

Urszula Kasprzykowska^{1*}, Beata Magdalena Sobieszkańska¹

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław

Wpłynęło w styczniu 2014 r.

1. Wstęp. 2. Transdukcja – bakteriofagi. 3. Koniugacja i plazmidy. 4. Transformacja. 5. Podsumowanie

Bacterial genome plasticity – intercellular transfer of genetic information

Abstract: Mutations in the bacterial genomes are responsible for minor genetic changes. Most extensive restructuring of bacterial genomes arise from inter- and intragenetic gene transfer. Multiple types of transposition elements responsible for movement of DNA within cells have been described. All these transposable elements may outreach other cells of the same bacterial species or bacteria of another species via transduction, conjugation and transformation. These three mechanisms of horizontal gene transfer have a great impact on evolution of prokaryotic organisms by allowing molecular innovations to spread among bacteria and promote their adaptation to a new environments. On the other hand, horizontal gene transfer also enables bacteria to adapt to the host both, by spreading virulence determinants and allowing pathogens to acquire genes of resistance to many antimicrobials. This review presents phenomenons of transduction, conjugation and transformation, as three distinct mechanisms of intercellular DNA transfer that provide potential evolutionary advantage to prokaryotes.

1. Introduction. 2. Transduction – bacteriophages. 3. Conjugation and plasmids. 4. Transformation. 5. Summary.

Słowa kluczowe: transformacja, transdukcja, koniugacja

Key words: transformation, transduction, conjugation

1. Wstęp

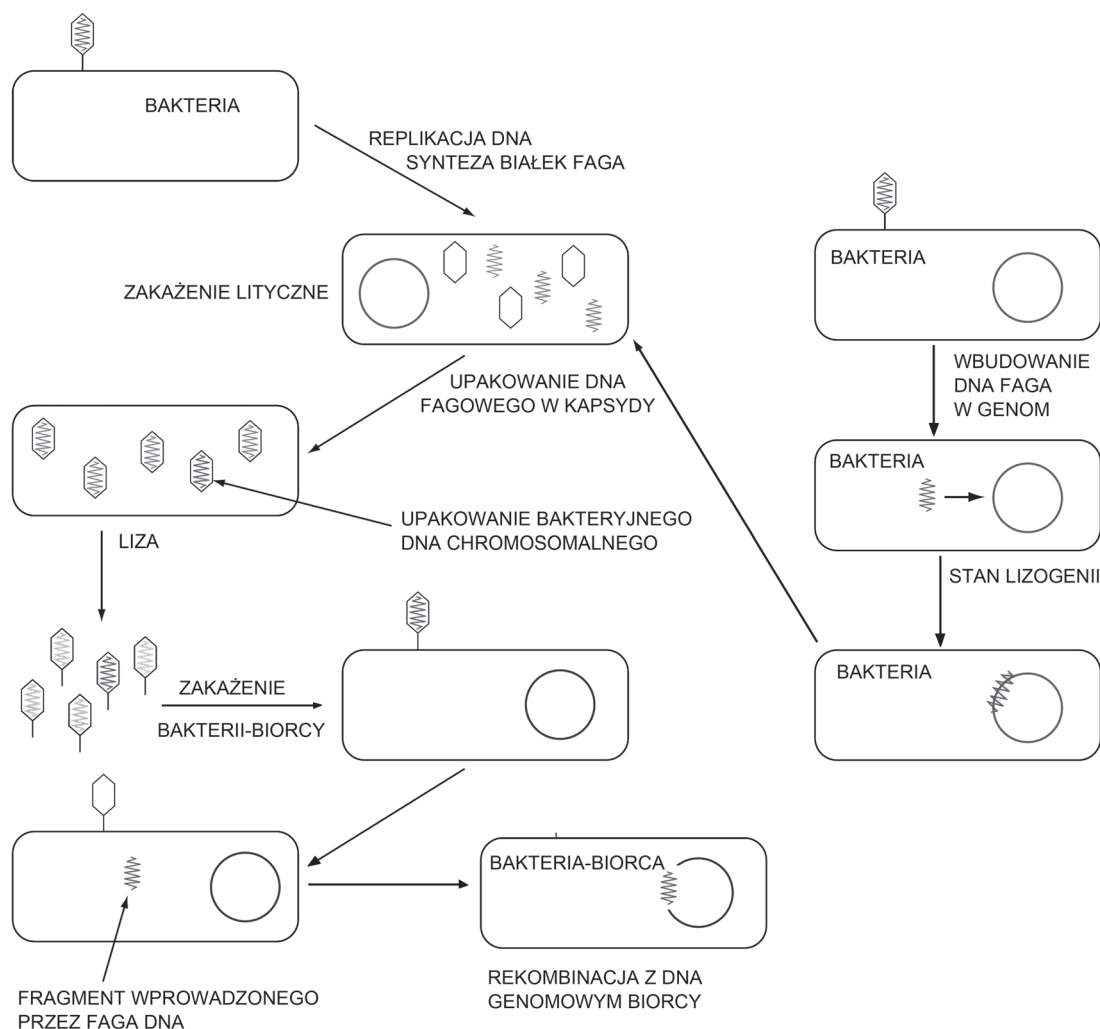
Wśród bakterii przez cały czas ma miejsce intensywny wewnątrzkomórkowy i międzykomórkowy transfer informacji genetycznej, który prowadzi do ogromnej zmienności genetycznej tych organizmów w obrębie jednego gatunku i zapewnia drobnoustrojom szybkie tempo ewolucji. Wewnątrzkomórkowy transfer informacji genetycznej nosi nazwę transpozycji, a biorące w nim udział mobilne elementy genetyczne nazywane są elementami transpozycyjnymi (TE – transposable elements). Należą do nich sekwencje insercyjne, transpozony, integrony i kasety genowe, integracyjne elementy koniugacyjne oraz wyspy patogenności. Transpozycja fragmentu DNA w inną pozycję genomu prowadzi do jego rearanżacji i może odbywać się na drodze ewolucyjnie konserwatywnej lub replikacyjnej. Międzykomórkowe przemieszczanie się DNA, a więc horyzontalny transfer genów (HGT – horizontal gene transfer) nazywany również transferem lateralnym (LTG – lateral gene transfer) prowadzi do wzbogacenia puli genów danego gatunku i odbywa się u bakterii na drodze transdukcji, koniugacji lub transformacji [22, 30].

