

Genética Bacteriana

Prof. André Kipnis

Genética Bacteriana

Importância do conhecimento dos mecanismos envolvidos em genética bacteriana

1 – Função dos genes = função celular

2 – Sistema simples – inferências para outros organismos

3 – Isolamento e duplicação de genes de outros organismos

4 – Produtores de antibióticos, fermentações, plásticos, anti-tumorais e outros agentes de interesse industrial

5 – Causadores de doenças

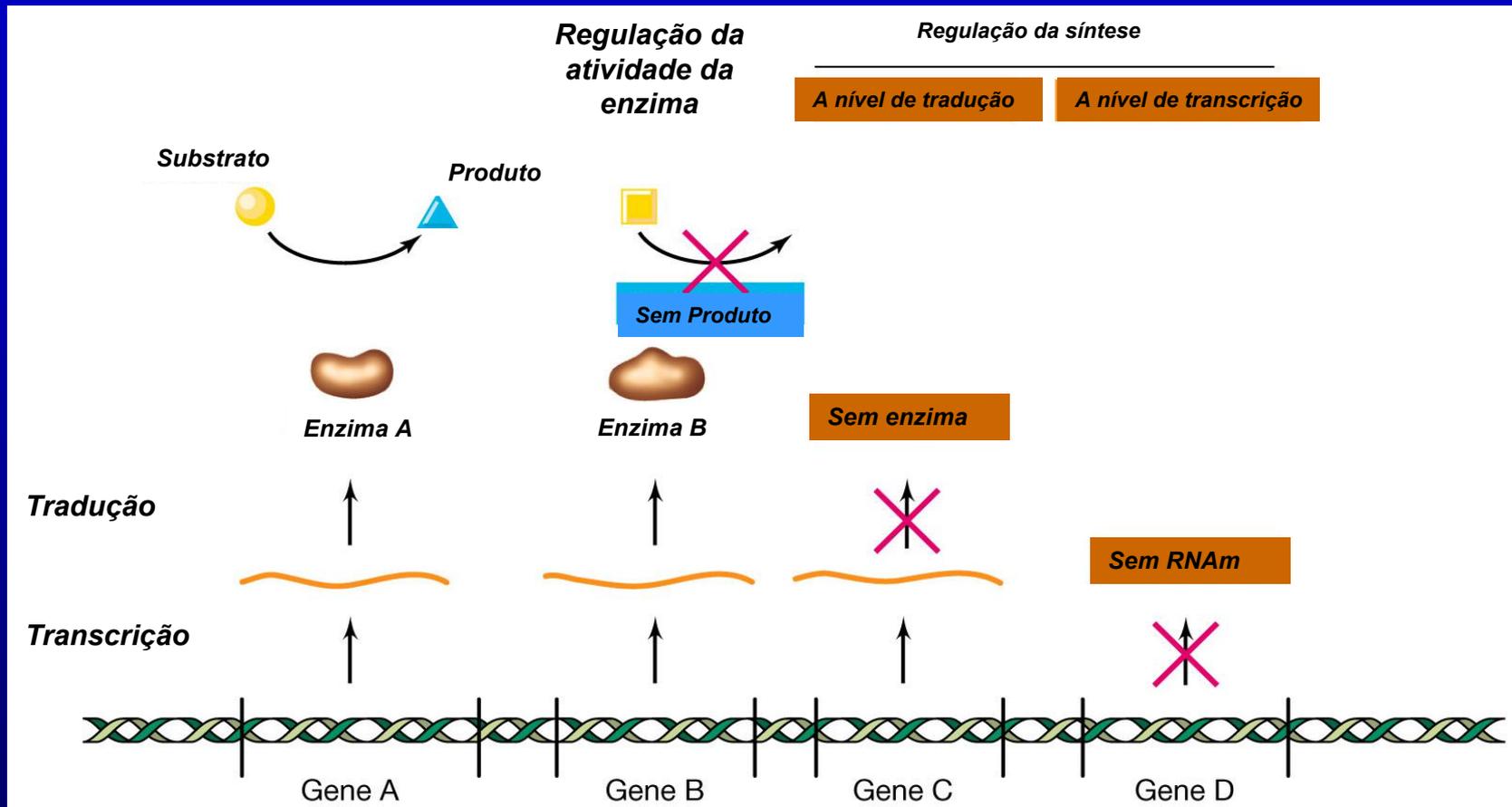
6 – Combater a resistência adquirida aos antibióticos

Genética Bacteriana

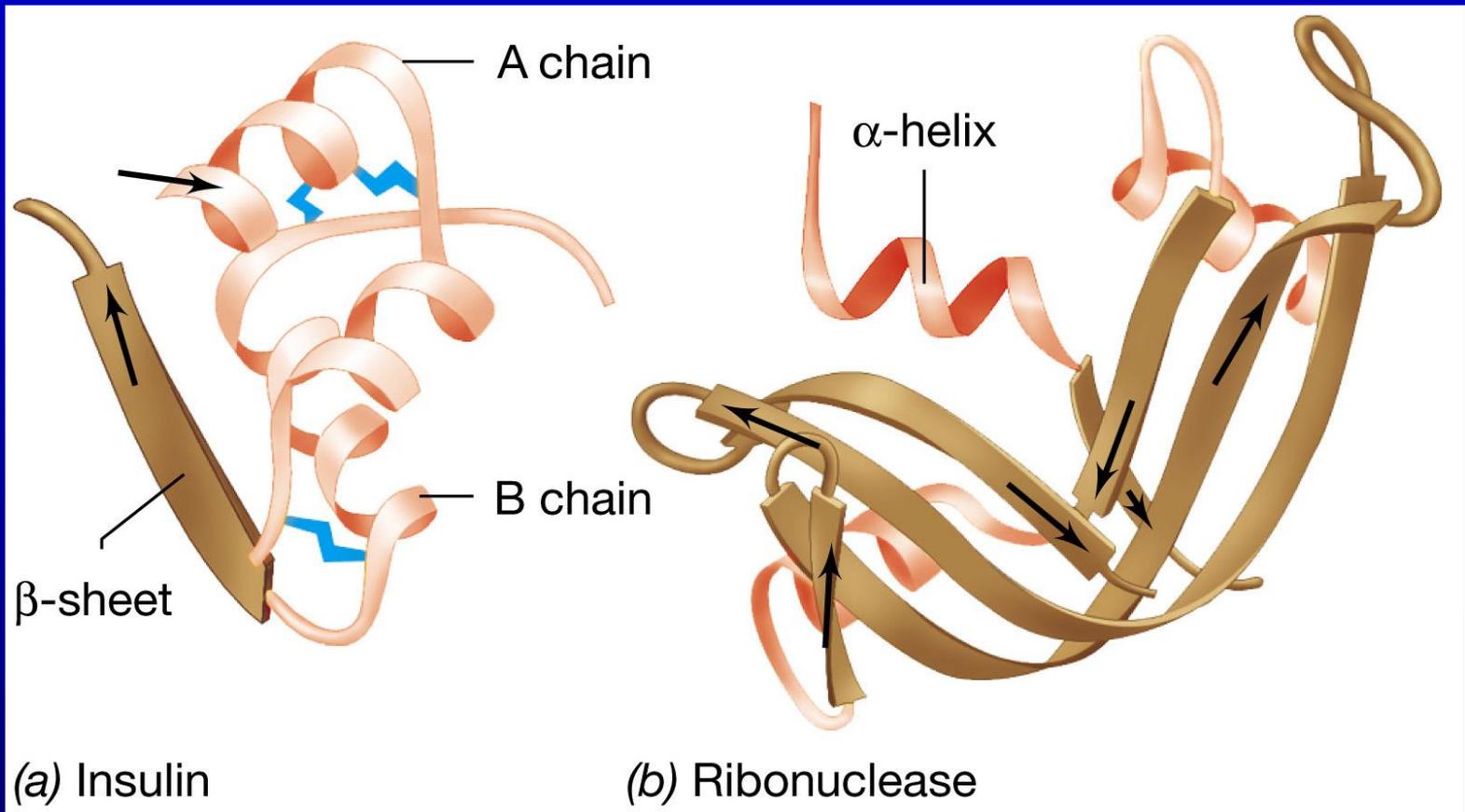
Alterações fenotípicas x genotípicas

Fenotípicas por regulação da expressão gênica.

