

Plazmidy



Použitá literatura:

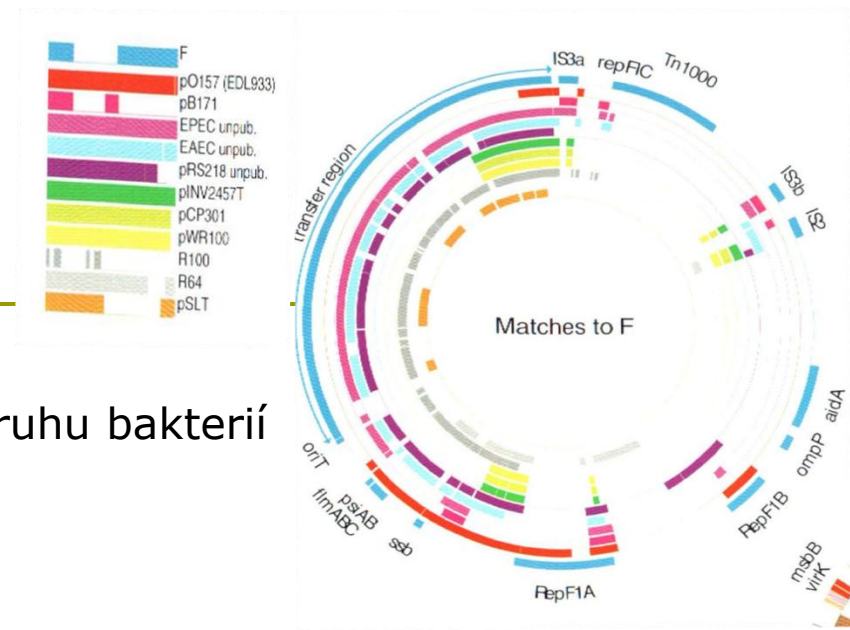
- ▣ Molecular Genetics of Bacteria, Snyder and Champness, 2nd ed. (ASM Press)
- ▣ Plasmids, Richard P Novick, New York University School of Medicine, New York, New York, USA
Frontiers in Bioscience 3, 43-62, January 1999
(<http://www.bioscience.org>)
- ▣ Bacterial Plasmids, David Summers, University of Cambridge, Cambridge, UK
ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES / & 2001 Nature Publishing Group / www.els.net
Plasmid Biology, Funnell and Gregory, ASM Press, 2004

Konjugace

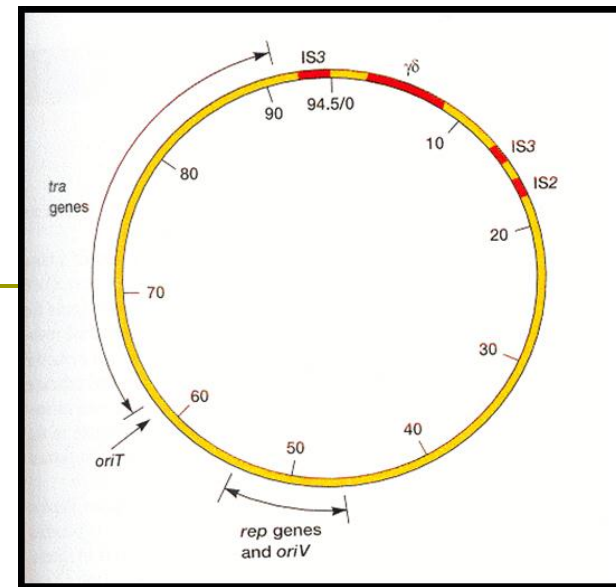
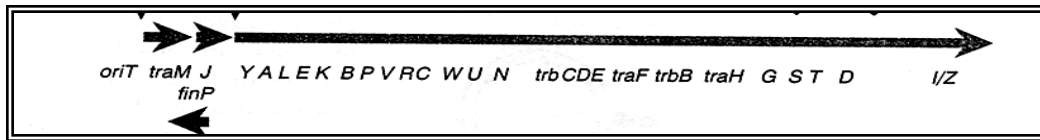
- horizontální přenos konjugativních plazmidů v rámci druhu i mezidruhově
- objeveno 1947, Joshua Lederberg a Edward L. Tatum
 - Pozorovali, že při smíchání dvou kmenů *E. coli* získali potomstvo nepodobné ani jednomu z výchozích kmenů.
- vyžaduje přímý kontakt dvou buněk
 - nukleové kyseliny zůstávají v intramolekulárním prostředí a jsou chráněny před degradací
- přenos vždy ve směru z donora obsahujícího plazmid na akceptora bez plazmidu
- transkonjuganty

Konjugace

- konjugativní plazmidy
 - existují pravděpodobně v každém druhu bakterií
- G- bakterie nejvíce studovány:
 - *Escherichia*, *Pseudomonas*
- G+
- *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*
- některé specificky jen v rámci druhu,
- jiné široký okruh hostitelů (promiskuitní plazmidy – IncW, IncP, IncN)
- přenos i do kvasinek (F plasmid) a rostlin (IncW, Ti plazmidy)
- význam v evoluci, šíření antibiotikových resistencí
- více druhů tra systémů
- vysoká korelace mezi tra systémem a kompatibilitou plazmidů



Geny potřebné ke konjugaci

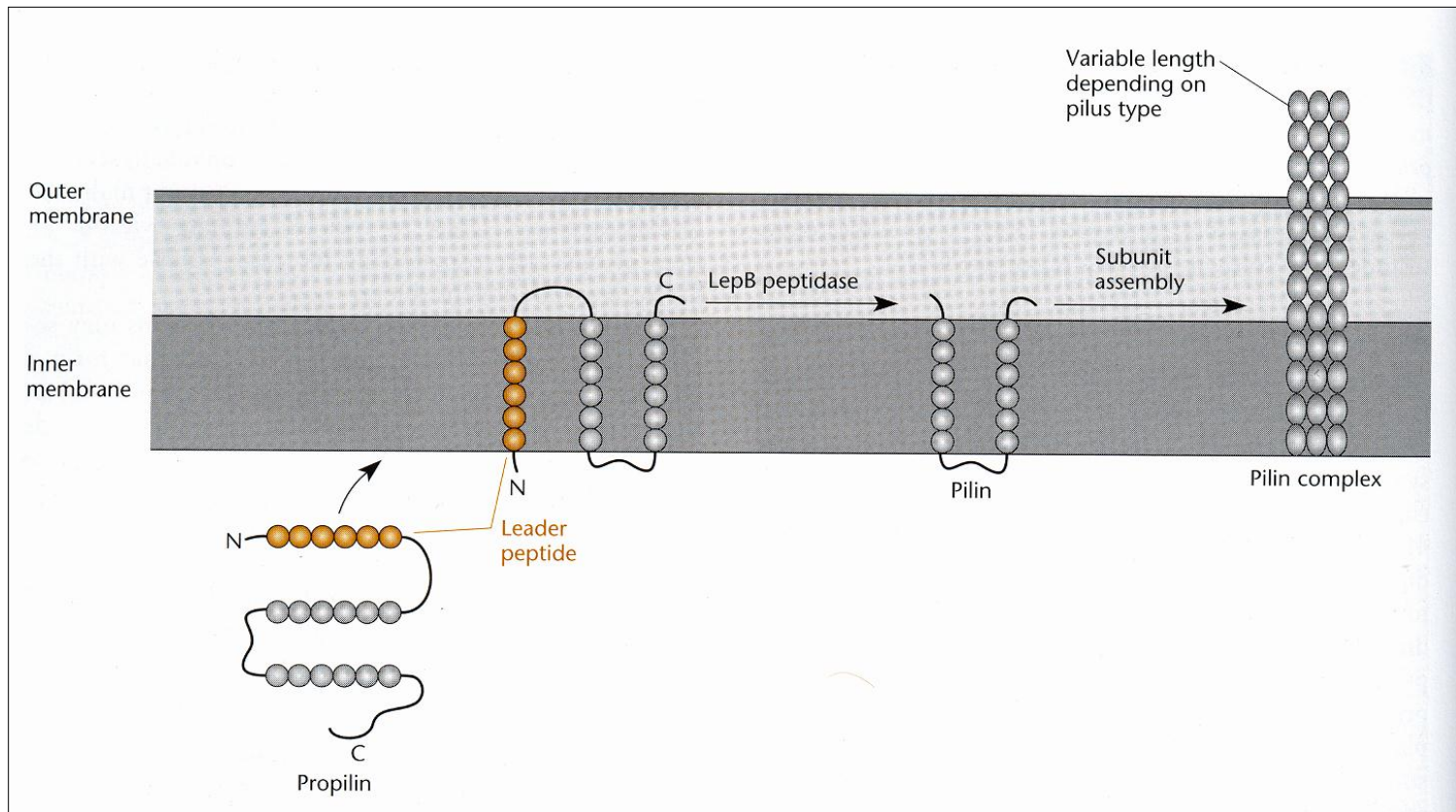


- nejvíce studováno u F plazmidů
 - 30 genů v klastru o velikosti 33-kb, označován jako *tra* lokus
 - v jiném místě než *ori V*
- komplikovaný proces vyžadující produkty mnoha genů
- většina působí *in trans*
- nezbytný *oriT*, působí *in cis* – 300bp, inverzní repetice AT bohaté
- Rozdělení
 - **Mpf** komponenty (mating-pair formation)
 - **Dtr** komponenty – (Dna transfer and replication)

Geny potřebné ke konjugaci

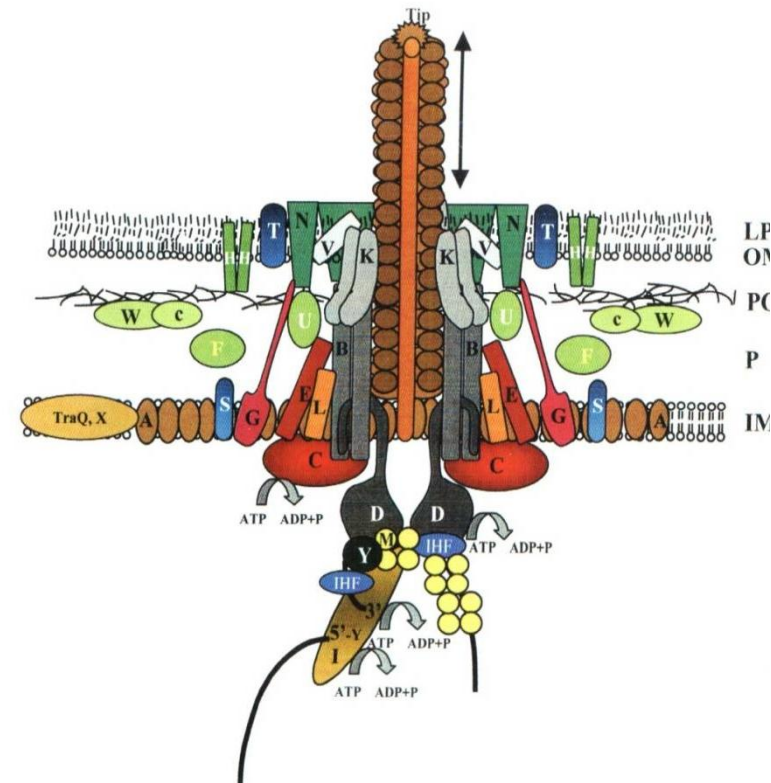
- **Mpf** komponenty (mating-pair formation) –
- pilusy - 14 genů
 - jsou nezbytné k vytvoření kontaktu mezi buňkami
 - podobné
 - systémům pro přenos virulentních proteinů patogenních bakterií (sekreční systém IV)
 - systému přenosu DNA u přirozeně kompetentních buněk
 - tvořeny mnoha kopiemi pilin proteinu - propilin
 - klasifikovány do dvou morfologických druhů (dlouhé a krátké)
 - dlouhé - jsou flexibilní, 1 μm dlouhé, u F plazmidů, zprostředkovávají kontakt jak v tekutých i pevných mediích se stejnou frekvencí
 - krátké - jsou rigidní, 0,1 μm , kódované plazmidy skupiny IncN, P a W, jsou mnohonásobně účinnější při vytváření kontaktu na pevných mediích
 - některé plazmidy kodují oba typy pilusů - IncI_{1,2,5}, B, K a Z

