



«Генетика микроорганизмов:
от геномики к биоэкономике»
Спас-Тешилово, 3-5 октября 2018 г.

Эволюция бактериального генома в системе симбиоза

Проворов Н.А.

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин
provorovnik@yandex.ru

Симбиозы бактерий с эукариотами

Трофические

Защитные

Фиксация N₂

Усвоение фосфатов

← Растения

Растительность
(разрушение
биополимеров, синтез
незаменимых
метаболитов,
разрушение токсинов)

Фотосинтез и
хемосинтез

Фиксация N₂

Подавление паразитов
(конкуренция, антибиоз)

Стимуляция иммунных
систем хозяина

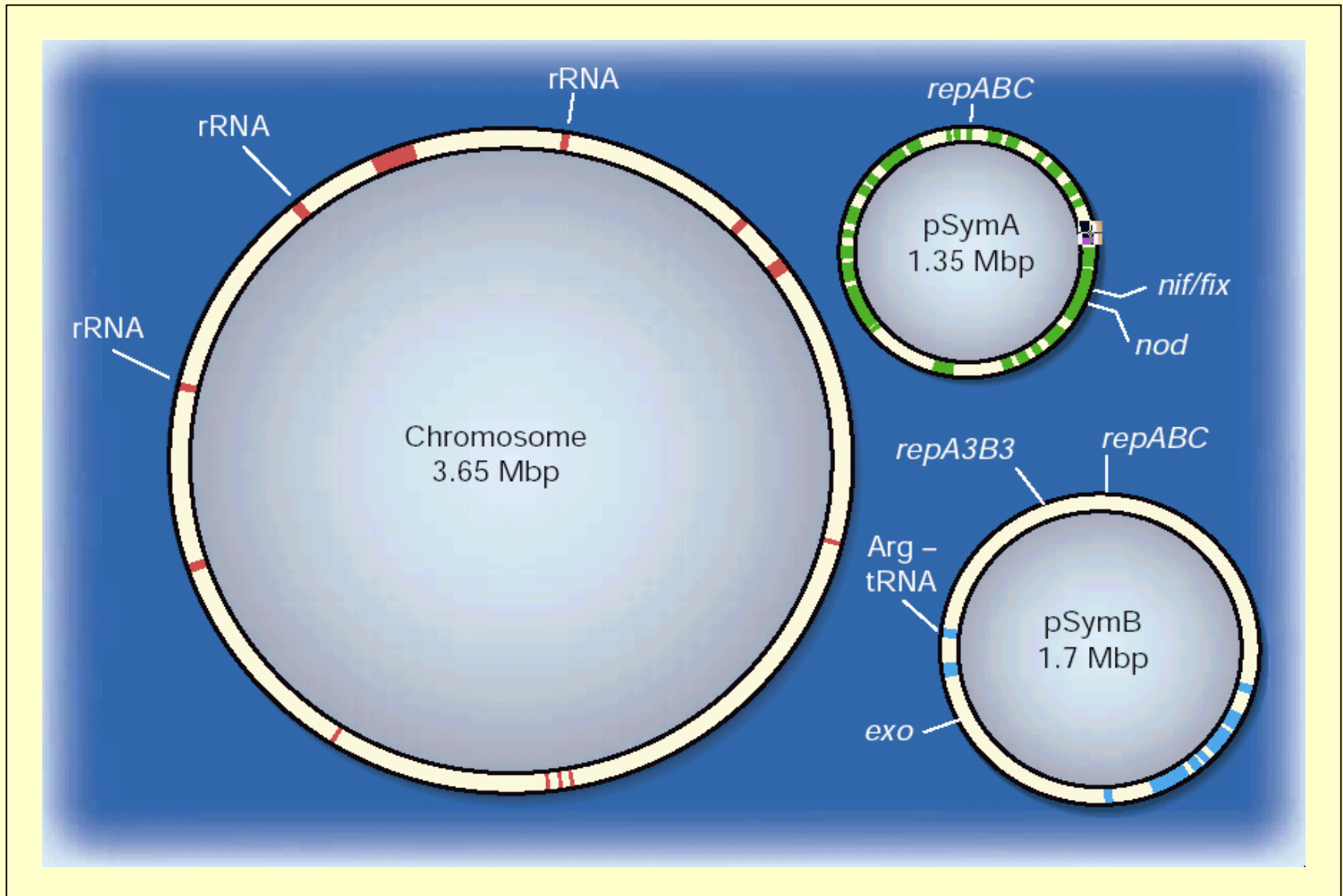
Адаптация к
абиотическим стрессам,
регуляция развития
(синтез гормонов и
морфогенов)

← Животные

Типы бактериального генома, формируемые в ходе симбиогенеза

Зависимость симбионта от хозяина	Тип генома	Число генов
Факультативная, либо экологически облигатная (бактерии циркулируют в системах “хозяин-среда”)	Мульти-компонентный (ризобии, агробактерии)	Увеличено в 1,5 – 2 раза , разделен на несколько крупных генофоров (увеличена акцессорная часть)
Генетически облигатная (утрачена способность к самостоятельному существованию)	Редуцированный (<i>Buchnera</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Wolbachia</i>)	Снижено на 30-95% , утрачены гены автономного существования (метаболизм, развитие клетки)
Абсолютная (утрачена генетическая автономность)	Рудиментарный (пластиды, митохондрии) или отсутствует (митосомы, гидрогеносомы)	Резко снижено – более чем на 99% , утрачены гены матричных процессов

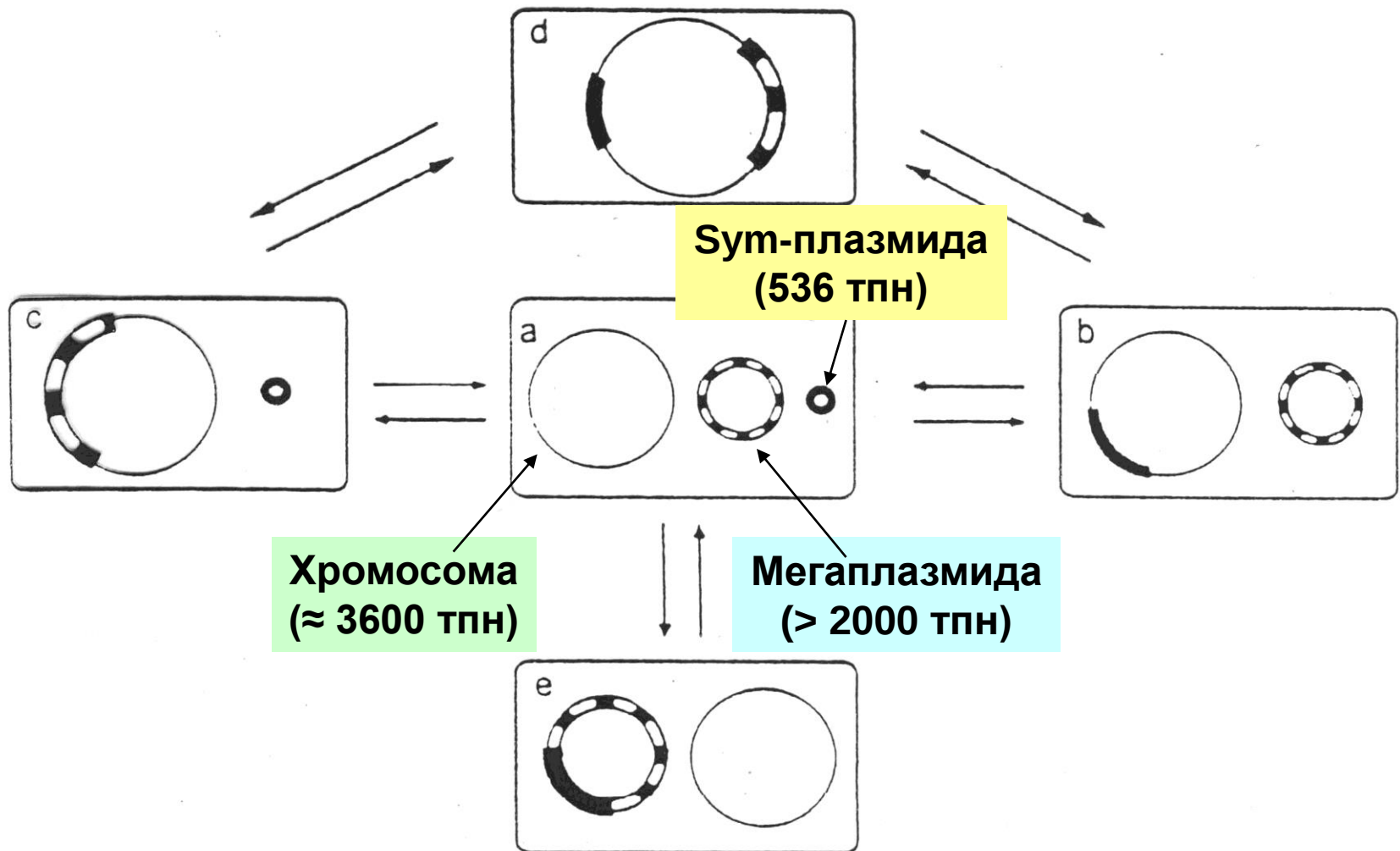
Многокомпонентный геном *Sinorhizobium meliloti* – экологически облигатного симбионта люцерны



