

BMM-0271: Microbiologia básica

Genética de procariotos

Robson Francisco de Souza. Ph.D

robfsouza@gmail.com

LEEP: Laboratório de Estrutura e Evolução de Proteínas

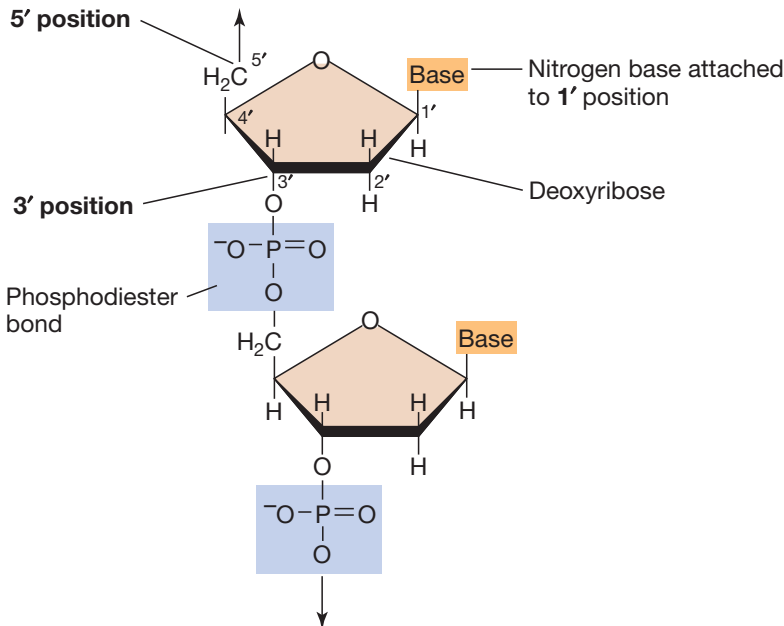
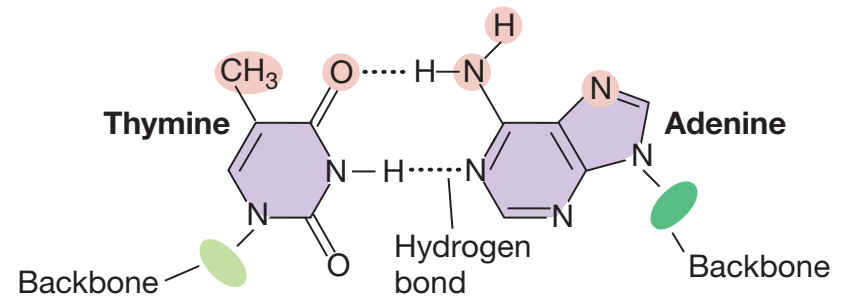
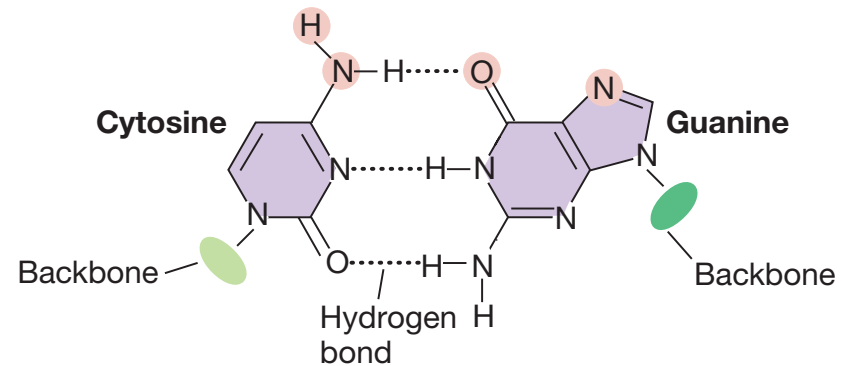
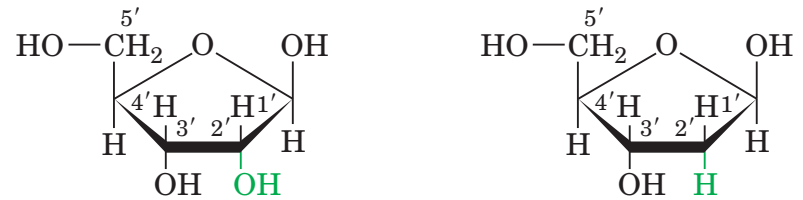
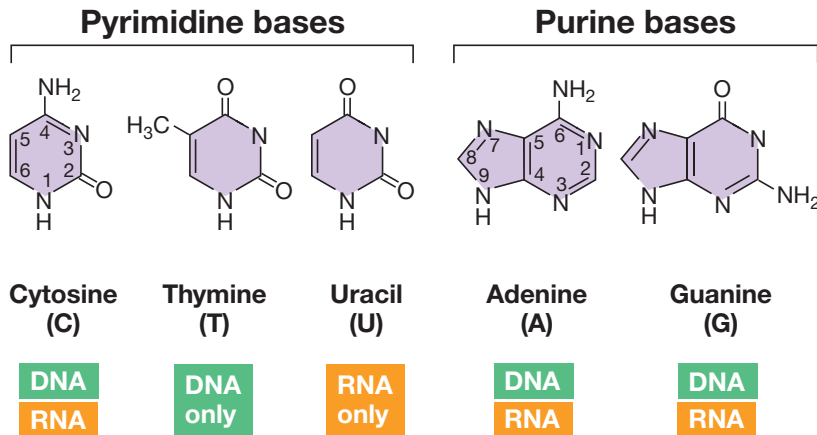
ICB/USP – 2016

Tópicos

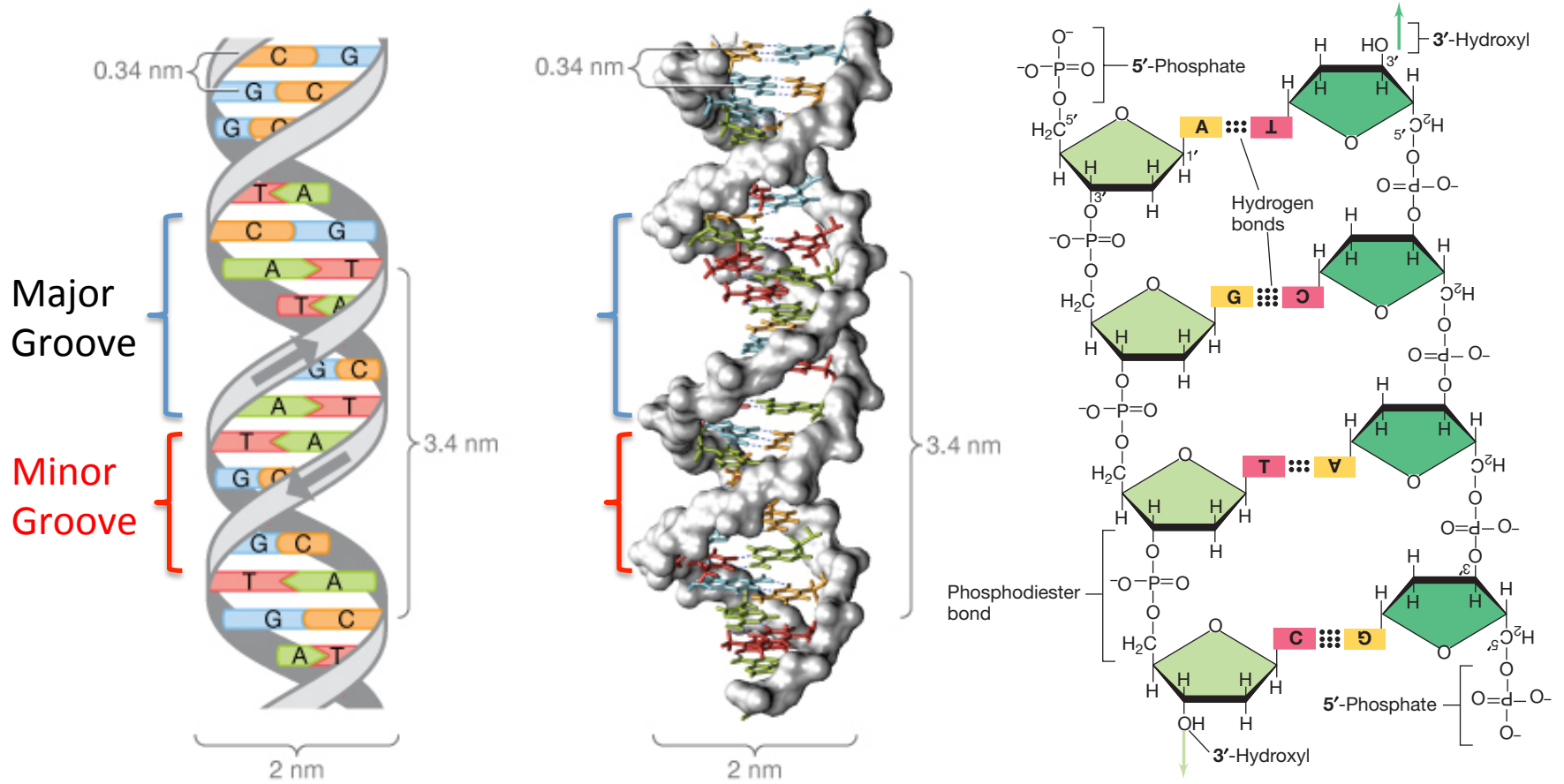
- **Genomas de procariotos**
 - Composição e estrutura química do DNA
 - Organização dos genomas e estrutura dos genes em procariotos
 - Replicação, reparo e recombinação