2. Transdukcja – bakteriofagi

Wirusy bakteryjne (bakteriofagi, fagi) reprezentują najliczniejszą (globalna populacja obejmuje ok. 10^{31} fagów) prawdopodobnie najstarszą, najbardziej

zróżnicowaną pod względem genetycznym oraz najszybciej powielającą się (ok. 10^{24} infekcji/sek. w skali Ziemi) formę życia ziemskiej biosfery. Szacuje się, że na każdą komórkę bakteryjną przypada średnio od 5 do 10 swoistych fagów [19, 20, 21]. Podobnie jak u wszystkich wirusów, genom fagów może stanowić jedno- lub dwuniciowe RNA lub DNA w formie liniowej lub kolistej, które zamknięte jest w białkowym kapsydzie o symetrii helikalnej, izometrycznej (ikosaedralnej) lub złożonej [28]. Fagi o złożonej strukturze (zbudowane z główki i ogonka) z rzędu *Caudovirales*, które zawierają jako genom podwójną nić DNA, stanowią najlepiej poznaną i najliczniejszą grupę fagów [10]. Na podstawie sposobu replikacji bakteriofagi dzielone są na fagi lityczne, zjadliwe, które zawsze powodują liżę zakażonej bakterii oraz fagi łagodne, których DNA wbudowuje się w genom bakterii, ale w pod wpływem różnych czynników może wyłączać się z genomu i inicjować lityczny cykl replikacyjny faga, kończący się, podobnie jak w przypadku fagów litycznych, liżę bakterii [9]. Zależnie od typu faga (lityczny vs. łagodny), wyróżnia się transdukcję uogólnioną oraz wyspecjalizowaną (ograniczoną). Transdukcja uogólniona zachodzi z udziałem fagów litycznych, które po wstrzyknięciu swojego materiału genetycznego degradują bakteryjne DNA do krótkich odcinków. Po replikacji faga, podczas składania fagów potomnych, segmenty bakteryjnego DNA, odpowiadające wielkości genomowi faga, mogą zostać omyłkowo upakowane w kapsyd faga. Fag

* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław; e-mail: urszula.kasprzykowska@umed.wroc.pl



Rys. 1. Cykl replikacji fagów litycznych i lizogennych. Po adsorpcji do powierzchni bakterii fąg lityczny wprowadza swoje DNA i rozpoczyna replikację. Potomne fagi opuszczają komórkę bakteryjną po jej lizie. DNA fagów łagodnych wbudowuje się w genom bakterii i jako profag replikuje razem z DNA bakteryjnym. Indukcja profaga uruchamia lityczny cykl jego replikacji.

taki, pozbawiony własnego DNA, choć niezdolny do replikacji, zachowuje zdolność adsorpcji do swoistych receptorów na powierzchni bakterii oraz wprowadzenia materiału genetycznego do jej cytoplazmy. W ten sposób fąg lityczny staje się wektorem przenoszącym DNA z jednej bakterii do drugiej, natomiast termin transdukcja uogólniona oznacza, że praktycznie każdy odcinek bakteryjnego DNA może zostać przeniesiony w ten sposób (Rys. 1).

Los obcego, pochodzącego z komórki dawcy DNA, wprowadzonego do cytoplazmy bakterii przez faga litycznego jest różny. W większości przypadków nowo pozyskane DNA pozostaje w postaci pozachromosomalnej i przyjmuje strukturę kolistą, co zapobiega jego degradacji, ale także rekombinacji z chromosomem bakterii (tzw. transdukcja abortywna). Pozachromosomalna, kolistą formą DNA nie ma zdolności replikacji i jedynie losowo, w wyniku podziału komórki bakteryjnej, może zostać przekazana następnemu pokoleniu bakterii. Stąd, nabyte w ten sposób odcinki DNA są

przez bakterie dość szybko tracone. Bardzo rzadko natomiast dochodzi do rekombinacji pozachromosomalnej, kolistej cząsteczki DNA z chromosomem bakterii np. w wyniku uszkodzenia DNA genomowego bakterii przez czynniki zewnętrzne (np. promieniowanie UV), indukujące procesy naprawcze, które sprzyjają wbudowaniu DNA [38]. Około 8% nowo nabytych fragmentów DNA pozostaje w cytozolu bakterii w formie liniowej i ulega degradacji, a uzyskane nukleotydy służą komórce bakteryjnej jako budulec w procesach naprawy DNA. Tylko około 2% nowo nabytych fragmentów DNA, homologicznych z genomem bakterii, ulega rekombinacji homologicznej z chromosomem [16].

