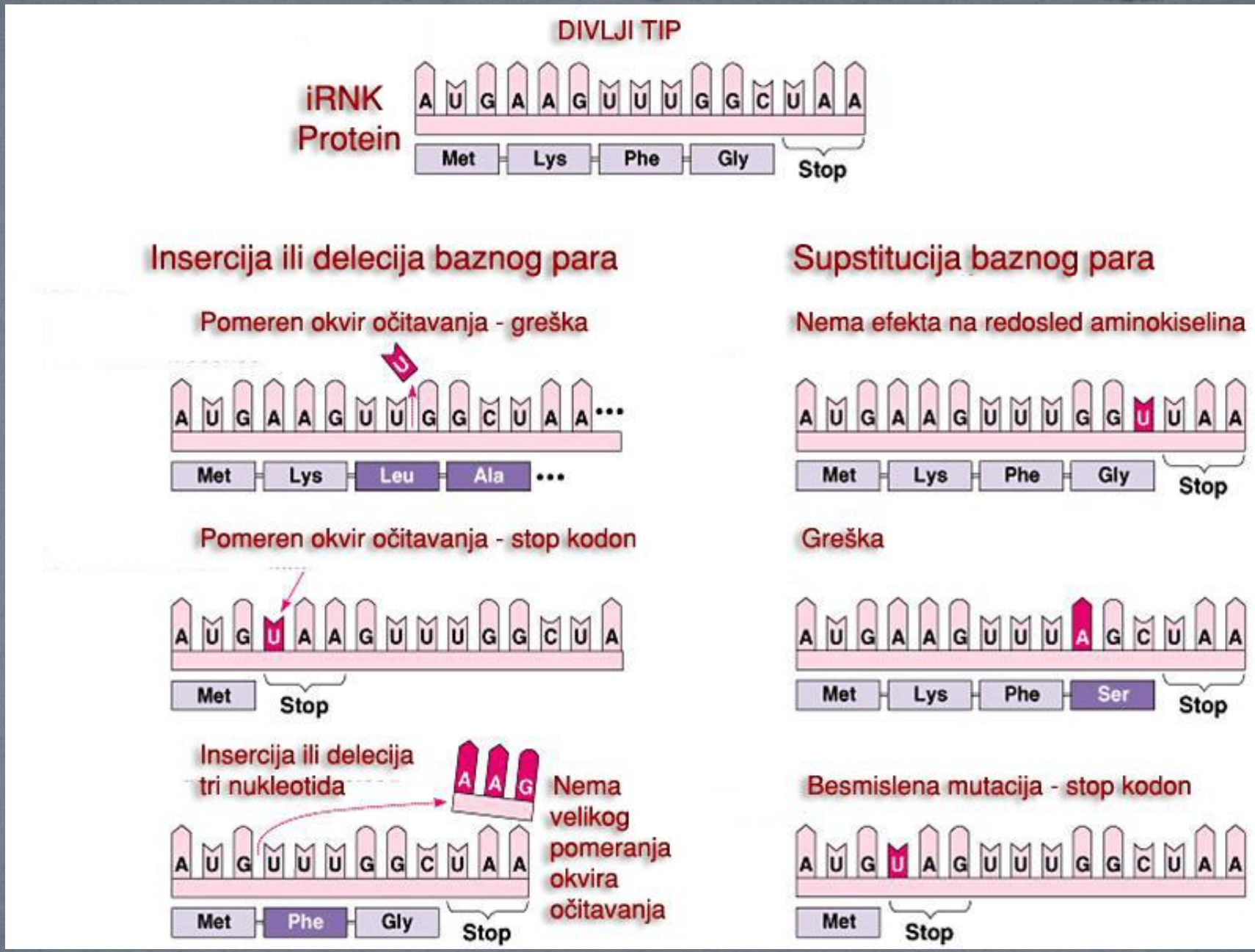


Mutacije

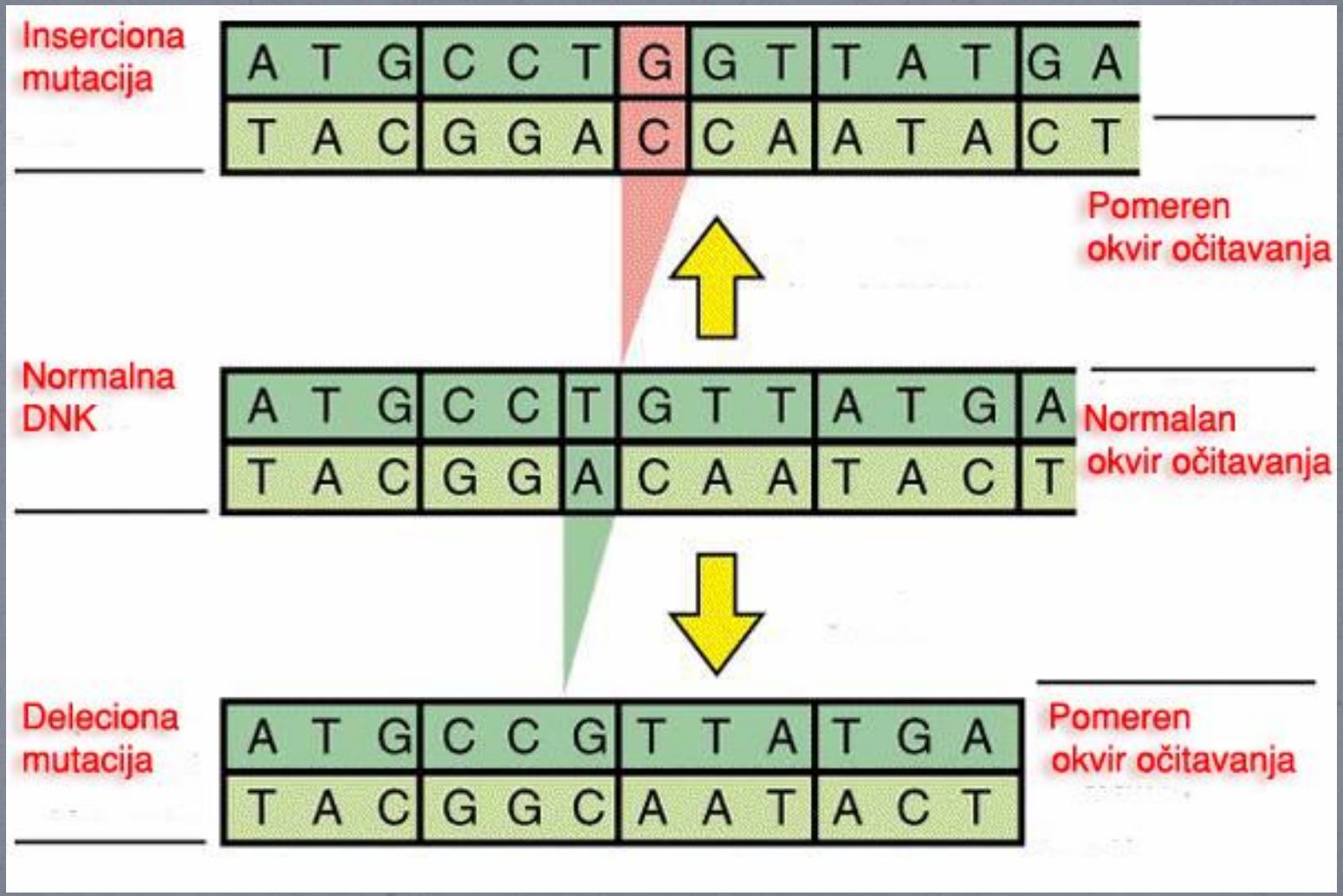
- Nasledne promene redosleda baza u DNK
- **Prirodne-spontane mutacije i indukovane u laboratorijskim uslovima**
- Greške prilikom replikacije 1 na 10.000 baza
- DNK replikaze imaju mogućnost provere i u slučaju greške egzonukleaznu aktivnost
- Agensi provociraju nastanak mutacija- hemijski, fizički i biološki mutageni