Genotípicas por mutação ou recombinação.



Estruturas das proteínas



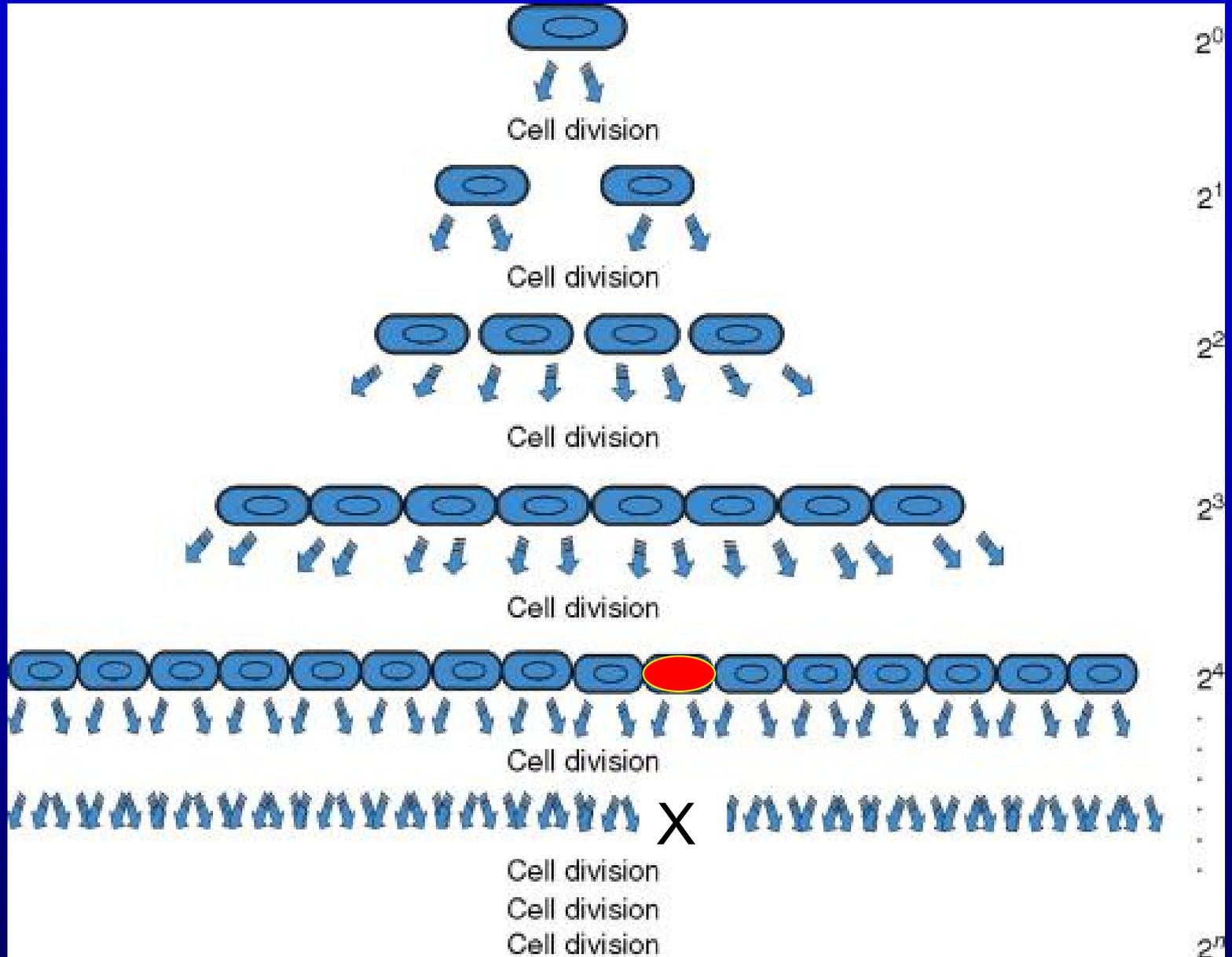
Mutantes Bacterianos

- ***Mutação = alteração na sequência de bases de um gene.***
- ***Podem ser selecionáveis (resistência à droga) ou não.***
- ***A maioria das bactérias mutantes possuem natureza bioquímica.***
- ***Os mutantes mais importantes são auxotróficos. Um organismo auxotrófico precisa de alguns nutrientes que a cepa selvagem (prototrófico) pode sintetizar para ela própria. Por exemplo *trp⁻*, *lac⁻****
- ***Mutantes de Resistência: drogas, metais pesados, bacteriófagos, etc. Por exemplo, *Amp^R* torna as bactérias resistentes a ampicilina.***

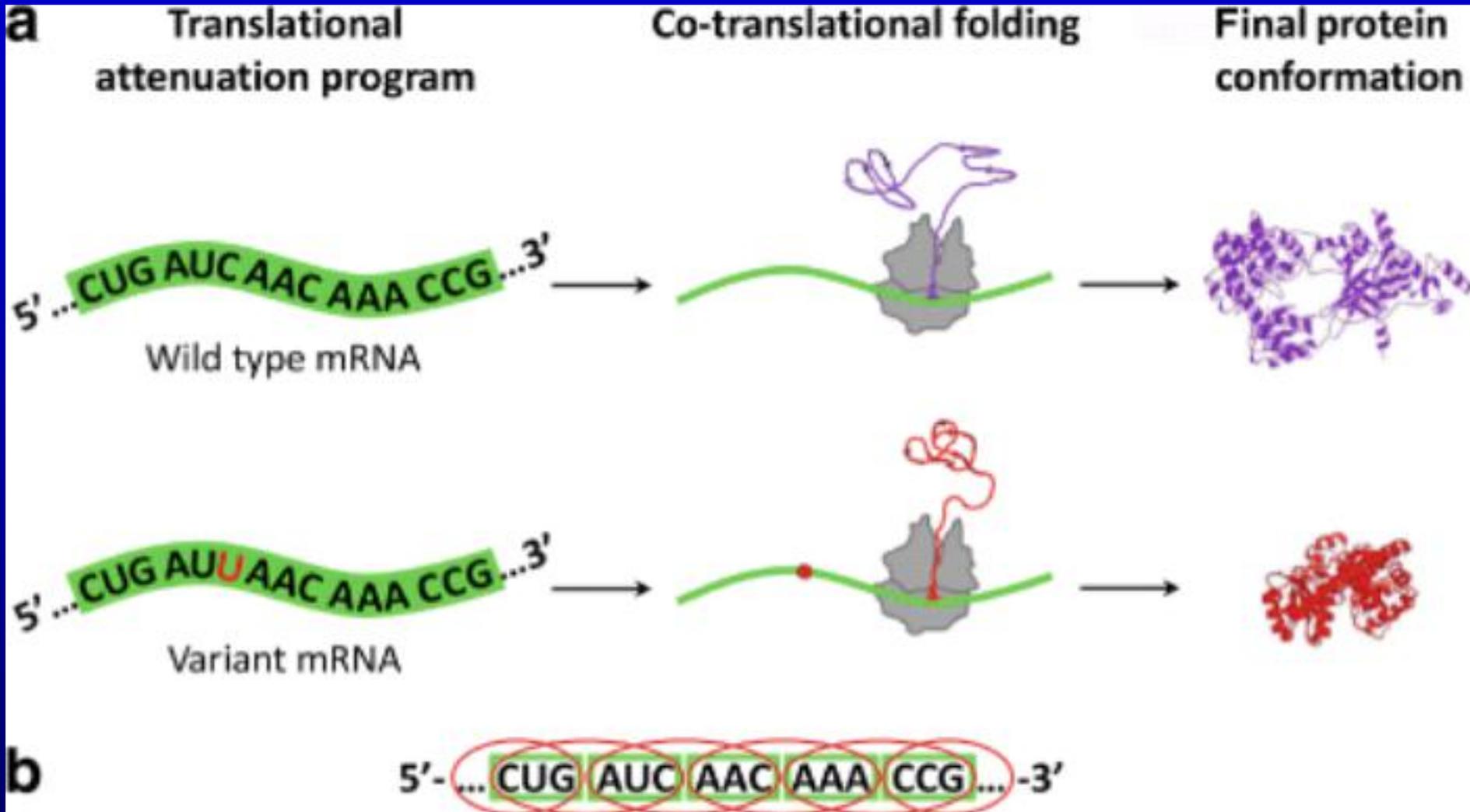
“Processos de mutação bacteriana são raros, mas se acumulam ao longo dos processos de multiplicação populacional e portanto podem ser significativos.

