ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΑΝΟΙΚΤΑ ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ

Τίτλος Μαθήματος: Γενική Μικροβιολογία

Ενότητα: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ

Διδάσκων: Καθηγητής Ιωάννης Σαββαΐδης

Τμήμα: Χημείας

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης
ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

Γενετική Μικροβίων

Κάθε ζωντανός μικροοργανισμός μοιάζει με τους πρόγονους του στα περισσότερα χαρακτηριστικά. Η διατήρηση των ειδικών ιδιοτήτων ή της σταθερότητας των χαρακτήρων ορίζεται ως κληρονομικότητα. Η Επιστήμη της Γενετικής ασχολείται με την διάδοση αυτών των χαρακτήρων και τους νόμους της κληρονομικότητας.

Στα κύτταρα προ της διαιρέσεως για τη δημιουργία δύο νέων κυττάρων, κάθε χρωμόσωμα, είτε πρόκειται για ένα στα προκαρυωτικά κύτταρα, είτε περισσοτέρων στα ευκαρυωτικά, σχηματίζει ένα νέο ακριβώς όμοιο χρωμόσωμα.

Έτσι από κάθε χρωματόσωμα σχηματίζονται δύο νέα χρωματοσώματα. Κατά την διαίρεση του κυττάρου κάθε νέο θυγατρικό κύτταρο λαμβάνει τον ίδιο αριθμό χρωματοσωμάτων. Κατά τη διαίρεση όμως αυτή παρατηρούνται διαφορές μεταξύ ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών κυττάρων. Τα ευκαρυωτικά κύτταρα παρουσιάζουν τα φαινόμενα της μιτώσεως και μειώσεως, ενώ τα φαινόμενα αυτά δεν παρατηρούνται κατά τη διαίρεση του προκαρυωτικού κυττάρου.

Η ανάλογη διεργασία στα προκαρυωτικά κύτταρα συνίσταται στη διαίρεση του ενός συνεχούς χρωμοσώματος σε δύο ίσα τεμάχια. Παρόλα αυτά ο διπλασιασμός και η διαίρεση του DNA των προκαρυωτικών κυττάρων, αν και φαίνεται ατελής και απλός μηχανισμός συγκρινόμενος προς τον πολλαπλασιασμό των ευκαρυωτικών κυττάρων είναι ένας πλήρης και ακριβής κληρονομικός μηχανισμός.

Στα προκαρυωτικά κύτταρα λείπει επίσης η δυνατότητα γενετικού συνδυασμού, ήτοι ενώσεως της γενετικής ουσίας δύο κυττάρων. Εξαίρεση αποτελούν ορισμένα μικρόβια όπου παρατηρείται ‘σύζευξη’ δύο μικροβίων και μεταφορά γονιδίων, ήτοι μεταβίβαση γενετικής ουσίας από το ένα στο άλλο.

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Οι γενετικές πληροφορίες του βακτηριακού κυττάρου είναι αποθηκευμένες στο χρωμόσωμα και τις και τις εξωχρωμοσωμικές γενετικές μονάδες (πλασμίδια). Εκτός ορισμένων εξαιρέσεων (π.χ. γραμμικά πλασμίδια) το χρωμόσωμα και τα πλασμίδια αποτελούνται από διπλή έλικα DNA. Στη φυσική του κατάσταση το DNA βρίσκεται στα κύτταρα σε υπερελιγμένη μορφή. Η υπερέλιξη γίνεται αριστερόστροφα γύρω από τον άξονα της έλικας. Το πλέον μελετημένο βακτηριακό χρωμόσωμα είναι του κολοβακτηριδίου (*Escherichia coli*). Αποτελείται από 4 x 10^6 ζεύγη βάσεων, έχει μοριακό βάρος 2,5 x 10^9 Daltons και περιλαμβάνει 5.000 γονίδια.

Ένα γονίδιο ονομάζεται *δομικό* όταν ρυθμίζει τη δομή μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης (π.χ. ενός ενζύμου). Τα δομικά γονίδια δεν ευρίσκονται συνεχώς σε λειτουργία, διότι η δραστηριότητά τους στο μικροβιακό κύτταρο ευρίσκεται κάτω από συνεχή έλεγχο, κυρίως όσον αφορά στη μεταγραφή. Αγγελιαφόρο RNA συντίθεται από τα συγκεκριμένα γονίδια μόνο όταν οι αντίστοιχες πρωτεΐνες είναι απαραίτητες για το κύτταρο.

Ο τρόπος με τον οποίο λειτουργούν τα γονίδια αυτά είναι γενικά ο ακόλουθος: πολλά δομικά γονίδια ευρίσκονται συνδεδεμένα στο χρωμόσωμα με άλλα γονίδια τα οποία ονομάζονται *χειριστές* (operators) και τα οποία ρυθμίζουν ακριβώς τη δραστηριότητα των δομικών γονιδίων. Η ρύθμιση αυτή αφορά είτε στην αδρανοποίησή τους (καταστολή) είτε στην ενεργοποίησή τους (επαγωγή) και γίνεται με τη βοήθεια ειδικών πρωτεϊνικών ουσιών που παράγονται από το κύτταρο και ονομάζονται *καταστολείς* (repressors).

Η παραγωγή των καταστολέων βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο ειδικών *ρυθμιστικών γονιδίων* (regulator genes). Όταν ένας χειριστής συνδέεται με τον ειδικό του καταστολέα, τότε το δομικό γονίδιο το οποίο είναι συνδεδεμένο με αυτόν εμποδίζεται να παράγει mRNA και έτσι αδρανοποιείται. Αντίθετα, η μη ένωση του καταστολέα με το χειριστή έχει ως αποτέλεσμα την απρόσκοπτη μεταγραφή των δομικών γονιδίων τα οποία ευρίσκονται κάτω από τον έλεγχό του.

Σε πολλές περιπτώσεις τα δομικά γονίδια που ρυθμίζουν την παραγωγή σειράς συνεργαζομένων ενζύμων (π.χ. των ενζύμων μιας ειδικής μεταβολικής

οδού) βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο ενός μοναδικού χειριστή. Μια τέτοια αλληλουχία γονιδίων κάτω από τον έλεγχο ενός μοναδικού χειριστή αποτελεί μια γενετική μονάδα στην οποία έχει δοθεί το όνομα *οπερόνιο* operon.

Υπερέλιξη του DNA. Το κυκλικό χρωμόσωμα των βακτηριδίων βρίσκεται πακεταρισμένο στο κύτταρο σε κατάσταση αρνητικής υπερέλιξης (negative supercooling). Δεδομένου ότι το μέγεθος του βακτηρίου (1 μm) είναι 1000 φορές περίπου μικρότερο από το μήκος του DNA (1 mm), η υπερέλιξη του τελευταίου εξυπηρετεί τις χωροταξικές ανάγκες του κυττάρου. Σε αυτή την κατάσταση το DNA έχει αυξημένη τάση συστροφής. Χαρακτηριστικό της αρνητικής υπερέλιξης είναι ότι οι στροφές της διπλής έλικας είναι λιγότερες από αυτές που αναμένονται όταν το κυκλικό δίκλωνο DNA έχει την τυπική Β στερεοδιάταξη.