Vytvoření pilusu



Transfer apparatus

- Model celého transferového modulu u F pilusu
 - Retraktilní pilus
 - na konci – pilus tip – kontakt buněk, receptor pro fágy
 - po spojení buněk se pilus „zatáhne“ a vytvoří se úzký kontakt obou buněk
 - receptor na recipientu – neznámé
 - imunita proti přenosu do buňky s plazmidem
 - 1-5 pilusů na buňku
 - vytvoření póru, párové proteiny (coupling proteins)
 - zajišťují specifitu transportu proteinů
 - aktivace iniciace přenosu

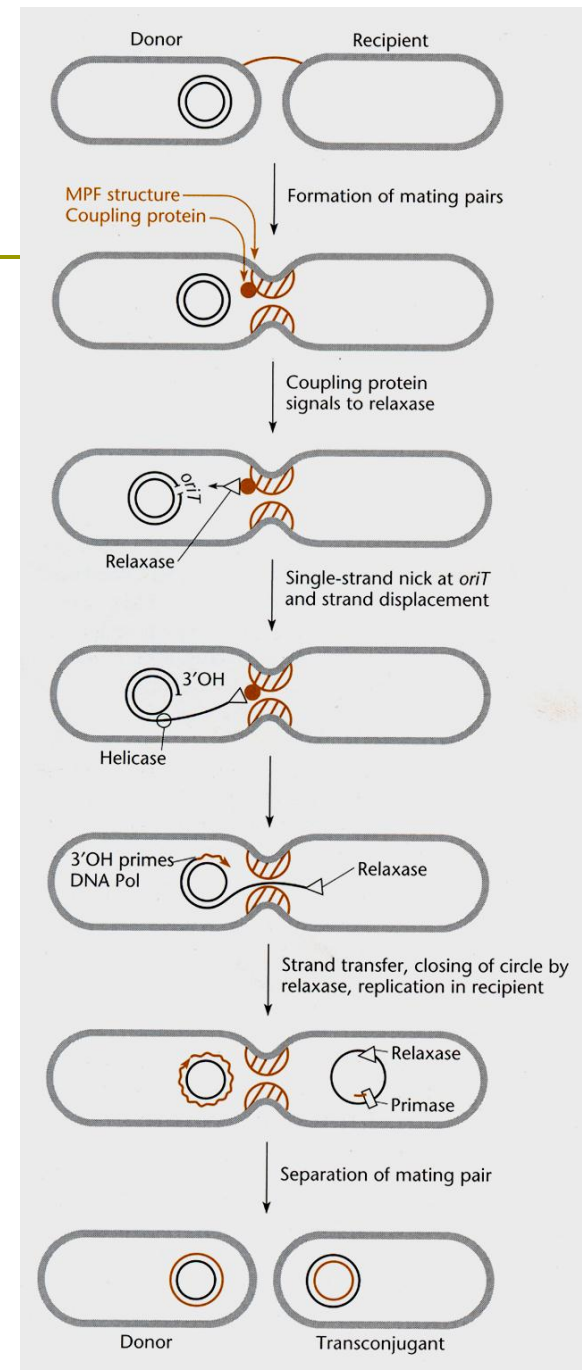


Geny potřebné ke konjugaci

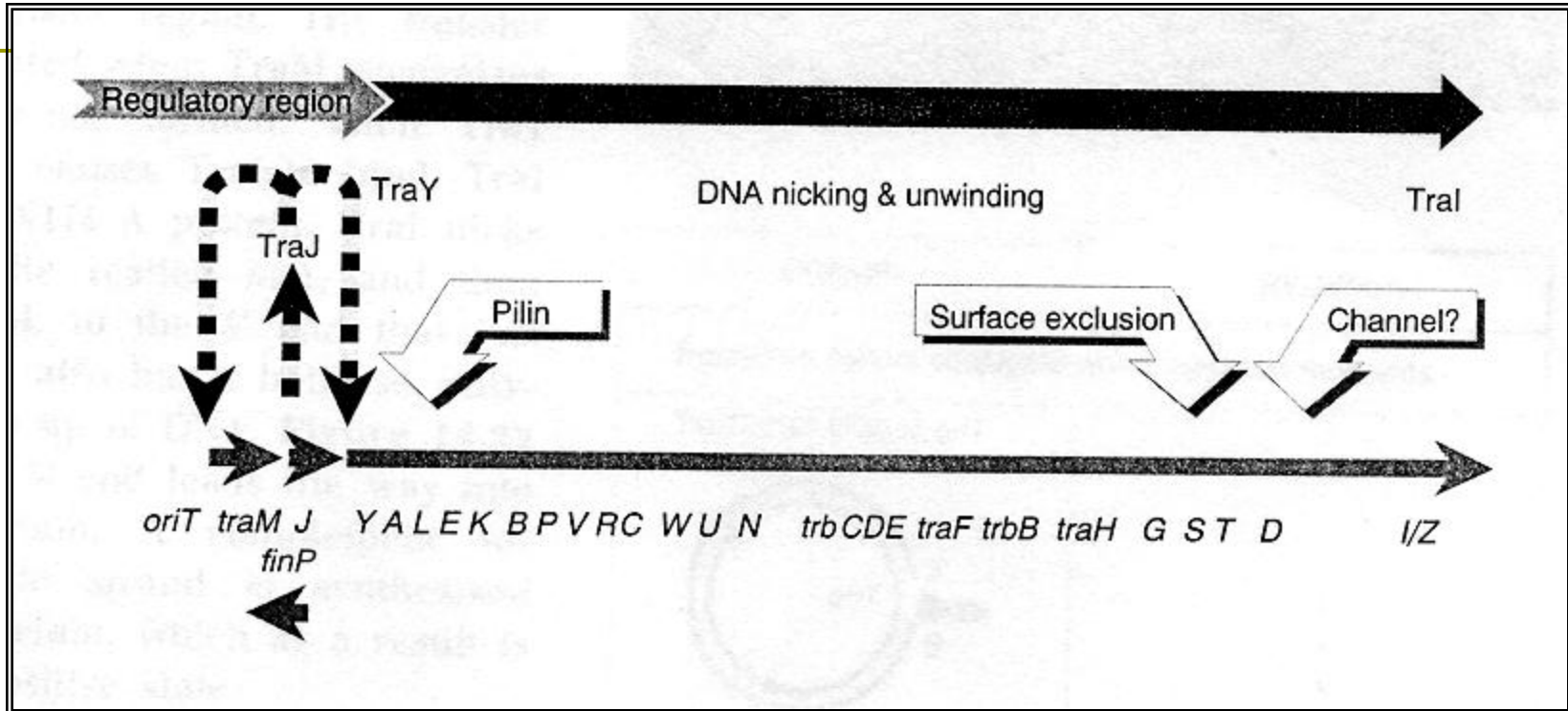
- **Dtr** komponenty – (Dna transfer and replication)
- relaxasa – specifická DNA endonukleasa, TraJ
 - iniciace přenosu DNA
 - je zahájena jednovláknovým štěpem DNA v *oriT* v místě *nic*
 - analogie s rep proteinem – transesterifikace na tyrosin
 - je přenášena do recipienta
 - recyklizuje DNA po přenosu
 - přenos jednoho vlákna mechanismem valivé kružnice do recipienta skrz membránový pór za současné replikace
- relaxosome – další proteiny účastníci se iniciace a přenosu DNA
 - funkce zatím ne zcela objasněna – (např. helikasy)
- primasa – potřebná k zahájení replikace druhého vlákna
 - přenášena z donora do recipienta – zvyšuje nezávislost plazmidu na recipientovi
 - promiskuitní plazmidy se přenášejí a replikují ve velmi vzdálených druzích i do eukaryot
- geny potřebné ke konjugativnímu přenosu jsou normálně reprimovány
 - k dereprivaci dochází
 - když se plazmid ocitne v nové buňce
 - zvyšuje se tak pravděpodobnost přenosu do další prázdné buňky
 - způsobuje až epidemické šíření mezi buňkami bez plazmidů v populaci

Schema mechanismu konjugativního přenosu

- relaxasa (TraY/J) štěpí DNA v *oriT*
- multimer helikasy migruje okolo kruhu a rozplétá DNA
- jedno vlákno prochází skrz por do recipienta 5' koncem
- komplementární vlákno je syntetizováno aparátem recipienta - pouze primasa je z donora
- stříh v donorové DNA je uzavřena
- recipientní DNA je ligací uzavřena do kruhu



Struktura *tra* lokusu F plazmidu



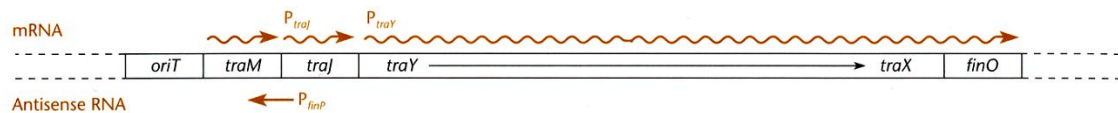
- tra A* produkt - pilin - podjednotkový protein pilusu
- traS* a *traT* - signál na membráně v případě F⁺
- (F - pili tvoří receptorová místa pro některé RNA bakteriofágy (F⁻ jsou resistentní))
- traD* - nezbytný pro transport DNA
- traM* - zodpovědný za rozeznání, vytvoření spojení a zahájení přenosu DNA
- TraY - váže se v blízkosti *oriT* a napomáhá navázání TraJ
- TraJ - štěpí jednovláknovou DNA v *oriT* v specifickém místě *nic* a váže se na 5' konec

Regulace tra genů

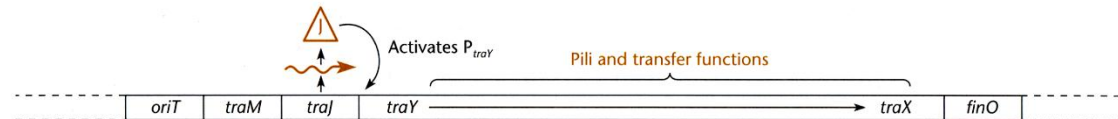
Nejvíce studovaná u F plasmidu

- ❑ TraJ transkripční aktivátor – pokud je syntetizován jsou syntetizovány ostatní geny plasmidu
- ❑ je blokován produkty genů plasmidu *finP* a *finO*
 - produkt *finP* antisense RNA konstitutivně syntetizována – komplementární k začátku *traJ*
 - produkt *finO* protein, který stabilizuje FinP antisense RNA