Podela mutacija prema veličini promenjenog segmenta DNK

- **Mikrolezije** - tačkaste mutacije- supstitucija, delecija, insercija
- **Makrolezije** - delecije, duplikacije, inverzije, insercije
- Mutacije mogu biti vidljive i skrivene odnosno sa ili bez fenotipske ekspresije


DIVLJI TIP
iRNK
Protein
A U G A A G U U U G G C U A A
Met Lys Phe Gly Stop
Insercija ili delecija baznog para
Pomeren okvir očitavanja - greška
A U G A A G U U U G G C U A A
Met Lys Leu Ala
Pomeren okvir očitavanja - stop kodon
A U G U A A G U U U G G C U A
Met Stop
Insercija ili delecija tri nukleotida
A A G
A U G U U U G G C U A A
Met Phe Gly Stop
Nema velikog pomeranja okvira očitavanja
Supstitucija baznog para
Nema efekta na redosled aminokiselina
A U G A A G U U U G G U U A A
Met Lys Phe Gly Stop
Greška
A U G A A G U U U A G C U A A
Met Lys Phe Ser Stop
Besmislena mutacija - stop kodon
A U G U A G U U U G G C U A A
Met Stop

Mutacije

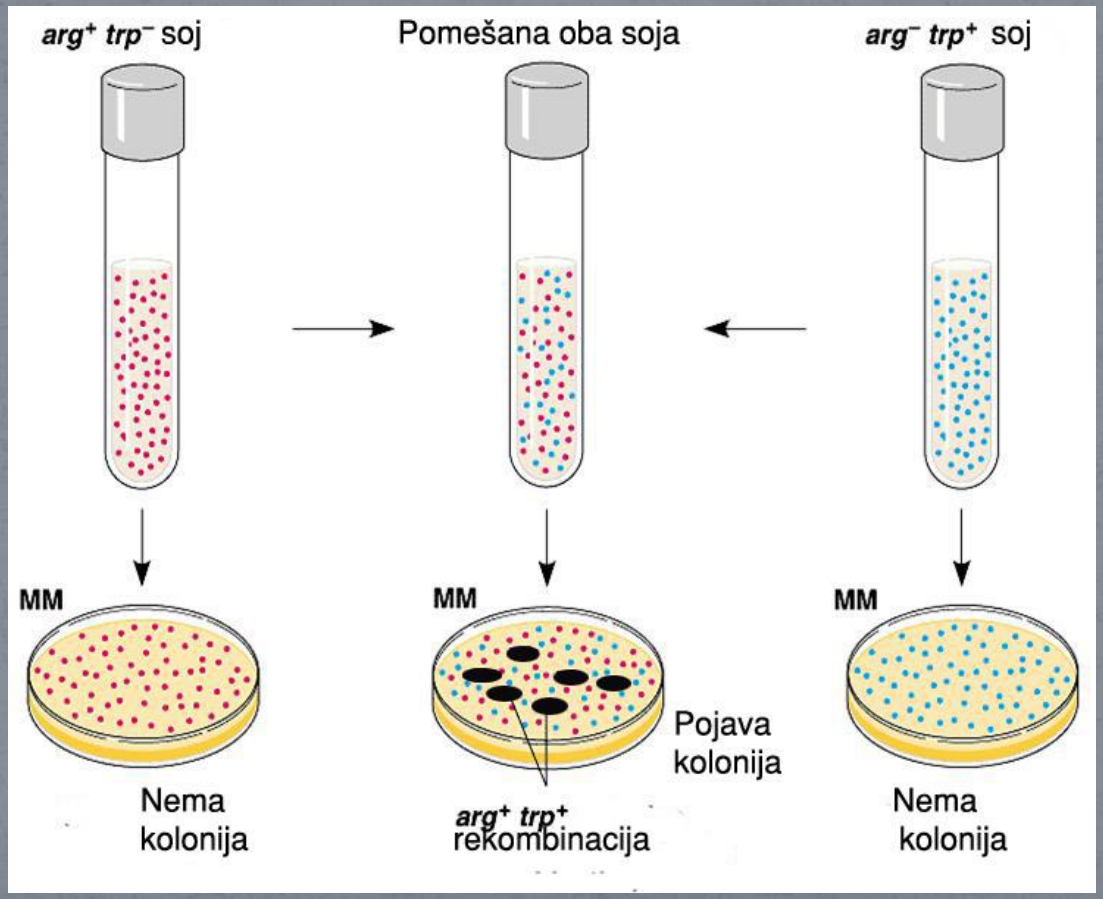

Inserciona mutacija
A T G C C T G G T T A T G A
T A C G G A C C A A T A C T
Pomeren okvir očitavanja
Normalna DNK
A T G C C T G T T A T G A
T A C G G A C A A T A C T
Normalan okvir očitavanja
Deleciona mutacija
A T G C C G T T A T G A
T A C G G C A A T A C T
Pomeren okvir očitavanja

Mutacije – uzrok biodiverziteta

- **2 x 10^{10} *Escherchia coli*** dnevno se “stvori” u debelom crevu ljudi
- **1 x 10^{-7} mutacija po genu po deobi**
- **4300 gena** ima *E. coli*