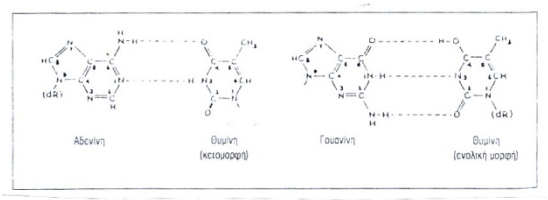
Στο βακτηριακό χρωμόσωμα υπάρχει κατά περιοχές μετατροπή από αρνητική υπερέλιξη στη χαλαρωμένη (relaxed) μορφή. Η αρνητική υπερέλιξη και η χαλάρωση του βακτηριακού DNA ρυθμίζεται από την δράση των τοποϊσομερασών τύπου I και II. Η τοποϊσομεράση τύπου II ή DNA γυράση καταλύει με ταυτόχρονη κατανάλωση ενέργειας την αρνητική υπερέλιξη του χρωμοσώματος. Οι φθοριωμένες κινολόνες, σύγχρονη ομάδα αντιβιοτικών αναστέλλουν την δράση της DNA γυράσης Α.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η βακτηριοκτόνος δράση των αντιβιοτικών αυτών αποτελεί τη συνισταμένη της παρεμπόδισης του αναδιπλασιασμού του DNA και της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η κατάσταση της αρνητικής υπερέλιξης δεν εξυπηρετεί μόνο χωροταξικές ανάγκες αλλά έχει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο ζωτικών λειτουργιών του βακτηριακού κυττάρου.

ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ DNA –ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ – ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ

Το DNA υπόκειται σε αλλαγές στην χημεία και την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων. Η οποιαδήποτε τροποποίηση της δομής του γενετικού υλικού θεωρείται ως βλάβη του DNA. Οι βλάβες μπορεί να προκύψουν είτε ‘αυτόματα’ είτε από την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων.

Στις *αυτόματες βλάβες* περιλαμβάνεται η δημιουργία λάθους σε ζεύγη νουκλεοτιδίων κυρίως κατά τη διαδικασία του αναδιπλασιασμού. Υπάρχουν διάφορες αιτίες που μπορεί να οδηγήσουν στην σύνθεση λανθασμένου ζεύγους νουκλεοτιδίων. Κάθε βάση του DNA υφίσταται παροδική ταυτομερική μετάπτωση με αποτέλεσμα να σχηματίζονται ισομερή με διαφορετικές ιδιότητες. Οι αμινομάδες των δακτυλίων της αδενίνης και της κυτοσίνης μπορούν να μεταπίπτουν στην αμινοταυτομερή μορφή και οι κετονο-ομάδες της θέσης 6 στη γουανίνη και στη θυμίνη μεταπίπτουν στην ενολική μορφή (**Σχήμα 10.1**).



Σχήμα 10.1 Ένωση βάσεων κατά ζεύγη στο DNA.

Σχήμα 10.1 Ένωση βάσεων κατά ζεύγη στο DNA.

Τέτοιου είδους 'αυτόματες' αλλαγές των δομικών χαρακτηριστικών αλλαγών οδηγούν σε δημιουργία λανθασμένων ζευγών βάσεων. Συχνές είναι επίσης και οι απαμινώσεις των βάσεων. Συχνές απαμινώσεις παρατηρούνται στην 5-μεθυλο-κυτοσίνη που μετατρέπεται έτσι σε θυμίνη με αποτέλεσμα τον μετασχηματισμό των ζευγών GC σε AT. Οι θέσεις μεθυλο-κυτοσίνης παρουσιάζουν υψηλή μεταλλακτικότητα και θεωρούνται 'θερμά σημεία' στο βακτηριακό χρωμόσωμα. Άλλη αυτόματη αλλαγή στην αλληλουχία του DNA είναι η απομάκρυνση μιας βάσης πουρίνης. Η απομάκρυνση οδηγεί συνήθως στη διάσπαση της αλυσίδας.

Εκτός από τις αλλαγές αυτές διάφορες χημικές ενώσεις όπως οι αλκυλιωτικοί παράγοντες καθώς και οι ποικίλες ενώσεις που χαρακτηρίζονται ως «καρκινογόνες» μπορούν να προκαλέσουν χημικές αλλοιώσεις στις βάσεις ώστε να μην συνδέονται κανονικά μεταξύ τους. Ακόμα η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί την ομοιοπολική σύνδεση γειτονικών πυριμιδινών και τη δημιουργία

διμερών TT, CT και CC. Η ιονίζουσα ακτινοβολία, πιθανόν μέσω της αύξησης ριζών οξυγόνου, προκαλεί λύση των φωσφοδιεστερικών δεσμών και διάσπαση του ιμιδαζολικού δακτυλίου της αδενίνης και της γουανίνης.

Η συχνότητα εμφάνισης λανθασμένων ζευγών βάσεων κατά τον αναδιπλασιασμό του DNA στα βακτήρια είναι πολύ χαμηλή. Ο αντιγραφικός ενζυματικός μηχανισμός εκτός από τον αναδιπλασιασμό εκτελεί μία επιδιορθωτική λειτουργία. Οι DNA πολυμεράσες ελέγχουν σε πρώτη φάση αν το ενωμένο νουκλεοτίδιο είναι σωστό (*προσυνθετικός έλεγχος*) καθώς αν το ήδη ενσωματωμένο νουκλεοτίδιο ταιριάζει με το αντίστοιχο μητρικό (*μετασυνθετικός έλεγχος*).

Όλες οι προκαρυωρικές DNA πολυμεράσες έχουν τη δυνατότητα να δράσουν και ως 3΄-5΄ εξωνουκλεάσες. Η δράση των πολυμερασών ως εξωνουκλεασών γίνεται με αντίθετη φορά από τη φορά της σύνθεσης και είναι μέρος της μετασυνθετικής επιδιορθωτικής λειτουργίας. Η λειτουργία αυτή των πολυμερασών μειώνει δραστικά την συχνότητα λάθους. Η απρόσκοπτη *επιδιορθωτική λειτουργία* (proofreading) του αντιγραφικού μηχανισμού δεν επιτρέπει την σύνθεση λανθασμένων ζευγών σε συχνότητα μεγαλύτερη από 10^{-6}–10^{-7} κατά την διάρκεια του αναδιπλασιασμού. Η συχνότητα εμφάνισης λαθών είναι στην πραγματικότητα μικρότερη.