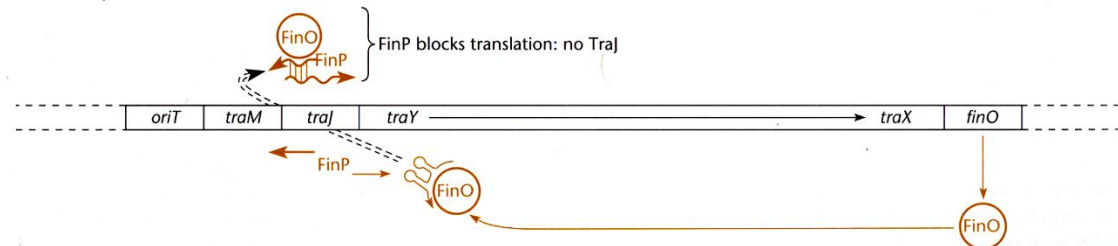
A Genetic organization of *tra* region



B Immediately after entry into cell



C After plasmid establishment

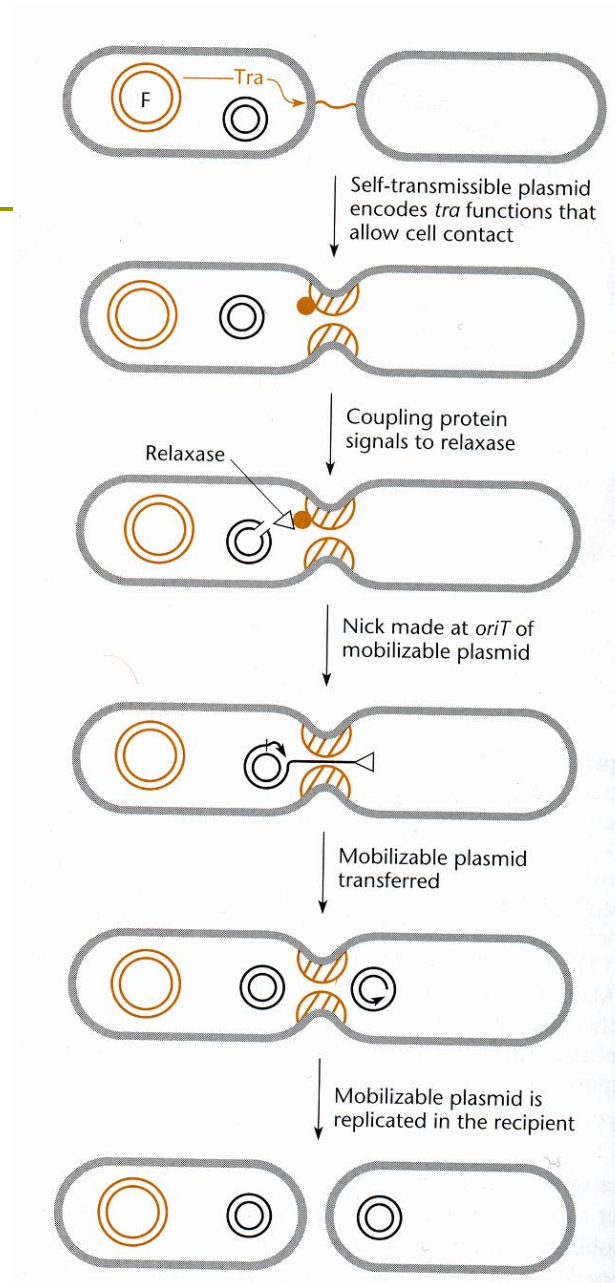


Mobilizace plazmidů

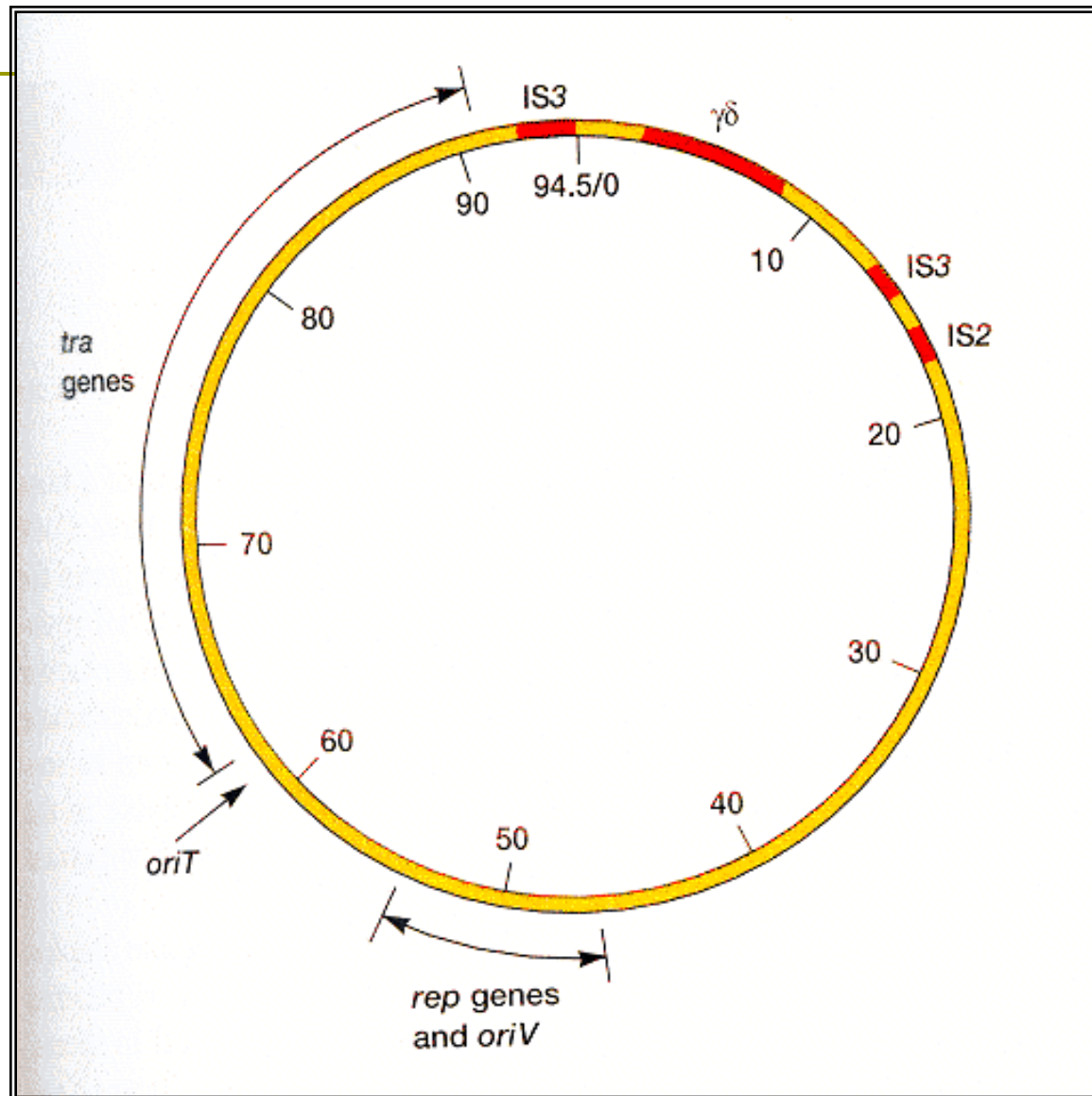
- Mobilizace je proces, který může nastat u malých plazmidů,
 - které mají oriT, ale nemají tra geny (např. ColE1 plazmidy E. coli, RSF1010)
- konjugativní plazmidy zprostředkují kontakt z druhou buňkou
- malé plazmidy se přenesou pomocí svého oriT a funkcí dodané konjugativním plazmidem in trans vytvořeným pórem

- přirozeně izolované obsahují i Dtr systém –
 - relaxasa, helikasa – *mob* region – vlastní iniciace ve vlastním oriT
 - Mpf systém konjugativního plazmidu rozeznává i Dtr systém mobilizovatelného plazmidu
 - relaxasa mobilizovatelných plazmidů je rozezávána širším spektrem Mpf systémů než u konjugativních plazmidů
 - rozšíření spektra hostitelů,
- využití v genetice pro přenos rekombinantních plazmidů
 - zúžení na plazmidy se stejným oriT
 - vnášení transposonů při mutagenезi

Schema mobilizace plazmidů

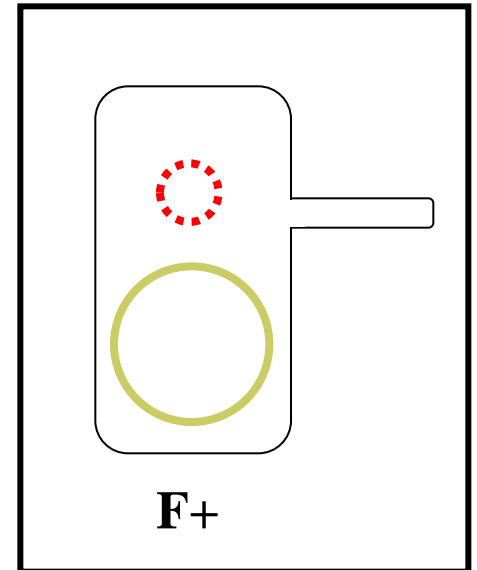


F plasmid



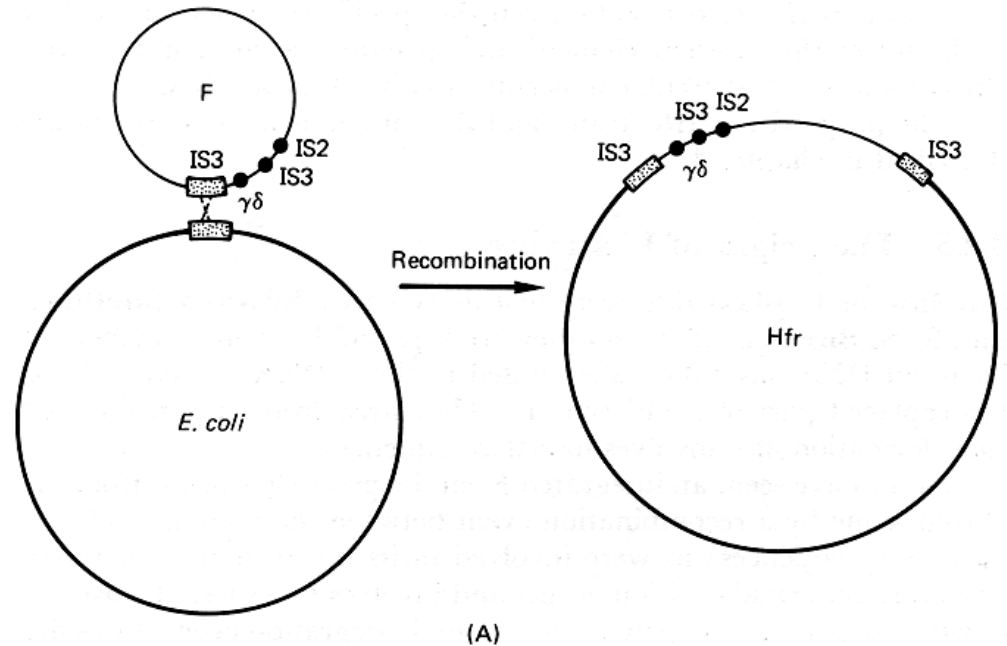
Fyziologické stavy F plazmidu

- Autonomní (F^+)
 - Charakteristika F^+ x F^- přenosu
 - F^- se stane F^+ a F^+ zůstane F^+
 - žádný přenos chromosomální DNA

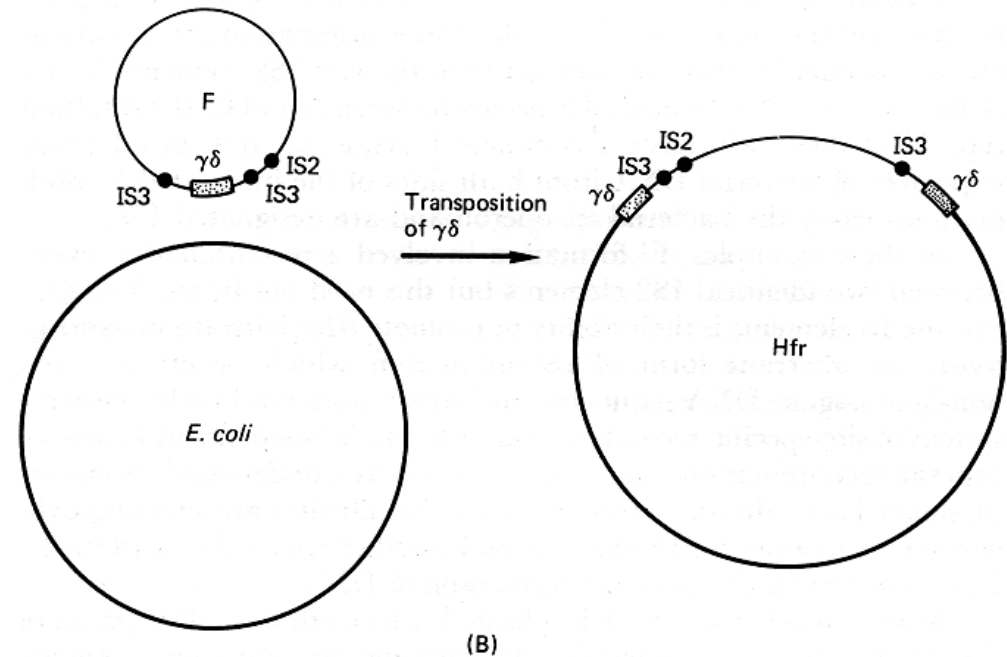
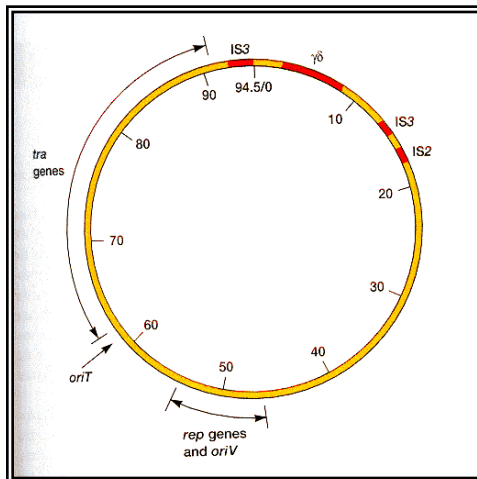