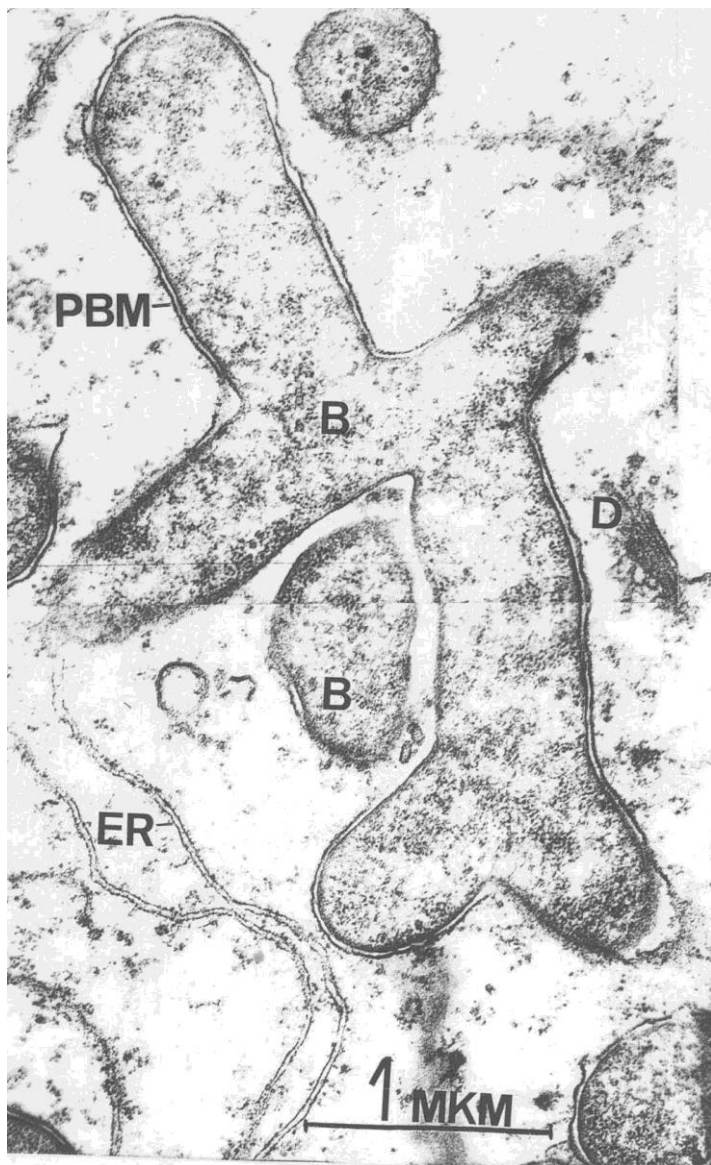
Состав генома у бактерий пор. Rhizobiales

Виды	Хромосома	Плазмиды, хромиды	Весь геном, т.п.н.
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	8700 т.п.н.	0-2 (25-300 т.п.н.)	7900-10100
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	3200 т.п.н.	Не менее 4 (общий размер до 2400 т.п.н.)	5600
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	3540 т.п.н.	Не менее 2 (1340 т.п.н., 1700 т.п.н.)	6600
<i>Neorhizobium galegae</i>	4600 т.п.н.	1-2 (1640 т.п.н., 175 т.п.н.)	6410

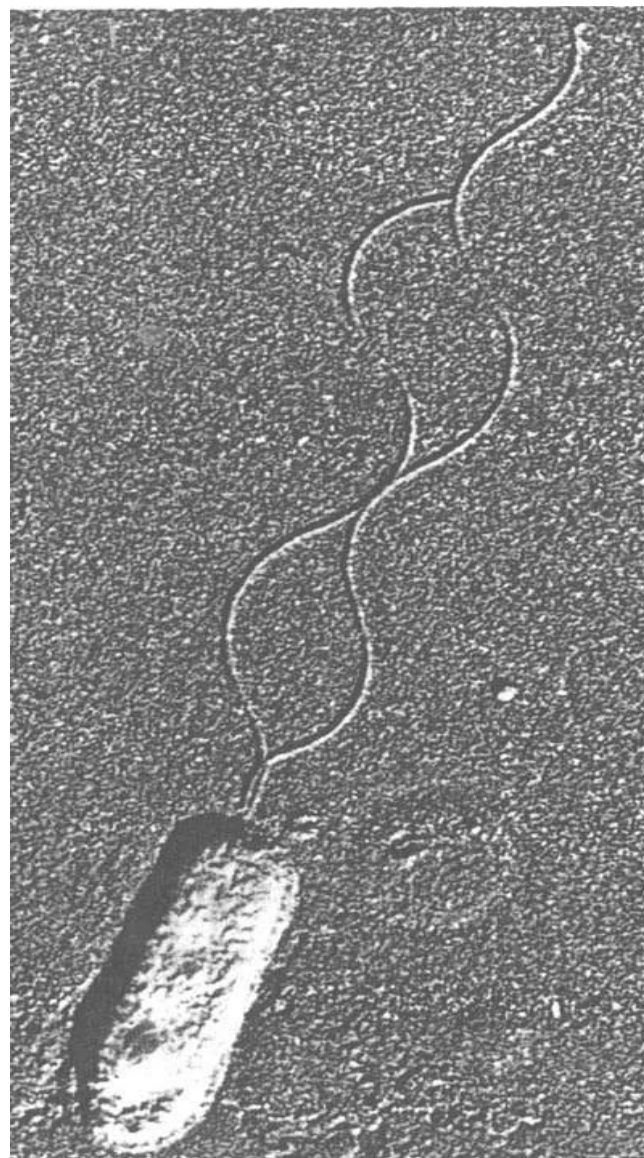
Пластичність генома у штамма NGR234 *Sinorhizobium fredii*