Processos de mutação bacteriana dificilmente “criam” um gene novo com propriedade novas, apenas alteram as propriedades do produto de genes já existentes.

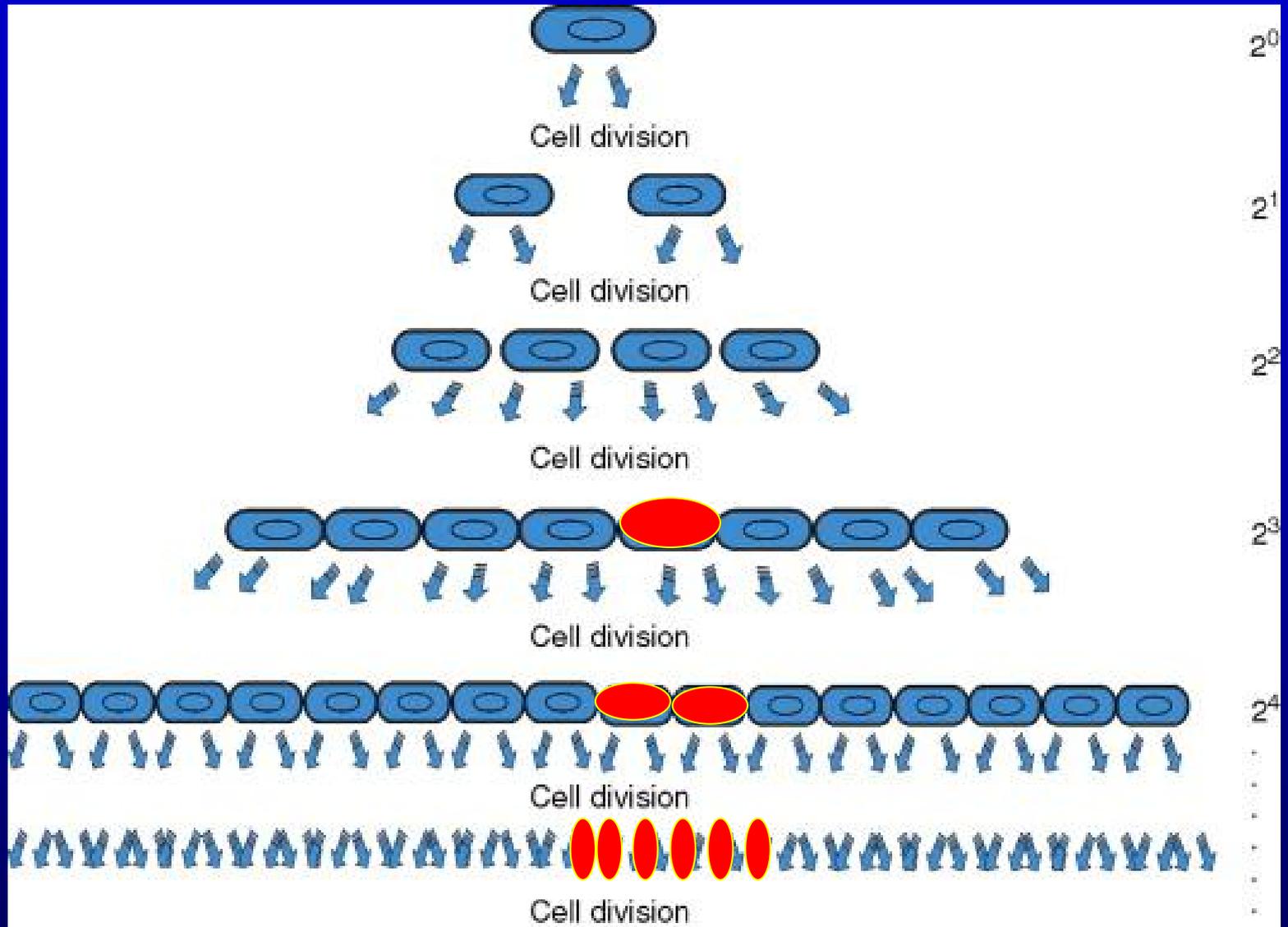
Mutação deletéria resulta em morte da célula bacteriana: consequência?



Mutação em códon que resulta em substituição de um aminoácido pode resultar em alteração de forma da proteína ou até parada de tradução abrupta.