Transdukcja wyspecjalizowana dotyczy fagów łagodnych, których DNA po wprowadzeniu do cytozolu ulega integracji z genomem bakterii na drodze rekombinacji homologicznej i w tej postaci nazywane jest profagiem. Nieliczne fagi łagodne (np. P1, N15, LE1, ϕ 20, ϕ BB-1) po wprowadzeniu swojego DNA pozostają w cytozolu bakterii w postaci kolistych lub liniowych

plazmidów [9]. Zintegrowany z bakteryjnym genomem profag „wyłącza” większość swoich genów (w tym geny konieczne do replikacji w cyklu litycznym) i podlega replikacji zgodnej z genomem bakterii [24]. W wyniku spontanicznej indukcji lub po zadziałaniu czynników zewnętrznych (np. mitogenów, leków itp.) niekorzystnie oddziałujących na bakterie, profagi mogą aktywować geny indukujące lityczny cykl ich replikacji. Stąd szczep bakterii noszący profagi nazywa się lizogenem, natomiast fagi łagodne – lizogennymi, a więc zdolnymi do lizy bakterii po procesie indukcji [7, 9, 43].

Wyłączając się z genomu bakterii, indukowany profag może omyłkowo wyciąć sekwencje bakteryjnego DNA sąsiadujące z genami faga. Zwykle w procesie tym wycięciu ulegają odcinki bakteryjnego DNA zlokalizowane po jednej stronie wbudowanego genomu faga, co oznacza, że aby zachować wielkość genomu, fag musi pozostawić równoważny odcinek własnego DNA w genomie bakterii. Jeżeli pozostawiony w bakteryjnym genomie segment fagowego DNA nie obejmuje genów istotnych dla jego cyklu życiowego, materiał genetyczny faga ulega replikacji z utworzeniem fagów potomnych, zdolnych do zakażenia następnych bakterii. W ten sposób nowy plon fagowy będzie zawierał materiał genetyczny zawierający segmenty DNA bakteryjnego, które mogą obejmować geny nadające kolejnej, zakażanej populacji bakterii zupełnie nowe cechy fenotypowe np. zwiększające wirulencję lub adaptację do nowej niszy ekologicznej [4, 7, 9, 33]. Jeżeli jednak wyłączający się z genomu bakterii profag, wycinając omyłkowo część bakteryjnego DNA, pozostawi w genomie bakterii własne, ważne w procesie replikacji geny, utraci zdolność samodzielnego powielania się.

Analizy sekwencji DNA fagowego wskazują, że większość profagów wbudowanych w genomy bakterii jest defektywna, niezdolna do autonomicznej replikacji i nierzadko znajduje się w stanie rozpadu. Proces transdukcji wyspecjalizowanej, który może pozbawiać fagi części ważnych genów, ale także mutacje i rearanżacje zachodzące w obrębie genomu bakterii, podobnie jak rekombinacje zachodzące pomiędzy profagami zakażającymi tą samą komórkę bakteryjną, często powodują unieczynnienie genów fagowych lub utratę części tych genów [7, 19, 41, 43]. Stąd poza tzw. niekniętymi profagami zdolnymi do replikacji, w genomach bakterii scharakteryzowano cztery formy genów związanych z fagami:

- defektywne profagi, nazywane kryptycznymi, które choć posiadają funkcjonalne geny niezdolne są do replikacji;
- satelitarne fagi, które nie posiadają własnych genów kodujących białka strukturalne kaspidy;
- bakteriocyny, przypominające ogonki fagowe; np. bakteriocyny F i R *Pseudomonas aeruginosa* są podobne do ogonków fagów λ i P2, natomiast geny

kodujące te bakteriocyny są homologami genów fagowych kodujących ogonki;

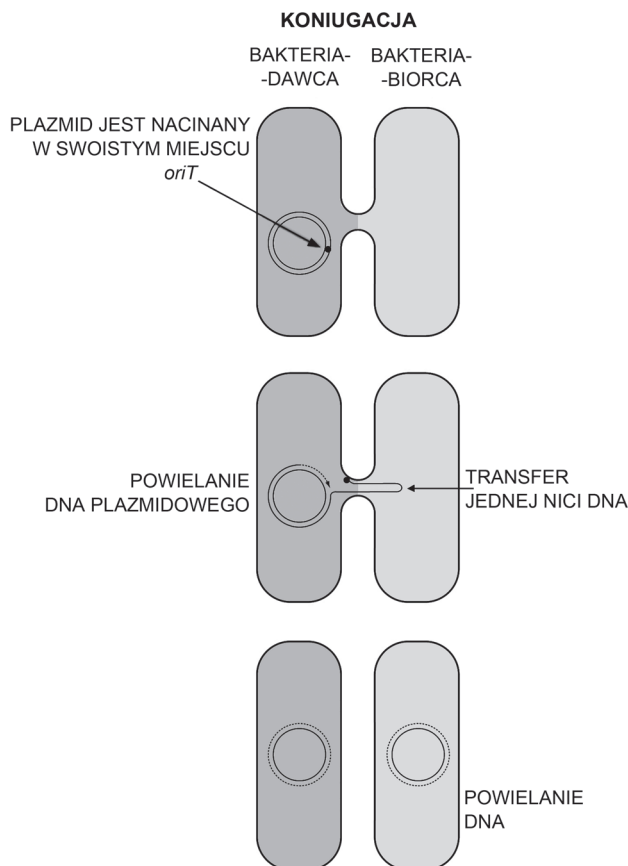
- czynniki transferu genów GTA (genetic transfer agents), tj. cząstki podobne do fagów z ogonkami, które charakteryzują się brakiem genów strukturalnych i nie posiadają zdolności replikacji. DNA cząstek GTA prawdopodobnie integruje się z chromosomem bakterii na zasadzie rekombinacji homologicznej, nazywanej w tym przypadku kapsdukcją [3, 9, 16, 26, 27, 46].