- **Origens da diversidade genética**
 - Mutação
 - Mecanismos
 - Isolamento
 - Rearranjos cromossômicos e transposição
 - Tranferência lateral de genes
 - Transformação
 - Transdução
 - Conjugação

Composição dos ácidos nucleicos



Estrutura do DNA



Organização dos genomas e estrutura dos genes em procariotos

Genoma: tipos de moléculas

Organismo	Elemento	Ácido nucléico	Descrição
Procarioto	Cromosomo	DNA dupla fita	A maioria é circular, muito longo
Eucarioto	Cromosomo	DNA dupla fita	Maioria linear, extremamente longo
Todos	Plasmídeo*	DNA dupla fita	Relativamente curto, linear ou circular
Mitocondria ou cloroplasto	Genoma	DNA dupla fita	Pequeno ou médio, geralmente circular
Vírus	Genoma	DNA ou RNA, fita dupla ou simples	Relativamente curto, circular ou linear

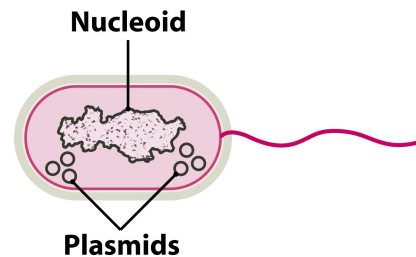
* Plasmídeos são muito raros em eucariotos

Cromossomos

- Codificam genes essenciais para o organismo
- Codificam os genes necessários para replicação e segregação

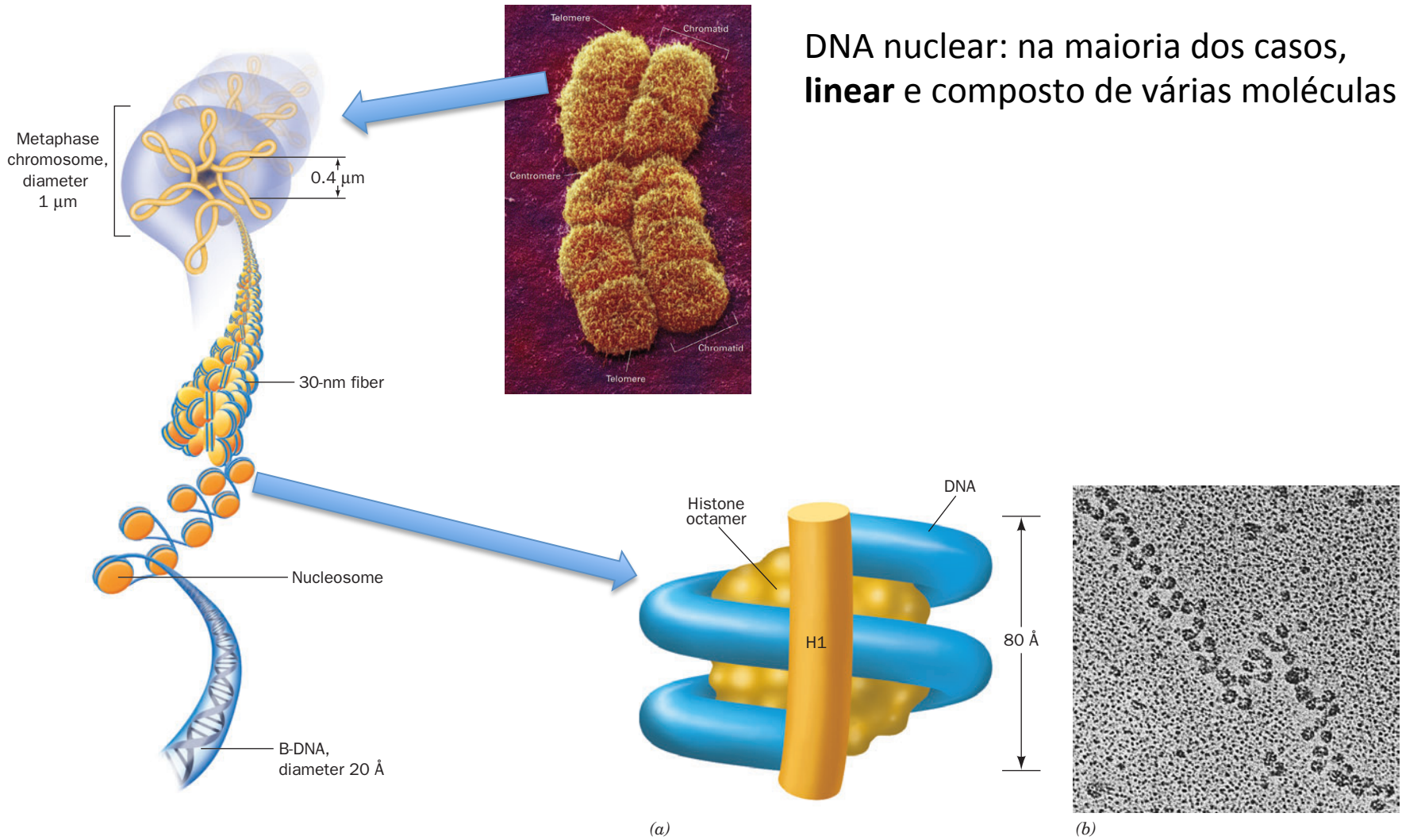
Plasmídeos

- Usam as polimerases do cromosomo
- Controlam seu número na célula
- Codificam genes para segregação