Υπάρχουν επίσης μηχανισμοί *μετά-αντιγραφικής επιδιόρθωσης.* Ένας από αυτούς τους μηχανισμούς (μηχανισμός επιδιόρθωσης εσφαλμένου ζεύγους – mismatch repair) αναγνωρίζει το λανθασμένο ζεύγος, το απομακρύνει και προσθέτει το σωστό ζεύγος. Η αναγνώριση της συμπληρωματικής βάσης στο λανθασμένο ζεύγος από το σύστημα βασίζεται στη μεθυλίωση του DNA. Μετά από τη σύνθεση του συμπληρωματικού κλώνου ακολουθεί μεθυλίωση των δακτυλίων πουρίνης.

Ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση της μεθυλίωσης αφήνει τον θυγατρικό κλώνο για μικρό χρονικό διάστημα σχετικά ακάλυπτο.

Έτσι το σύστημα επιδιόρθωσης αναγνωρίζει την εσφαλμένη συμπληρωματική βάση από το ζεύγος που έχει εξαιρεθεί. Το σύστημα μεθυλίωσης είναι ειδικό για κάθε βακτηριακή ποικιλία και καθορίζει σε συνδυασμό με τα ειδικά συστήματα περιοριστικών ενζύμων την δυνατότητα ανασυνδυασμών με ‘ξένο’ γενετικό υλικό. Η πρόκληση ποικιλίας βλαβών από

τους περιβαλλοντικούς παράγοντες έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη αντίστοιχης ποικιλίας μηχανισμών επιδιόρθωσης.

Τα διμερή των πυριμιδινών που δημιουργούνται από την δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας επιδιορθώνονται με άμεσο *μονομερισμό* από το ένζυμο φωτολυάση. Η *αλκυλίωση* των βάσεων από την επίδραση αλκυλιωτικών παραγόντων προκαλεί την επαγωγή της παραγωγής επιδιορθωτικών ενζύμων που απομακρύνουν τις αλκυλοομάδες. Οι ασυνήθεις ή τροποποιημένες βάσεις μπορεί να απομακρυνθούν από το δίκλωνο DNA με τους μηχανισμούς αποκοπής. Η αποκοπή αφορά είτε στην απόσπαση μιας βάσης (*ειδική αποκοπή*) είτε στην απόσπαση ολιγονουκλεοτιδίου που περιλαμβάνει τις τροποποιημένες βάσεις (*γενική αποκοπή*). Οι δύο αυτές διαδικασίες καταλύονται από διαφορετικές ομάδες ενζύμων.

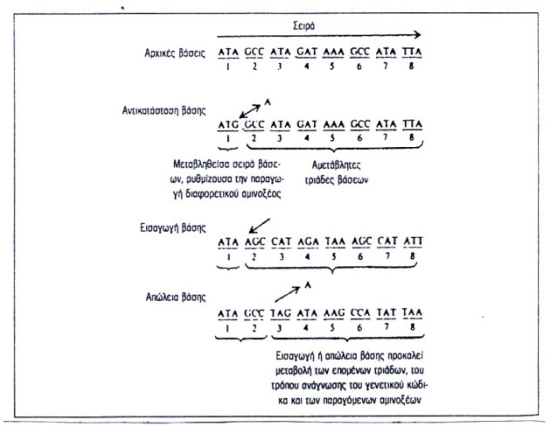
Ιδιαίτερος μηχανισμός επιδιόρθωσης είναι ο φερόμενος ως απάντηση SOS (SOS response). Η λειτουργία του μηχανισμού αυτού επάγεται σε συνθήκες που προκαλούν βλάβη στο γενετικό υλικό ή καταστέλλουν την σύνθεση του DNA. Ο επιδιορθωτικός μηχανισμός της απάντησης SOS είναι επιρρεπής σε σφάλματα. Όταν οι βλάβες στο γενετικό υλικό ξεπεράσουν ποσοτικά τις δυνατότητες των συστημάτων επιδιόρθωσης, ο μηχανισμός SOS επιτρέπει την συνέχιση του αναδιπλασιασμού με την ενσωμάτωση τυχαίων βάσεων στις περιοχές των βλαβών, με αποτέλεσμα την αύξηση πιθανότητας μεταλλαγών.

Οι σταθεροποιημένες μεταβολές στην αλληλουχία του DNA που έχουν εκφύγει των μηχανισμών επιδιόρθωσης ορίζονται σαν *μεταλλαγές*. Οι διάφορες μορφές ενός γονιδίου που προκύπτουν από μεταλλαγές λέγονται *αλλήλια*.

Οι μεταβολή η οποία αφορά σε ένα μόνο ζεύγος βάσεων καλείται *σημειακή μεταλλαγή* (point mutation) και μπορεί να συμβεί: α) με αντικατάσταση ενός ζεύγους βάσεων από άλλο, β) με προσθήκη ενός ζεύγους βάσεων, γ) με εξάλειψη ενός ζεύγους βάσεων. Οι πιο συχνοί τύποι αντικατάστασης είναι εκείνοι στους οποίους η πυριμιδίνη αντικαθίσταται από μια άλλη πυριμιδίνη και η πουρίνη από μια άλλη πουρίνη π.χ. αντικατάσταση του ζεύγους *A-T* από το *G-C* ή του *T-A* από το *C-G*. Οι αντικαταστάσεις αυτές ονομάζονται *μεταπτώσεις* (transitions).

Λιγότερο συχνά η πουρίνη αντικαθίσταται από την πυριμιδίνη και το αντίθετο. Στην περίπτωση αυτή οι αντικαταστάσεις ονομάζονται *διασταυρούμενες* (transversions).

Μεταλλαγές που αφορούν στην προσθήκη ή εξάλειψη ενός ζεύγους βάσεων προκαλούν αλλαγή στον τρόπο αναγνώρισης του γενετικού κώδικα (reading frame shifts). Από το σημείο της μετάλλαξης και πέρα η σύνθεση των τριάδων βάσεων (triplets) διαφέρει από την αρχική (**Σχήμα 10.2**).



Σχήμα 10.2 Μεταβολές νουκλεοτιδίων που οφείλονται σε σημειακές μεταλλαγές.

Σχήμα 10.2 Μεταβολές νουκλεοτιδίων που οφείλονται σε σημειακές μεταλλαγές.

Εκτός από τις σημειακές μεταλλαγές μπορεί να σημειωθούν και προσθήκες ή εξαλείψεις περισσοτέρων ζευγών βάσεων ή ακόμα και εκτεταμένες προσθήκες ή εξαλείψεις (deletions) που αφορούν σε μεγάλο αριθμό βάσεων.