Wszechobecność bakteriofagów oraz zmiany zachodzące w obrębie ich materiału genetycznego czynią te formy życia „kołem napędowym” ewolucji bakterii i kreacji gatunków patogennych. Klasycznym tego przykładem są zdolne do syntezy toksyny Shiga pałeczki *E. coli* serotypu O157. Szczep *E. coli* O157 Sakai zawiera w swoim genomie 18 profagów oraz sześć segmentów chromosomalnych, prawdopodobnie pochodzenia fagowego. Wszystkie te profagi wykazują delecje lub elementy insercyjne w obrębie DNA, co wskazuje, że są defektywne. Pomimo to, kodują one większość czynników wirulencji pałeczek *E. coli* O157 szczepu Sakai tj. toksynę Shiga, dysmutazę nadtlenkową, oporność na bakteriobójcze działanie surowicy i adhezyny [18, 47].

Wirtualna obecność bakteriofagów w każdym ekosystemie oraz ich zdolność przenoszenia materiału genetycznego pomiędzy bakteriami żyjącymi w różnych, często odległych niszach ekologicznych przekłada się na ich ogromny wpływ na genetyczną zmienność bakterii. Świadczyć o tym może fakt, że fagowy materiał genetyczny stanowić może od 10 do 20% bakteryjnych genomów [6, 9, 30].

3. Koniugacja i plazmidy

Koniugacja polega na jednokierunkowym transferze materiału genetycznego z jednej komórki bakteryjnej (dawcy) do drugiej (biorcy). W większości przypadków koniugacja dotyczy plazmidowego DNA, choć u niektórych drobnoustrojów (np. pałeczek *E. coli* i *Pseudomonas* spp.) w ten sposób może być również przekazywane DNA chromosomalne [15]. Ponieważ koniugacja umożliwia przenoszenie genów plazmidowych pomiędzy bakteriami i niekoniecznie jest ograniczona do szczepów tego samego gatunku, w szerszym pojęciu stanowi ważny sposób rozprzestrzeniania się informacji genetycznej pomiędzy różnymi, niespokrewnionymi taksonomicznie gatunkami bakterii. Choć proces koniugacji najczęściej wiązany jest z bakteriami Gram-ujemnymi, nie jest ograniczony do tej grupy drobnoustrojów i może występować także u innych proteobakterii oraz cyjanobakterii [17]. Wystąpienie koniugacji uwarunkowane jest obecnością u donorowego szczepu bakterii plazmidu koniugacyjnego, który posiada:



Rys. 2. Proces koniugacji. Transfer DNA plazmidowego zapoczątkowuje enzym relaksaza nacinająca jedną nić DNA w swoistym miejscu *oriT* (origin of transfer). Plazmidowo kodowana helikaza rozkręca podwójną helisę DNA, co umożliwia rozdział obu nici i przeniesienie jednej z nich do bakterii-biorcy przez tzw. mostek koniugacyjny. Połączenie między dawcą a biorcą wymaga obecności u bakterii-dawcy fimbrii płciowej, która po interakcji ze swoistym receptorem powierzchniowym bakterii-biorcy ulega skróceniu, tworząc mostek koniugacyjny. Następnie do obu nici zostają dobudowane komplementarne nici DNA, które ulegają skręceniu i zwinięciu z utworzeniem superskręconej cząsteczki DNA. Bakteria-biorca plazmidu uzyskuje w ten sposób nie tylko dodatkową informację genetyczną, kodującą nowe cechy fenotypowe, ale i zdolność przekazywania kopii nowo uzyskanego plazmidu innym bakteriom. Konsekwencją tego zjawiska może być epidemiczne rozprzestrzenianie się plazmidu w mieszanej populacji bakterii.

- a) gen mobilności odpowiedzialny za transfer plazmidu (gen *mob*, kodujący enzym relaksazę, która rozcina nić DNA w miejscu *oriT*)
- b) geny kodujące białka Tra tworzące mostek koniugacyjny tj. połączenie pomiędzy dawcą i biorcą, przez które następuje transfer DNA (Rys. 2).

Plazmidy pozbawione genów kodujących system Tra, choć zachowują zdolność transferu do komórki biorcy, nie mają możliwości utworzenia połączenia pomiędzy dawcą a biorcą i nie mogą przenosić się samodzielnie. Plazmidy te mogą jednak zostać przeniesione do biorcy, ale tylko wtedy, gdy obecny równocześnie u bakterii-dawcy plazmid koniugacyjny (posiadający kompletny zestaw genów koniecznych do autotransferu) utworzy

mostek koniugacyjny. Proces ten nazywany jest mobilizacją plazmidów niekoniugacyjnych [15].

Plazmidy bakteryjne są pozachromosomalnymi elementami genetycznymi, które najczęściej mają postać kolistej, dwuniciowej, superskręconej cząsteczki DNA (cccDNA – covalently closed circle). U bakterii z rodzajów *Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus* oraz *Borrelia* występują ponadto plazmidy liniowe, które mogą współistnieć z plazmidami kolistymi, np. u krętków *Borrelia burgdorferii* wykryto 9 plazmidów kolistych oraz 12 liniowych [8, 36]. Struktura plazmidu obejmuje replikon minimalny tj. geny konieczne w procesie replikacji oraz replikon podstawowy, który skupia geny regulujące liczbę kopii danego plazmidu, jego stabilność i zgodność z innymi plazmidami. Plazmidy kryptyczne pozbawione są replikonu podstawowego. Geny replikonu minimalnego kodują tylko niektóre enzymy niezbędne w procesie replikacji plazmidu, natomiast pozostałe, kluczowe w tym procesie enzymy np. helikazy, polimerazy DNA, ligazy, prymary, dostarczane są przez komórkę bakteryjną [2]. Poza informacją genetyczną niezbędną do replikacji na plazmidach, znajdują się geny, które choć nie mają wpływu na podstawowy metabolizm bakterii, mogą jej nadawać dodatkowe, korzystne cechy fenotypowe, np. geny oporności na antybiotyki, geny kodujące toksyny, inwazyjne i adhezyjne, geny odpowiedzialne za produkcję kolicyn lub umożliwiające rozkład i asymilację różnych związków organicznych [25].