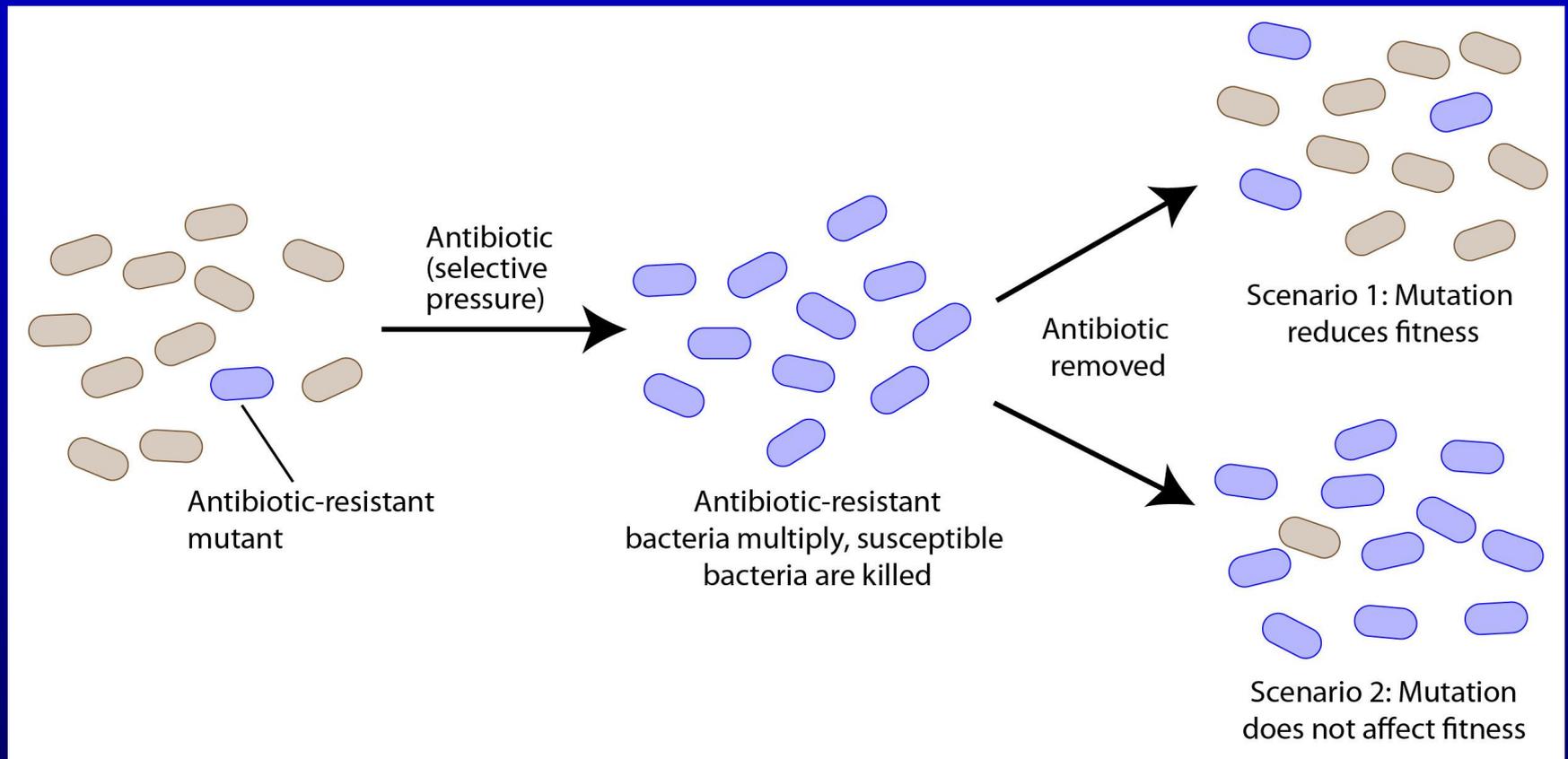


Mutação deletéria que não interfere no “fitnes” e sobrevivência das bactérias podem continuar sendo transferidas para as descendentes daquela célula. Vai ser útil para a célula?



- As mutações que possam trazer “vantagens” para uma bactéria seria aquela que altera uma determinada proteína (codificada pelo gene mutado) sem que ela comprometa demais a função da célula mas ao mesmo tempo (em contrapartida) traga uma vantagem para ela. Ex. Resistência a droga por impermeabilidade ou alteração de alvo da droga.

Bactérias mutantes ao sofrerem uma pressão severa como por exemplo aparecimento de antimicrobiano, só irão sobreviver se houver uma base genética de resistência para aquela droga.

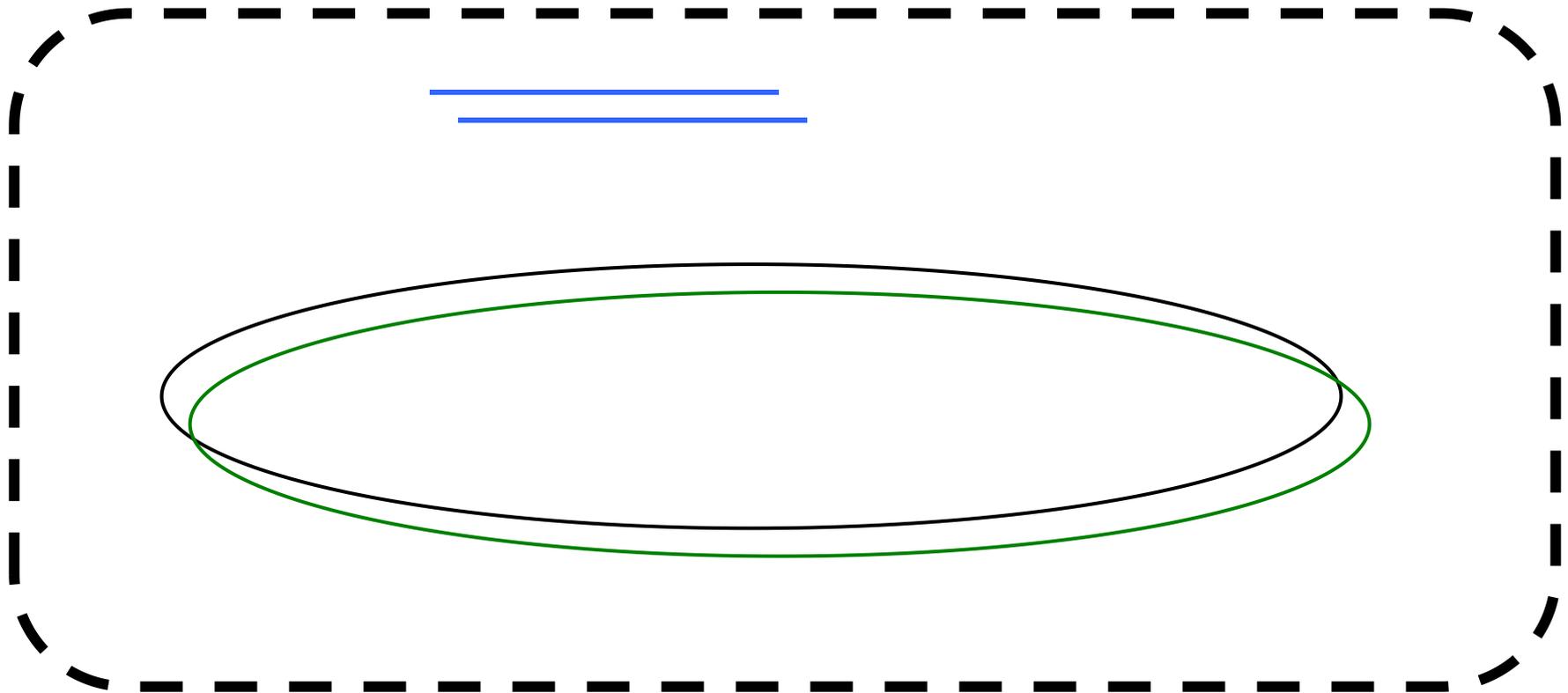


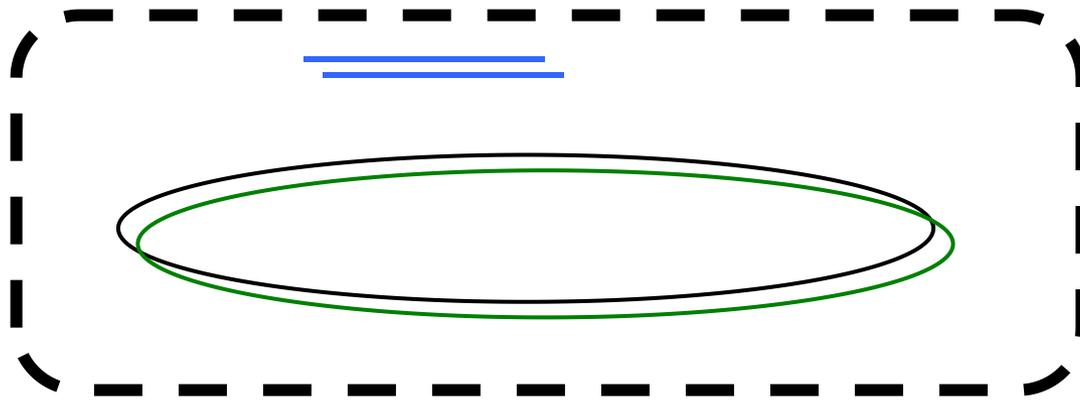
Recombinação e o processos de transferência de material genético bacteriano

