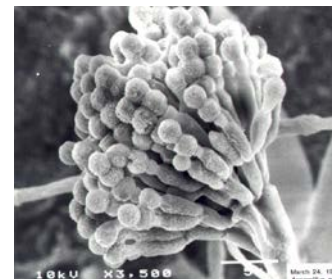


Aspergillus nidulans jako modelowy organizm eukariotyczny

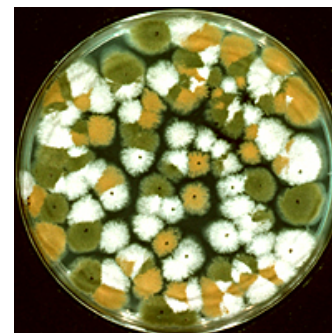
Materiały do zajęć Genetyka z inżynierią genetyczną

Aspergillus nidulans (*Emericella nidulans*) jest grzybem nitkowatym, workowcem (*Ascomycetes*). Został wybrany na obiekt badań genetycznych w latach 40-tych, m.in. ze względu na łatwą selekcję dużej liczby mutantów oraz dzięki obserwowanemu w laboratorium cyklowi płciowemu, który umożliwia prowadzenie badań nad rekombinacją meiotyczną. Dodatkowo, okazał się bardzo dogodnym organizmem do badań nad rekombinacją mitotyczną (somatyczną), której odkrycie pomogło w badaniach genetycznych u wyższych Eucaryota. Obecnie różne gatunki *Aspergillus* mają duże znaczenie w biotechnologii (np. *Aspergillus niger*) i w medycynie (często są patogenami, np. *Aspergillus fumigatus*) oraz nadal są wykorzystywane, jako organizmy do badań podstawowych.



Cykl życiowy.

A. nidulans jest **organizmem haploidalnym**, posiada genom o wielkości ~ 31 Mb, zorganizowany w 8 chromosomach. Znana jest sekwencja całego genomu tego grzyba (www.aspergillusgenome.org). Strzępki grzybni są przedzielone poprzecznymi przegrodami (septa) na segmenty zawierające jedno jądro. Przegrody są jednak perforowane i dlatego *A. nidulans* jest fizjologicznie komórczakiem. W warunkach naturalnych *A. nidulans* rozmnaża się wegetatywnie, wytwarza **konidiofory produkujące jednojądrowe haploidalne konidia**. Jego grzybnia może tworzyć tzw. heterokariony, powstające po połączeniu haploidalnych grzybni dwóch szczepów. W grzybni heterokarionu występują dwa typy genetycznie różnych jąder haploidalnych. Heterokarion wytwarza również jednojądrowe, haploidalne konidia.



W warunkach laboratoryjnych, można ten organizm zmusić do rozmnażania w sposób płciowy. *A. nidulans* jest homotalliczny, tzn. nie występują różne typy płciowe grzybni, w odróżnieniu od np. heterotallicznych drożdży *Saccharomyces cerevisiae* czy *Neurospora crassa*. W procesie rozmnażania płciowego, w niciach workotwórczych dochodzi do utworzenia par jąder sprzężonych, a następnie w komórkach workotwórczych do faktycznego **złania się jąder haploidalnych (kariogamii) i wytworzenia diploidalnego jądra (komórka macierzysta askospor)**. Podział meiotyczny tego jądra i następująca po nim mitozą prowadzą do wytworzenia worków, zawierających po 8 askospor. W czasie różnicowania askospor dochodzi do jeszcze jednego podziału mitotycznego wewnątrz askospor i dlatego każda askospora zawiera dwa haploidalne jądra identyczne genetycznie. Proces ten zachodzi w klejstotecjach (ciałach owocujących) wypełnionych tysiącami worków. **Z askospor wyrasta homokariotyczna grzybnia haploidalna.**

Bardzo rzadko podczas rozmnażania wegetatywnego może dojść do spontanicznego powstania konidium diploidalnego. Takie diploidalne konidium daje początek diploidalnej grzybni. Traktowanie takiej diploidalnej grzybni czynnikami anty-tubulinowymi (np. benomylem) prowadzi do haploidyzacji. Jest to tzw. cykl paraseksualny (przejście od stadium diploidalnego do haploidalnego następuje bez mejozy).

Krzyżówki *A. nidulans*.

Analiza sprzężeń.