Το σύνολο των γενετικών προσδιοριστικών παραγόντων που φέρονται από ένα βακτηριακό κύτταρο λέγεται *γονότυπος*. Οι προσδιοριζόμενες από τον γονότυπο ιδιότητες που μπορεί να γίνουν αντιληπτές ορίζονται ως *φαινότυπος*. Κάθε μεταλλαγή προϋποθέτει την αλλαγή του γονότυπου. Οι μεταλλαγές αυτές προσδιορίζουν αλλαγές στα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Ανάλογα με το είδος της φαινοτυπικής αλλαγής, οι αλλαγές του γονότυπου μπορεί να χαρακτηριστούν ως μεταλλαγές απόκτησης ή απώλειας ενός χαρακτηριστικού.

Όταν η μεταλλαγή δεν προκαλεί ορατή αλλαγή στον φαινότυπο λέγεται *σιωπηλή* (silent).

ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Η ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ των μικροοργανισμών έχει ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό τους με πρόσθετο γενετικό υλικό. Τα 'νέα' γονίδια προσδίδουν στα μικρόβια ιδιότητες που επίσης καθορίζουν εξελικτικό προβάδισμα στο συγκεκριμένο περιβάλλον που αυτά αναπτύσσονται. Παραδείγματα αναφέρονται όπως ο εμπλουτισμός στελεχών *E. coli* με γονίδια που διευκολύνουν την προσκόλλησή τους στον εντερικό βλεννογόνο ή ορισμένων βακτηριδίων που ενισχύονται με την παρουσία κάποιου φάγου ή πλασμιδίου στο χρωμόσωμά τους. Η ανταλλαγή γενετικού υλικού στα βακτήρια αποτελεί τον συχνότερο μοριακό μηχανισμό εμπλουτισμού των μικροοργανισμών με γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά.

Στα μικρόβια η ανταλλαγή γενετικού υλικού είναι ένα σχεδόν σπάνιο φαινόμενο. Έχει υπολογιστεί σε φυσιολογικές συνθήκες για κάθε γονίδιο στο *E. coli* ότι είναι της τάξεως του 10^{-8} ανά χρωμόσωμα και ανά γενεά. Επίσης ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ των μικροοργανισμών πραγματοποιείται και μεταξύ ειδών που παρουσιάζουν πολύ μικρή ή καθόλου συγγένεια. Πρέπει να τονιστεί μάλιστα ότι η οριζόντια μετακίνηση γενετικού υλικού μεταξύ μικροοργανισμών που απέχουν πολύ στη φυλογενετική κλίμακα φαίνεται ότι γίνεται πολύ συχνότερα από όσο αρχικά πιστευόταν και αποτελεί πρωταρχικό μηχανισμό εμπλουτισμού των μικροοργανισμών με γονίδια απαραίτητα γα την επιβίωσή τους στο συνεχώς μεταβαλλόμενο οικολογικό περιβάλλον.

Η σπανιότητα της ανταλλαγής γενετικού υλικού μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνδυασμό με τον κλωνικό πολλαπλασιασμό τους καθιστά μεταλλαγή χαρακτηριστικό ενός συγκεκριμένου κλώνου μέσα από την ενεργοποίηση διαδικασιών γενετικής απόκλισης που χαρακτηρίζονται ως περιοδική επιλογή. Ο κλώνος, ανάλογα με τις συνθήκες, ενδεχόμενα θα αντικαταστήσει τους παλιότερους στο συγκεκριμένο περιβάλλον όπου θα αναπτυχθεί.

Αντίθετα, η συχνότατη ανταλλαγή γενετικού υλικού στα ζώα και τα φυτά θα 'διασκορπίσει' την μεταλλαγή εμποδίζοντας την αποκλειστική παρουσία της σε ένα γενετικό περιβάλλον του είδους. Σημειώνεται επίσης ότι μια οικολογικά πολύ επιτυχημένη μετάλλαξη σε ένα μικροοργανισμό, μπορεί, μέσω της επικράτησης του αντιστοίχου κλώνου να οδηγήσει σε ελάττωση της γενετικής ποικιλομορφίας ενός μικροβιακού είδους, γεγονός αδύνατον στα ζώα και στα φυτά.

Ο κλωνικός πολλαπλασιασμός και η σπανιότητα της ανταλλαγής γενετικού υλικού έχουν ως αποτέλεσμα την διατήρηση των ειδικών χαρακτηριστικών κάθε τύπου μικροοργανισμού. Η παρουσία κάποιου 'ξένου' γονιδίου σε ένα μικροβιακό κλώνο εξαρτάται αφενός από τον ρυθμό με τον οποίο το γονίδιο αυτό εισέρχεται στον κλώνο με μηχανισμούς ανταλλαγής γενετικού υλικού, αφετέρου από το ρυθμό που εξέρχεται με τους νόμους της φυσικής επιλογής.

Τέλος η ικανότητα των μικροοργανισμών να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό ανεξάρτητα από το βαθμό γενετικής συγγένειας, αλλά και το γεγονός ότι αυτή η ανταλλαγή μπορεί να αφορά ένα μικρό αριθμό γονιδίων, διευκολύνει την διασπορά γονιδίων που προσδίδουν πλεονεκτήματα μεταξύ των διαφόρων μικροοργανισμών. Έτσι ενώ κάθε είδους εντόμου πρέπει μόνο του να αναπτύξει τους γενετικούς μηχανισμούς αντοχής στα εντομοκτόνα, τα αντίστοιχα γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά εύκολα θα διασπαρθούν σε πολλά είδη μικροοργανισμών.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Μεταμόρφωση. Προ του 1930 είχε παρατηρηθεί ότι εάν ένα είδος βακτηρίου καλλιεργηθεί παρουσία ενός συγγενούς αλλά διαφόρου είδους μικροβίου, τότε το πρώτο βακτήριο είναι δυνατόν να αποκτήσει ιδιότητες του δευτέρου. Ο Griffith (το 1928), παρατήρησε ότι διηθήματα εκχυλισμάτων από νεκρούς πνευμονιόκοκκους με έλυτρο τύπου III, προκαλούν στα ζώντα βακτήρια πνευμονιόκοκκου τύπου II χωρίς έλυτρο, την ιδιότητα να παράγουν έλυτρο με την ειδικότητα του τύπου III.

Με παρόμοιες μεθόδους κατέστη δυνατή η πρόκληση γενετικών αλλαγών στα βακτήρια διαφόρων άλλων ειδών.

Το φαινόμενο αυτό ονομάστηκε *μεταμόρφωση* (transformation). Το DNA αυτό προέρχεται από υπερπαραγωγή DNA του πυρήνα. Σε μερικά είδη βακτηρίων αυτό συγκεντρώνεται στο εξωτερικό του βακτήριου όπου ευρίσκεται το έλυτρο. Από τα βακτήρια αυτά μπορεί να ληφθεί το DNA με έκπλυση ή με καταστροφή του κυττάρου και του πυρήνα. Το χρωμοσωμικό κομμάτι του DNA του βακτηρίου είναι μόριο εύθραυστο. Αυτό κατά την παραλαβή εκ των βακτηρίων διασπάται σε τμήματα και μόνο 10% περίπου των τμημάτων αυτών περιέχουν ένα γονίδιο.