- **Os eucariotos possuem processo de meiose para reduzir os diplóides para haplóides, e a fertilização para retornar ao estado diplóide. Os processos sexuais bacterianos não ocorrem como nos eucariotos, porém eles servem para o mesmo objetivo: misturar os genes de dois organismos diferentes juntos.**
- **Os três processos de transferência de material genético são:**
 - **1. transformação: DNA livre é internalizado pela célula bacteriana do ambiente.**
 - **2. conjugação: transferência direta do DNA de uma célula para outra.**
 - **3. transdução: utilização de um bacteriófago (vírus bacteriano) para transferir DNA entre as células.**

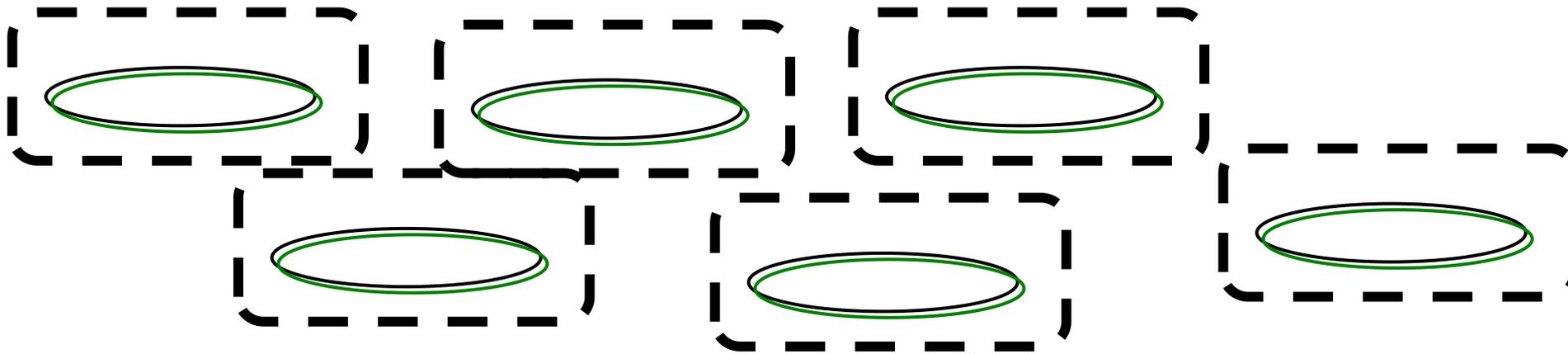
Recombinação homóloga em bactéria: Necessidade de pareamento de nucleotídeos (pelo menos 30) por homologia.

*Qual o destino de um **material genético** (====) que entra numa célula bacteriana?*

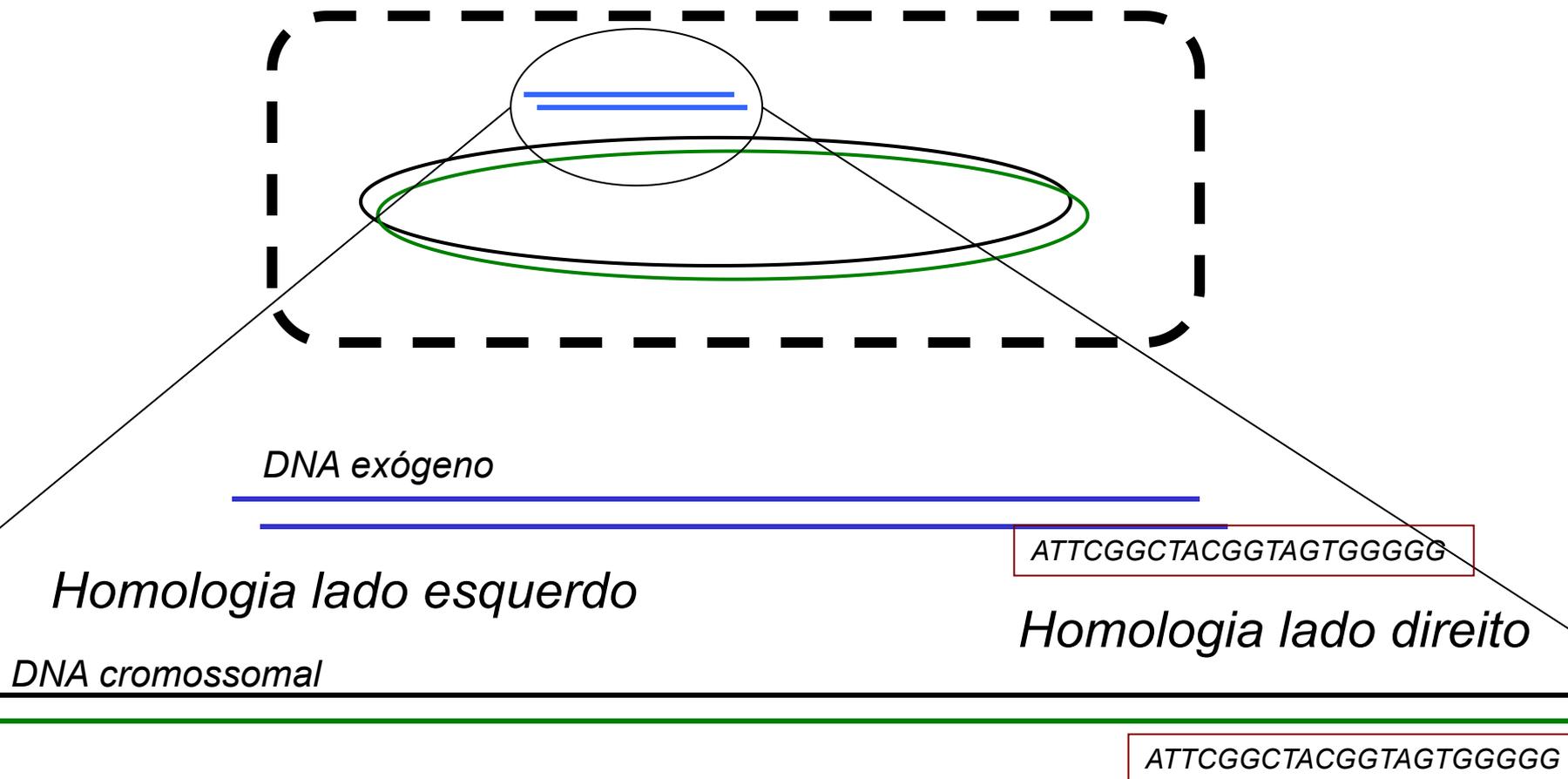




*Se o DNA **não** houver **homologia** necessária, após multiplicação bacteriana **nenhuma célula** vai conter o DNA estranho.*



*Porém se no DNA exógeno **houver homologia** necessária, o processo de recombinação ocorrerá*



DNA exógeno



ATTCGGCTACGGTAGTGGGGG

Homologia (de um lado) entre parte da sequencia exógena e parte da sequencia cromossomal

DNA cromossomal



ATTCGGCTACGGTAGTGGGGG

1º evento de recombinação: pareamento de fitas homólogas (acima), quebra das fitas de DNA cromossomal e religação da fita exógena (abaixo)