Vznik Hfr kmene

A) rekombinací mezi dvěma inserčními elementy

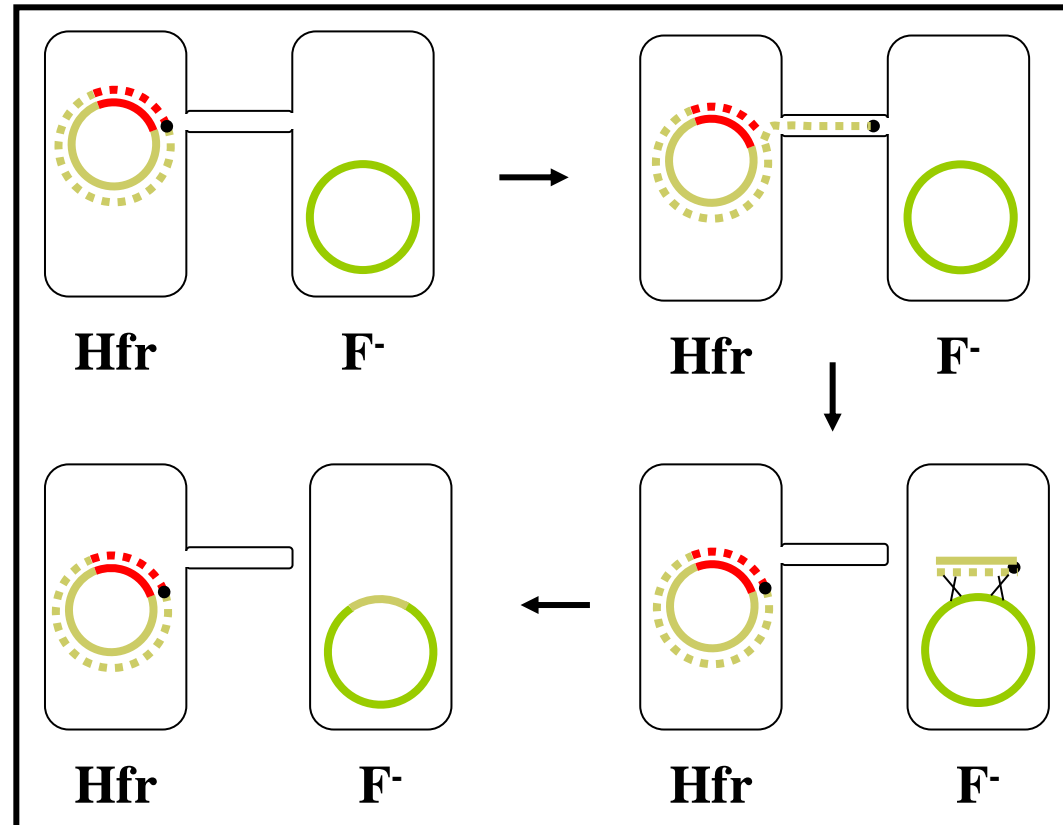


B) transpozicí Tn1000($\gamma\delta$) transposonu



Mechanismus Hfr x F⁻ přenosu

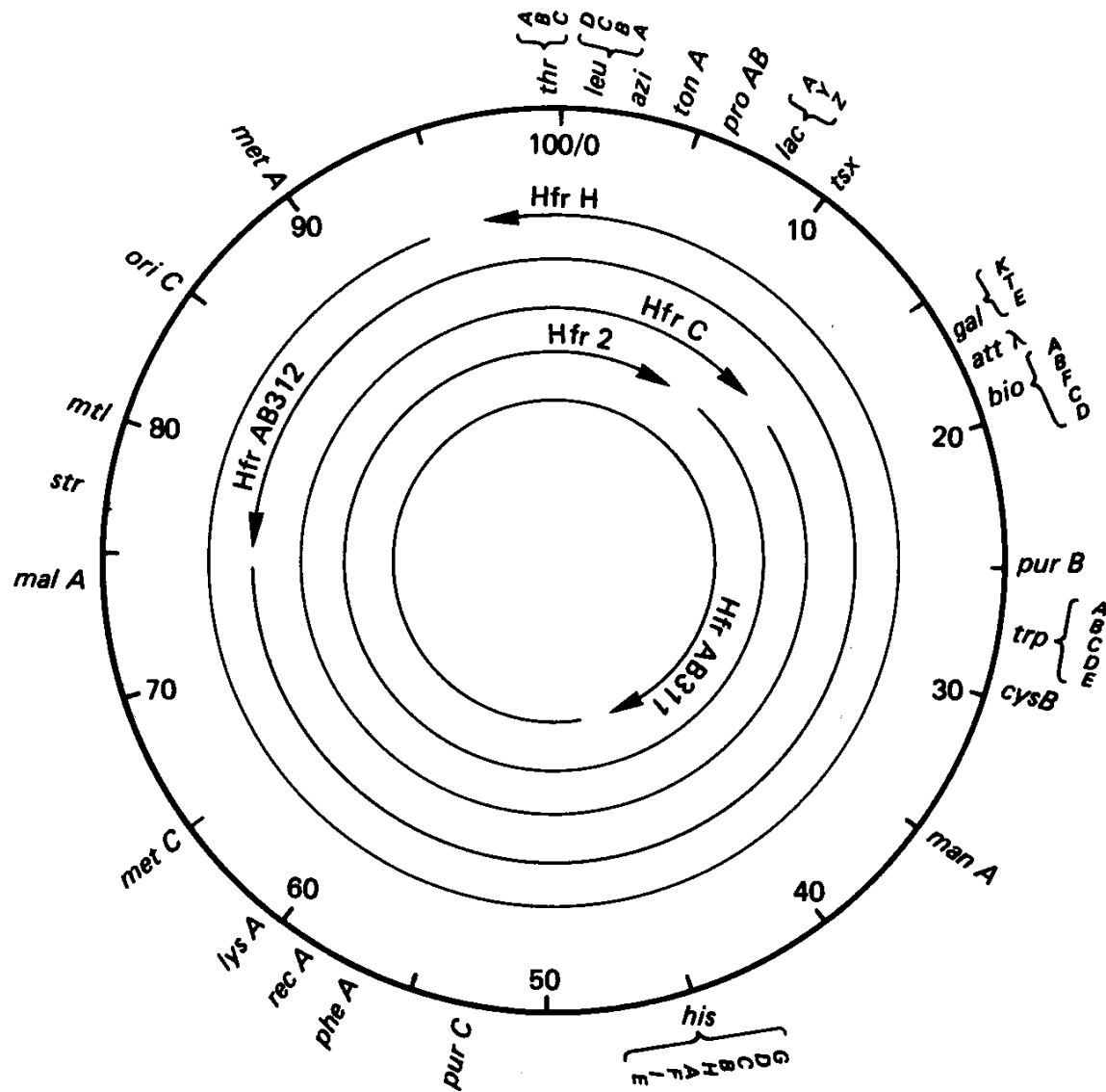
- vytvoření pilusu a spojení buněk (konjugativní most)
- přenos DNA
 - rozštěpení jednoho vlákna (v ori T)
 - začátek přenosu DNA mechanismem valivé kružnice (vždy i část F plazmidu)
- přerušení konjugativního mostu
 - přerušení přenosu (vždy jen část chDNA)
 - integrace homologní části přenesené donorové chDNA do chromosomu recipienta



Přenos chromosomu při konjugaci

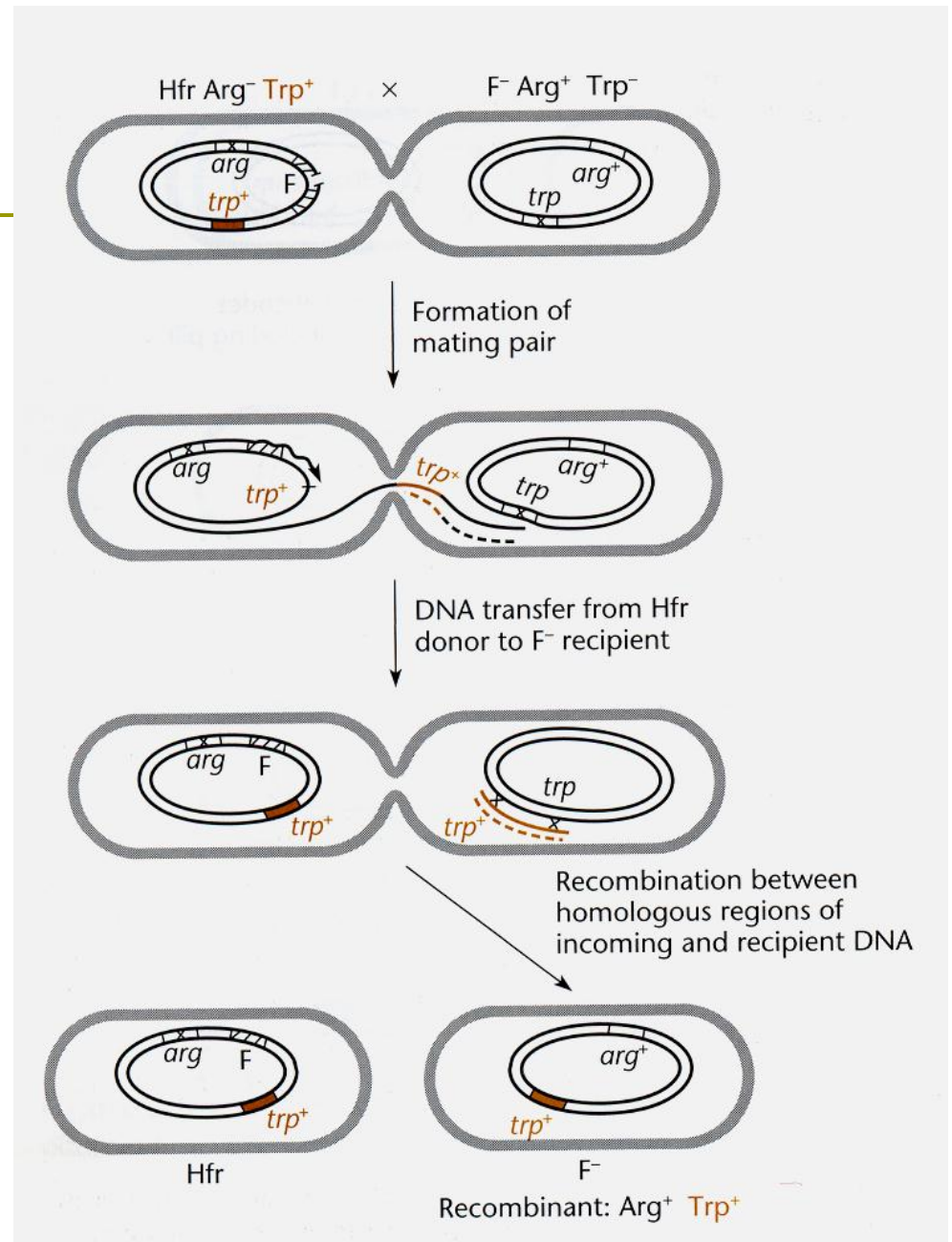
- při přenosu se první přenáší geny F plazmidu nejbližší volnému 5' - konci rozštěpeného vlákna za *oriT* ve směru přenosu
- *tra* endonukleasa štípe v daném Hfr kmeni vždy na stejném místě na stejném vlákně F plazmidu
- daný Hfr kmen přenáší vždy stejné vlákno DNA
- tento jednosměrný přenos u *E. coli* trvá 100 min (oproti 30-40 min při vegetativní replikaci)
- vlákno Hfr kmene je přenášeno jednotnou rychlostí 38 kb za minutu
- nepodaří se přenést celé vlákno - spojení buněk se dříve přeruší vlivem pohybu vnějšího prostředí
- důsledek přerušování spojení buněk je dvojí
 - nikdy se nepodaří přenést celý chromosom pouze marker blízko *oriT* (proximální)
 - čím dál je marker od *oriT*, tím s menší frekvencí se přenáší
- Využití při genetickém mapování