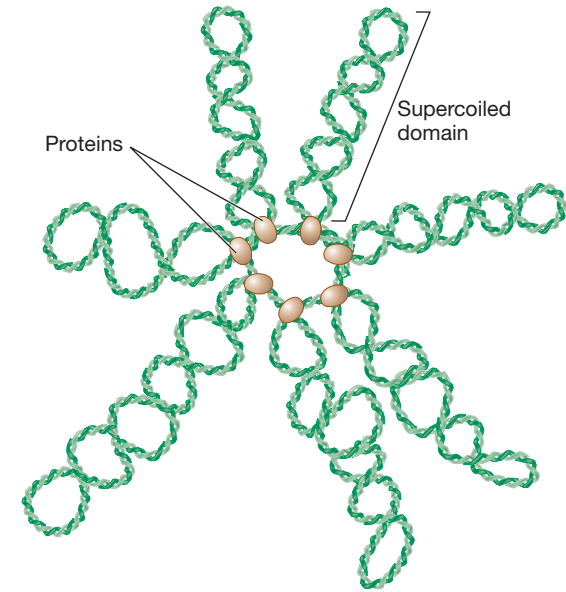


DNA: cromossomos em eucariotos

DNA nuclear: na maioria dos casos, **linear** e composto de várias moléculas



DNA: cromossomos



(d) Chromosomal DNA with supercoiled domains

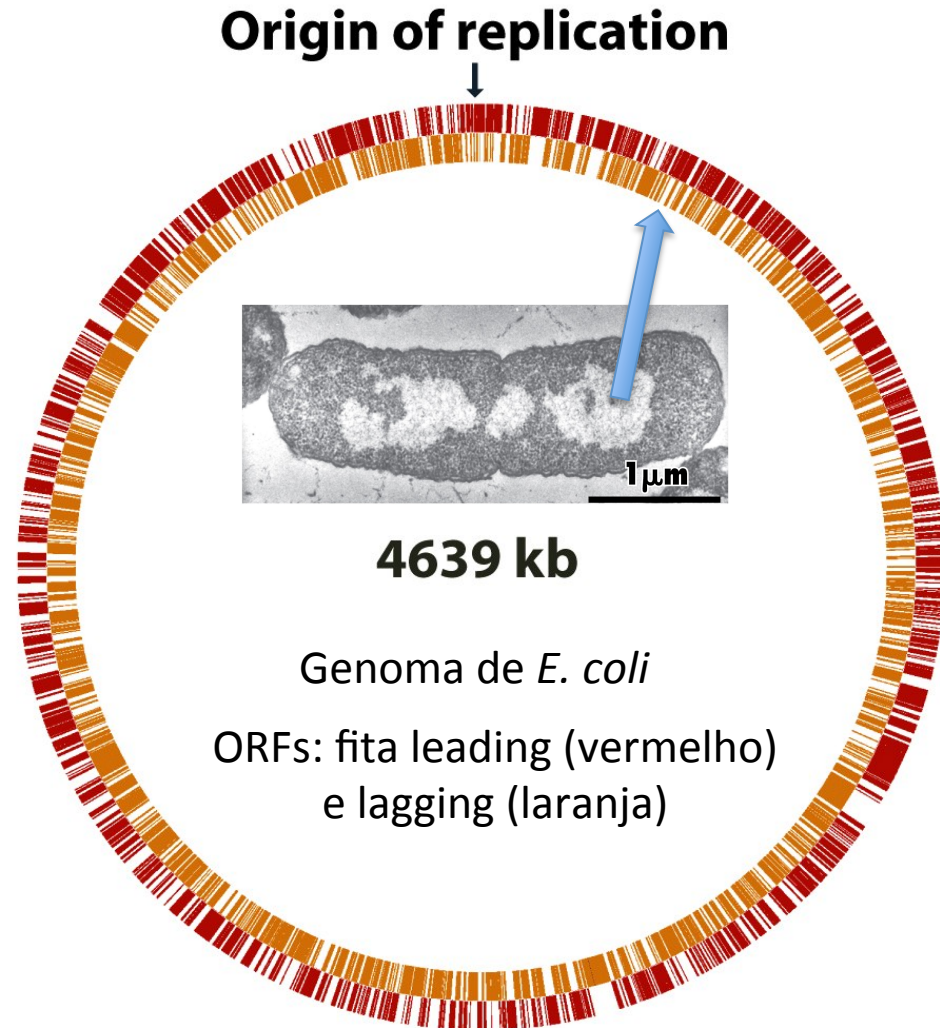
Procarotos

- Cromossomos lineares ou circulares (maioria)
- Organizados e compactados

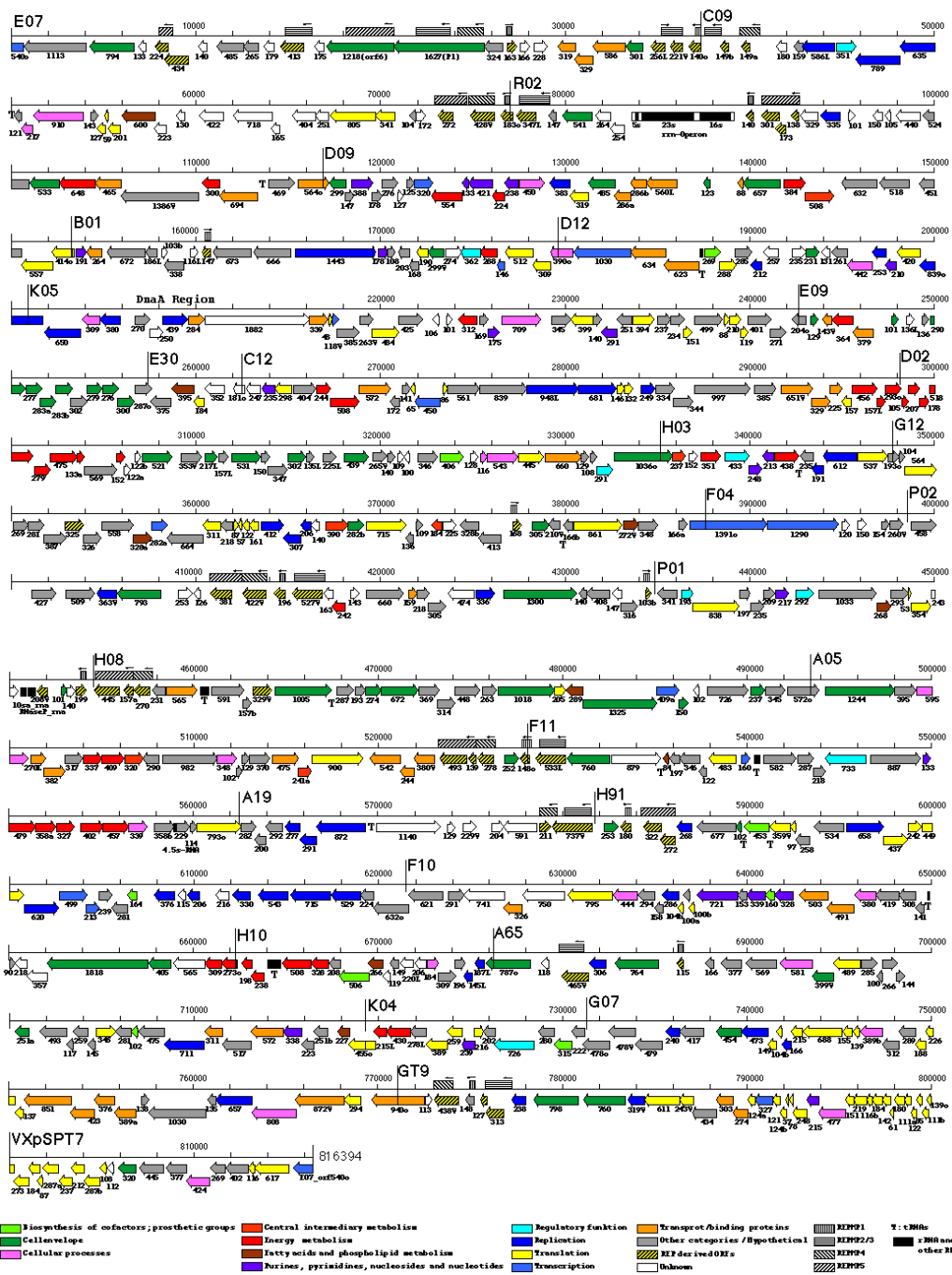
Cromossomos de procariotos

>gi|49175990|ref|NC_000913.2| Escherichia coli str. K-12 substr. MG1655,
complete genome