Σπανιότερα περιλαμβάνουν δύο ή τρία στενά συνδεδεμένα πλήρη γονίδια. Μερικά είναι πιθανόν να είναι πλήρη χρωμοσώματα. Εάν τα τμήματα αυτά του DNA διέλθουν από το κυτταρικό τοίχωμα και τη μεμβράνη του βακτηρίου, τότε ένα ή περισσότερα γονίδια είναι δυνατόν να συνδεθούν με το χρωμόσωμα του βακτηρίου. Τα περισσότερα όμως των τεμαχίων του DNA είναι δυνατόν να καταστραφούν από το ένζυμο DNA-αση, από ακατάλληλο pH ή άλλων αιτίων. Το λαμβάνον το DNA βακτήριο πρέπει να βρίσκεται σε κατάσταση ικανότητας προς 'μεταμόρφωση'. Γι' αυτό το λόγο το βακτήριο δεν πρέπει να παράγει DNA-αση, ούτε να περιβάλλεται από παχύ έλυτρο. Σε μικρή αναλογία των κυττάρων αυτών το DNA του δότου γρήγορα εισέρχεται μέσα στο βακτήριο.

Διάφορα γονίδια των τεμαχίων του DNA ενσωματώνονται στο χρωμόσωμα. Για να συμβεί αυτό χρειάζεται από 10΄ ή και αρκετές ώρες. Εφόσον επιτευχθεί η ενσωμάτωση τα νέα γονίδια αποτελούν πλέον αναπόσπαστο τμήμα της γενετικής ουσίας του κυττάρου και αναπαράγονται μαζί με αυτό.

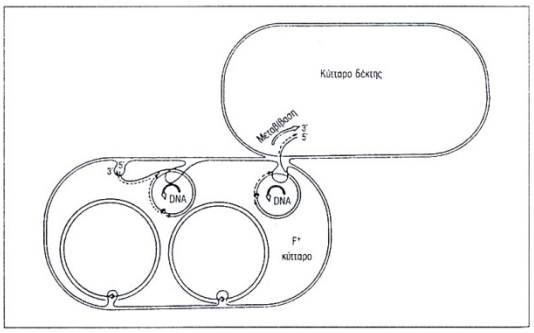
Οι απόγονοι (transformants) εμφανίζονται όταν συντεθούν από τα ριβοσώματα τα απαραίτητα νέα ένζυμα, με τη μεσολάβηση του mRNA στο οποίο εγγράφεται η νεά γενετική πληροφορία. Αυτό απαιτεί μία ή δύο διαιρέσεις του βακτηρίου. Μεταμόρφωση μεταξύ διαφόρων γενών είναι εξαιρετικά σπάνια.

Η μεταμόρφωση αποτελεί μια πολύ διαδεδομένη εργαστηριακή μέθοδο εμπλουτισμού βακτηριακών κυττάρων με ξένο DNA, διαδικασία απαραίτητη στην παραγωγή ανασυνδυασμένου DNA. Η μεθοδολογία είναι σχετικά απλή και περιλαμβάνει κατεργασία των κυττάρων δεκτών με ιόντα ασβεστίου, η οποία με μη διευκρινισμένο μηχανισμό, αυξάνει την ικανότητα των κυττάρων να προσλαμβάνουν το ξένο DNA.

Η σημασία της μεταμόρφωσης στην διασπορά γονιδίων και στην ανταλλαγή DNA μεταξύ μικροοργανισμών σε πραγματικές συνθήκες στη φύση δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Νεώτερες έρευνες πάντως έχουν δείξει ότι η εμφάνιση ανθεκτικών στην πενικιλίνη στελεχών πνευμονιοκόκκου οφείλεται στην οριζόντια διασπορά, με την διαδικασία της μεταμόρφωσης, των αντιστοίχων γονιδίων μεταξύ των διαφόρων οροτύπων πνευμονιοκόκκου ή και μεταξύ πνευμονιοκόκκων και στελεχών στρεπτοκόκκου.

Σύζευξη (conjugation). Είναι γνωστόν ότι πολύ συχνά τα βακτήρια επιπλέον του χρωμοσώματός τους που είναι συνήθως ένα κυκλικό μόριο DNA φέρουν και πλασμίδια που είναι ανεξάρτητα του χρωμοσώματος κυκλικά μόρια DNA. Ένα βακτηριακό κύτταρο μπορεί να υπάρχει σε ένα ή περισσότερα αντίτυπα. Ο όρος σύζευξη σημαίνει φυσική επαφή μεταξύ δύο γενετικά διαφόρων κυττάρων του αυτού ή συγγενούς είδους και η δημιουργία πρωτεϊνικού «συζευκτικού σωλήνα» μεταξύ αυτών (**Σχήμα 10.3**).

Μέσω της επαφής των δύο μικροβιακών κυττάρων (δότη και δέκτη) τα κύτταρα μεταβιβάζουν αντίγραφα του πλασμιδίου τους (βακτηριακή σύζεξη) χωρίς να γίνεται ανταλλαγή υλικού μεταξύ αυτών. Σημειώνεται ότι όλα τα απαραίτητα γονίδια για τη σύζευξη ευρίσκονται στο πλασμίδιο, η σύζευξη δηλαδή είναι ιδιότητα του πλασμιδίου και όχι του βακτηριακού κυττάρου.



Σχήμα 10.3 Μεταφορά γενετικού υλικού με σύζευξη.

Σχήμα 10.3 Μεταφορά γενετικού υλικού με σύζευξη.

Πλασμίδια (Plasmids)-Επισώματα. Στα διάφορα είδη μικροβίων εκτός του χρωμοσώματος του πυρήνα υπάρχουν μικρότερες μονάδες DNA που καλούνται «επισώματα», «πλασμίδια», ή «παράγοντες». Επισώματα θεωρούνται τα εξωχρωμοσωμικά γενετικά στοιχεία που δύνανται να υπάρχουν είτε ως αυτόνομα είτε ως συνδεδεμένα προς το χρωμόσωμα του βακτηρίου.

Πλασμίδια είναι τα εξωχρωμοσωμικά γενετικά στοιχεία που δεν μπορούν να συνδεθούν προς το χρωμόσωμα του βακτηριδίου, αλλά ευρίσκονται ως αυτόνομες μονάδες. Γενικά οι παράγοντες αυτοί ευρίσκονται στο πρωτόπλασμα του βακτηριδίου (εξωπυρηνικά). Είναι δυνατόν να ενσωματωθούν με το πυρηνικό χρωμόσωμα (επισώματα). Τα πλασμίδια πολλαπλασιάζονται με τον ίδιο ρυθμό που πολλαπλασιάζεται το μικροβιακό κύτταρο στο οποίο φιλοξενούνται ενώ σε κάθε διχοτόμηση του κυττάρου ξενιστή τα «θυγατρικά μόρια» των πλασμιδίων θα μοιραστούν στα θυγατρικά βακτηριακά κύτταρα με αποτέλεσμα την διατήρηση του αριθμού των αντιτύπων πλασμιδίων ανά κύτταρο.