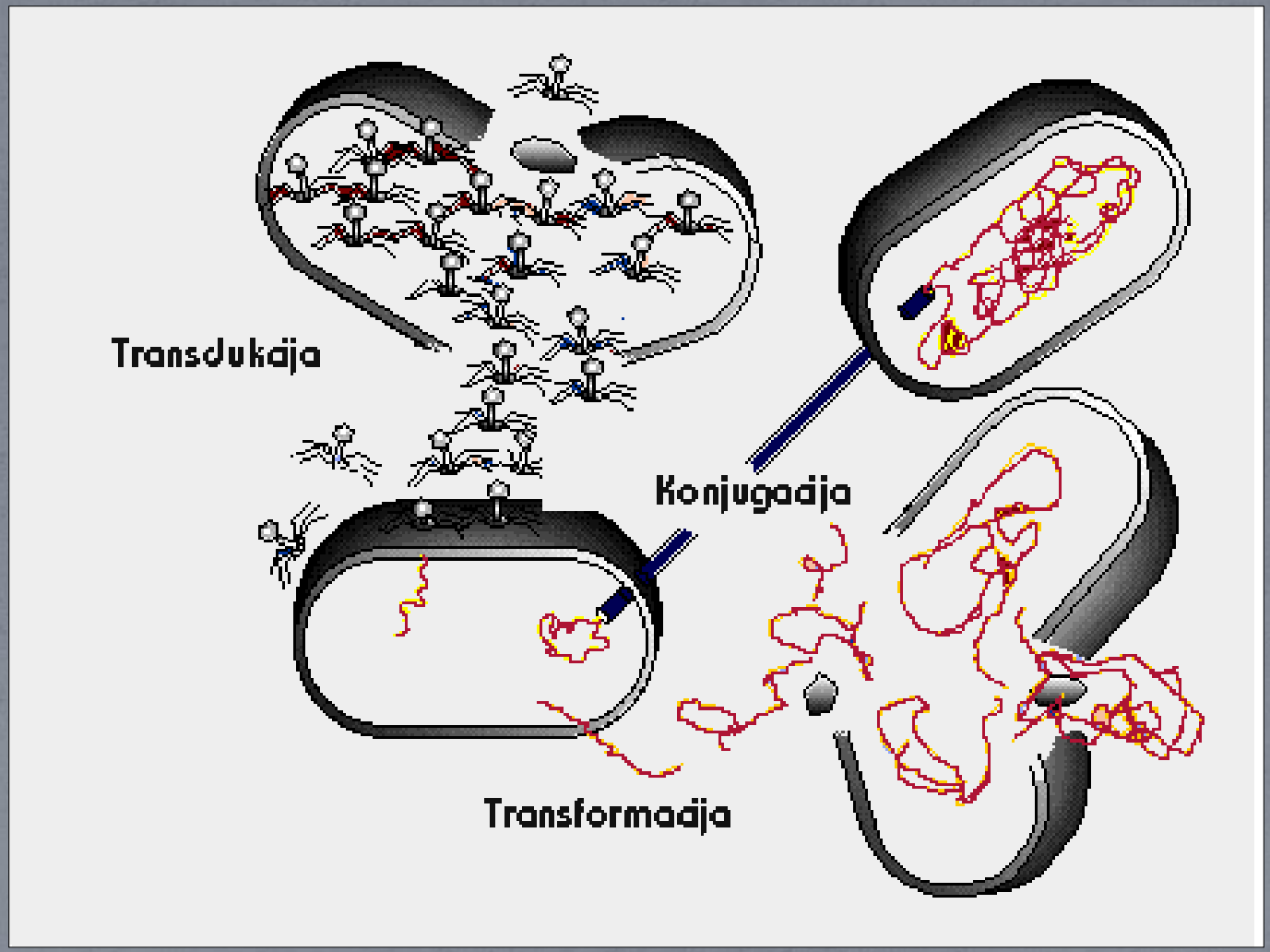
» **9 x 10^{6} mutanata dnevno kod ljudi**

Genetske rekombinacije
- kombinacije dva organizma



Tri mehanizma prenošenja genetskog materijala

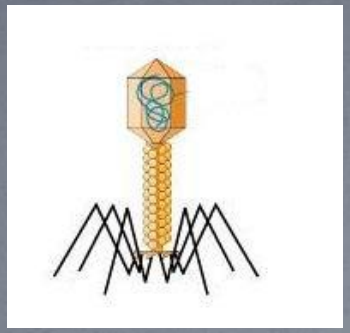
- **Transformacija**
- **Transdukcija**
- **Konjugacija**
- ćelija čiji se fragment DNK prenosi- **donor**
- ćelija koja prima genetski materijal- **recipijent**


Transdukāja
Konjugaāja
Transformaāja

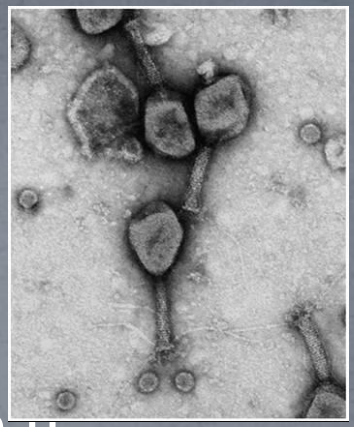
Transformacija

- prihvatanje slobodne DNK iz spoljašnje sredine, unošenje i integrisanje u genom