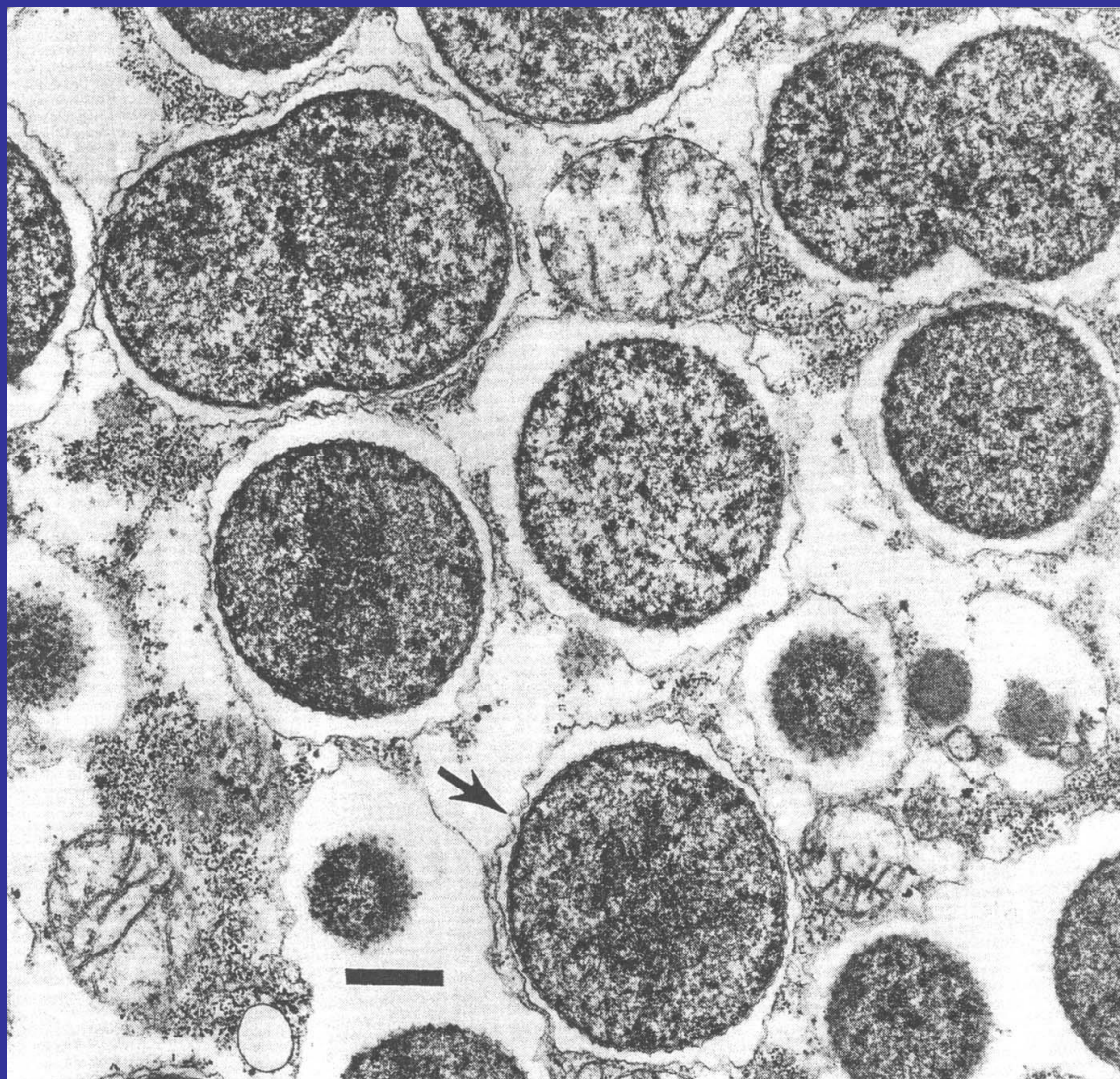
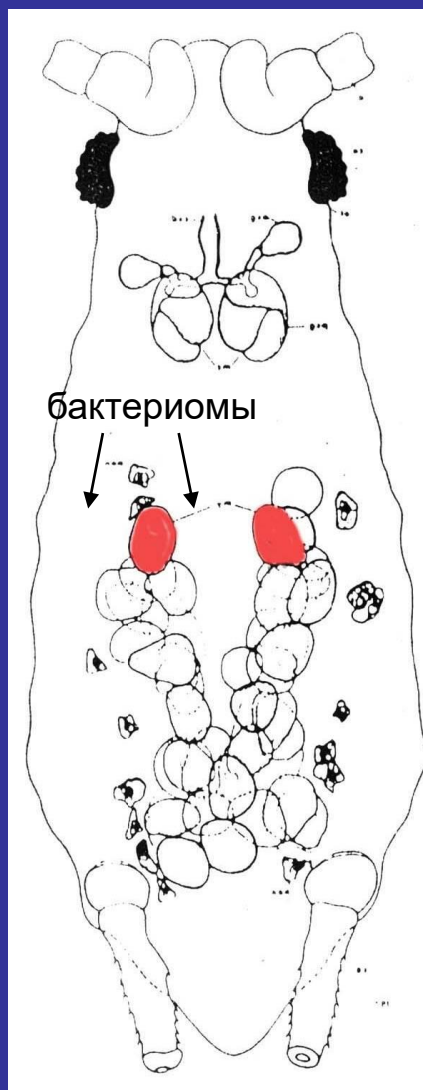
**Симбиосома с бактериоидом в
клубеньках гороха
(аммониопласт)**



**Свободноживущая клетка
*Rhizobium leguminosarum***



Симбиоз тлей с бактериями *Buchnera*



**Синтез незаменимых
аминокислот**

Бактериоциты с симбиосомами

Escherichia coli

Buchnera

E. coli (4,5-5,5 Mb)

B. aphidicola

250-300

100-150

50-70

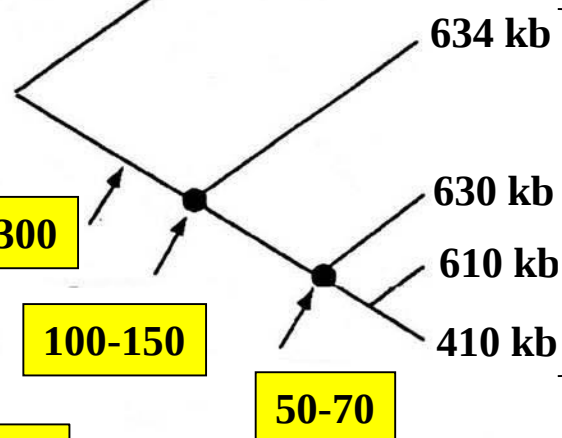
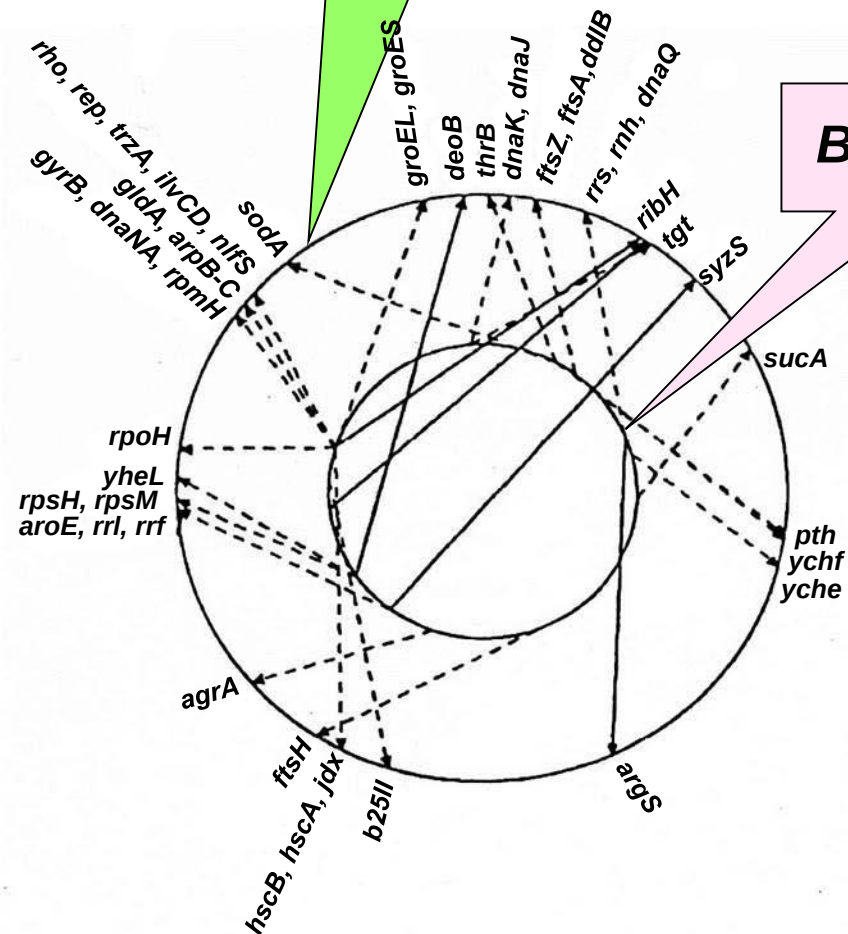
Млн. лет