Τα πλασμίδια ταξινομούνται ανάλογα με τα γονίδια που κωδικογραφούν, σε πλασμίδια αντοχής (R πλασμίδια), σε πλασμίδια παθογένειας κ.ά.

Επίσης με βάση την ιδιότητά τους να μεταφέρουν αντίτυπα τους σε άλλα βακτήρια με τη διαδικασία της βακτηριακής σύζευξης, τα πλασμίδια ταξινομούνται σε συζευτικά ή μη. Τέλος ανάλογα με την ικανότητά τους να συνυπάρχουν (χωρίς να εξασκείται κάποια συγκεκριμένη πίεση επιλογής) στο ίδιο βακτηριακό κύτταρο τα πλασμίδια ταξινομούνται σε ομάδες ασυμβατότητας. Η ασυμβατότητα φαίνεται ότι είναι αποτέλεσμα των γενετικών μηχανισμών πολλαπλασιασμού, διανομής των «θυγατρικών» μορίων πλασμιδίων στα θυγατρικά κύτταρα και διατήρησης του αριθμού αντιτύπων που είναι χαρακτηριστικές για κάθε πλασμίδιο.

Η βακτηριακή σύζευξη αποτελεί τον πλέον μελετημένο μηχανισμό ανταλλαγής γενετικού υλικού μεταξύ των μικροοργανισμών. Έτσι τα γονίδια αντοχής που κωδικογραφούν ένζυμα τροποποιητικά των διαφόρων αντιβιοτικών συνήθως μεταφέρονται από πλασμίδια.

Επίσης από πλασμίδια μεταφέρονται μια σειρά από γονίδια που έχουν ως αποτέλεσμα παθογόνων στελεχών. Αναφέρονται οι εξωτοξίνες των εντεροτοξινογόνων *Escherichia coli*, τα πλασμίδια παθογένειας των

Σιγκελλών, της *Yersinia* spp. κ.ά. Η πρόσφατη ανακάλυψη τέλος πλασμιδίων με ευρύ φάσμα ξενιστών βακτηρίων (promiscious plasmids) αποτελεί μια πρώτη ένδειξη για το ρόλο των πλασμιδίων στην ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ μη συγγενικών μικροοργανισμών.

Μεταγωγή (transduction). Μεταγωγή καλείται η διαδικασία κατά την οποία τμήμα του DNA ενός βακτηριακού κυττάρου μετακινείται μέσω ενός φάγου από ένα βακτηριακό κύτταρο σε ένα άλλο. Η μεταγωγή μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένα 'λάθος' της διαδικασίας πολλαπλασιασμού του φάγου κατά την οποία στο σωματίδιο του φάγου αντί για το DNA του φάγου εισέρχεται βακτηριακό DNA.

Αν ο φάγος ανήκει στην κατηγορία αυτών που ενσωματώνονται στο χρωμόσωμα του βακτηρίου, συνήθως προκαλείται ειδική μεταγωγή του τμήματος του DNA που γειτνιάζει με την περιοχή ενσωμάτωσης. Αντίθετα οι φάγοι που δεν ενσωματώνονται στο βακτηριακό DNA είναι υπεύθυνοι για την μεταγωγή οποιουδήποτε τμήματος του χρωμοσώματος (γενικευμένη μεταγωγή).

Η μεταγωγή αποτελεί ένα σημαντικό μηχανισμό εμπλουτισμού βακτηριακών στελεχών με γονίδια παθογονικότητας (*Shigella* spp., *Corynobacterium diphtheriae*). Μερικοί φάγοι είναι δυνατόν να «μεταγάγουν» διάφορες ιδιότητες π.χ. χτο γένος *Salmonella*, φάγοι μεταδίδουν διάφορες ειδικές τροφικές απαιτήσεις (αυξότροφα βακτήρια), ενζυματικές δράσεις, ανθεκτικότητα, ή ευαισθησία στα αντιβιοτικά, κινητικότητα και άλλες ιδιότητες. Τέτοια μορφή ανθεκτικότητας μεταφερόμενη με «μεταγωγή» με φάγο παρατηρείται στους σταφυλόκοκκους και καθορίζεται από το γονίδιο που ρυθμίζει την παραγωγή πενικιλάσης.

Το φαινόμενο της μεταγωγής έχει παρατηρηθεί στα Εντεροβακτηριοειδή, στις Ψευδομονάδες, στους Σταφυλόκοκκους και στους Βακίλους.

Μετάθεση (transposition). Η μετάθεση αφορά τη μετακίνηση ενός συνήθως μικρού τμήματος του μορίου του DNA σε μια άλλη περιοχή του ίδιου ή άλλου μορίου, χωρίς να είναι απαραίτητη η ύπαρξη ομοιότητας στις αλληλουχίες μεταξύ των δύο αυτών τμημάτων του DNA, ούτε η χρήση ενδιάμεσων φορέων όπως είναι οι φάγοι ή τα πλασμίδια.

Η μετάθεση έχει βασικά μελετηθεί στα πλαίσια της διερεύνησης του τρόπου διασποράς των γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά σε διάφορους μικροοργανισμούς.

Η διαδικασία αυτή διαφέρει από τον ομόλογο ή γενικευμένο ανασυνδυασμό που πραγματοποιείται χαρακτηριστικά στα ευκαρυωτκά κύτταρα κατά τη διάρκεια της μείωσης μεταξύ ομολόγων τμημάτων, τμημάτων δηλαδή που έχουν ίδιες ή παρόμοιες αλληλουχίες. Διαφορετικά είναι επίσης τα συστήματα ανασυνδυασμού ειδικής θέσης (site specific recombination) που βασικά αφορούν ανταλλαγή τμημάτων DNA που όμως φέρουν παρόμοιες αλληλουχίες σε μικρό τμήμα τους. Παράδειγμα τέτοιου ανασυνδυασμού είναι η ενσωμάτωση φάγου στο βακτηριακό χρωμόσωμα.

Τα τμήματα που έχουν την ικανότητα μετάθεσης καλούνται μεταθετά στοιχεία (transposons). Ανάλογα με την δομή και τη λειτουργία τους έχουν περιγραφεί βασικά τρεις κατηγορίες, οι ένθετες αλληλουχίες, τα σύνθετα μεταθετά στοιχεία, και τα μεταθετά στοιχεία της οικογένειας Tn3-Tn21. Σημαντικό χαρακτηριστικό της δομής των μεταθετών στοιχείων αποτελεί η παρουσία μικρού μήκους (ως 50 βάσεις) ομολόγων ανεστραμμένων αλληλουχιών στα άκρα τους. Οι ομόλογες ανεστραμμένες αλληλουχίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην μετάθεση βοηθώντας στον σχηματισμό κυκλικών ενδιάμεσων προϊόντων απαραίτητων στην μετακίνηση του στοιχείου από την μια περιοχή στην άλλη.