Mapa Hfr kmenů u *E. coli*



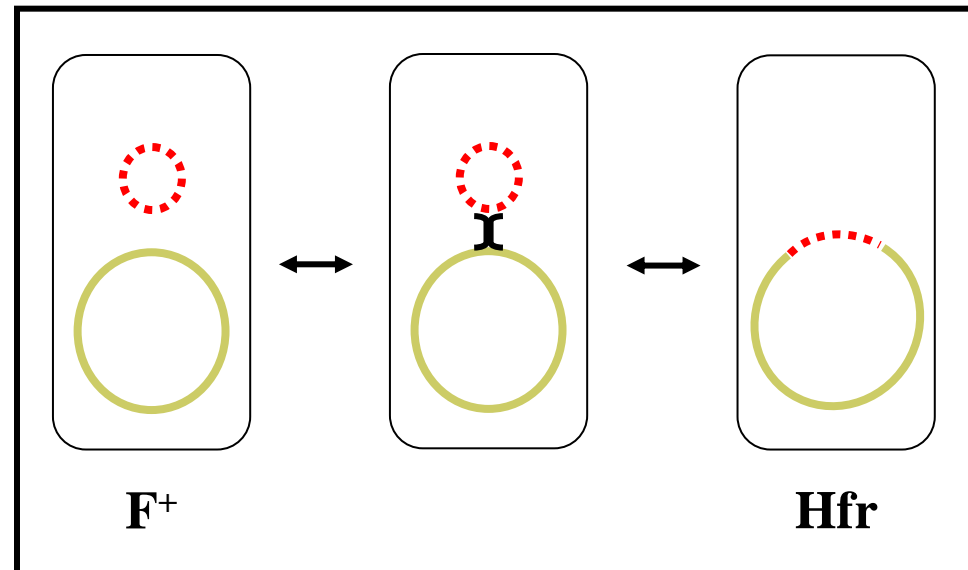
Hfr přenos

vznik rekombinant po Hfr přenosu

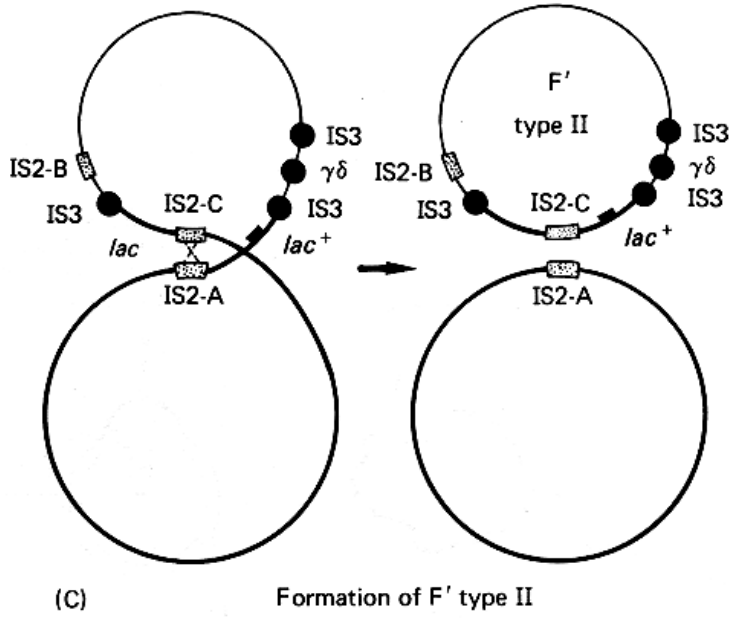
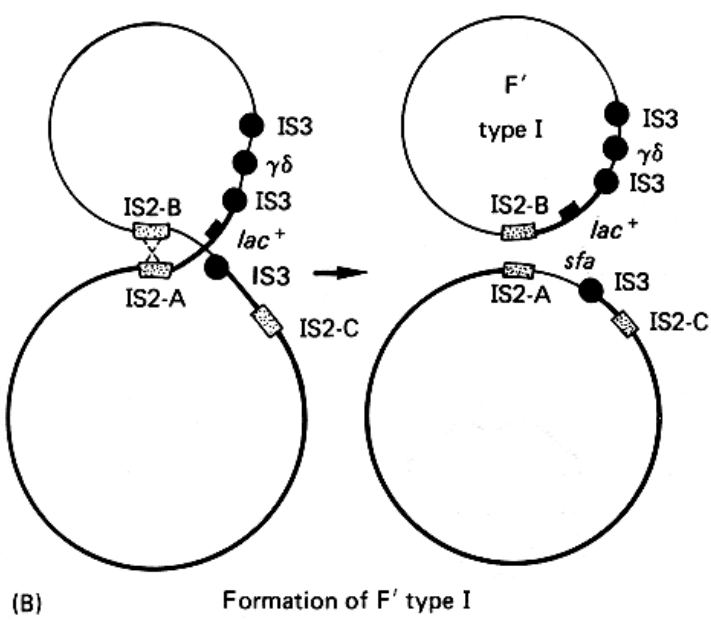
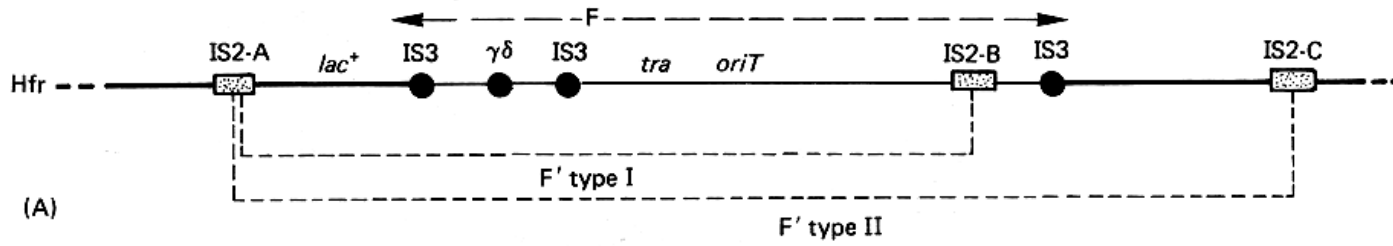
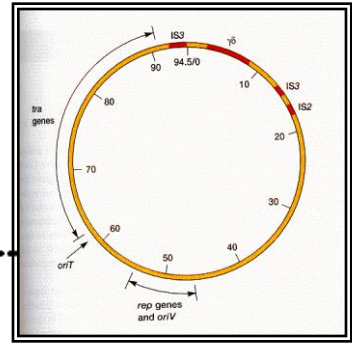


Fyziologické stavy F plazmidu

- Integrovaný do chDNA (Hfr)
 - integrace prostřednictvím Tn1000, specifická místa (Hayes)
 - Charakteristika Hfr x F⁻ přenosu
 - F⁻ se nemůže stát Hfr
 - Hfr zůstává Hfr
 - dochází k přenosu určité části chDNA



Vznik F' plazmidu

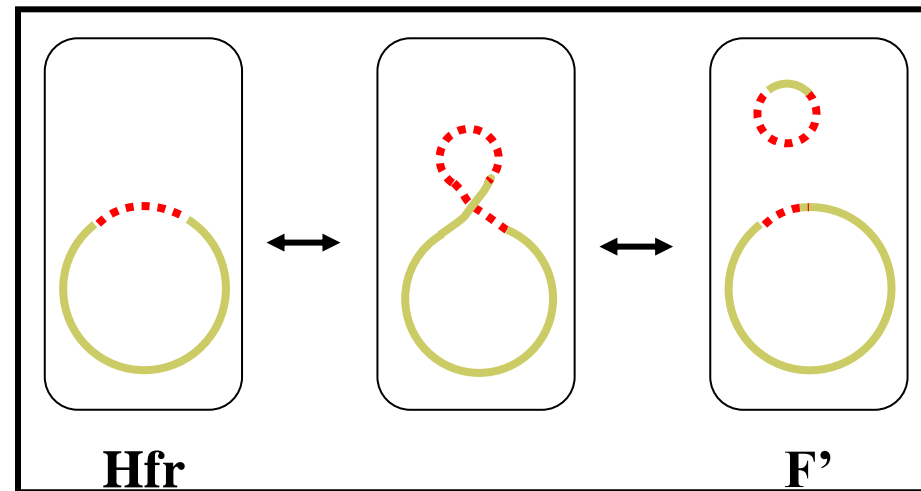


Bacterial DNA
 F DNA
 IS2
 IS3 and $\gamma\delta$

Plazmidy vznikají rekombinací mezi dvěma homologními IS :
 Typ I: část plazmidové nahrazena chDNA
 Typ II: kompletní plazmid F s částí chDNA

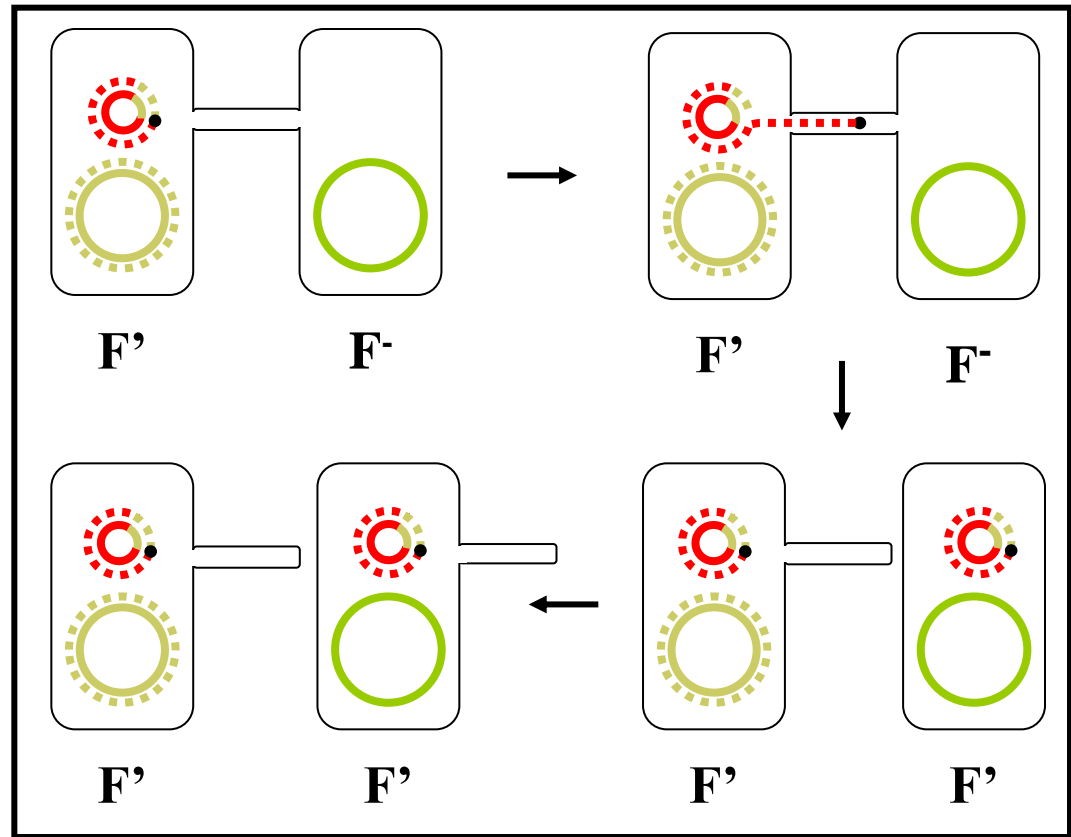
Fyziologické stavy F plazmidu

- Autonomní s donorovými geny (F')
 - zpětným vyčleněním do autonomního plazmidu může dojít k nepřesnému vyštěpení a integraci donorové chDNA do plazmidu
 - Charakteristika F' x F⁻ crosses
 - F⁻ se může stát F'
 - F' zůstává F'
 - dochází k přenosu donorových genů na F' plazmidu
 - nedochází k přenosu ostatních chDNA genů



Mechanismus $F' \times F^-$ přenosu

- vytvoření pilusu a spojení buněk (konjugativní most)
- přenos DNA
 - rozštěpení jednoho vlákna
 - začátek přenosu DNA mechanismem valivé kružnice



Konjugace u G+ bakterií

- Objevena v 1970 a začátek 80. let
 - Streptomyces, Enterococcus
 - Podobnost s F-like plazmidy – chybí evidence kontaktu přes pillus
 - Specifické proteinové adhesiny – kontakt buněk, ale ne transport DNA
 - Různá velikost – 36-100 kb, široké hostitelské rozhraní
 - Plazmidy u Enterococců – odpověď na feromony –
 - recipient bez plazmidu
 - Mobilizace plazmidů i chromozomu
 - Konjugativní transpozony – mohou mobilizovat plazmidy - Enterococcus
- Konjugativní plazmidy –
 - Enterococcus, Streptococcus, Staphylococcus, Lactococcus, Clostridium, Streptomyces, Rhodococcus
 - Atb rezistence
 - RCR replikace
- Mobilizovatelné plazmidy
 - Listeria, Bacillus,