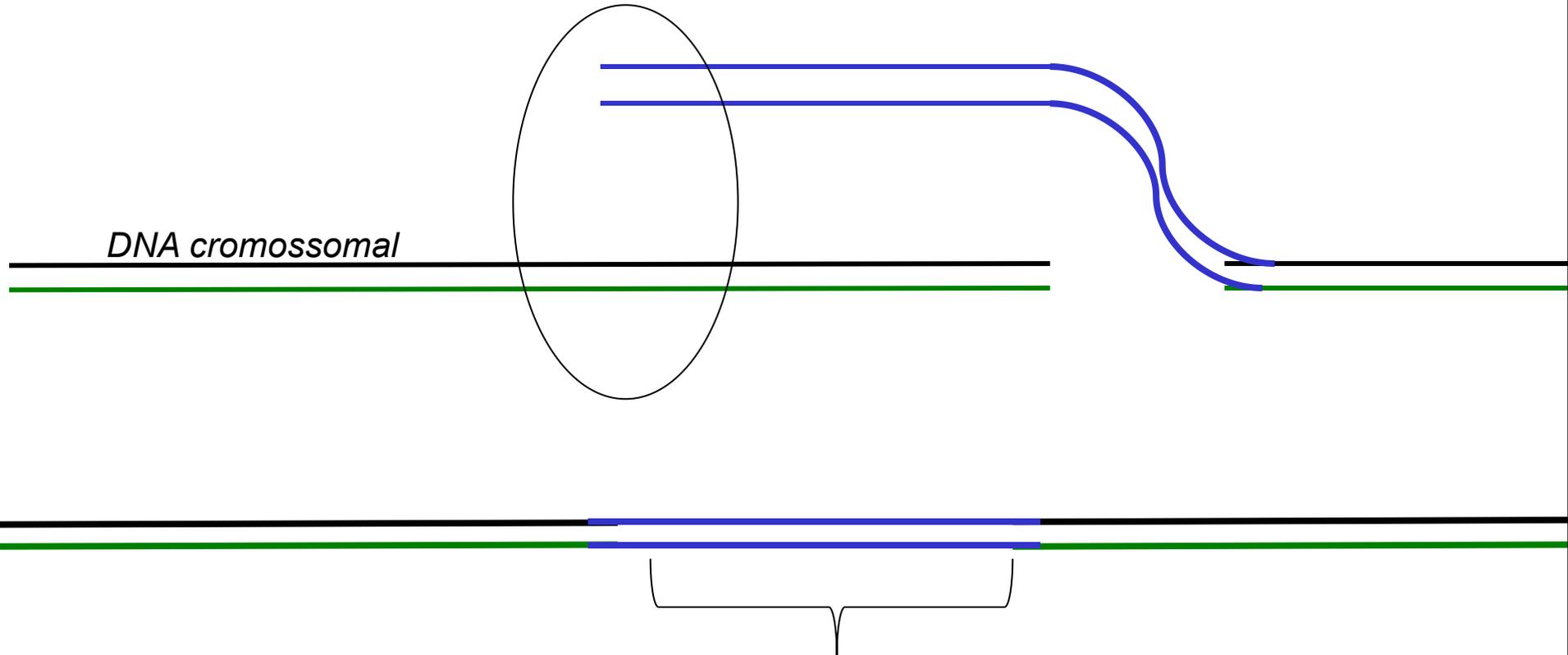


DNA cromossomal



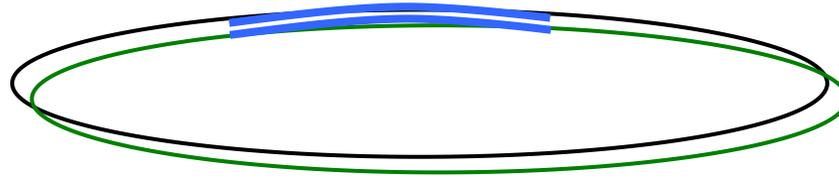
ATTCGGCTACGGTAGTGGGGG

O 2º evento de recombinação vai acontecer na região de homologia do outro lado da sequência exógena (lado esquerdo):

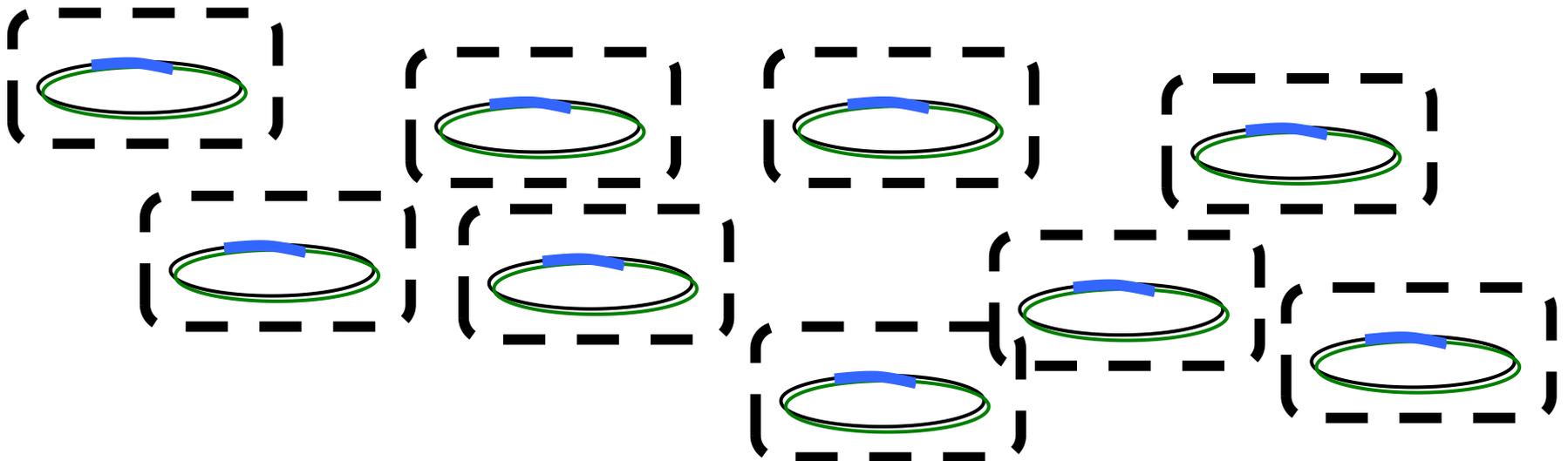


Novo material genético, que não precisa ter homologia com cromossoma é incorporado na fita de DNA cromossomal.