Σημειώνεται πάντως ότι υπάρχουν δυο είδη μεταθέσεων: Η συντηρητική (μη πολλαπλασιαστική) όπου το στοιχείο απλά μετακινείται στη νέα του θέση (ο αριθμός των μεταθετών στοιχείων ανά γένωμα παραμένει σταθερός) και η πολλαπλασιαστική όπου το στοιχείο διπλασιάζεται και το αντίγραφο του μετακινείται στην νέα θέση (ο αριθμός των μεταθετών στοιχείων ανά γένωμα αυξάνεται).

Τα απλούστερα μεταθετά στοιχεία καλούνται ένθετες αλληλουχίες (insertion sequences-IS). Τα IS στοιχεία έχουν μήκος περίπου 750-1600 βάσεις, αποτελούνται από δυο ομόλογα ανεστραμμένα άκρα, ενώ το κυρίως σώμα τους αποτελείται βασικά από το γονίδιο της τρανσποζάσης, του ενζύμου δηλαδή που καταλύει την μετάθεση. IS έχουν ανιχνευθεί σε πολλά είδη βακτηρίων ενώ συνήθως ανιχνεύονται σε πολλά αντίγραφα ανά μόριο DNA.

Τα σύνθετα μεταθετά στοιχεία φέρουν συνήθως γονίδια αντοχής επιπλέον των γονιδίων μετάθεσης και αποτελούνται βασικά από μια κεντρική περιοχή όπου είναι εγκατεστημένα τα γονίδια αντοχής και δυο άκρα που βασικά καταλαμβάνονται από δυο IS.

Εξαιρετικά σημαντικά μεταθετά στοιχεία είναι τα ανήκοντα στην οικογένεια των Tn3-Tn21. Τα στοιχεία αυτά φέρουν τρια γονίδια που κωδικογραφούν ένζυμα απαραίτητα για την μετάθεση: το TnA που κωδικογραφεί την τρανσποζάση, το TnR κωδικογραφεί την ρεσολβάση και το TnM που κωδικογραφεί τον τροποποιητή της τρανσποζάσης. Επιπλέον φέρουν και μια περιοχή την res που είναι απαραίτητη στην διαδικασία της μετάθεσης. Το μήκος του Tn21 είναι περίπου 20.000 βάσεις, ορίζεται από δυο ανεστραμμένες αλληλουχίες και περιλαμβάνει: Προς το 3΄ άκρο το *mer operon* (που είναι υπεύθυνο για την αντοχή στον υδράργυρο), προς το 5΄ άκρο τα απαραίτητα για την μετάθεση γονίδια, δηλαδή (από το 3΄ προς το 5΄) το γονίδιο *tnpM*, το γονίδιο *tnpR* και το *tnpA*. Μεταξύ *tnpR* και *tnpM* υπάρχει η περιοχή *res* όπου δρα η ρεσολβάση. Στην περιοχή μεταξύ του *mer* και του *tnpM* είναι εγκατεστημένα τα *indegrons* που θα περιγραφούν στην συνέχεια.

Συζευτικά μεταθετά στοιχεία (conjugative transposons). Συζευτικά μεταθετά στοιχεία είναι τμήματα DNA που έχουν την ικανότητα να εκτέμνονται από το μόριο DNA, και να δημιουργούν ομοιοπολικά κυκλικά ενδιάμεσα προϊόντα. Τα προϊόντα αυτά έχουν την ικανότητα είτε να ενσωματώνονται στο DNA toy ίδιου κυττάρου (ενδοκυττάρια μετάθεση) ή να μεταφέρονται με τον μηχανισμό της σύζευξης σε άλλο κύτταρο (διακυττάρια μετάθεση) ή να μεταφέρονται με το μηχανισμό της σύζευξης σε άλλο κύτταρο (διακυττάρια μετάθεση). Συζευτικά μεταθετά στοιχεία βρέθηκαν σε Gram-θετικούς κόκκους, αλλά ήδη είναι γνωστό ότι έχουν ευρύτατο φάσμα ξενιστών μεταφέροντας έτσι και γονίδια (κυρίως γονίδια αντοχής) σε ένα ευρύ φάσμα Gram-θετικών στοιχείων και Gram-αρνητικών μικροοργανισμών. Σημειώνεται ότι τα συζευτικά μεταθετά στοιχεία έχουν την ικανότητα κινητοποίησης μη συζευκτικών πλασμιδίων αλλά και άλλων ενσωματωμένων στο DNA στοιχείων.

Intergrons. Πρόσφατα έχει αποκαλυφθεί μηχανισμός διασποράς γονιδίων αντοχής, που αφορά μία δομή DNA που αφενός φαίνεται ότι έχει την ικανότητα μετακίνησης από μόριο σε μόριο, όπως μεταθετά στοιχεία, αφετέρου δε έχει την ικανότητα να υποβοηθά την ενσωμάτωση ή και αποβολή γονιδίων αντοχής από αυτή μέσω μηχανισμών γενετικού ανασυνδυασμού.

Οι δομές αυτές έχουν μελετηθεί κυρίως στα πλαίσια της μελέτης μικροβιακής αντοχής στα αντιβιοτικά και φαίνεται ότι έχοντας την ικανότητα ενσωμάτωσης σειράς διαφορετικών γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά, αποτελούν την βάση της πολυαντοχής σε ομάδες αντιβιοτικών.

Αυτές οι ΄νέες' δομές έχουν ονομαστεί integrons είναι γενετικά στοιχεία που περιβάλλονται από ανεστραμμένες αλληλουχίες ώστε να έχουν την ικανότητα μετακίνησης, ενώ συγχρόνως περιέχουν τους απαραίτητους καθοριστές ενός συστήματος ανασυνδυασμού ειδικής θέσης, με την βοήθεια του οποίου μπορεί να ενσωματώνουν γονίδια, κυρίως αντοχής.