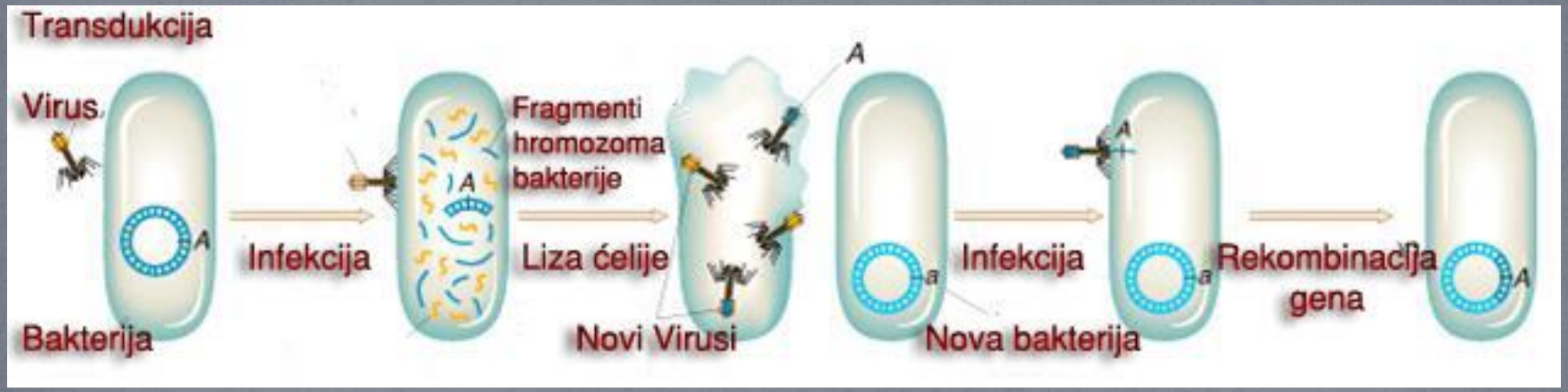


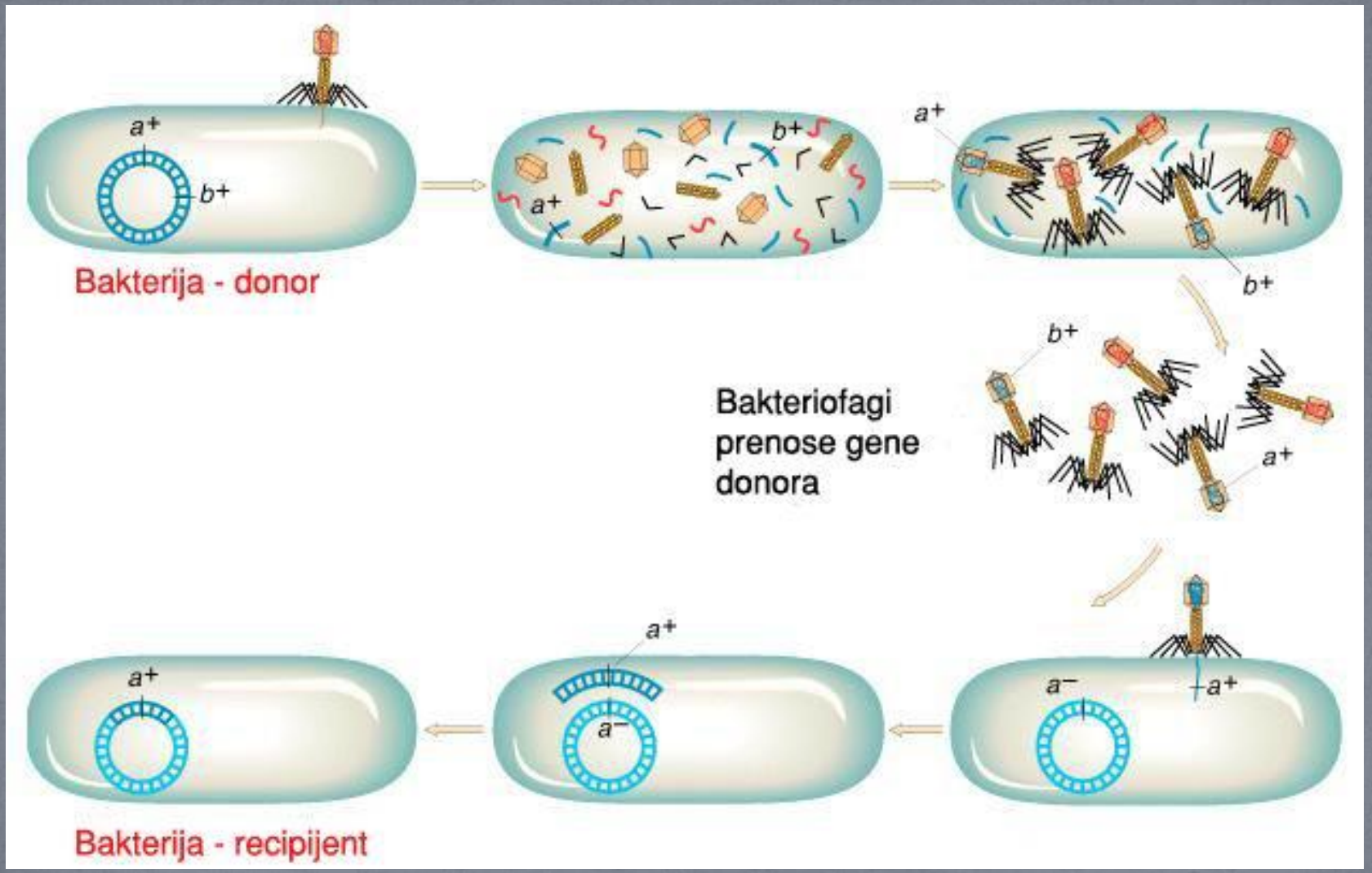


Transdukcija



- prenos genetskog materijala iz donorske u recipijentnu ćeliju posredstvom bakteriofaga-virusi