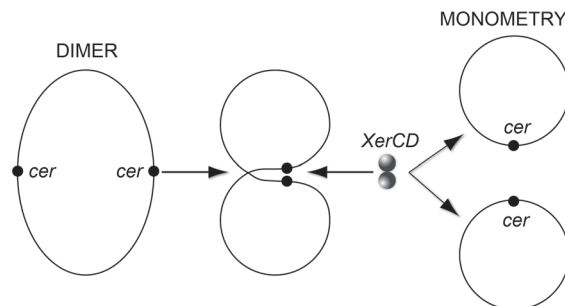
Plazmidy bakteryjne klasyfikowane są na podstawie:

- a) wielkości, która waha się w szerokich granicach od < 1 kbp do > 1 Mbp;
- b) przynależności do grupy niezgodności Inc (incompatibility), bazującej na sposobie kontroli replikacji plazmidów. Plazmidy zgodne należą do różnych grup niezgodności, natomiast plazmidy niezgodne do tej samej grupy Inc;
- c) zakresu gospodarzy – plazmidy mogą być swoiście związane z konkretnym gatunkiem bakterii lub wieloma taksonomicznie niespokrewnionymi gatunkami;
- d) charakterystyki molekularnej, która umożliwia porównywanie plazmidów różnych bakterii na podstawie wzorów restrykcyjnych, hybrydyzacji lub pełnej sekwencji plazmidu.

Poza tym, na podstawie różnej strategii replikacji plazmidy dzielone są na dwie grupy: a) małe plazmidy występujące w komórce bakteryjnej w dużej liczbie kopii (wysokokopijne), które w związku z ograniczoną wielkością cząsteczki DNA i ilością informacji genetycznej, nie posiadają genów koniecznych do samodzielnego transferu oraz b) duże plazmidy obecne w komórce bakteryjnej w jednej lub dwóch kopiach (niskokopijne), zdolne do promowania własnego transferu w procesie koniugacji [13, 15]. Replikacja plazmi-

dów wysokokopijnych przebiega niezależnie od replikacji chromosomu, a nawet w warunkach hamujących replikację chromosomu (tzw. fenomen amplifikacji plazmidów). Duża liczba kopii małych plazmidów zapewnia podczas podziału komórki bakteryjnej przekazanie komórkom potomnym, co najmniej jednej kopii plazmidu. Dla przykładu: jeżeli bakteria zawiera 50 kopii plazmidu, szansa na to, że komórka potomna nie otrzyma żadnej kopii plazmidu jest niewielka i wynosi 1 na 1015 komórek potomnych. Z drugiej strony, duża liczba kopii plazmidu metabolicznie obciąża komórkę bakteryjną, co przekłada się na wzrost presji selekcyjnej do utraty plazmidu. Duże plazmidy koniugacyjne replikują się równolegle z DNA chromosomalnym, co zapewnia obecność co najmniej dwóch kopii plazmidu w momencie podziału, a tym samym przekazanie jednej kopii plazmidu do komórki potomnej. Tym nie mniej, istnieją odstępstwa od powyższego podziału. U pałeczek *E. coli* wykryto bowiem szereg niekoniugacyjnych, małych plazmidów występujących w małej liczbie kopii, a także dużych plazmidów obecnych w dużej liczbie kopii. U *Streptomyces* opisano z kolei małe plazmidy koniugacyjne [12, 15].

Jedną z charakterystycznych cech plazmidów jest ich niestabilność i częsta utrata przez bakterie cech kodowanych plazmidowo, choć z drugiej strony naturalnie występujące u bakterii plazmidy są trwale dziedziczone przez komórki potomne. Na stabilność plazmidów przede wszystkim ma wpływ ich integralność oraz segregacja podczas podziału bakterii. DNA plazmidów, podobnie jak DNA chromosomalne, podlega ciągłym zmianom spowodowanym obecnością w ich strukturze sekwencji powtórzonych w obrębie transpozonów lub sekwencji insercyjnych, co ułatwia proces rekombinacji i może prowadzić do delecji lub insercji genów plazmidowych. Im więcej dany plazmid zawiera sekwencji powtórzonych, tym większe prawdopodobieństwo jego utraty. Prawidłowa segregacja kopii plazmidu do komórek potomnych podczas podziału komórki bakteryjnej ma zasadnicze znaczenie dla utrzymania plazmidu w danej populacji bakterii, stąd bakterie wykształciły szereg mechanizmów przeciwdziałających utracie plazmidów podczas podziału. Plazmidy wysokokopijne rozdzielane są do komórek potomnych w sposób losowy, jednak proces ten może zaburzać tendencja wielu kopii plazmidu do tworzenia form multimerycznych, a tym samym redukcji liczby kopii plazmidów, co z kolei zwiększa prawdopodobieństwo, że część komórek potomnych nie otrzyma plazmidu. Dla przykładu: 30 kopii plazmidu to 30 monomerów, ale 15 dimerów, 10 trimerów itp. Głównym mechanizmem przeciwdziałającym temu zjawisku jest miejscowo-swoista rekombinacja, której efektem jest rozdział dimerów na pojedyncze, monomeryczne plazmidy (Rys.3) [1, 35, 48].