Konjugativní plazmidy G⁺ bakterií

□ ***Staphylococcus***

- konjugativní plazmidy kodují antibiotickou rezistenci
- transferové funkce pouze třetina plazmidu - indikuje jednodušší mechanismus než u F plazmidu (hlavně v Mpf části)
- mohou přijímat konjugativní plazmidy od enterococů

□ ***Enterococcus***

- feromony produkované recipientními buňkami
- hydrofobní polypeptidy (7-8 aa), u recipientů nejméně 5 druhů
- indukují u donorů syntézu adhesinů, které usnadňují shlukování buněk a tím i konjugaci
- indukce též *tra* genů

□ ***Streptomyces***

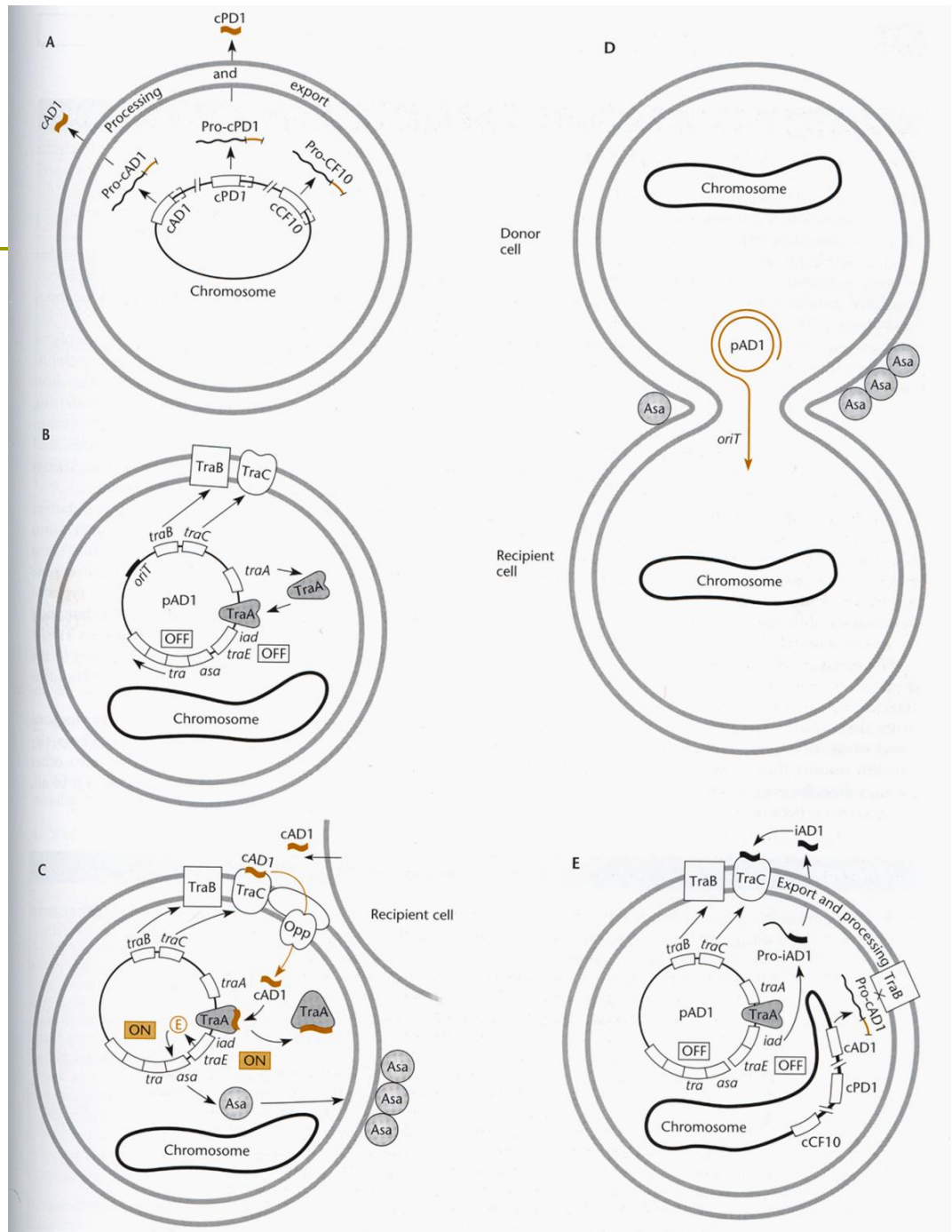
- konjugativní plazmidy mají geny, které zprostředkovávají přenos, ale i podporují mobilizaci chromosomální DNA a nekonjugativních plazmidů
- vytvářejí charakteristické útvary na povrchu kolonií buněk tzv. „pock“ (vyrážka), buňky s plazmidy rostou pomaleji

Mechanismus působení feromonů

E. faecalis -

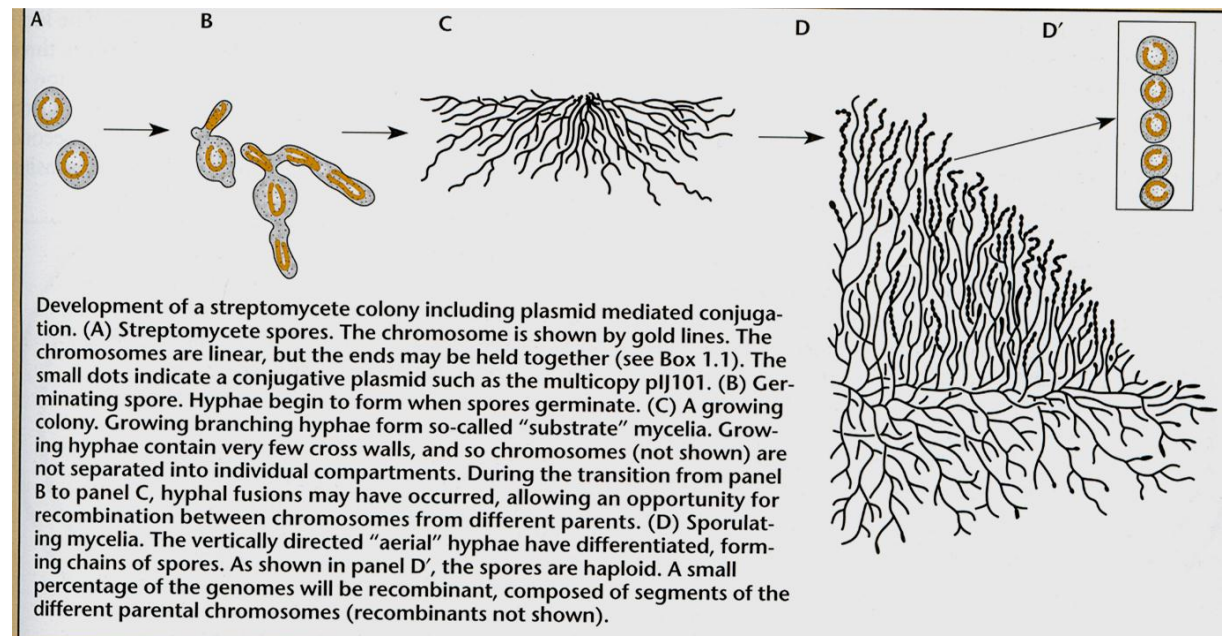
- mnoho druhů konjugativních plazmidů
- *tra* geny a agregační geny
- virulence a rezistence k antibiotikům
- kodují specifické proteiny přitahující feromony (oligopeptid permeasy)
 - povrchy buněk obsahující plazmid mají na povrchu tyto signální proteiny
 - každý plazmid koduje jeden protein specifický pro jeden feromon
 - feromon je pojmenován po plazmidu, který přitahuje (pAD1, TraC, cAD1)
- geny pro peptidové feromony jsou lokalizovány na chromosomu a jsou vystřihovány ze signálních peptidů normálních buněčných lipoproteinů
 - poté co je lipoprotein umístěn v membráně je proteolyticky odstraněno 7-8 aa z C konce tím je peptid exkretován z buňky
 - každá buňka je schopná produkovat mnoho různých feromonů a působit na mnoho plazmidů
 - pouze buňky neobsahující plazmid
- mechanismus působení feromonů
 - indukují plazmidové *tra* geny a agregační geny

Mechanismus působení feromonů



Konjugativní plazmidy *Streptomycet*

- morfologie streptomycet a životní cyklus umožňují kontakt mezi buňkami bez plazmidově kodovaných genů -
 - hyfální růst
 - diference - spory - germinace spor - substrátové mycelium - vzdušné mycelium - vzdušné spory (haploidní)
- v substrátovém myceliu nejsou chromosomy separovány do různých kompartmentů - dochází k fúzi hyf - přenos plazmidů
- Dva typy přenosu
 - Intermyceliální
 - Intramyceliální



Konjugativní plazmidy *Streptomyces*

- konjugativní plazmid pIJ101 – inter i intra
 - *inter*
 - *tra* geny (podobné proteinům podílejících se na separaci DNA u *E.coli* i *B. subtilis* - relaxasy, obsahuje místo podobné *oriT* ostatních plazmidů)
 - přesná funkce neznámá - přenos DNA mezi fúzovanými hyfami
 - *intra*
 - *spd* geny - přenos mezi hyfami - funkce neznámá, podobnost s *SpoOIII* u *B. subtilis* a *FtsK* u *E. coli*- dsDNA přenos
 - efektivnost přenosu je velmi efektivní, inkorporují se do spor – pock zones
 - konjugativní plazmidy obsahují části chromosomu
 - hostitelsky širokospektrý plazmid
- SCP1 - lineární plazmid - *Streptomyces coelicolor*
 - 350 kb
 - koduje syntézu antibiotika a rezistenci k němu (methylenomycin)
 - usnadňuje rekombinaci mezi dvěma kmeny jej obsahující
- Mnoho dalších kryptických plazmidů, jejichž funkce není známa

Plazmidy

Lineární plazmidy

- poprvé objeveny u *Streptomyces rochei* v roce 1979
- doposud u *Agrobacterium*, *Borrelia*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Thiobacillus*
- velikost od 9 do stovek kb
- nesou některé esenciální geny (povrchové proteiny apod.)
- obsahují terminální inverzní repetice rozdílných délek a mají strukturu telomer (podobné u některých bakteriofágů)
 - replikace lineárního chromosomu - 5' konec, zabránění ztráty části plazmidu při replikaci)
- začátek replikace uvnitř plazmidu, replikace dvousměrná
- replikace a proces rozdělování je přísně regulován během dělení buněk, vždy nízkokopiové

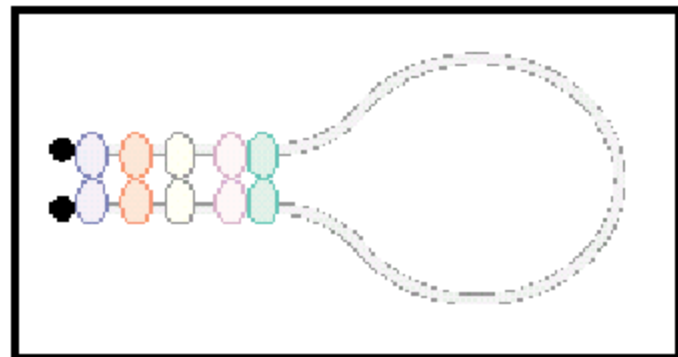
Bakteriální plazmidy

□ konce plazmidů jsou k sobě navzájem složeny (racket frame)

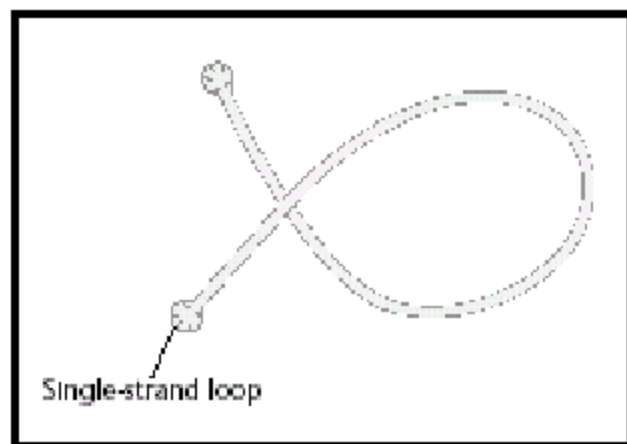
- (inverzní repetice, DNA vazající proteiny)
- konce DNA jsou chráněny proti degradaci kovalentně vázaným proteinem k 5' konci DNA

□ u *Borrelia* - 16-49 kb, lineární plazmidy, u kterých je dsDNA na koncích spojena přesnou palindromickou na AT-bohatou vlásenkovou smyčkou.