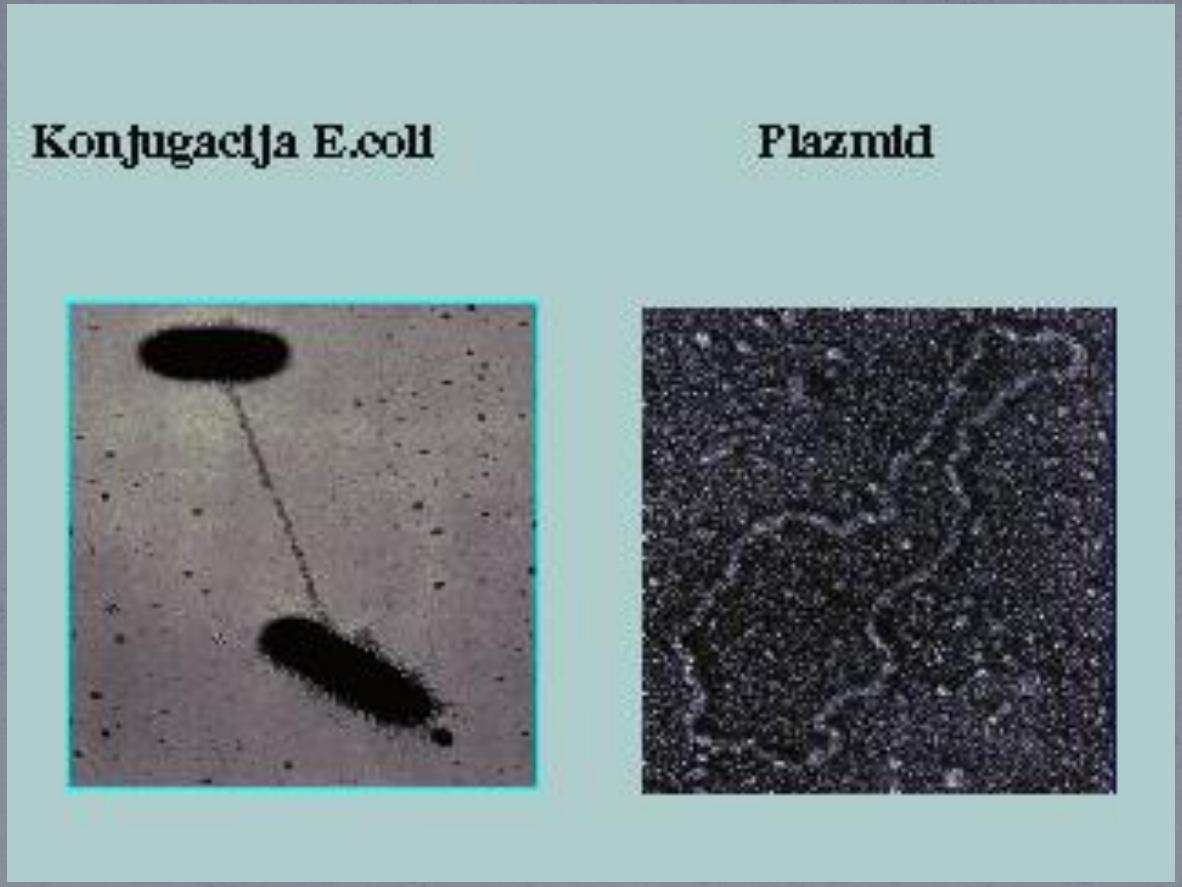

a+
b+
Bakterija - donor
b+
a+
a+
b+
b+
Bakteriofagi
prenose gene
donora
a+
a−
a+
a+
a−
Bakterija - recipijent

Konjugacija

- prenos DNK direktnim kontaktom dve bakterijske ćelije



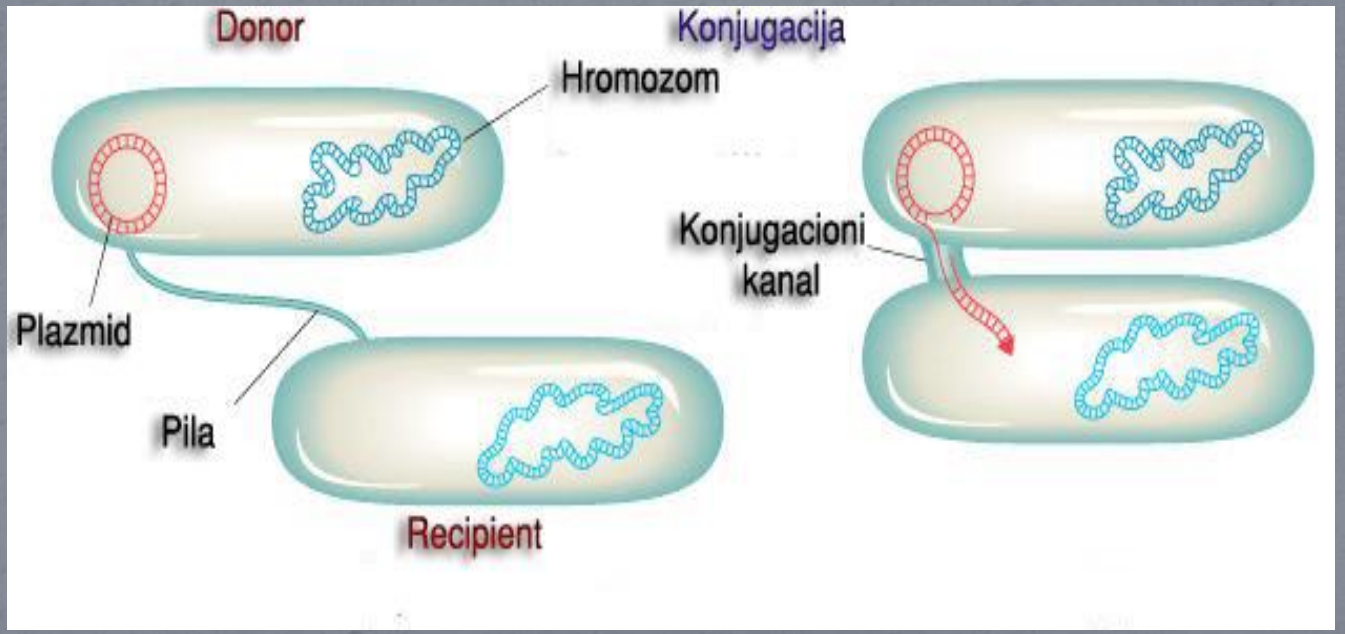
Konjugacija



- Proces konjugacije prenošenje segmenta DNK donorske-muške F+ / Hfr ćelija u recipijentnu-žensku ćeliju F-

Konjugacija

- Primaran F faktor plazmid koji ima set neophodnih gena – tra operon za organizaciju konjugacije- uključujući i formiranje konjugacionih pila



Transpozibilni elementi

- Segmenti DNK sposobni da se premeštaju sa jednog na drugo mesto unutar ili između DNK molekula - **transpozibilni elementi**
- Nisu samoreplikujući moraju da se ugrade u replikone
- Neophodna funkcija- enzim koji obezbeđuje traspoziciju
- Ne zahtevaju komplementarnost homolognih delova genoma, insercija na mesta gde geni nikada nisu bili