Περιγράφηκαν ως τμήματα των μεταθετών στοιχείων της οικογένειας του Tn21 και παρόλο που έχουν περιγραφεί integrons ανεξάρτητα, φαίνεται ότι η σχέση των δυο αυτών οικογενειών 'ευκίνητου' DNA είναι πολύ στενή. Όπως ήδη αναφέρθηκε τα integrons που σχετίζονται με το Tn21 φαίνεται ότι είναι εγκατεστημένα στην περιοχή μεταξύ του mer και του tnpM. Κάθε integron αποτελείται από δύο συντηρημένες περιοχές DNA (δηλαδή περιοχές οι οποίες στα διάφορα integrons που έχουν απομονωθεί παρουσιάζουν σημαντική ομοιότητα στην αλληλουχία βάσεων), τις ονομαζόμενες 5΄ και 3΄ συντηρημένο τμήμα αντίστοιχα, μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται άλλοτε άλλου μεγέθους τμήμα DNA που περιλαμβάνει γονίδια (συνήθως γονίδια αντοχής) που έχουν ενσωματωθεί στην περιοχή ως «κασέτες».

Το 5΄ συντηρημένο τμήμα (5 cs) έχει μήκος 1360 βάσεις, κωδικοποιεί μία ρεκομπινάση, την ιντεγκράση που είναι υπεύθυνη για την ενσωμάτωση των γονιδίων αντοχής στο μεταβλητό τμήμα του στοιχείου ενώ περιέχει και τους προαγωγείς (promoters) των γονιδίων αντοχής. Το 3΄ συντηρημένο τμήμα (3΄ cs) φέρει το γονίδιο αντοχής στις σουλφοναμίδες *sul* και δυο ανοικτές περιοχές μεταγραφής (open reading frames) τα ORF4 και ORF5. Ενίοτε το τμήμα αυτό περιέχει και επιπρόσθετα μεγάλα κομμάτια DNA που στο ηλεκτρονικό

μικροσκόπιο σχηματίζουν ‘θηλιές’ (loops), ο ρόλος των οποίων παραμένει σκοτεινός.

Η ομοιότητα μεταξύ των 3΄ τμημάτων στα διάφορα integrons έχει βρεθεί να είναι μικρότερη από ότι των 5΄ τμημάτων. Οι «κασέτες» των γονιδίων αντοχής αποτελούνται από το γονίδιο αντοχής και από μια θέση ανασυνδυασμού γνωστή ως στοιχείο 59 ζευγών βάσεων που βρίσκεται πάντα προσκολλημένο στο 3΄ άκρο του γονιδίου. Το στοιχείο αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία ενσωμάτωσης ή αποκόλλησης της κασέτας από το integron. Τέλος η όλη δομή του integron αφορίζεται από ανεστραμμένες αλληλουχίες (IS) 25 ζευγών που βρίσκονται στα 5΄ άκρο του 5΄ cs και στο 3΄ άκρο του 3΄ cs.

Η ανακάλυψη των integrons και η τεκμηρίωση της δραστηριότητάς τους ως θερμά σημεία γενετικού ανασυνδυασμού (recombinational hot spots) δείχνει ότι ο μηχανισμός διασποράς των γονιδίων αντοχής ίσως είναι πολύ πιο πολύπλοκος από ότι αρχικά είχε υπολογιστεί ενώ η μελέτη τους έχει προφανή σημασία στην διαμόρφωση πολιτικής αντιμετώπισης των λοιμωδών νοσημάτων και ειδικότερα της μικροβιακής αντοχής, παρέχοντας σημαντικά δεδομένα για τον υπολογισμό της πραγματικής πίεσης επιλογής που προκαλεί η συνταγογράφηση μιας ομάδας αντιβιοτικών στην εμφάνιση αντοχής σε άλλες ομάδες, τα γονίδια αντοχής των οποίων φαίνονται συνδεδεμένα.

Νησίδες παθογονικότητας (pathogenicity islants). Η μελέτη των παθογόνων μηχανισμών των μικροοργανισμών έδειξε ότι πολύ συχνά τα γονίδια κωδικοποιούν παθογόνους μηχανισμούς όπως τοξίνες, παράγοντες προσκολλητικότητας (adhesions) ή διεισδυτικούς παράγοντες (invasions) βρίσκονται συγκεντρωμένα σε λειτουργικές ομάδες (functional related groups) των οποίων οι αλληλουχίες είναι διακριτές και διαφέρουν από αυτές του υπολοίπου DNA, ώστε να είναι πιθανή η κοινή προέλευση τους από άλλους μικροοργανισμούς.

Οι ομάδες αυτές των γονιδίων έχουν ονομαστεί «Νησίδια Παθογονικότητας» και έχουν ανιχνευτεί τόσο στα Gram-θετικά όσο και στα στα Gram-αρνητικά, ενώ πολύ σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα στοιχεία αυτά βρίσκονται μόνο στα παθογόνα στελέχη των αντίστοιχων μικροβιακών ειδών. Η μελέτη τέτοιων σχηματισμών σε διάφορα είδη μικροοργανισμών έχει δείξει ομοιότητες

συμβατές με ενδεχόμενη κοινή προέλευση τους, ο τρόπος όμως μετακίνησής τους δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί. Πολλά από αυτά έχει βρεθεί ότι περιβάλλονται από ανεστραμμένες ένθετες αλληλουχίες (insertion sequences).

Νησίδες παθογονικότητας έχουν εντοπιστεί και μελετηθεί σα παθογόνα στελέχη *E. coli, Salmonella* spp*., Shigella* spp*., Yersinia, Helicobacter pilori* κ.ά. Η σημασία των νησίδων παθογένειας στην κατανόηση της παθογένειας των μικροοργανισμών αλλά και στην ανάπτυξη στρατηγικής αντιμετώπισης και θεραπείας των λοιμώξεων είναι μεγάλη: Η παρουσία τους δείχνει την πολύ μεγάλη ικανότητα προσαρμογής των μικροοργανισμών αλλά και στην ανάπτυξη στρατηγικής αντιμετώπισης και θεραπείας των λοιμώξεων είναι μεγάλη: η παρουσία τους δείχνει την πολύ μεγάλη ικανότητα προσαρμογής των μικροοργανισμών με συνολική, ταχεία απόκτηση γονιδίων παθογένειας και όχι μέσω της βραδείας διαδικασίας επιλογής με μεταλλαγές.

Επίσης η παρουσία νησίδων παθογένειας ενδεχόμενα σχετίζεται με πολλά «νεοεμφανιζόμενα» παθογόνα μικρόβια όπως το εντεροαιμορραγικό *E. coli* (EHEC) *Vibrio cholerae* 0139. Τέλος η μετακίνηση νησίδων παθογονικότητας σε μικροοργανισμούς της χλωρίδας ίσως αποτελέσει τον μηχανισμό δημιουργίας ‘νέων’ παθογόνων μικροοργανισμών.

Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Τέλος Ενότητας

Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης
ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Σημειώματα

Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Διδάσκων: Καθηγητής Ιωάννης Σαββαΐδης. «Γενική Μικροβιολογία. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ». Έκδοση: 1.0. Ιωάννινα 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1151.

Σημείωμα Αδειοδότησης

- Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά Δημιουργού - Παρόμοια Διανομή, Διεθνής Έκδοση 4.0 [1] ή μεταγενέστερη.

[1] https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/.