- podobnost s ostatními lineárními dsDNA replikony (viry, mitochondriální DNA z kvasinek *Pichia*)



„Racket frame“ (*Streptomyces*)



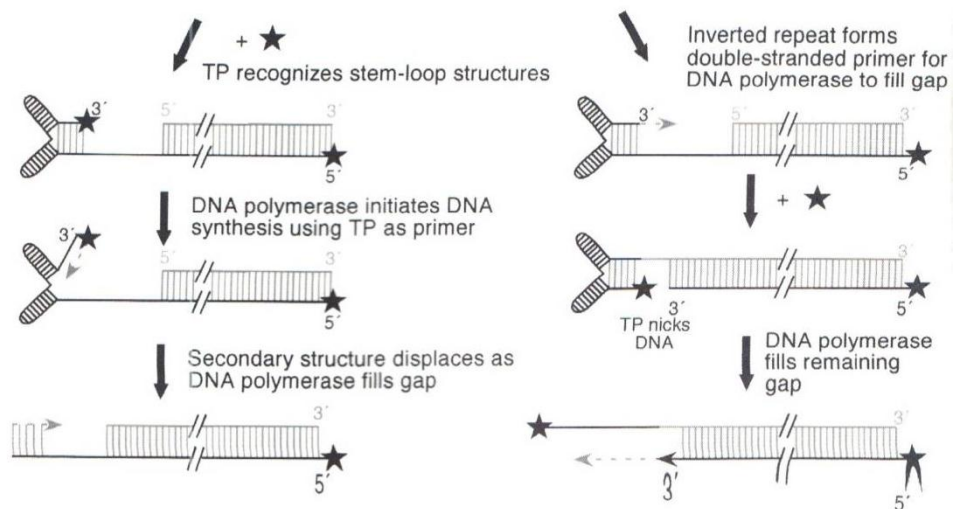
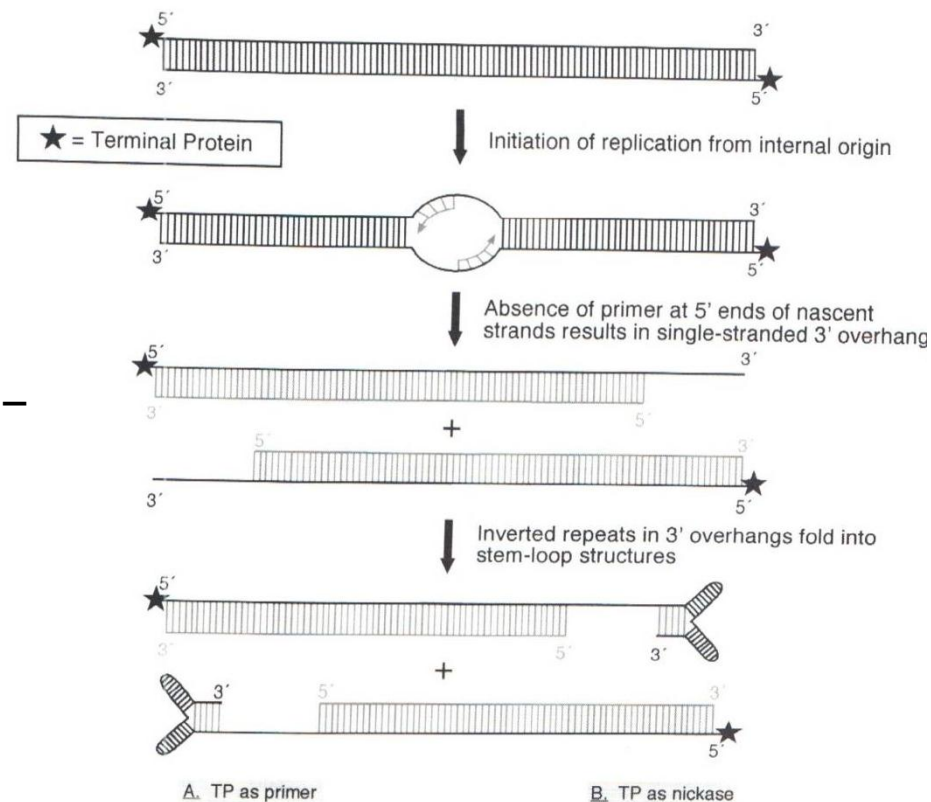
„Endless linear“ (*Borrelia*)

Replikace plazmidů - lineární

- lineární plazmidy *Streptomyces*
 - protein-primed replikační mechanismus
 - specifický DNA vázající protein se váže na oblast telomer a zahajuje rozplétání helixu, zároveň slouží jako primer pro speciální DNA polymerázu
 - pSCL se může replikovat též v cirkulární formě, kdy telomery jsou odstraněny a konce plazmidu spojeny ligázou
 - začátek replikace *ori* je uprostřed plazmidu a probíhá dvousměrně
- lineární plazmidy *Borrelia*
 - replikují se jak ve formě lineární tak cirkulárních intermediátů
 - cirkulární intermediát vzniká spojením konců plazmidu
 - (head-to-tail junction) po jednořetězcovém rozštěpení v místě inverzní repetice a otevření plazmidu
 - replikace jako u ostatních cirkulárních replikonů
 - linearizace z cirkulárního intermediátu opětovým jednořetězcovým rozštěpením v inverzní repetici

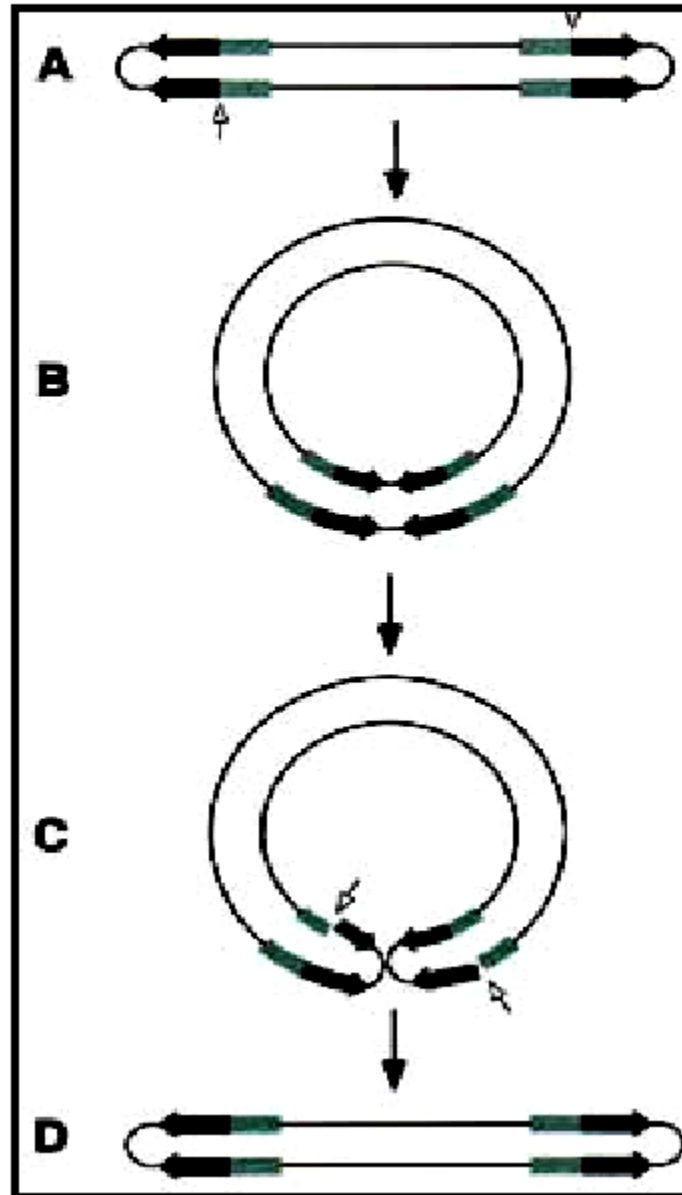
Replikace lineárního plazmidu-*Streptomyces*

- Dvousměrná replikace
 - Invertované repetitivní sekvence –
 - stem loop struktura
1. Terminální protein – primer
Po replikaci – stem loop zmizí
 2. 3'-OH – primer – replikace
TR – ssDNA štěp – 3'-OH primer



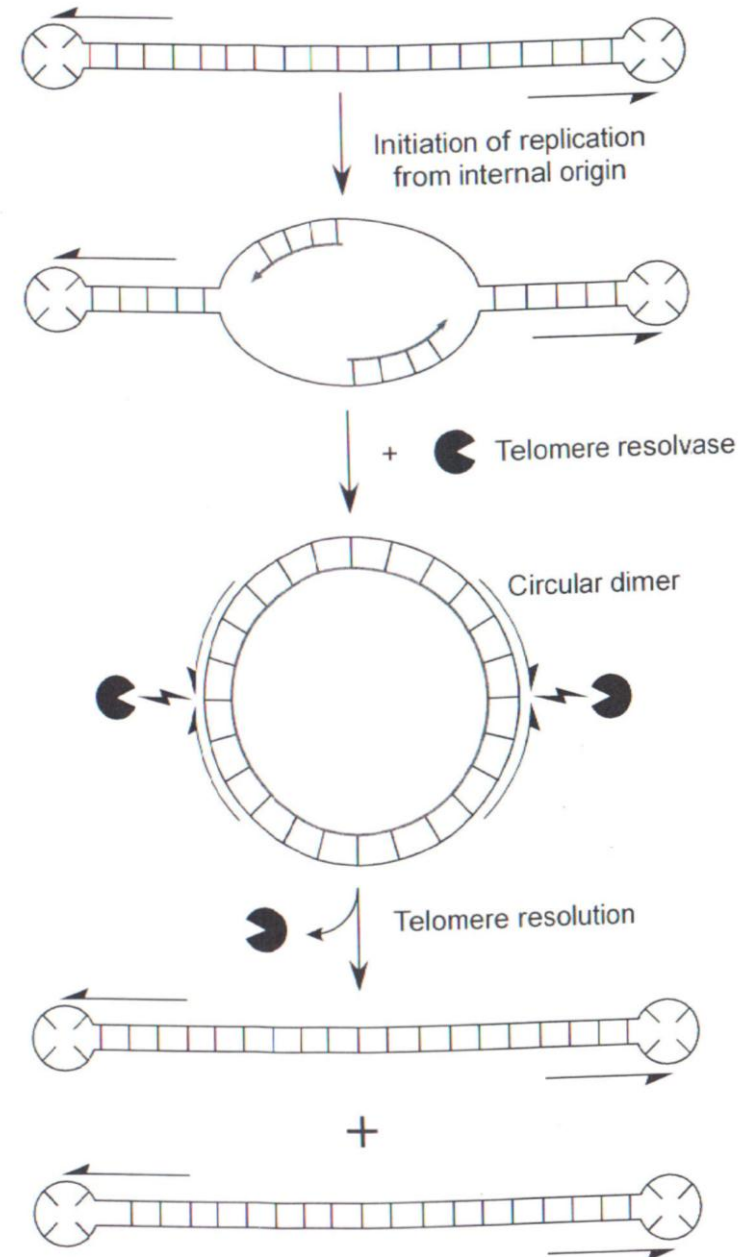
Replikace lineárního plazmidu u *Borrelia*

Cirkulární mechanismus



Replikace lineárního plazmidu-Borrelia

Lineární mechanismus



Ti plazmidy

- *Agrobacterium tumefaciens*
 - půdní bakterie, která vyvolává nádorová onemocnění u dvouděložných rostlin
 - příbuzná k *Rhizobium*
 - většina funkcí vyvolávající nádory je kódována velkými konjugativními plazmidy
- Ti plazmidy
 - 4 typy plazmidů vyvolávající různé typy nádorů nebo variace metabolických parazitických vztahů bakterií k rostlinám
 - mají velké sekvenční homologie
 - mohou konjugovat do *Agrobacterií* a *Rhizobií*
 - mají regiony tra, rep, oriV, inc
 - dále vir (onc), zodpovědné za infekci rostliny
 - T region - inserce do rostliného chromosomu a indukce tvorby nádoru
 - syntéza unikátních látek indukující nádor - auxin, opine (několik druhů)
 - kmeny *Agrobacterium* je využívají jako zdroj C a N