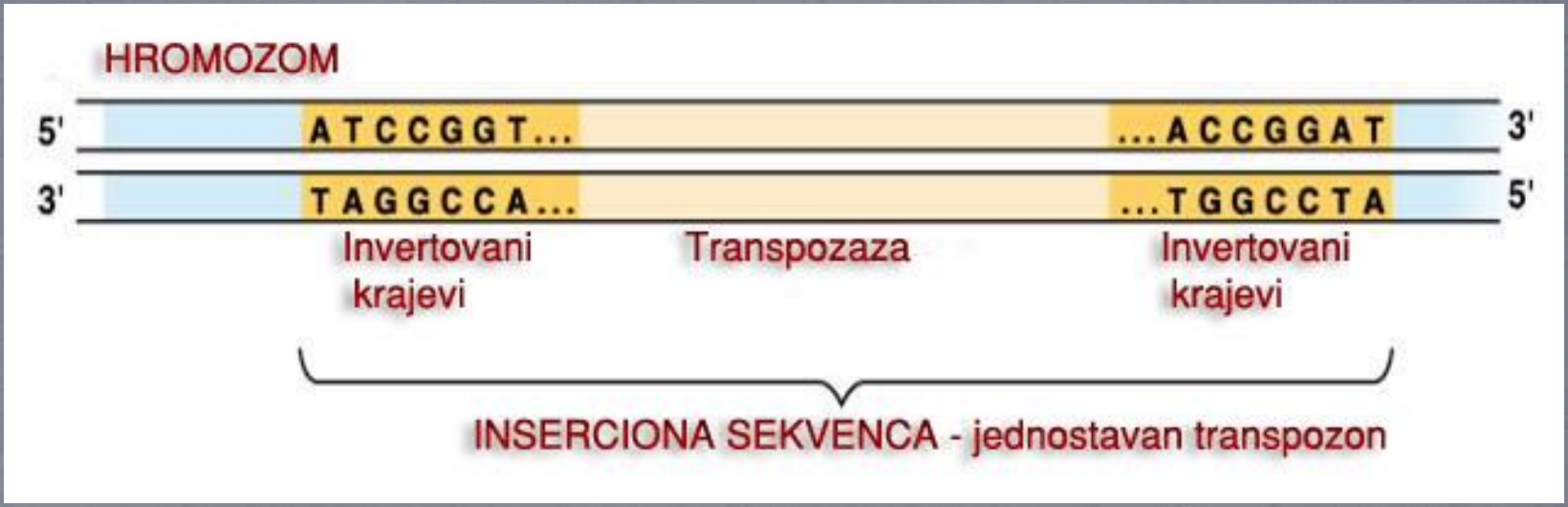
Prema mehanizmu transpozicije dele se na dve osnovne klase

Klasa	Mehanizam premeštanja	Glavni enzimi
Klasa I — retrotranspozoni	Preko **RNK** koja se prepisuje u DNK i ugrađuje na novo mesto — „kopiraj i nalepi“	Reverzna transkriptaza i drugi enzimi
Klasa II — DNK transpozoni	Premeštanje na nivou **DNK**, bez RNK, može biti konzervativno („iseci i nalepi“) ili replikativno	Najčešće transpozaza