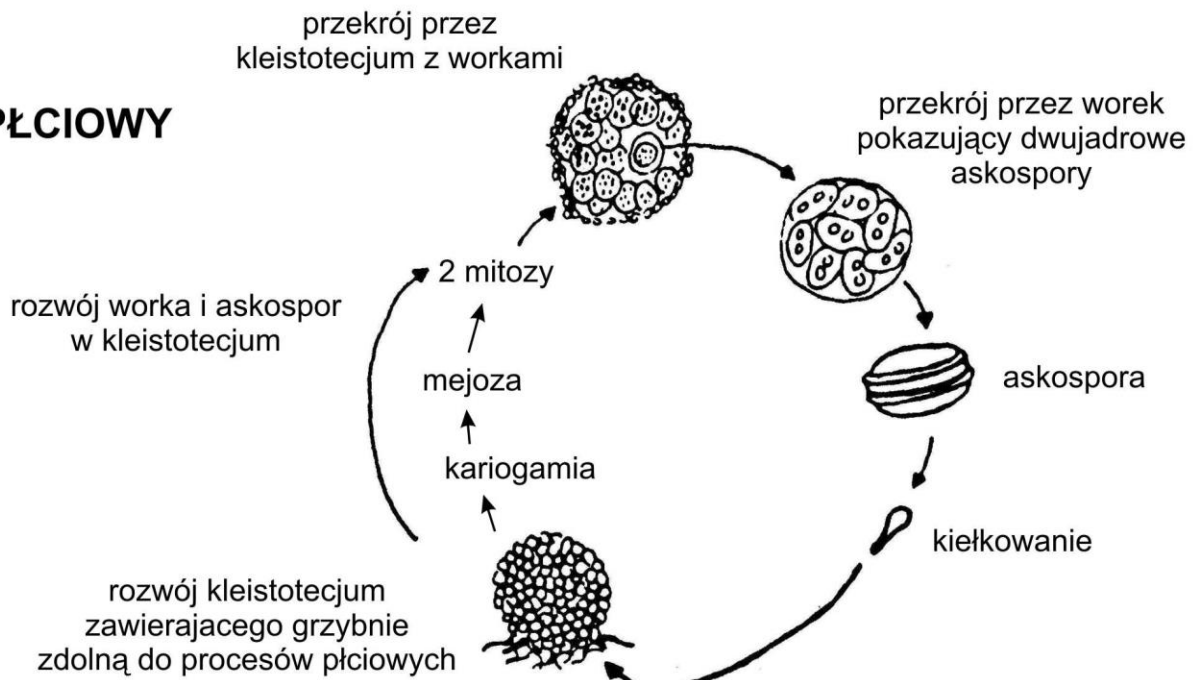
Analiza fenotypu kielkującej z askospor grzybni pozwala np. na badanie sprzężeń między genami - poprzez obserwację częstości powstawania rekombinantów. Jak wspomniano wyżej, aby założyć krzyżówkę trzeba zmusić różne genetycznie grzybnie do wytworzenia heterokarionu, a następnie wejścia w cykl płciowy. Osiąga się to szczepiąc konidia różniących się wymaganiami pokarmowymi szczepów na pożywkę pozbawioną części uzupełnień. Jedynie utworzony heterokarion może rosnąć w tych warunkach. Warunki beztlenowe i uboga pożywka „wymuszają” tworzenie klejstotecjów i powstanie askospor. W pracy z *A. nidulans*, m. in. przy zakładaniu krzyżówek, pomaga barwa konidiów. Znane są trzy podstawowe barwy, zależnie od mutacji w odpowiednich genach szlaku biosyntezy barwnika: zielona (kolor dziki, przy czym w zapisie fenotypu szczepu pomija się jej oznaczenie), żółta (y) i biała (w).

Rekombinacja wewnątrzgenowa.

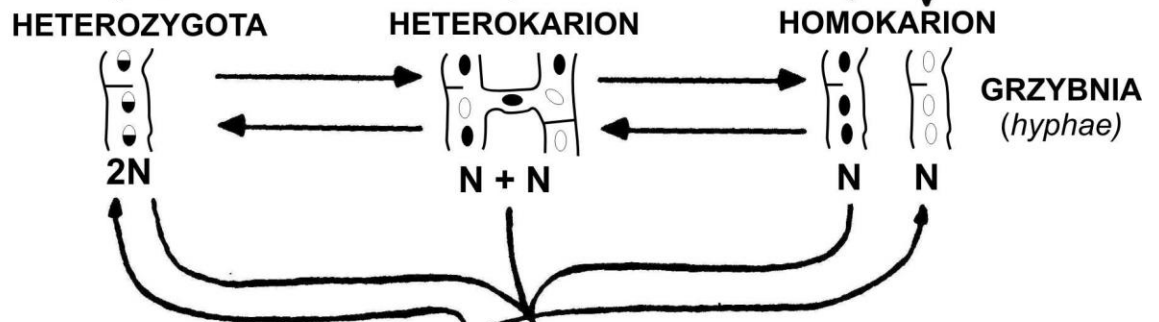
Wykorzystanie mikroorganizmów eukariotycznych, u których zachodzi proces płciowy i u których można w krótkim czasie otrzymać bardzo dużą ilość potomstwa oraz łatwo i szybko to potomstwo analizować, pomogło w wykazaniu, że jednostkami mutacyjnymi i rekombinacyjnymi nie są pojedyncze geny. Przy analizie odpowiednio dużej ilości rekombinantów wykazano, że z bardzo niską częstością crossing-over zachodzi także w obrębie jednego genu.

CYKL ŻYCIOWY *Aspergillus nidulans*

CYKL PŁCIOWY



CYKL PARA-SEKSUALNY



ROZMNAŻANIE BEZPŁCIOWE