634 kb

630 kb

610 kb

410 kb



Возникновение генных систем симбиоза



Утрата “операционных” генов



Утрата “информационных” генов



ДНК-зависимые матричные процессы



РНК-зависимые матричные процессы

Рекомбинация, репарация



Репликация, транскрипция



Трансляция

Полная утрата генома

**Реконструкция
симбиогенеза**



Симбиогенез — основная стратегия органической эволюции, определяющая становление новых форм жизни и новых типов организации генетического материала. Переход организмов от факультативного взаимодействия к облигатному симбиозу сопряжен с утратой ими способности к автономному существованию и с формированием надвидовых систем наследственности — функционально интегрированных симбиогеномов и структурно интегрированных хологеномов. В монографии впервые проведена реконструкция эволюционного пути, по которому свободноживущие микроорганизмы преобразуются в строго облигатных, генетически редуцированных внутриклеточных симбионтов эукариот и далее в клеточные органеллы, в том числе и лишенные собственных геномов. Впервые показано, что симбиогенез происходит под действием особых эволюционных факторов, включая групповые формы отбора, определяющие альтруизм микросимбионтов по отношению к своим хозяевам, а также наследование ими вновь приобретенных симбиотических адаптаций. Экспериментальное и математическое моделирование этих факторов должно быть положено в основу создания новых симбиотических систем сельскохозяйственного, медицинского и природоохранного назначения. Монография рассчитана на широкий круг читателей, интересующихся изучением симбиоза, а также общими проблемами генетики и эволюционной биологии.



РНФ

СИМБИОЗ И СИМБИОГЕНЕЗ

Н. А. Проворов, И. А. Тихонович, Н.И. Воробьев



Н. А. Проворов,
И. А. Тихонович, Н.И. Воробьев

СИМБИОЗ И СИМБИОГЕНЕЗ



 **ИНФОРМНАВИГАТОР**
Санкт-Петербург, 2018

***Vavilovia formosa* – ближайший родич общего предка
трибы Fabeae**

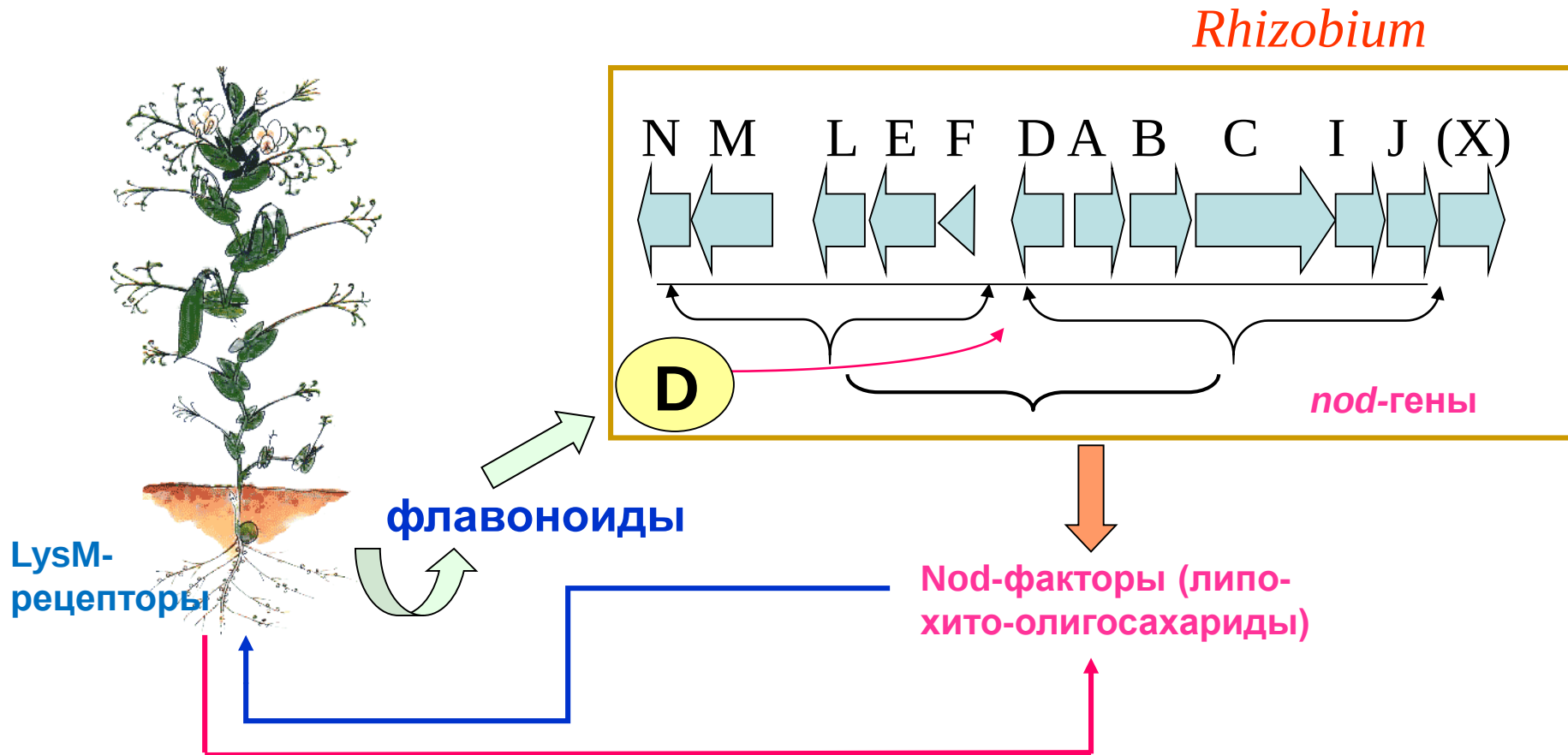


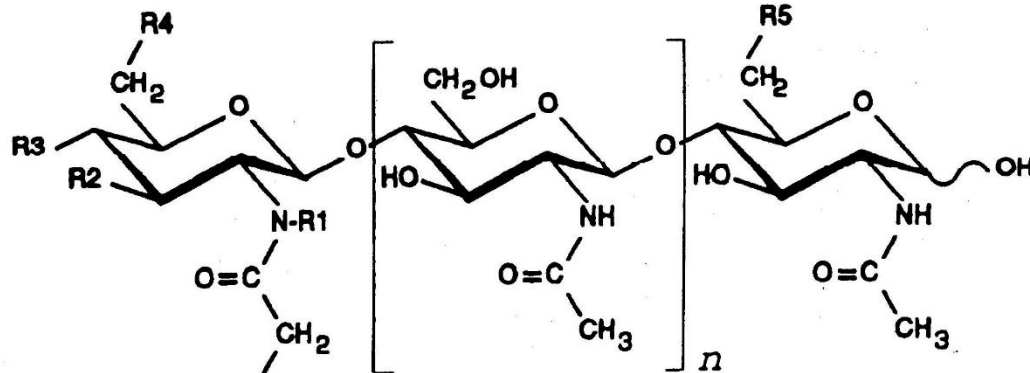
Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae



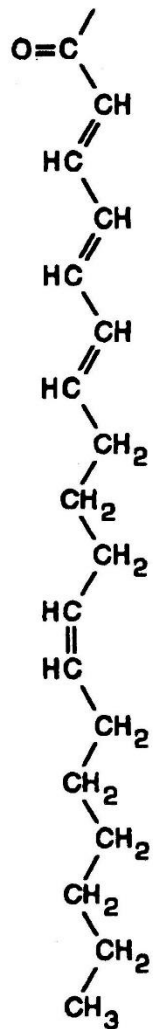
**Эволюция симбиотических систем трибы Fabeae:
выявление анцестрального симбиотипа *vaviloviae***

Обмен сигнальными молекулами на ранних стадиях бобово - ризобиального симбиоза

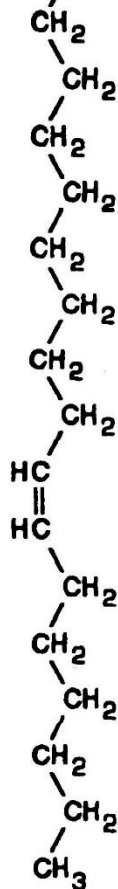




R5 = сульфат (ризобии люцерны)
 метилфукоза (ризобии сои)
 H (ризобии вики, гороха)



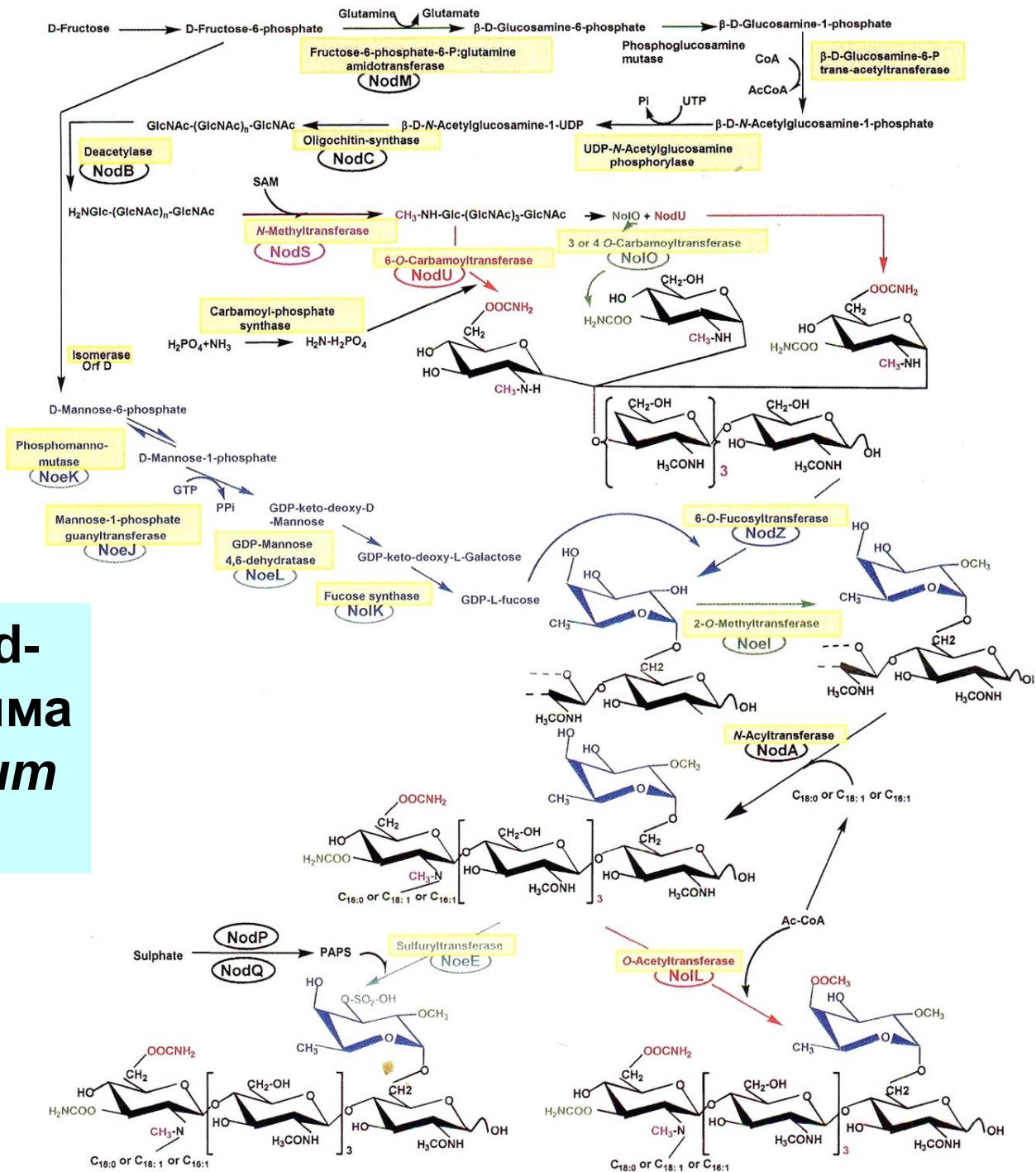
C18:4
 (ризобии вики,
 гороха)



C18:1
 (ризобии сои)