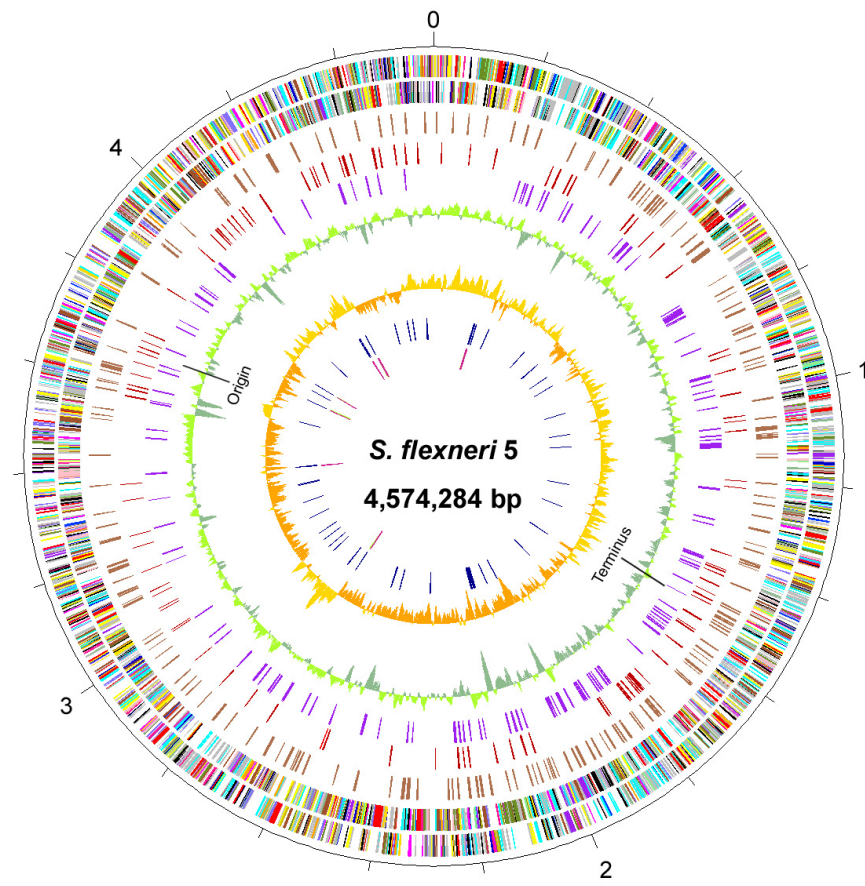
```
AGCTTTTCATTCTGACTGCAACGGGCAATATGTCTCTGTGTGGATTAAAAAAGAGTGTCT
GATAGCAGCTTCTGAACGGTTACCTGCCGTGAGTAAATTTAAATTTTATTGACTTAGGTC
ACTAAATACTTTAACCAATATAGGCATAGCGCACAGACAGATAAAAAATTACAGAGTACACA
ACATCCATGAAACGCATTAGCACCACCATTACCACCACCATCACCATTACCACAGGTAACG
GTGCGGGCTGACGCGTACAGGAAACACAGAAAAAGCCCGCACCTGACAGTGCGGGCTTTT
TTTTTCGACCAAAGGTAACGAGGTAACAACCATGCGAGTGTGAAAGTTCGGCGGTACATCA
GTGGCAAATGCAGAACGTTTTCTGCGTGTGCGGATATTCTGGAAAAGCAATGCCAGGCAGG
GGCAGGTGGCCACCGTCTCTCTGCCCGCCAAAATCACCACACCTGGTGGCGATGAT
TGAAAAAACATTAGCGGCCAGGATGCTTTACCAATATCAGCGATGCCGAACGATTTTTT
GCCGAACTTTTGACGGGACTCGCCGCCGCCAGCCGGGGTCCCGCTGGCGCAATTGAAAA
CTTTTCGTCGATCAGGAATTTGCCCAAATAAAACATGTCTGCATGGCATTAGTTTGTGGG
GCAGTGGCCGATAGCATCAACGCTGCGCTGATTTGCCGTGGCGAGAAAATGTCGATCGCC
ATTATGGCCGCGTATTAGAAGCGCGCGGTACAACGTTACTGTTATCGATCCGGTCGAAA
AACTGCTGGCAGTGGGGCATTACCTCGAATCTACCGTCGATATTGCTGAGTCCACCCGCG
TATTGCGGCAAGCCGATTCCGGCTGATCACATGGTGCTGATGGCAGGTTTACCGCCGGT
AATGAAAAAGCGAAGTGGTGGTGCTTGGACGCAACGTTCCGACTACTCTGCTGCGGTGC
TGGCTGCCTGTTTACGCGCCGATTGTTGCGAGATTTGGACGGACGTTGACGGGGTCTATAC
CTGCGACCCGCGTCAGGTGCCCGATGCGAGGTTGTTGAAGTCGATGTCCTACCAGGAAGCG
ATGGAGCTTTCCTACTTCGCGCTAAAGTCTTCAACCCCGCACCATTACCCCATCGCC
AGTTCAGATCCCTTGCCTGATTAATAATACCGGAAATCCTCAAGCACCAGGTACGCTCAT
TGGTGCCAGCCGTGATGAAGACGAATTACCGGTCAAGGGCATTCCAATCTGAATAACATG
GCAATGTTACGCGTTTTCTGGTCCGGGGATGAAAGGGATGGTCCGCATGGCGGCGCGCTCT
TTGCAGCGATGTCACGCGCCGATTTTCCGTGGTGCTGATTACGCAATCATCTTCCGAATA
CAGCATCAGTTTCTGCGTTCACAAAGCGACTGTGTGCGAGCTGAACGGGCAATGCAGGAA
GAGTTCTACCTGGAAGTAAAGAAAGGCTTACTGGAGCCGCTGGCAGTGACGGAACGGCTGG
CCATTATCTCGGTGGTAGGTGATGGTATGCGCACCTTGCCTGGGATCTCGGCGAAATCTT
TGCCGCACTGGCCCGCGCAATATCAACATTGTCGCCATTGCTCAGGGATCTTCTGAACGC
TCAATCTCTGTCGTGGTAAATAACGATGATGCGACCACTGGCGTGCAGGTTACTCATCAGA
TGCTGTTCAATACCGATCAGGTTATCGAAGTGTGTTGATTGGCGTCGGTGGCGTTGGCGG
TGCGCTGCTGGAGCAACTGAAGCGTCAGCAAAGCTGGCTGAAGAATAAACATATCGACTTA
CGTGTCTGCGGTGTTGCCAACTCGAAGGCTCTGCTACCAATGTACATGGCCTTAATCTGG
AAAACCTGGCAGGAAGAAGTGGCGCAAGCCAAAGAGCCGTTTAACTCGGGCGCTTAATTCG
CCTCGTGA...
```



Gene Map of the *Mycoplasma pneumoniae* Genome



Genomas completos: exemplos



Complete genome sequence of *Shigella flexneri* 5b and comparison with *Shigella flexneri* 2a. BMC Genomics (2006) 7:173

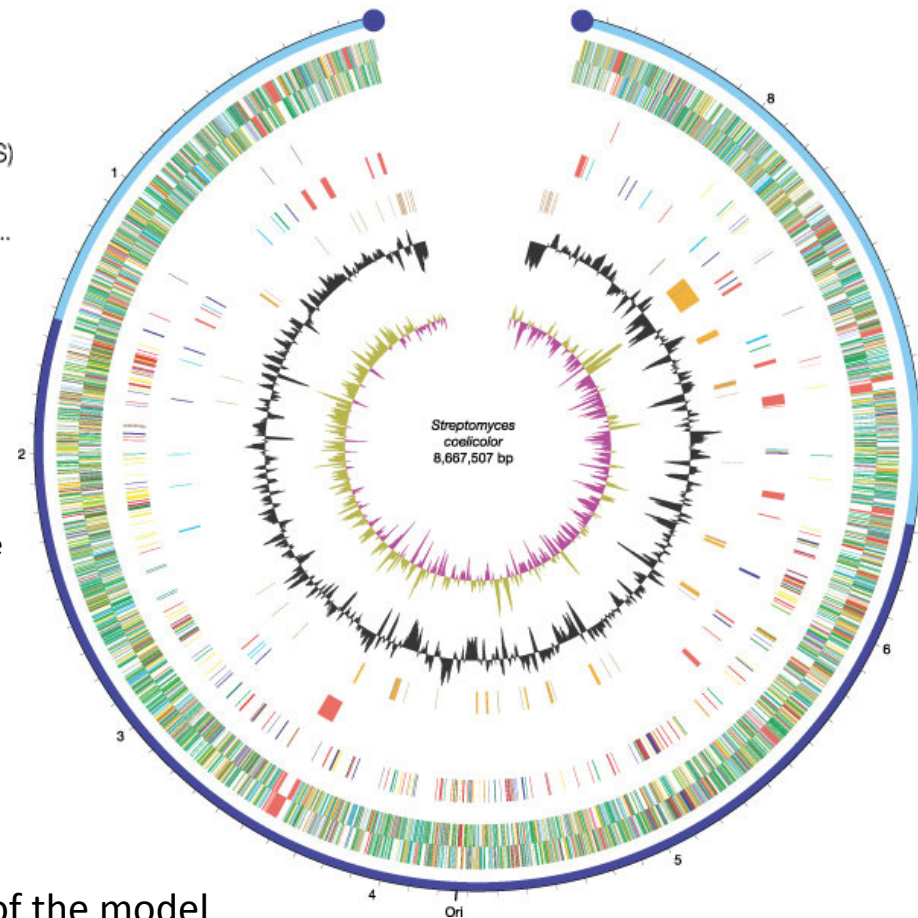
Streptomyces

<https://www.kegg.jp>

Table 1 General features of the chromosome

Component of chromosome	Property
Total size	8,667,507 bp
Terminal inverted repeat	21,653 bp
G + C content	72.12%
Coding sequences	7,825
...of which pseudogenes	55
Coding density	88.9%
Average gene length	991 bp
Ribosomal RNAs	6 × (16S–23S–5S)
Transfer RNAs	63
Other stable RNAs	3