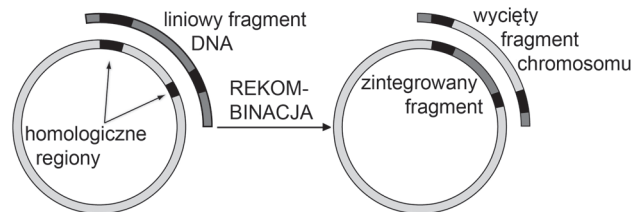
Rys. 3. Rozdział dimeru plazmidów poprzez miejscowo-swoistą rekombinację. Białko XerCD indukuje miejscowo-swoistą rekombinację pomiędzy sekwencjami *cer* w dimerycznej formie plazmidu, co prowadzi do rozdziału dimeru na monomery. Podobną funkcję białka XerCD pełnią w procesach naprawczych podczas replikacji chromosomu bakteryjnego.

Innym mechanizmem przeciwdziałającym utracie plazmidu jest eliminacja tych bakterii, które w wyniku podziału nie uzyskały plazmidu. Proces eliminacji bezplazmidowych komórek bakteryjnych (tzw. mechanizm posegregacyjnego zabijania) angażuje dwie komponenty: stabilną toksynę oraz niestabilny czynnik hamujący ekspresję toksyny lub niwelujący jej toksyczne działanie. Dla przykładu: plazmid F zawiera operon *ccd*, składający się z dwóch genów *ccdA* i *ccdB*. Produkt genu *ccdB*, białko CcdB, interferuje z gyrazą DNA, co zaburza replikację materiału genetycznego bakterii i ostatecznie prowadzi do jej śmierci. Niestabilne białko CcdA antagonizuje efekt działania białka CcdB. W komórce bakteryjnej pozbawionej plazmidu na skutek błędnej replikacji, białko CcdA jest szybko niszczone przez enzymy proteolityczne, co promuje toksyczne działanie białka CcdB. Podobne systemy zapobiegające utracie plazmidowo-kodowanej informacji genetycznej posiada wiele niezwiązanych ze sobą plazmidów [15, 48]. Plazmidy, podobnie jak inne mobile elementy genetyczne, przyczyniają się do efektywnego rozprzestrzeniania się informacji genetycznej. W przeciwieństwie do bakteriofagów, ograniczonych swoistością gospodarza, plazmidy mogą być przenoszone pomiędzy niespokrewnionymi gatunkami bakterii o ile będą w stanie replikować się w komórce gospodarza. DNA plazmidowe podlega ciągłym zmianom np. rekombinacji homologicznej wewnątrz struktury własnej, bądź z DNA innych plazmidów, co związane jest z obecnością w strukturze plazmidu sekwencji insercyjnych IS lub transpozonów, umożliwiających rearanżacje plazmidowego DNA [5, 23]. Niektóre plazmidy mogą wbudowywać się w chromosom bakteryjny (tworząc tzw. episom), co pomimo, że oznacza utratę autonomii plazmidu, zapewnia bakterii pokoleniowe dziedziczenie cech kodowanych przez plazmid [32, 45]. Proces integracji plazmidu z genomem prawdopodobnie przyczynia się do powstawania wysp patogenności, wpływając w ten sposób na zmienność genetyczną bakterii [6].

4. Transformacja

Transformacja polega na pobieraniu przez bakterie materiału genetycznego ze środowiska. DNA pozyskiwane tą drogą może wzbogacać informację genetyczną danego drobnoustroju o nowe cechy np. czynniki wirulencji, oporność na antybiotyki lub inne, korzystne determinanty. Jeżeli kwas nukleinowy pobrany ze środowiska pochodzi od blisko spokrewnionego gatunku może również służyć do naprawy uszkodzeń genomowego DNA lub stanowić źródło węgla, azotu i fosforu [11]. DNA obecne w środowisku najczęściej pochodzi z obumarłych komórek bakteryjnych, które rozpadając się uwalniają nieosłonięte cząsteczki kwasów nukleinowych. Ponadto, wiele bakterii (np.: *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*) może aktywnie uwalniać do środowiska swój materiał genetyczny [29, 39, 44]. Kinetyka degradacji zewnątrzkomórkowego DNA zależy od warunków panujących w środowisku i obecności enzymów degradujących DNA, stąd czas połowicznego rozpadu cząsteczki DNA może wynosić od kilku godzin do kilku dni, a nawet lat, zwiększając prawdopodobieństwo jego pobrania przez bakterie [34, 39, 42].

Pobieranie zewnątrzkomórkowego DNA przez bakterie jest procesem złożonym, ograniczonym do kompetentnych komórek bakteryjnych tj. takich, które posiadają na swojej powierzchni receptory wiążące fragmenty zewnątrzkomórkowego DNA oraz specyficzne białka, chroniące pobrane DNA przed degradacją w cytozolu i umożliwiające proces rekombinacji pobranego DNA z genomem biorcy (Rys. 4) [39]. Stan kompetencji danej populacji bakterii należących do jednego gatunku waha się od liczby bliskiej zeru do nawet 100% komórek bakteryjnych i może trwać kilka godzin [11, 14]. W pierwszym etapie procesu transformacji fragment DNA pozakomórkowego wiąże się niekowalencyjnie z receptorem powierzchniowym kompetentnej komórki bakteryjnej. W przypadku większości drobnoustrojów sekwencja pobieranego DNA nie ma wpływu na proces translokacji, choć zdarzają się wyjątki np. *Haemophilus influenzae* i *Neisseria gonorrhoeae*. Następująca po związaniu fragmentu DNA jego translokacja przez błonę komórkową jest odmienna u różnych gatunków bakterii. Najczęściej, po związaniu z receptorem powierzchniowym biorcy, jedna z nici DNA ulega degradacji i do cytozolu biorcy DNA wprowadzana jest pojedyncza nić, dzięki czemu pobrany materiał genetyczny chroniony jest przed działaniem wewnątrzkomórkowych endonukleaz. Dodatkowo, ochronę pobranej nici DNA zapewniają specyficzne białka obecne w cytoplazmie komórki bakteryjnej [11]. Jeżeli pobrany fragment liniowej cząsteczki DNA jest komplementarny w przynajmniej 75% z DNA chromosomu biorcy, wówczas jest włączany do genomu