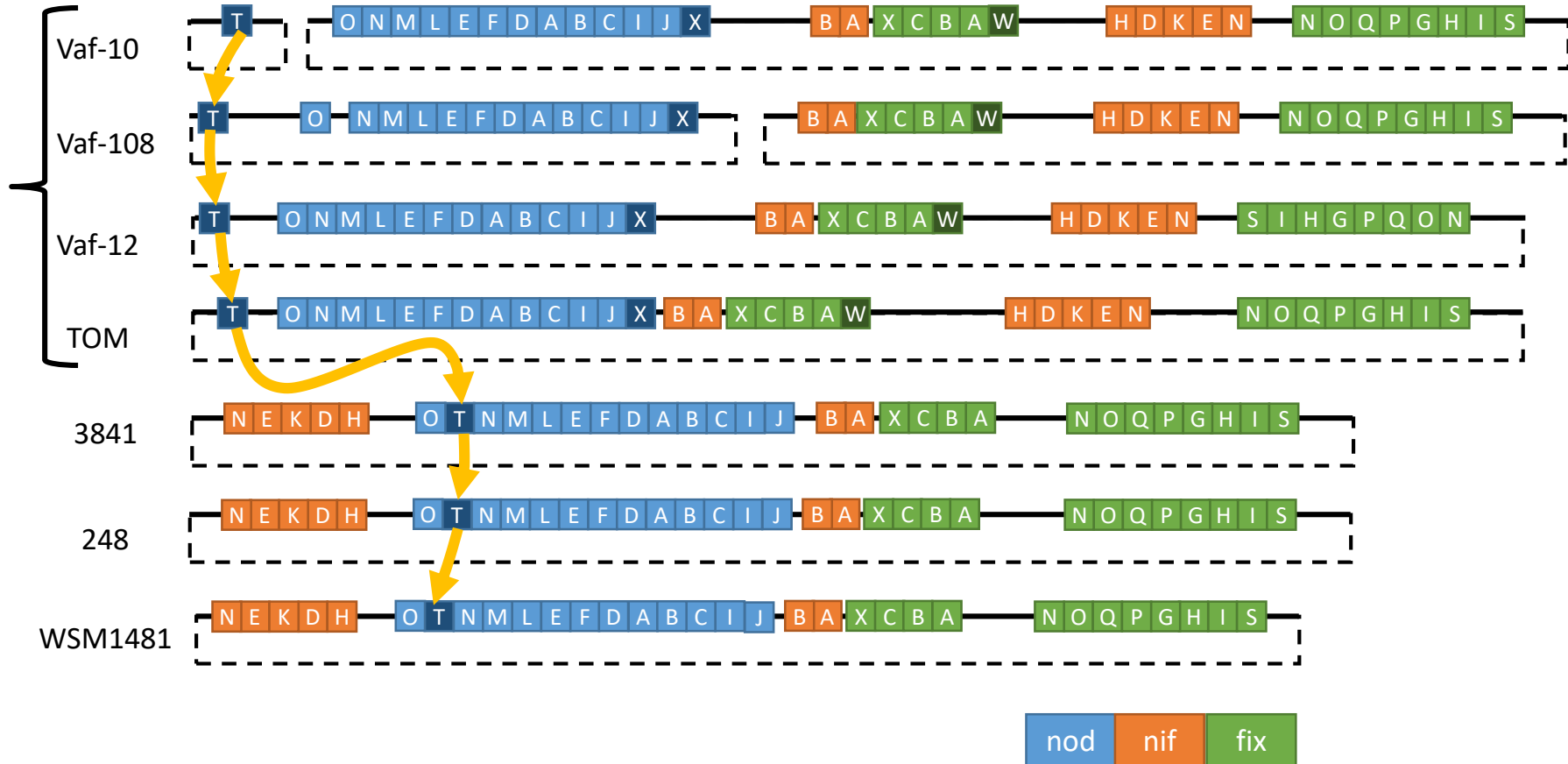
**Обобщенная
 структура Nod-
 фактора**

Метаболизм Nod-факторов у штамма NGR234 *Rhizobium* spp.



Эволюция генной системы симбиоза у *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*:
миграция гена *nodT* (Чирак с соавт., в печати)

Анцестральные штаммы



Характеристики *Sym*-кластера у различных штаммов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (Чирак с соавт.)

Штаммы	Размер (ТПН)	<i>nodT</i>	<i>nodX</i>	<i>fixW</i>
Анцестральные (<i>Vavilovia formosa</i> , дикорастущий горох)	91-115	—	+	+
Эволюционно продвинутые (культурный горох, бобы, вика)	54-59	+	—	—

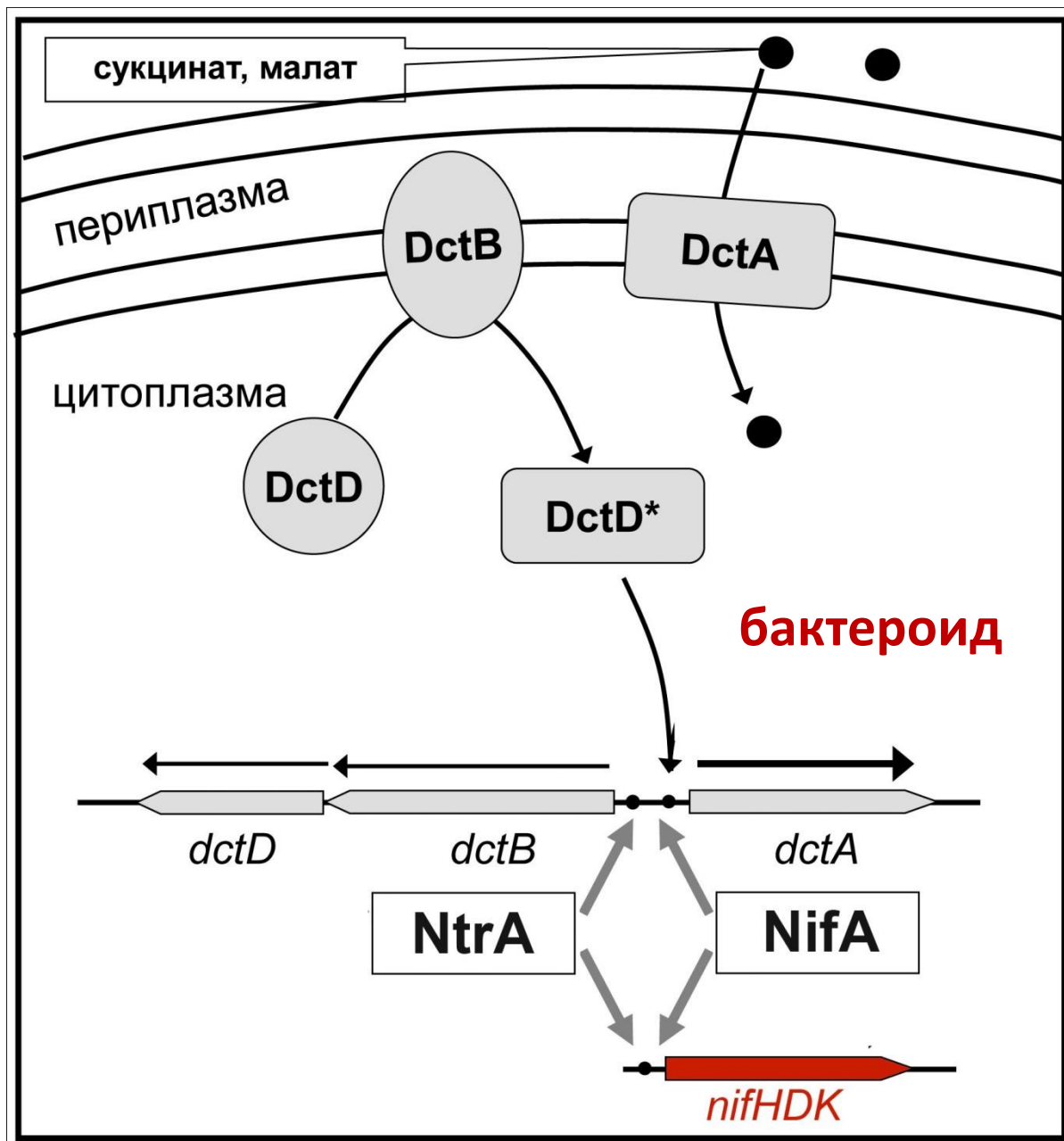
Симбиотическая инженерия: основные направления

- 1. Оптимизация существующих симбиозов
(бобово-ризобийный N_2 -фиксирующий симбиоз, защитные симбиозы)**
- 2. Воссоздание “несостоявшихся” симбиозов
(азотфиксирующие эукариоты)**
- 3. Создание новых генетических систем
(использование стратегии “минимального генома”, синтетическая биология)**