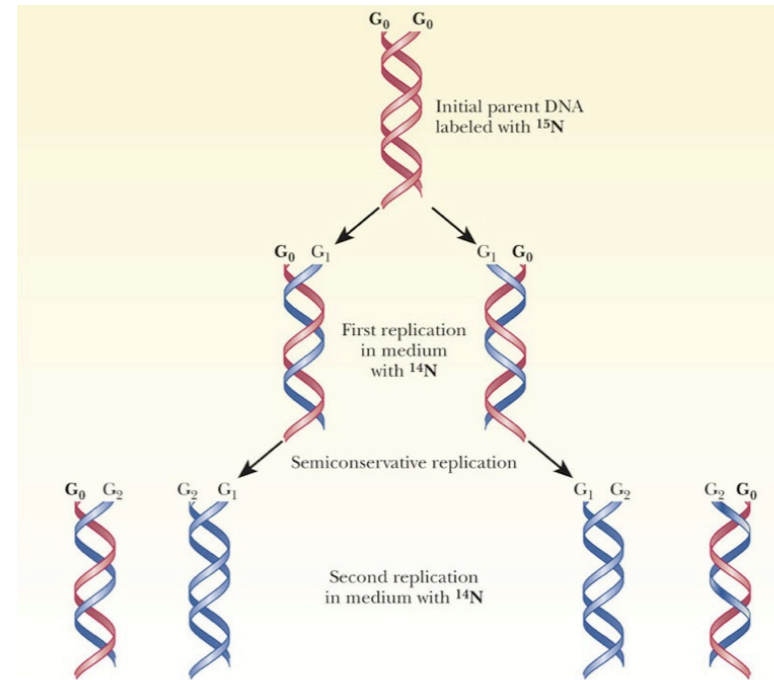
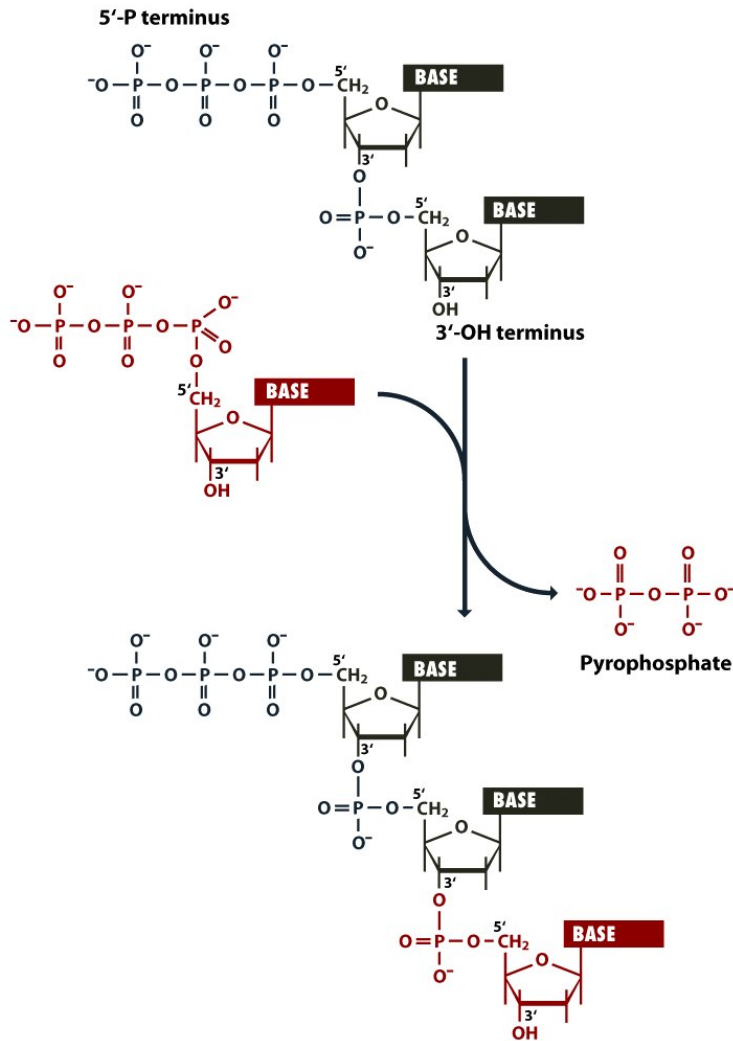
The outer scale is numbered anticlockwise (to correspond with a previously published map) in megabases and indicates the core (dark blue) and arm (light blue) regions of the chromosome. Circles 1 and 2 (from the outside in), all genes (reverse and forward strand, respectively) colour-coded by function (black, energy metabolism; red, information transfer and secondary metabolism; dark green, surface associated; cyan, degradation of large molecules; magenta, degradation of small molecules; yellow, central or intermediary metabolism; pale blue, regulators; orange, conserved hypothetical; brown, pseudogenes; pale green, unknown; grey, miscellaneous); circle 3, selected 'essential' genes (for cell division, DNA replication, transcription, translation and amino-acid biosynthesis, colour coding as for circles 1 and 2); circle 4, selected 'contingency' genes (red, secondary metabolism; pale blue, exoenzymes; dark blue, conservon; green, gas vesicle proteins); circle 5, mobile elements (brown, transposases; orange, putative laterally acquired genes); circle 6, G + C content; circle 7, GC bias ((G - C/G + C), khaki indicates values >1, purple <1). The origin of replication (Ori) and terminal protein (blue circles) are also indicated.



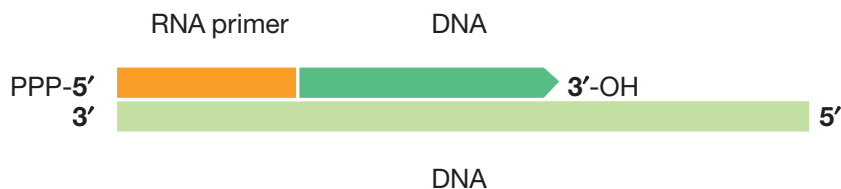
Bentley, S.D. et al. (2002) Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417, 141–7.