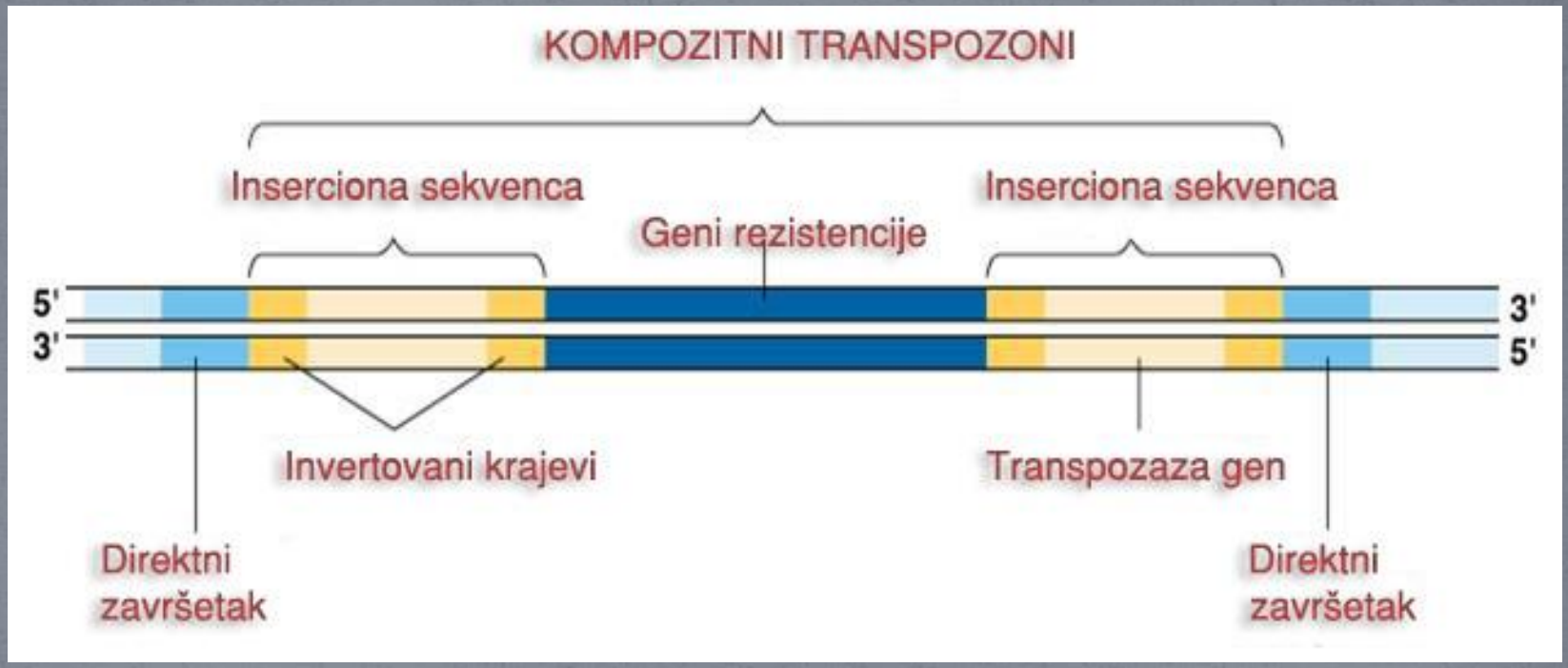
Tipovi DNK transpozibilnih elemenata

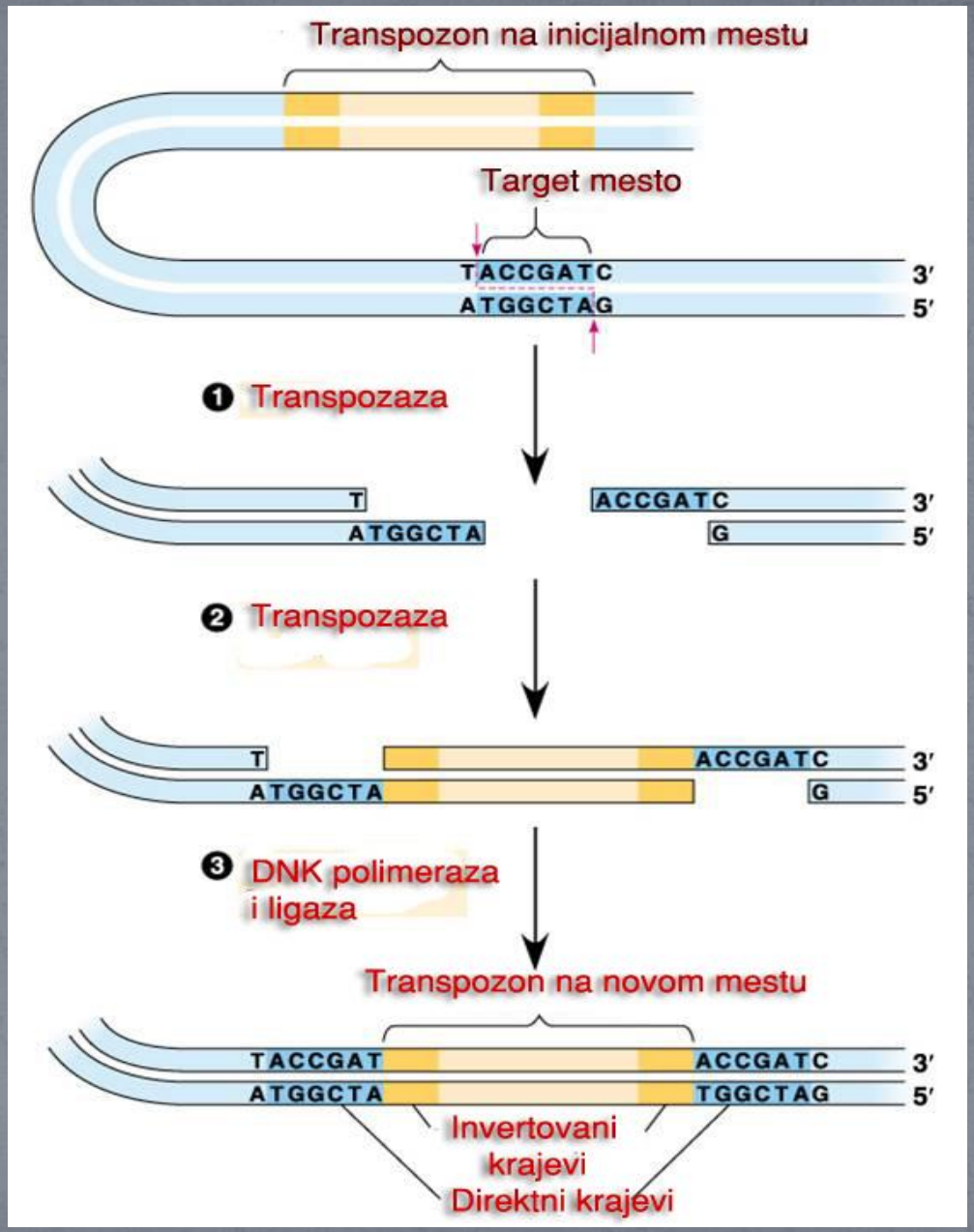
- **Insercione sekvence (IS)** — najjednostavniji elementi; sadrže uglavnom gen za transpozazu i sekvence neophodne za transpoziciju.
- **Kompozitni transpozoni** — dva IS elementa okružuju dodatne gene, npr. gene rezistencije na antibiotike
- **Nekompozitni transpozoni** — sadrže gene za transpoziciju i dodatne gene, ali nisu oivičeni IS elementima.