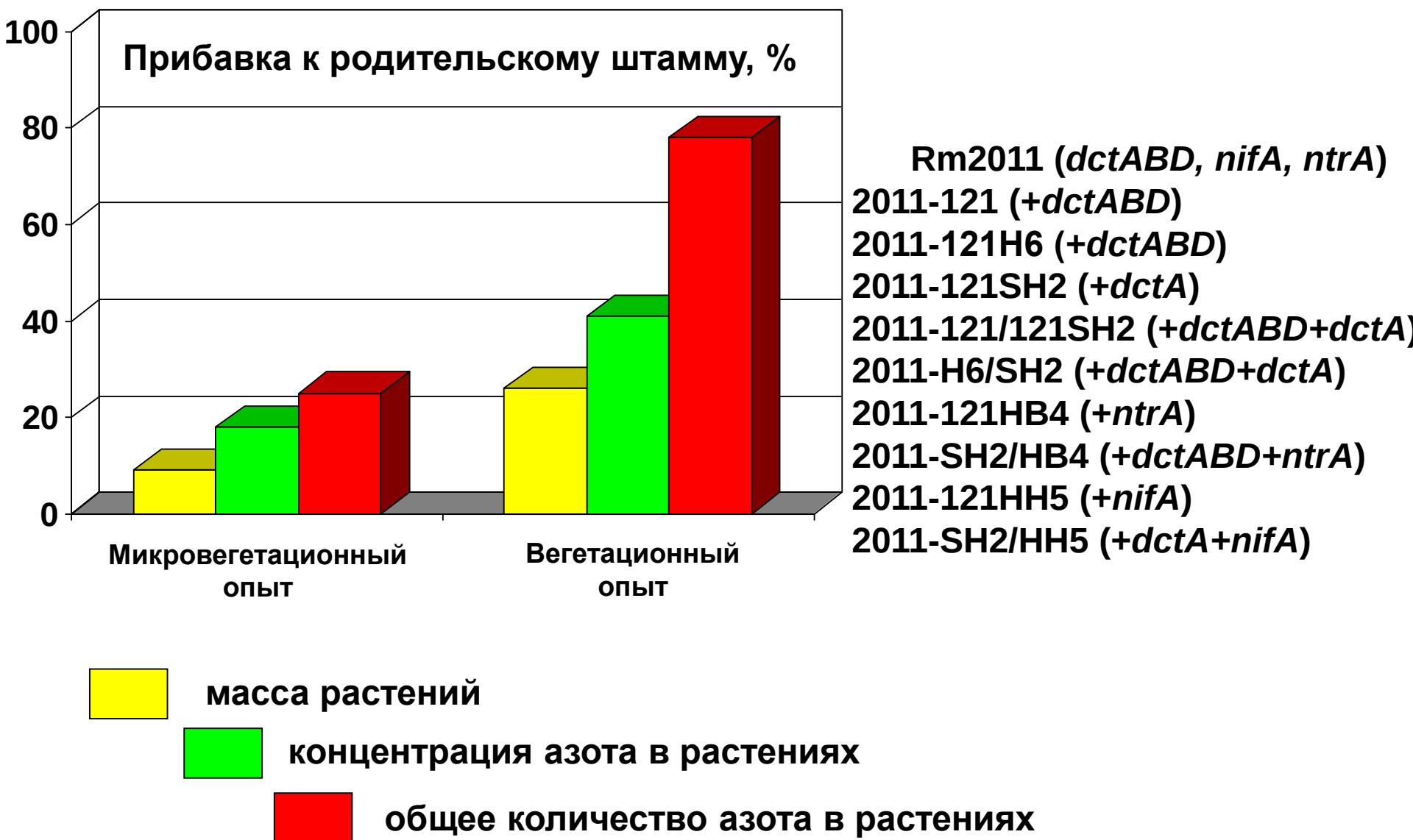
Регуляція фіксації N_2 у ризобій

dctA – сукцинат-
пермеаза

nifHDK –
нітрогеназа



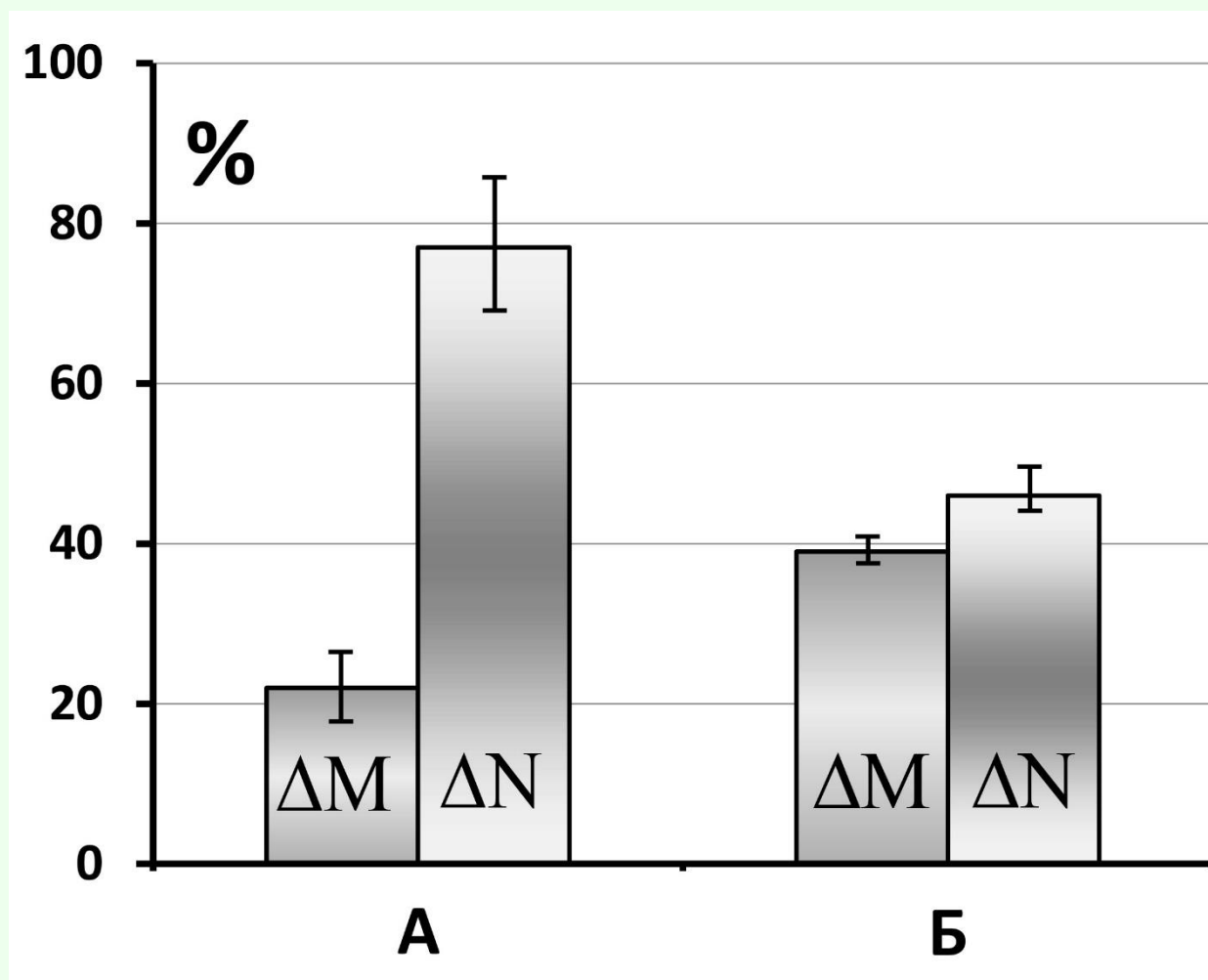
Эффективность штаммов *Sinorhizobium meliloti* с дополнительными копиями *sym*-генов



Функции генов – негативных регуляторов симбиоза

Функции	Их проявление	Механизмы повышения СЭ после утраты генов	Кодирующие гены	Виды <i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i>
Синтез запасных питательных веществ	Синтез поли-β- гидрокси- бутирата или гликогена	Полное использование продуктов фотосинтеза для нужд симбиоза	<i>phaC</i>	<i>R. etli</i>
			<i>phbA</i>	<i>S. meliloti</i>
			<i>glgA</i>	<i>R. tropici</i>
Экономное использова- ние энергии	Ограничение дыхательной активности	Улучшение энергоснабжения нитрогеназы	SMb21264, SMb21265 (<i>red7</i>)	<i>S. meliloti</i>
Устойчивость к стрессам	Синтез поверхностных полисахаридов	Уклонение от защитных реакций хозяина	<i>eglC (eff482)</i>	<i>S. meliloti</i>
			<i>rkpC</i>	<i>S. meliloti</i>