Replicação, reparo e recombinação

DNA: replicação

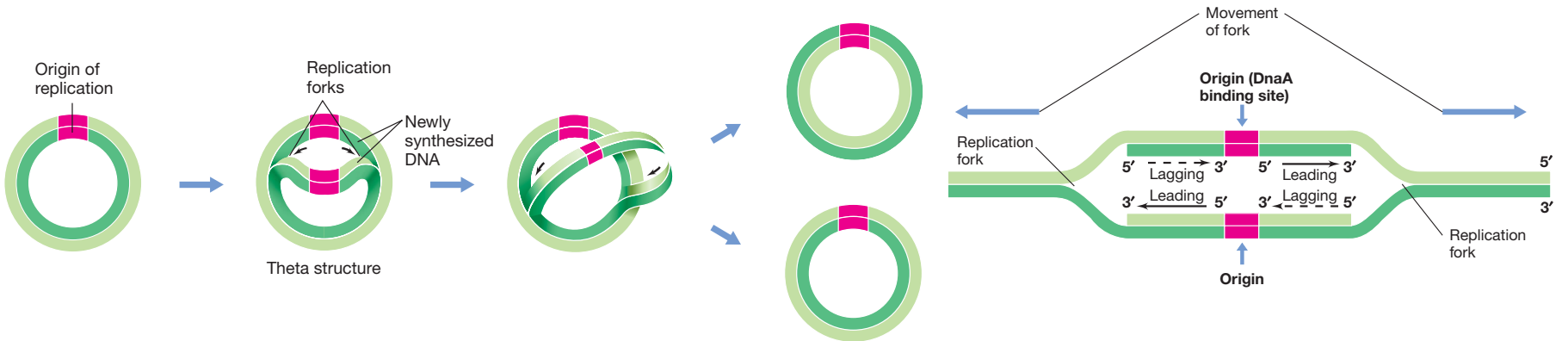
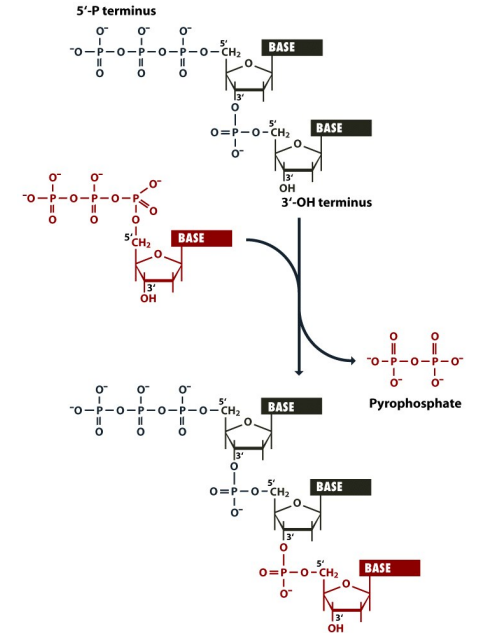
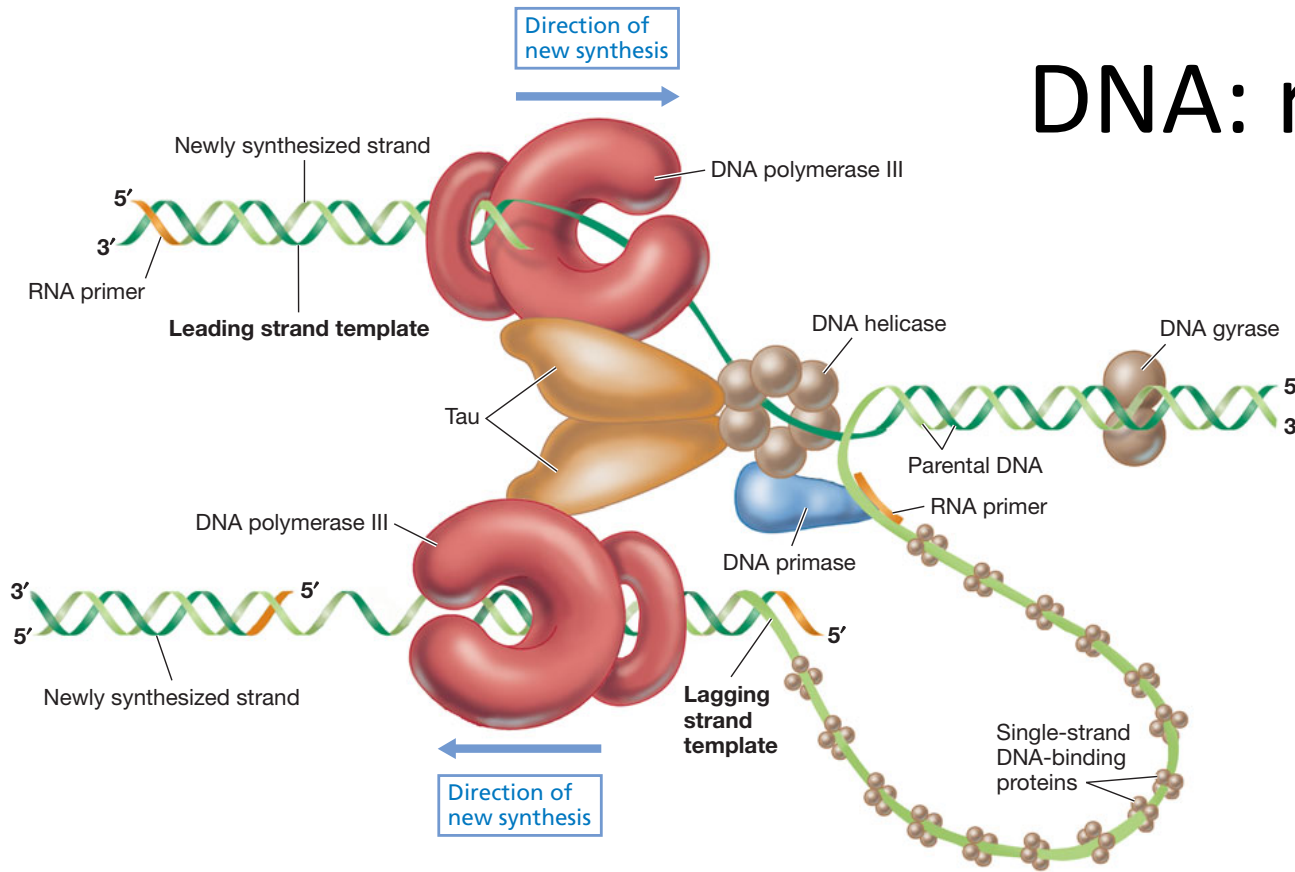


Como proposto por Watson & Crick, a replicação do DNA é **semi-conservativa**



A síntese da nova fita complementar (verde escuro) é iniciada com o pareamento de um **primer**