Rys. 4. Rekombinacja pomiędzy liniowym odcinkiem DNA pobranego ze środowiska a dwuniciowym, kolistym chromosomem bakterii. Rekombinacja w dwóch miejscach prowadzi do zastąpienia odcinkiem obcego DNA fragmentu chromosomu, który następnie ulega degradacji. Niekiedy może dochodzić do integracji bez delekcji fragmentu DNA biorcy. Zależy to od orientacji sekwencji biorących udział w procesie rekombinacji (równoległej albo antyrównoległej). Poza inkorporacją obcego DNA, mechanizm rekombinacji pełni fundamentalną rolę w procesach naprawy chromosomu.

na zasadzie rekombinacji homologicznej zależnej od białka RecA, enzymu stymulującego interakcję pomiędzy rekombinującymi fragmentami DNA [11, 15, 40].

5. Podsumowanie

Międzykomórkowy transfer informacji genetycznej umożliwia bakteriom wzbogacenie własnej puli genów o dodatkową informację genetyczną pochodzącą często od niespokrewnionych taksonomicznie gatunków bakterii. Choć zjawiska transformacji i koniugacji wymagają bliskiego sąsiedztwa zaangażowanych w te procesy drobnoustrojów, możliwe jest również pozyskanie nowych genów z odległych niszy ekologicznych np. za pośrednictwem bakteriofagów. Materiał genetyczny niesiony przez te wirusy, zamknięty w kapsydzie, chroniony jest przed działaniem nukleaz niszczących DNA oraz niekorzystnymi czynnikami środowiska co sprawia, że pozostaje aktywny przez długi czas, stanowiąc tym samym ważny dla bakterii depozyt informacji genetycznej.

Cechy nabywane na drodze horyzontalnego transferu genów bezpośrednio od innych bakterii w procesie koniugacji, pośrednio przez bakteriofagi w procesie transdukcji lub poprzez pobranie natywnego DNA ze środowiska w procesie transformacji, umożliwiają bakteriom zasiedlanie nowych środowisk i często prowadzą do selekcji nowych, wysoce wirulentnych szczepów bakteryjnych.

Piśmiennictwo

1. Actis L.A., Tolmasek M.E., Crosa J.H.: Bacterial plasmids: replication of extrachromosomal genetic elements encoding resistance to antimicrobial compounds. *Front. Biosci.* **4**, 43–62 (1999)
2. Baj J., Markiewicz Z. (red.), *Biologia molekularna bakterii*. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, 2006, s. 422–423.
3. Bertani G.: Transduction-like gene transfer in the methanogen *Methanococcus voltae*. *J. Bacteriol.* **181**, 2992–3002 (1999)