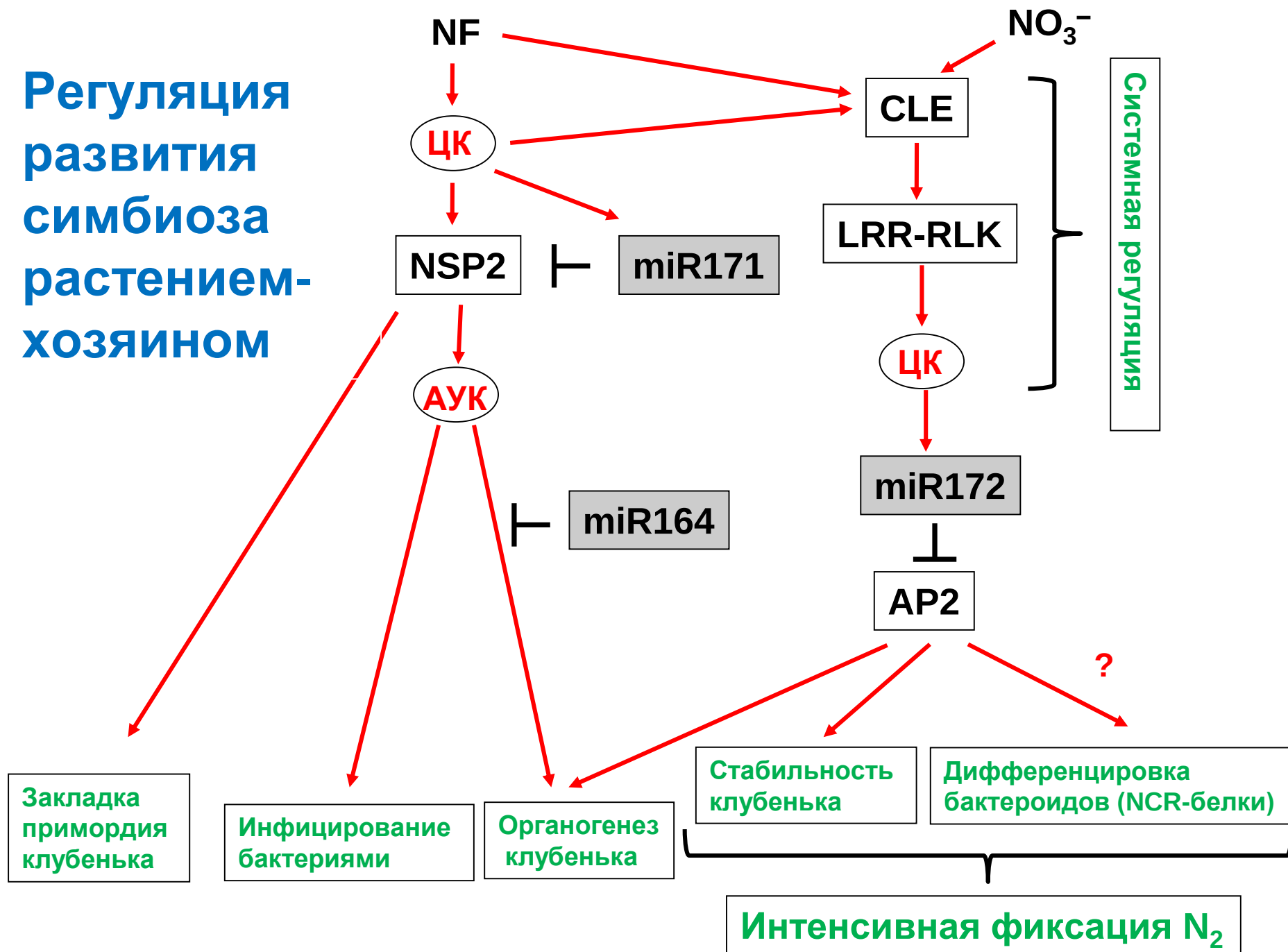
Генетические подходы к повышению эффективности клубеньковых бактерий



Амплификация
dct-генов

Инактивация негативных
регуляторов

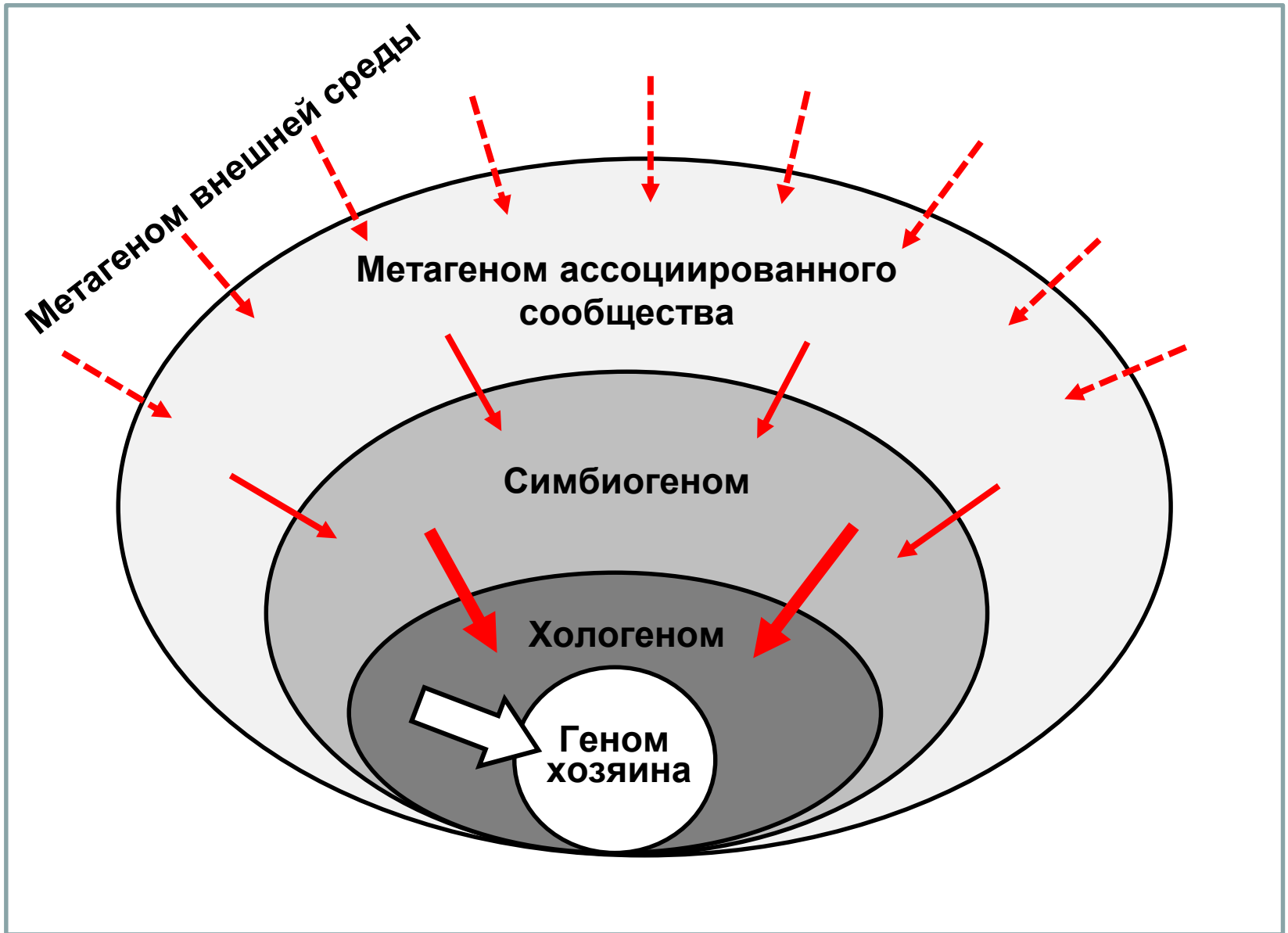
Регуляция развития симбиоза растением-хозяином



Образование малой субъединицы нитрогеназы (Fe-белка NifH) в рекомбинантных дрожжах (López-Torrejón et al., 2016)

Локализация синтеза NifH	Ко-синтезируемые белки	Нитрогеназная активность	
		$C_2H_2 \rightarrow C_2H_4$	$N_2 \rightarrow NH_3$
Митохондрии	NifM	1600±27	826±60
Митохондрии	Отсутствуют	0	0
Цитозоль (+ O ₂)	NifM	0	0
Цитозоль (– O ₂)	NifM	102±2	0
Nif-белки из <i>Azotobacter vinelandii</i>		1652±23	849±25

Надвидовые генетические системы эукариот





Спасибо за внимание!