Plazmidy

□ Archaea

- Stále útržkovité – některé izolované a sekvenované
- Málo funkčních studií – málo se ví o replikaci, kontrola kopií, přetrvávání, sdílení
- Různé velikosti, většinou kryptické, některé konjugativní, není atb rezistence
- Málo stálé v kmenech udržovaných v lab. podmínkách
- Liší se podle rodů
 - Euryarcheota – methanogenní , haloarchaea, některé hypertermofilní
 - Haloarchaea – megaplazmidy až minichromosomy – kryptické
 - Crenarchaeota – Sulfolobales - Sulfolobus, Acidianus, Metallosphaera
 - Sulfolobus – termofil – většina studií – modelový organismus – široké spektrum plazmidů

Plazmidy - Archaea

■ Třídy

- Methanogeny – pME, pFV, pFZ, pURB – různé mechanismy replikace
- Methanogeny – pFV1 – homology proteinů pro kontrolu segregace
 - Restrikční/methylační systémy – (GGCC, CTAG – systémY – modifikují DNA v E. coli.
- Thermococcus, Pyrococcus – pGN, pGT – relaxované i supercoiled
- Sulfolobus – pRN – volná i integrovaná forma, relaxované i supercoiled
 - 4-4,5 kb konzervovaná doména – minimální replikon
 - RepA, CopG, DNA-vazebný protein PlrA
 - Replikace podobná RCR
- Sulfolobus - pTIK – zvláštní fce- pokud transformován do kmene bez plazmidu – zvýší se růstová rychlost o 25% -
 - Mechanismus neznámý -
 - Replikace podobná pRN

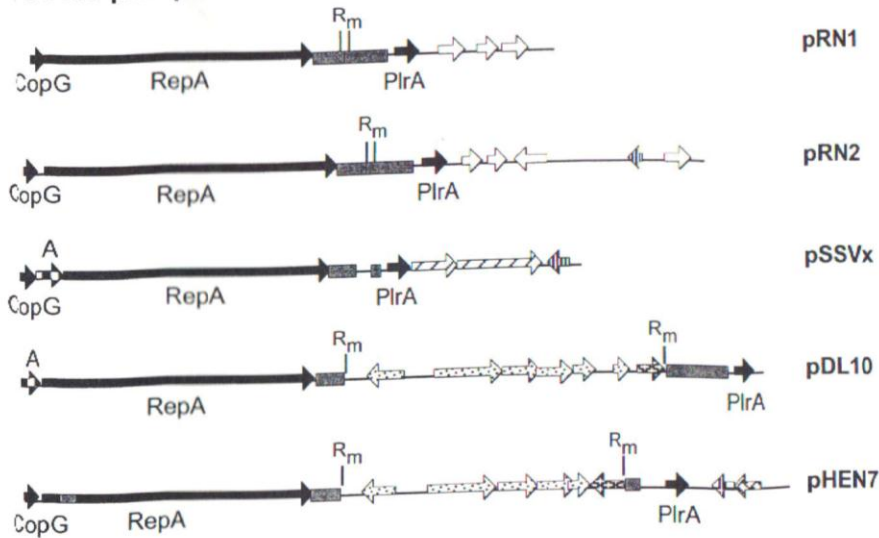
Plazmidy - Archaea

■ Třídy - pokračování

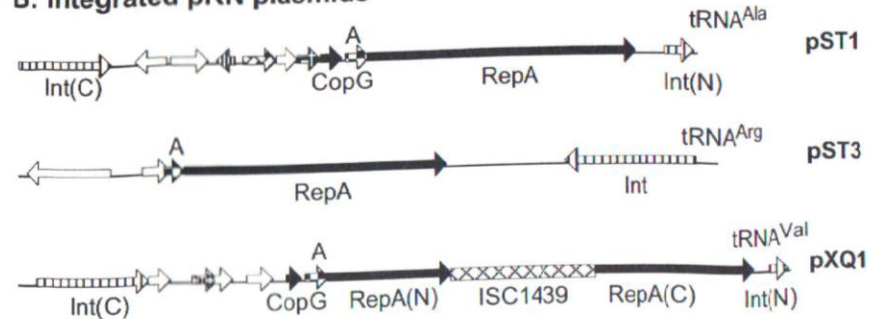
- Sulfolubus – pNOB - konjugativní plazmidy- Ve 3% kmenů – 24-42 kb
 - Při pěstování v tekutém mediu 20-40kopií
 - Na pevném podkladu – 2-5 kopií
 - Při pěstování v lab. podmínkách - delece
- Megaplazmidy - Haloarchaea –
 - pNRC – 86 – 690 kb – homologní sekvence
 - Esenciální geny chromosomu, několik počátků replikace – fúze více plazmidů
 - IS elementy
 - pHH1 - plynné váčky – kontrola vznášení –
- Plazmidy obsahující integrázy – konjugativní i kryptické
 - Reversibilní integrace do chromosomu
 - Dva mechanismy

Plazmidy pRN

A: Free pRN plasmids



B: Integrated pRN plasmids



Linear genome maps of some pRN plasmids. Blackened arrows: ORFs present in all free pRN plasmids, PlrA, CopG, RepA. White arrows: ORFs (>50 amino acids) conserved and often located adjacent to or in a similar position to CopG ORFs. White arrows: ORFs (>50 amino acids) with no significant sequence similarity to the other plasmid ORFs. Patterned arrows indicate ORFs that are conserved in more pRN plasmids. (A) Free pRN plasmids. Diagonal-lined arrows indicate ORFs in pSSVx homologous to SSV2. Dotted arrows indicate a conserved region with homologous ORFs shared by pDL10 and pHEN7. R_m denotes the origin of bacterial rolling-circle plasmids (see text). (B) Integrated pRN-type plasmids. Integrase genes responsible for homologous insertion of the plasmids are partitioned during the integration of pST1 and pXQ1. The repA gene of pXQ1 contains an IS element, ISC1439. tRNA genes that function as target sites for the integrases are indicated.

Plazmidy - Archaea

Replikace –

- obsahují přímé i inverzní repetice – v blízkosti Rep proteinu
- pGT5 – Pyrococcus – podobné bakteriální RCR replikaci
 - Dso, sso, DNA replicasa – váže se též nekovalentně na ssDNA nad nick místem – vazba dAMP na 3'OH – konec – regulace replikační aktivity
- pRN – též bakteriální RCR – odlišnosti – alternativní mechanismus
 - dso a sso nejsou blízko sebe
 - analogie s mechanismem odstraněného vlákna – 2 ssDNA – vlákna
 - Vlastní DNA polymerasa, primasa, helikasa
 - Zvláštní proteiny –
 - CopG – kontrola počtu kopií – váže se na inverzní repetice ve vlastním promotoru – mechanismus neznámý
 - PlrA – velmi konzervovaný – regulační fce – vazba na motif - TTAA)N)7TTAA – neznámý mechanismus

Plazmidy - Archaea

- pNOB8 – nízkokopiový – konjugativní
 - homologní proteiny k ParA – segregační mechanismus –
 - 24 repetice v šesti kopiích oddělené 39-42 spacerem – vazba ParA – též jako začátek replikace – P2 protein
- pFV1 – pravděpodobně theta mechanismus

Plazmidy - Archaea

□ Intercelulární šíření

■ Viral- induced

- *Sulfolobus islandicus* – REY154 kmen – do SVV viru se pakuje i pRN plazmid – morfologicky dva typy virů.

■ Konjugace – málo informací

- *Sulfolobus* – rychlý, selektivní a jednosměrný – specifické párování buněk – bez pilusů
 - Nebylo zaznamenáno v zobrazení v elektronovém mikroskopu – rozsáhlé povrchové kontakty
 - vortexování nemá vliv na kinetiku konjugace
 - Homologie pouze s TraG a SpoIIIE – DNA přenos – TrbE – vytváření párů
 - ORF600 – transmembránové domény – predikce role ve vytváření pórů
 - Odlišný mechanismus než u bakterií

Plazmidy - Archaea

□ Integrace do chromosomu

- U bakterií- integrázy –
 - místně specifická rekombinace – rekombinázy tyrosinového typu
- Archaea – dva typy integráz
 - pNOB8 plazmid – integrovaný do chromosomu– integrativní plazmid,
 - intaktní integráza – mechanismus integrace podobný bakteriálním
 - *Methanococcus, Halobacterium, Thermoplasma, Sulfolubus, Acidianus*
 - SSV1 fág – typický pro archaea – int(N) a int(C) – att – v genu integrázy
 - V integrované formě – gen *int* na koncích plazmidu
 - Preference tRNA genů

Integrativní plazmidy SVV1-integráza

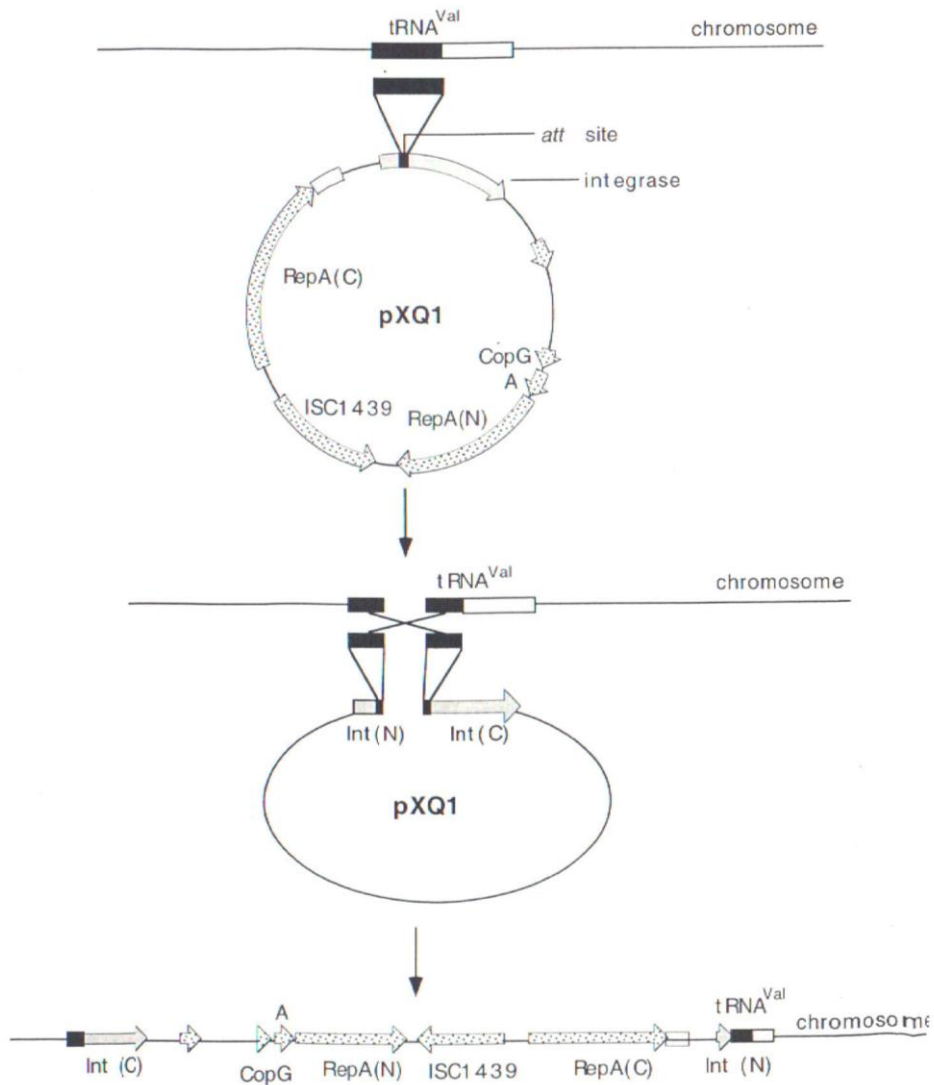


Figure 7. Model for insertion of pXQ1 into the *S. solfataricus* P2 chromosome. The integrase target site in the chromosome is the 45-bp *att* site indicated by a blackened bar (38). In the integrated form the integrase gene is flanked by *intN* and *intC*. pXQ1 carries four ORFs that are homologous to those of other pRN plasmids (Fig. 1). IS element interrupts *repA* (49).