4. Boyd E.F., Brussow H.: Common themes among bacteriophage-encoded virulence factors and diversity among the bacteriophages involved. *Trends Microbiol.* **10**, 521–529 (2002)
5. Brunder W., Schmidt H., Frosch M., Karch H.: The large plasmids of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are highly variable genetic elements. *Microbiol.* **145**, 1005–1014 (1999)
6. Brunder W., Karch H.: Genome plasticity in *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Med. Microbiol.* **290**, 153–165 (2000)
7. Canchaya C., Fournous G., Brussow H.: The impact of prophages on bacterial chromosomes. *Mol. Microbiol.* **53**, 9–18 (2004)
8. Casjens S., C.M. Fraser i wsp.: A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferii*. *Mol. Microbiol.* **35**, 490–516 (2000)
9. Casjens S. R.: Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? *Mol. Microbiol.* **49**, 277–300 (2003)
10. Casjens S.R.: Comparative genomics and evolution of the tailed-bacteriophages. *Curr. Opin. Microbiol.* **8**, 451–458 (2005)
11. Chen I., Dubnau D.: DNA uptake during bacterial transformation. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 241–249 (2004)
12. Clewell D., 2008. 07. 28, Plasmid Biology: A Brief Overview. SciTopics. http://www.scitopics.com/Plasmid_Biology_A_Brief_Overview.html, 2013. 09. 11.
13. Clowes R.C.: Molecular structure of bacterial plasmids. *Bacteriol. Rev.* **36**, 361–405 (1972)
14. Cohan F.M., Roberts M.S., King E.C.: The potential for genetic exchange by transformation within a natural population of *Bacillus subtilis*. *Evolution*, **45**, 1383–1421 (1991)
15. Dale J.W., Park S.E., Molecular genetics of bacteria (w) John Wiley and Sons Ltd, West Sussex, 2004; s. 137–163.
16. Fineran P.C., Petty N.K., Salmond G.P.C., Transduction: host DNA transfer by bacteriophages (w) The Encyclopedia of Microbiology, red. M. Schaechter, Elsevier, Oxford, 2009; s. 666–679.
17. Francia M.V., Varsaki A., Garcillan-Barcia M.P., Latorre A., Drinas C., de la Cruz F.: A classification scheme for mobilization regions of bacterial plasmids. *FEMS Microbiol. Rev.* **28**, 79–100 (2004)
18. Griffiths M., Understanding pathogen behavior: virulence, stress response and resistance (w) CRC Press, Cambridge, 2005; s. 87–90.
19. Hatful G.F.: Bacteriophage genomics. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**, 447–453 (2008)
20. Hendrix R.W.: Bacteriophages with tails: chasing their origins and evolution. *Res. Microbiol.* **154**, 253–257 (2003)
21. Hendrix R.W.: Cell architecture comes to phage biology. *Mol. Microbiol.* **68**, 1077–1078 (2008)
22. Hensel M., Schmidt H.: Horizontal gene transfer in the evolution of pathogens (w) Advances in Molecular and Cellular Microbiology, red. M. Hensel, H. Schmidt, Cambridge Univ. Press, New York, 2008; s. 49–158.
23. Hu P., Elliott J., McCreedy P., Skowronski E., Garnes J., Kobayashi A., Brubaker R.R., Garcia E.: Structural organization of virulence-associated plasmids *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* **180**, 5192–5202 (1998)
24. Jackson R.W., Vinatzer B., Arnold D.L., Dorus S., Murillo J.: The influence of the accessory genome on bacterial pathogen evolution. *Mob. Genet. Elements.* **1**, 55–65 (2011)
25. Johnson T.J., Nolan L.K.: Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **73**, 750–774 (2009)
26. Lang A.S., Beatty J.T.: The gene transfer agent of *Rhodobacter capsulatus* and “constitutive transduction” in prokaryotes. *Arch. Microbiol.* **175**: 241–249 (2001)
27. Lang A.S., Beatty J.T.: Importance of widespread gene transfer agent genes in alpha-proteobacteria. *Trends Microbiol.* **15**, 54–62 (2007)
28. Leiman P.G., Kanamaru S., Mesyanzhinov V.V., Arisaka F., Rossmann M.G.: Structure and morphogenesis of bacteriophage T4. *Cell Mol. Life Sci.* **60**, 2356–2370 (2003)
29. Lorenz M.G., Gerjets D., Wackernagel W.: Release of transforming plasmid and chromosomal DNA from 2 cultured soil bacteria. *Arch. Microbiol.* **156**, 319–326 (1991)
30. Mediani D., Donati C., Tettelin H., Massignani V., Rappuoli R.: The microbial pan-genome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **15**, 589–594 (2005)
31. Mira A., Martin-Cuadrado A.B., D’Auria G., Rodriguez-Valera.: The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbial. *Int. Microbiol.* **13**, 45–57 (2010)
32. Protsenko O.A., Filippov A.A., Kutyrev V.V.: Integration of the plasmid encoding the synthesis of capsular antigen and murine toxin into *Yersinia pestis* chromosome. *Microb. Pathog.* **11**, 123–128 (1991)
33. Rankin D.J., Rocha E.P.C., Brown S.P.: What traits are carried on mobile genetic elements, and why? *Heredity*, **106**, 1–10 (2011)
34. Rozenberg-Arska M., Salters E.C., Vanstrijp J.A., Hoekstra W.P.M., Verhoef J.: Degradation of *Escherichia coli* chromosomal and plasmid DNA in serum. *J. Gen. Microbiol.* **130**, 217–222 (1984)
35. Solar G., Giraldo R., Ruiz-Echevarria M.J., Espinosa M., Diaz-Orejas R.: Replication and control of circular bacterial plasmids. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62**, 434–464 (1998)
36. Takahashi Y., Cutler S.J., Fukunaga M.: Size conversion of a linear plasmid in the relapsing fever agent *Borrelia duttonii*. *Microbiol. Immunol.* **44**, 1071–1074 (2000)
37. Tettelin H., C.M. Fraser i wsp.: Genome analysis of multiple pathogenic isolates of Streptococcus agalactiae: implications for the microbial pan-genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13950–13955 (2005)
38. Thierauf A., Perez G., Maloys.: Generalized transduction. *Meth. Mol. Biol.* **501**, 267–286 (2009)
39. Thomas C.M., Nielsen K.M.: Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 711–721 (2005)
40. Townsend J.P., Nielsen K.M., Fisher D.S., Hartl D.L.: Horizontal acquisition of divergent chromosomal DNA in bacteria: effects of mutator phenotypes. *Genetics*, **164**, 13–21 (2003)
41. Ventura M., Canchaya C., Kleerebezem M., de Vos W.M., Siezen R.J., Brussow.: The prophage sequences of *Lactobacillus plantarum* strain WCFS1. *Virology*, **316**, 245–255 (2003)
42. Vreeland R.H., Rosenzweig W.D., and Powers D.W.: Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. *Nature*, **407**, 897–900 (2000)
43. Wagner P.L., Waldor M.K.: Bacteriophage control of bacterial virulence. *Infect. Immun.* **70**, 3985–3993 (2002)
44. Whitchurch C.B., Tolker-Nielsen T., Ragas P.C.: Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*, **295**, 1487 (2002)
45. Zagaglia C., Casalino M., Colonna B., Conti C., Calconi A., Nicoletti M.: Virulence plasmids of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* integrate into a specific site on the host chromosome: integration greatly reduces expression of plasmid-carried virulence genes. *Infect. Immun.* **59**, 792–799 (1991)
46. Zaneveld J.R., Nemerget D.R., Knight R.: Are all horizontal gene transfers created equal? Prospects for mechanism-based studies of HGT patterns. *Microbiology*, **154**, 1–15 (2008)
47. Zhou Z., L X., Liu B., Beutin L., Xu J., Ren Y.: Derivation of *Escherichia coli* O157: H7 from its O55:H7 precursor. *PLoS One*, **5**, e8700 (2010)
48. Zielenkiewicz U., Ceglowski P.: Mechanizmy stabilnego dziedziczenia plazmidów. *Problemy Nauk Biologicznych*, **51**, 297–304 (2002)