Materia genético adicional integrado no genoma



*Porém se no DNA exógeno **houver homologia** necessária, após multiplicação bacteriana **todas células irão conter o DNA estranho.***

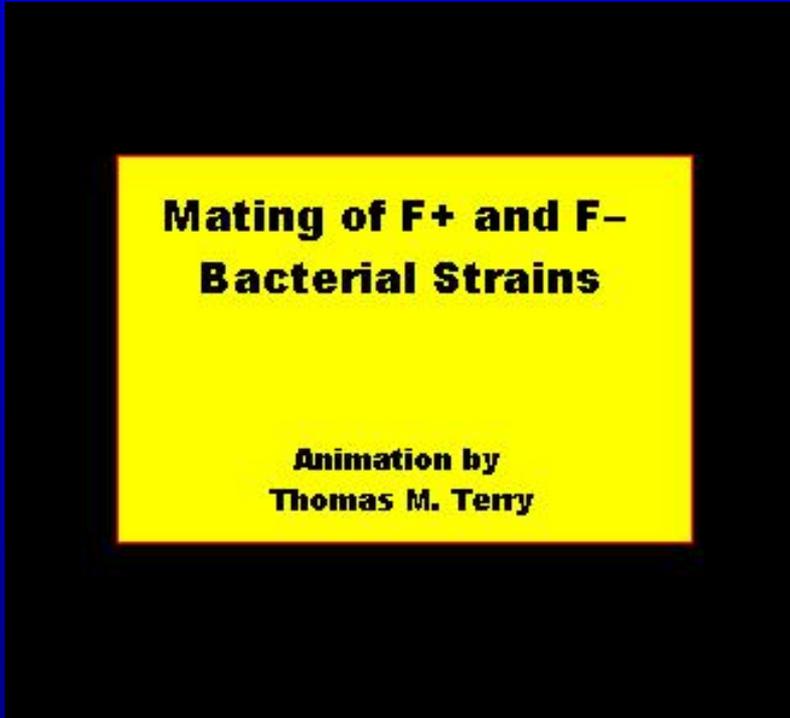


Transformação

- *Importante processo do ponto de vista de trabalho com DNA recombinante.*
- *Foi usado para provar que o princípio transformante é o DNA.*
- *No caso de E. coli, as células são preparadas para se tornarem “competentes” para serem transformadas através de tratamento com cálcio e choque térmico. As células de E. coli nessa condição podem internalizar prontamente o DNA que está a sua volta e eventualmente incorporar no seu genoma.*

Conjugação

- **Conjugação é o mais próximo do processo sexual das células eucarióticas.**
- **A habilidade de conjugar é conferida pelo plasmídeo F. As células bacterianas que contêm um plasmídeo F são chamadas de “F+”. As bactérias que não possuem o plasmídeo F são chamadas de “F-”.**
- **F+ possuem o “píllus sexual”. Quando uma célula F+ encontra uma F-, estas se unem através do píllus, e uma cópia do plasmídeo F é transferido para a célula F-. Agora ambas as células são F+.**
- **Por quê todas as E. coli não são F+, se ele se espalha dessa maneira?**

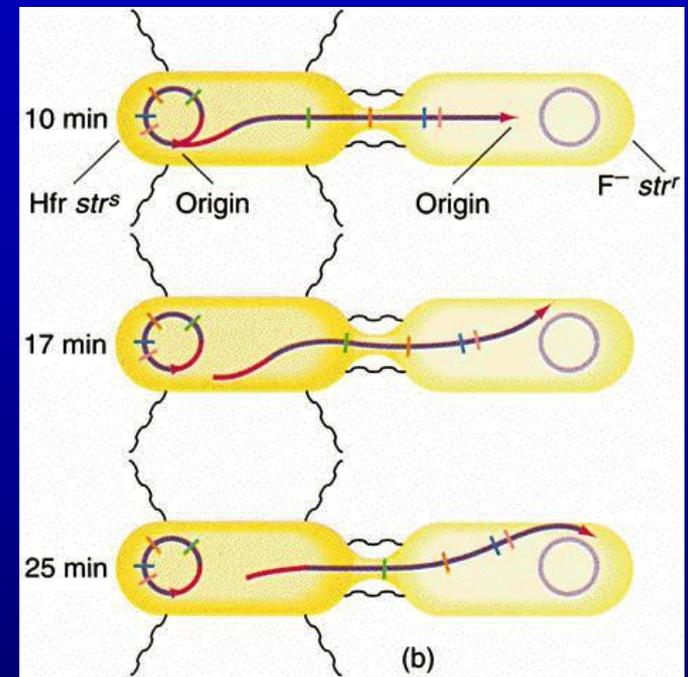
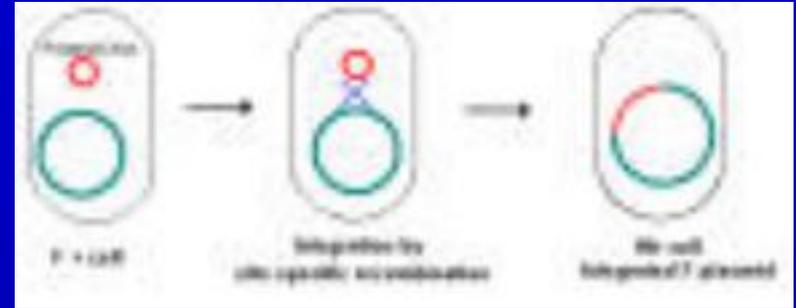


**Mating of F+ and F-
Bacterial Strains**

**Animation by
Thomas M. Terry**

Conjugação Hfr (Alta frequência de recombinação)

- Quando livre, o plasmídio *F* só transfere a si mesmo. Isto não é muito útil do ponto de vista genético.
- Algumas vezes o plasmídio *F* pode se incorporar ao cromossoma através de uma “recombinação”. A bactéria passa a ser chamada “Hfr”, que quer dizer “alta frequência de recombinação”.
- Bactérias Hfr conjugam como as *F+*, mas elas levam uma parte do cromossoma para a célula *F-*.

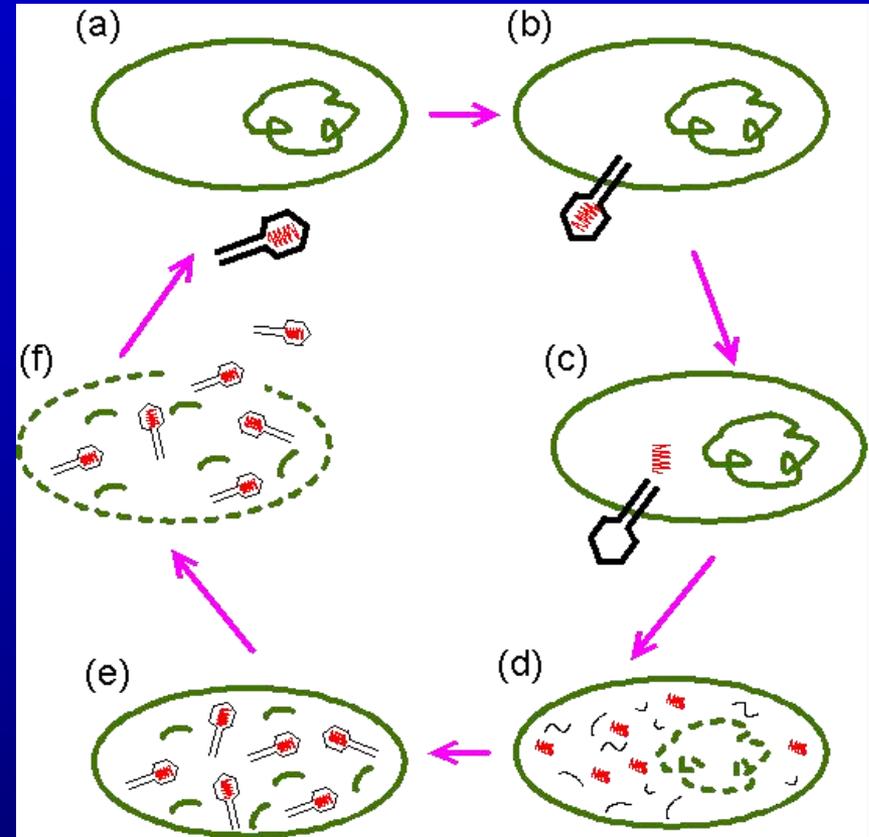


Transdução

- *Transdução é o processo de transferência DNA de uma célula para outra usando um bacteriófago.*
- *Bacteriófagos (fagos) são vírus bacterianos. Eles consistem de um pequeno DNA dentro de um capsídeo protéico. A cápsula protéica se liga à superfície bacteriana e injeta seu material genético para dentro da célula bacteriana. O DNA viral assume o controle do metabolismo bacteriano e produz muitas partículas virais.*
- *A transdução pode ser de dois tipos:*
 - *1. generalizada: qualquer pedaço do genoma bacteriano pode ser transferido*
 - *2. especializada: só pedaços específicos do cromossoma são transferidos.*