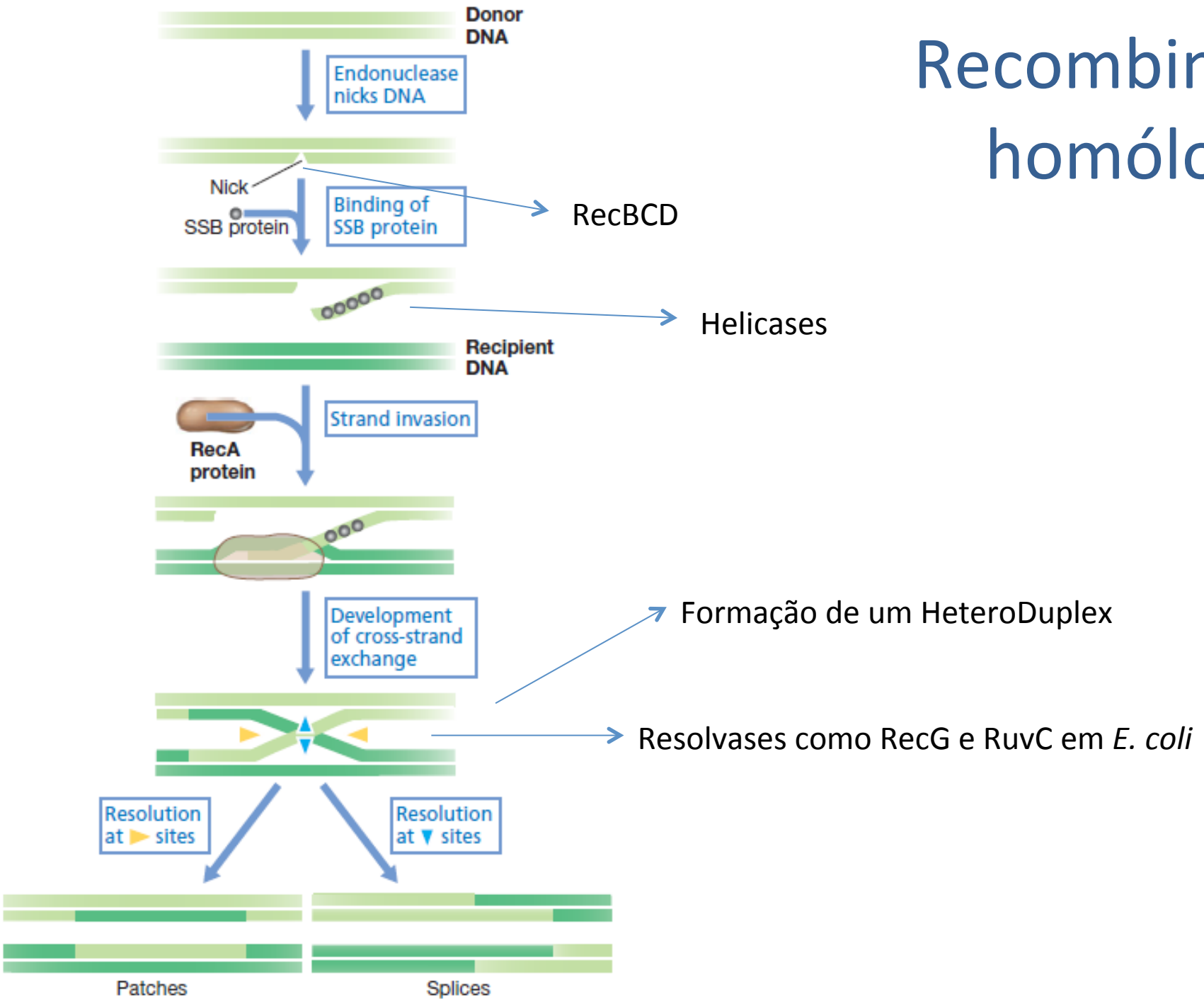
DNA: replicação



Sistemas de Reparo de DNA

- Mutação é uma alteração hereditária
- DNA danificado pode ser reparado
- Vários sistemas de Reparo de DNA **livre de erros**
 - Reparos de Danos em Fita Simples
 - DNA fita simples é removido
 - Reparo por excisão de nucleotídeo e Pareamento incorreto
 - Pequeno fragmento de DNA fita simples é removido.
 - Dano em Fita Dupla, como ligações cruzadas, clivagem nas duas fitas
 - Reparadas por mecanismo de recombinação que podem gerar erros
- Alguns processos são propensos a erros
 - Exemplo: Sistema SOS
 - Podem introduzir mutações

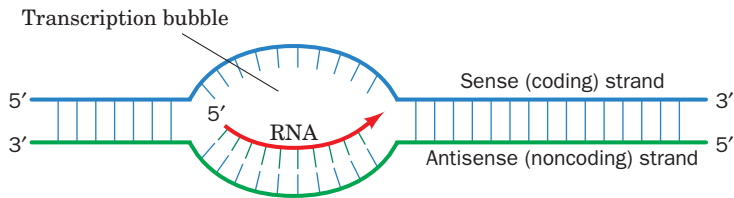
Recombinação homóloga



Estrutura dos genes em procariotos

Síntese de RNA: transcrição

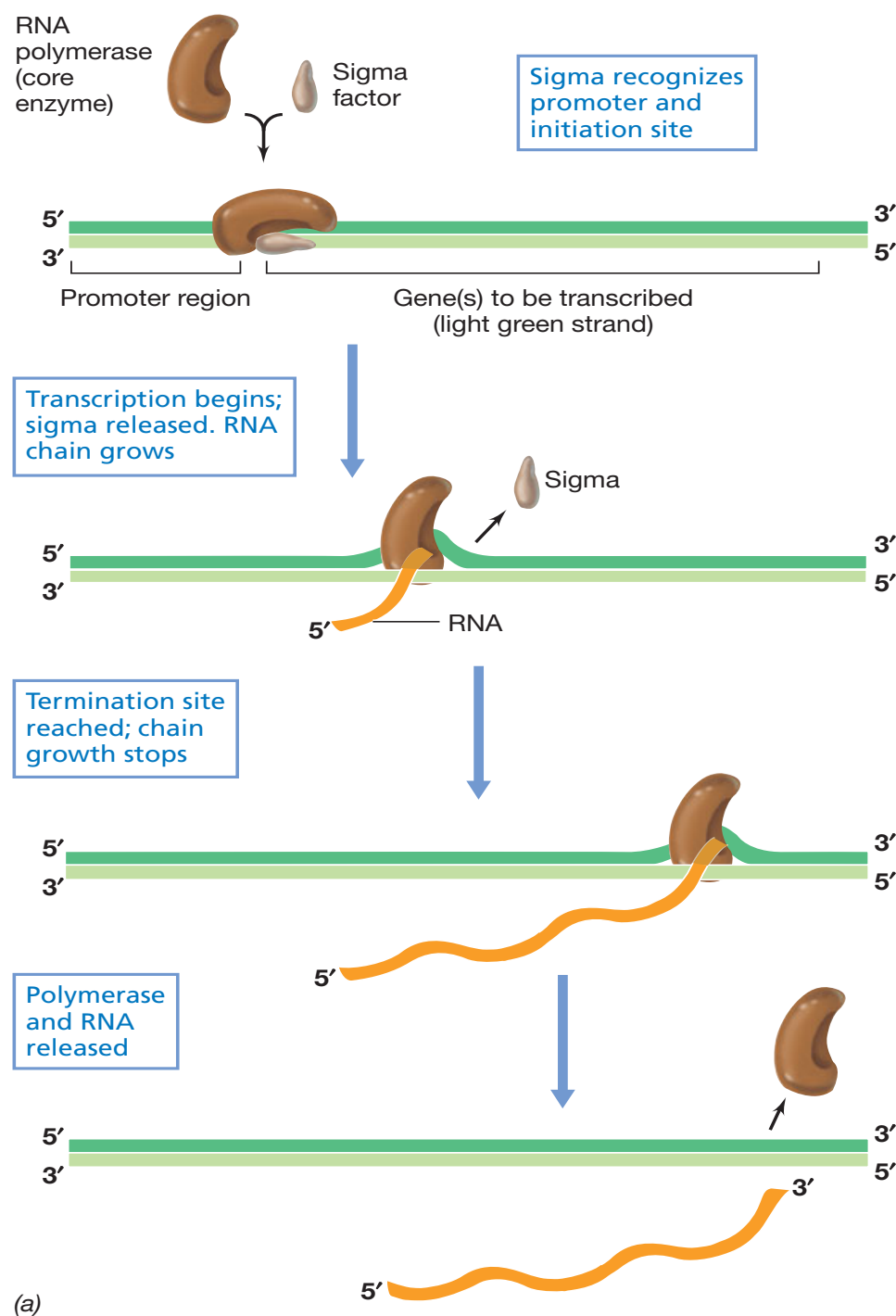
Como a replicação, também procede apenas no sentido 5' -> 3'