Inserciona sekvenca

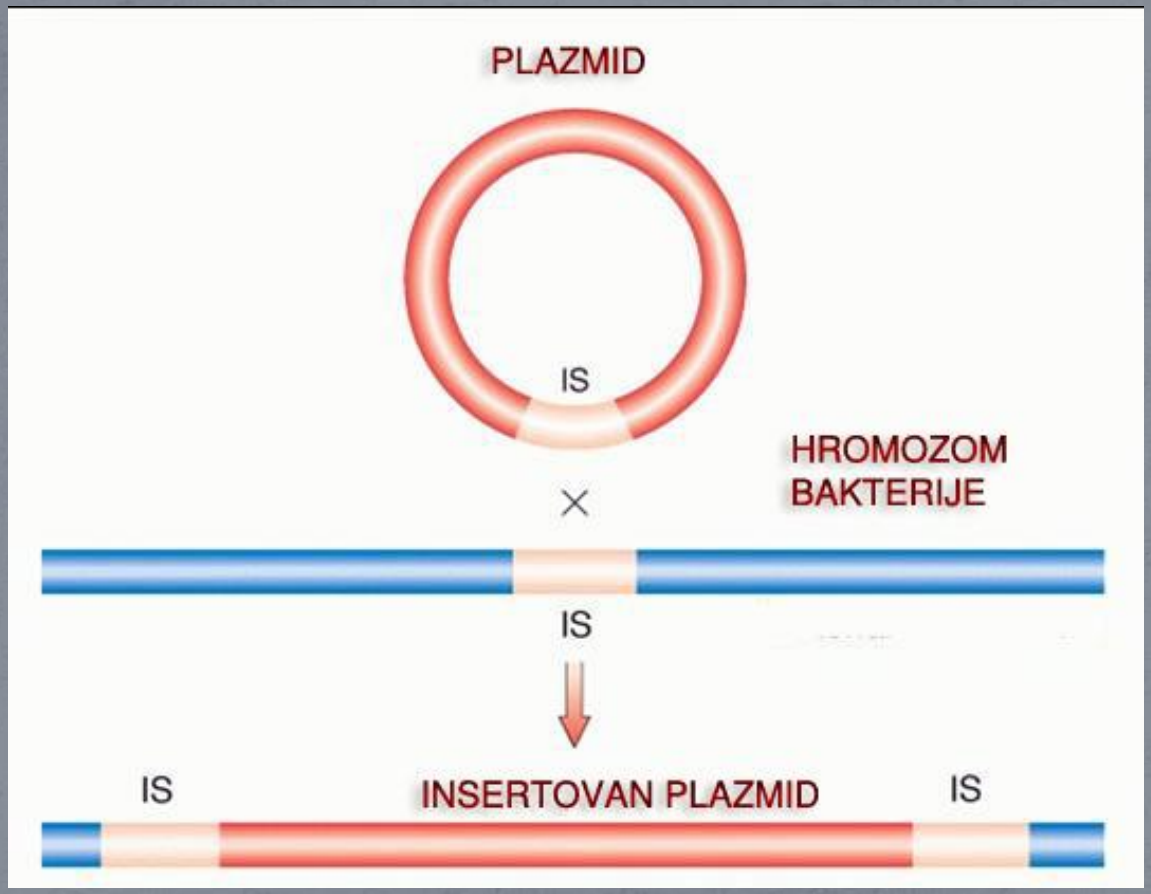


Kompozitni transpozoni

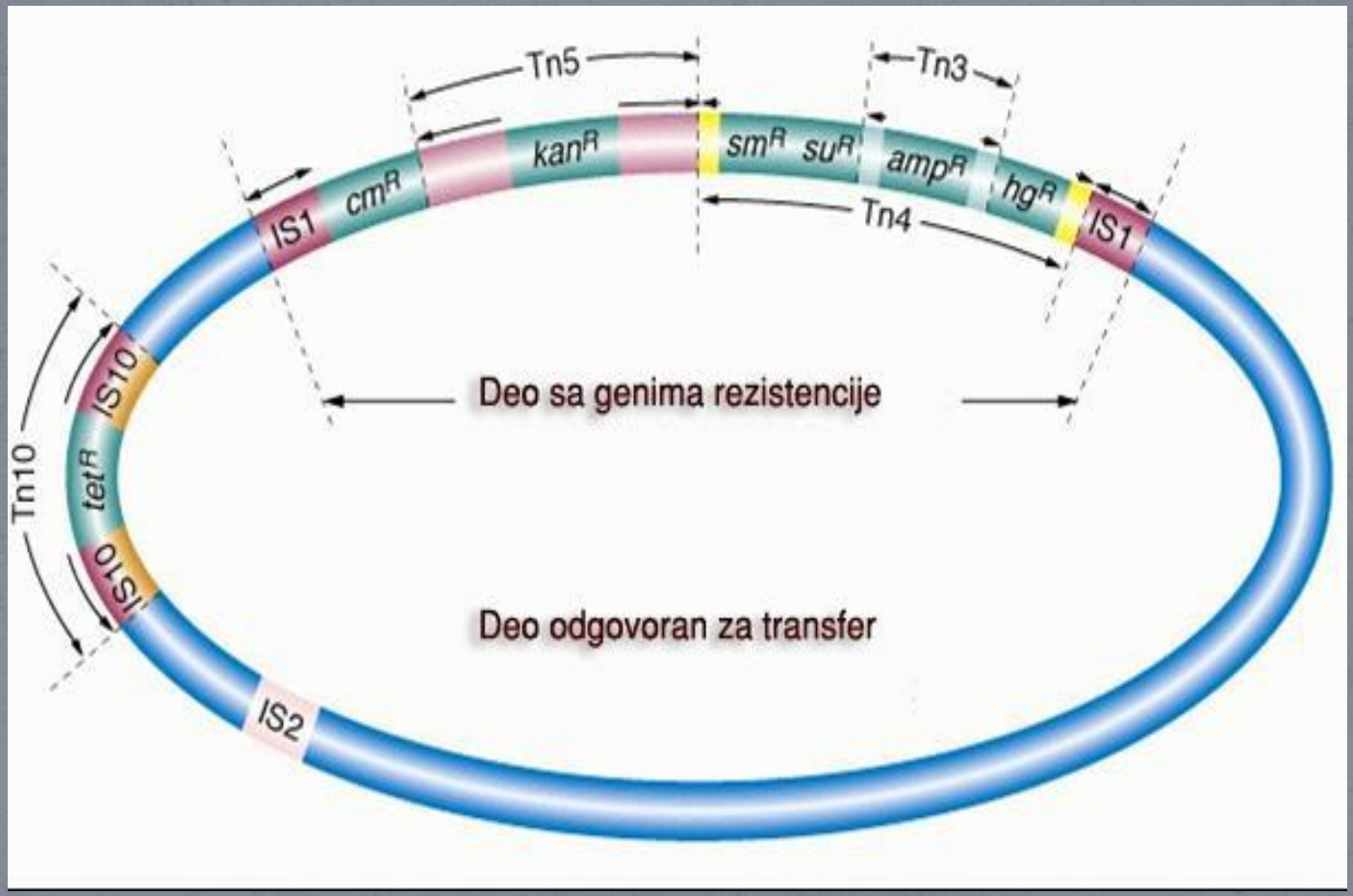



Transpozon na inicijalnom mestu
Target mesto
TACCGATC
ATGGCTAG
3′
5′
1 Transpozaza
T
ATGGCTA
ACCGATC
G
3′
5′
2 Transpozaza
T
ATGGCTA
ACCGATC
G
3′
5′
3 DNK polimeraza i ligaza
Transpozon na novom mestu
TACCGAT
ATGGCTA
ACCGATC
TGGCTAG
3′
5′
Invertovani krajevi
Direktni krajevi

Insercija plazmida u hromozom - epizomi

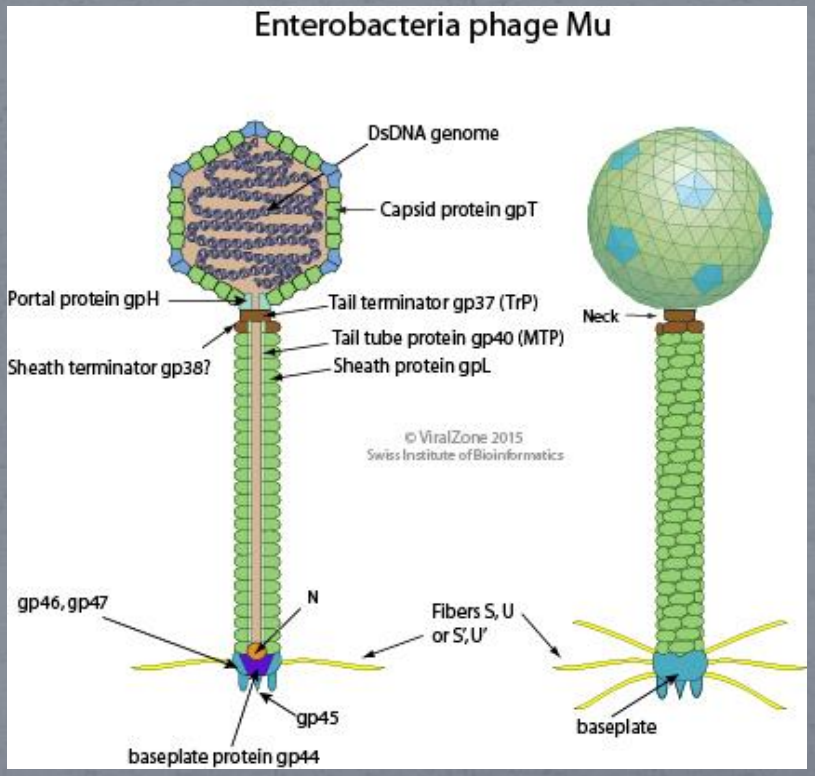


Plazmid koji kodira više determinanti rezistencije



Transpozoni udruženi sa bakteriofagom

- Mu bakteriofag



Transpozoni udruženi sa bakteriofagom

- Mu bakteriofag