Ciclo Lítico do Fago

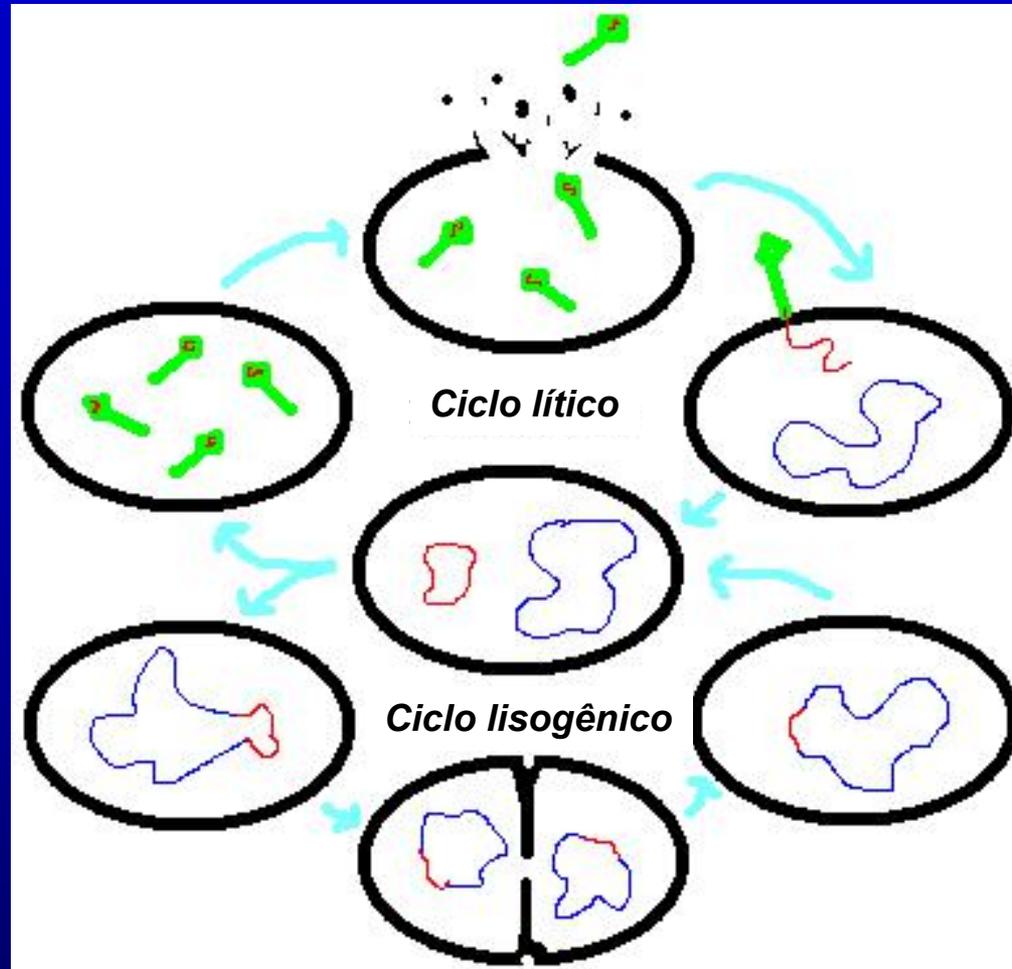
- 1. Fago adere e injeta seu DNA na célula bacteriana.
- 2. O DNA do fago se replica, é transcrito em RNA, e então traduzido em proteínas do fago.
- 3. Novas partículas são montadas.
- 4. A célula é lisada liberando cerca de 200 partículas virais
- Tempo total = 15 minutos.



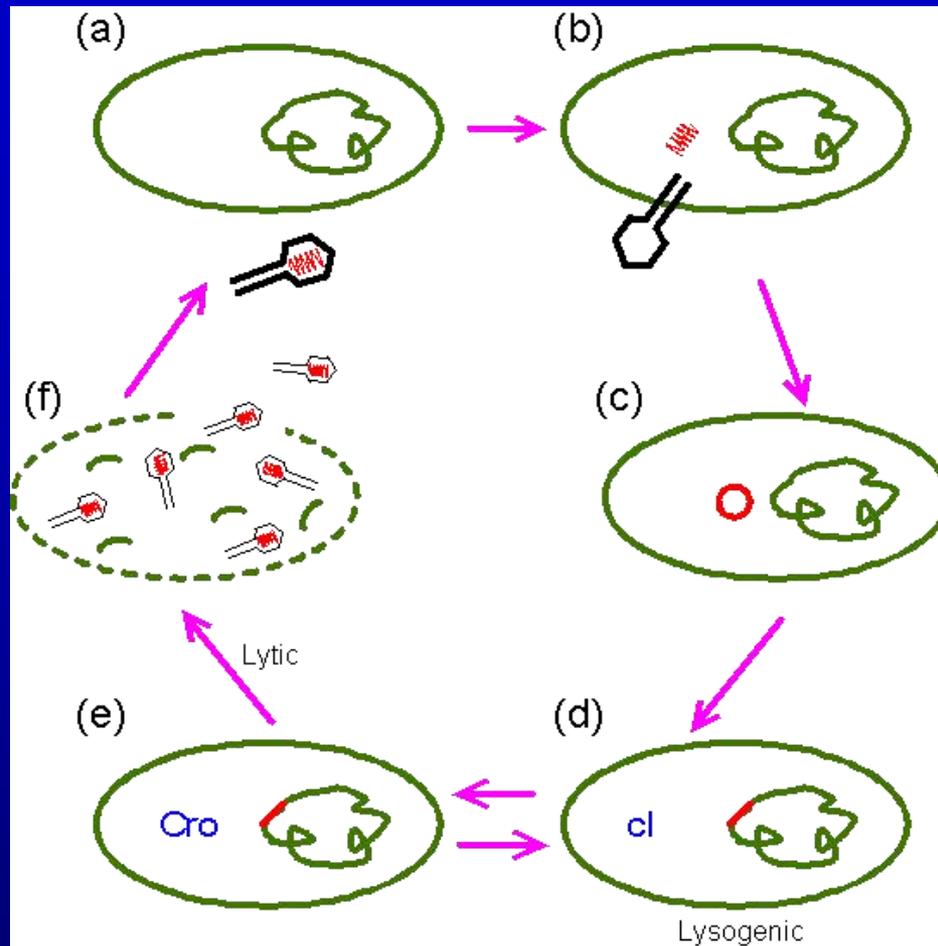
Transdução especializada

- *Alguns fagos conseguem transferir somente alguns genes específicos para outras bactérias.*
- *Primeiro o fago se integra no genoma do hospedeiro em regiões específicas = ciclo lisogênico (semelhante a formação de células Hfr). E assim permanece enquanto as condições são apropriadas.*
- *Em condições de estresse ambiental o fago se desintegra do genoma bacteriano, reassumindo o ciclo lítico do bacteriófago.*

Ciclo Lítico/lisogênico do Fago



Ciclo Lisogênico/Lítico do Fago



Ciclo Lítico do Fago