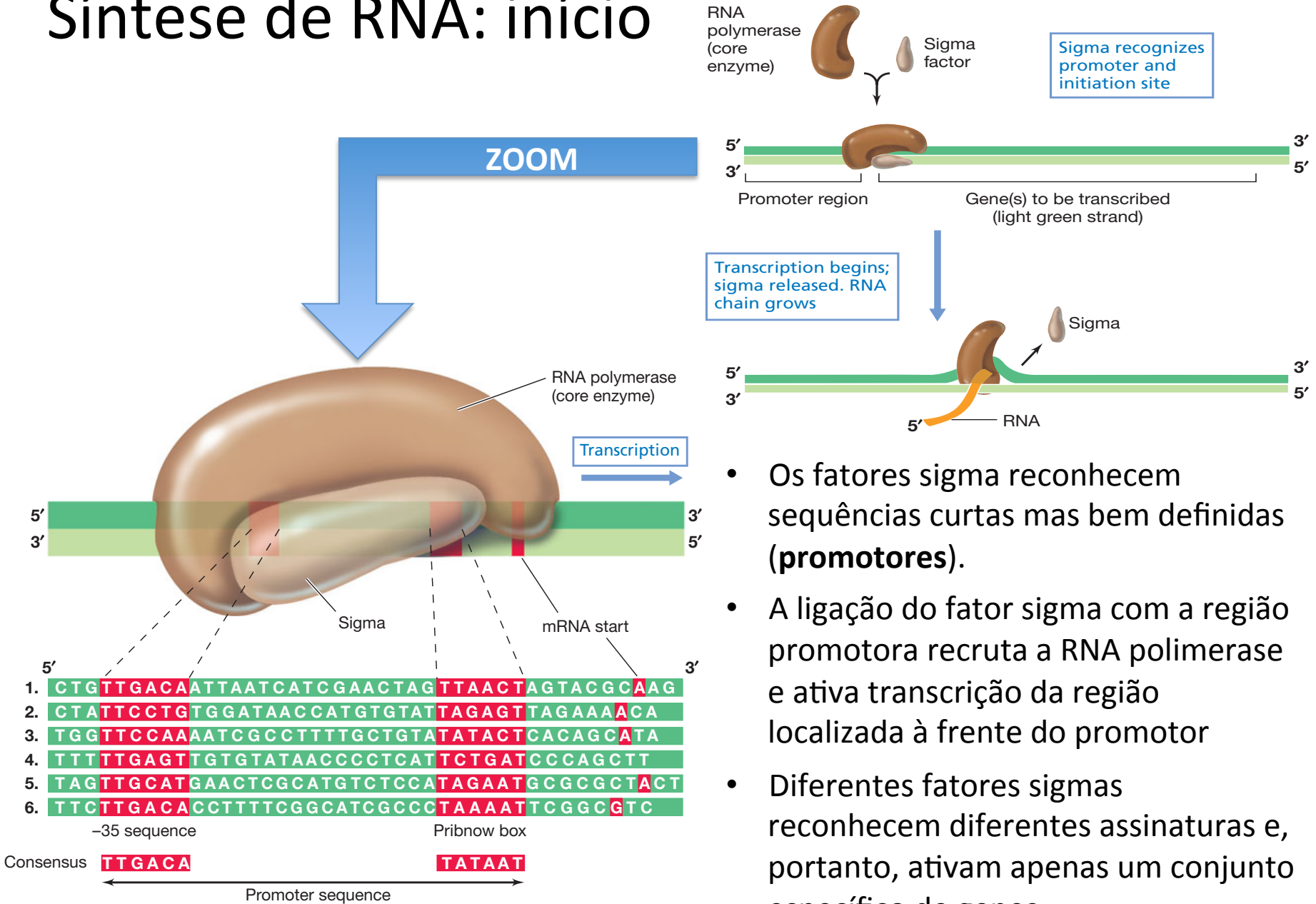
Unidade de transcrição

Segmento contínuo do genoma (*locus*) que inclui

- Regiões regulatórias
 - Início (região promotora)
 - Término (terminadores)
- Região transcrita
 - Procariotos: um mRNA
 - Eucariotos: um ou mais mRNAs

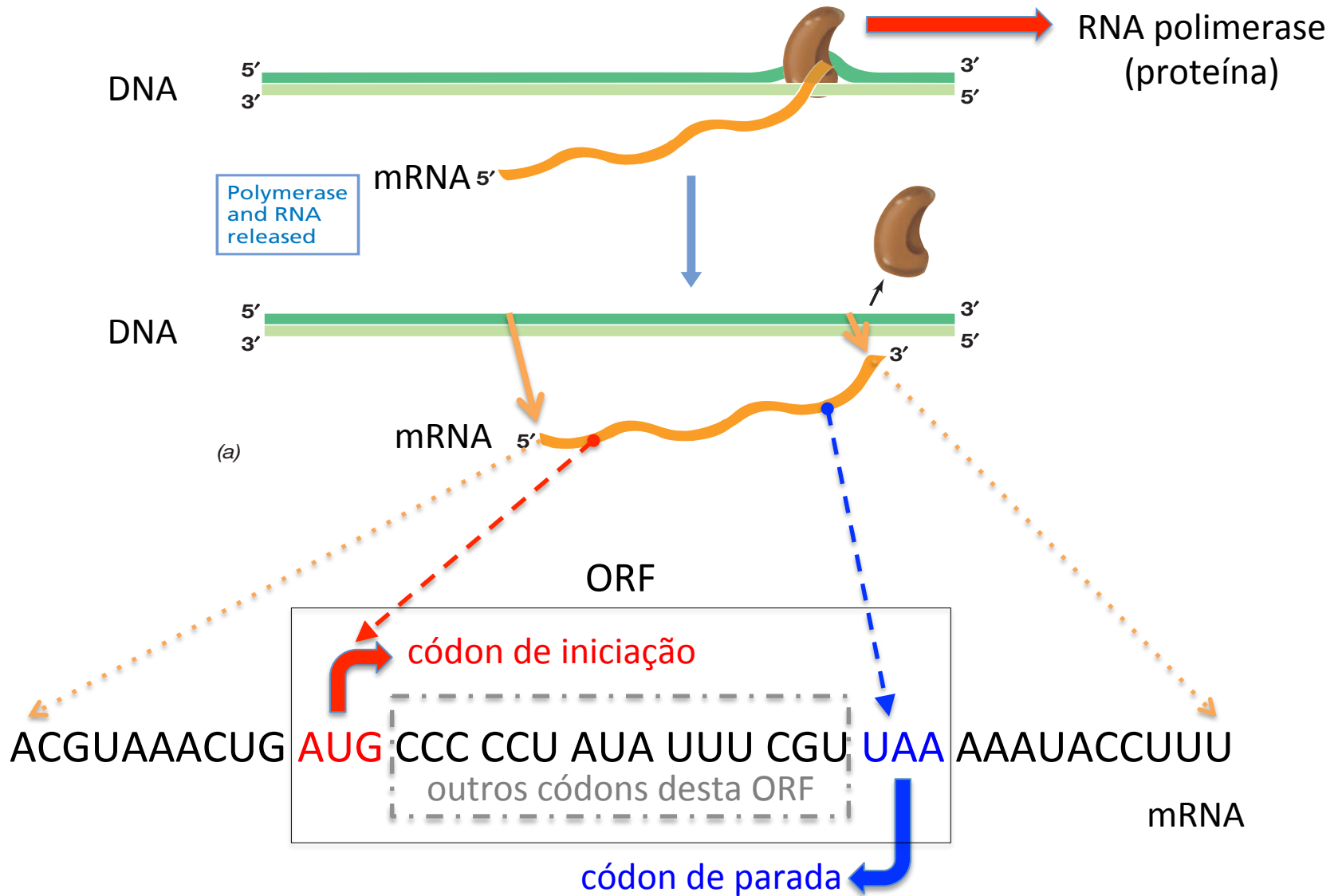


Síntese de RNA: início



- Os fatores sigma reconhecem seqüências curtas mas bem definidas (**promotores**).
- A ligação do fator sigma com a região promotora recruta a RNA polimerase e ativa transcrição da região localizada à frente do promotor
- Diferentes fatores sigmas reconhecem diferentes assinaturas e, portanto, ativam apenas um conjunto específico de genes

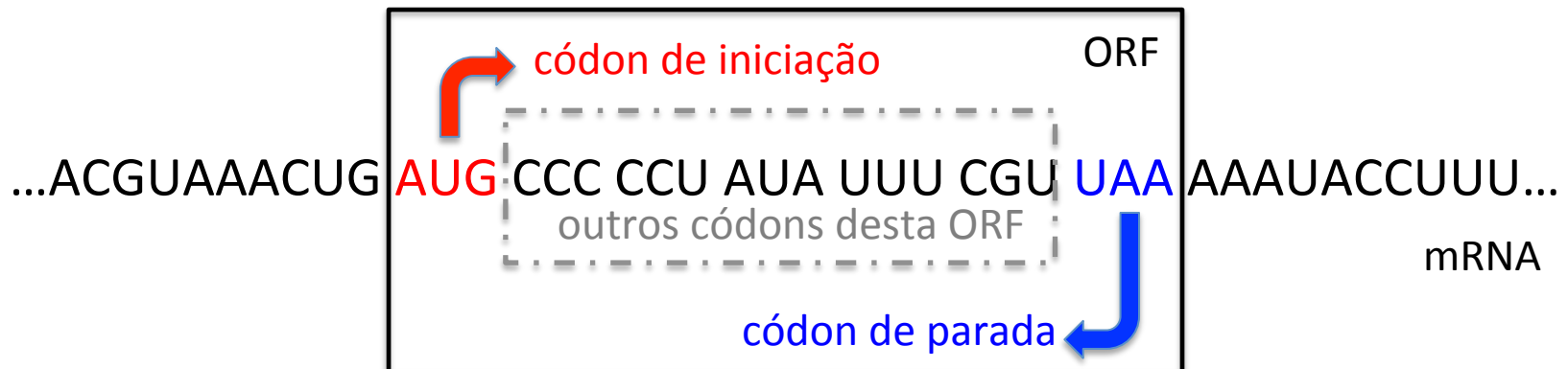
Fase aberta de leitura



Fase aberta de leitura

“Open reading frame” ou ORF

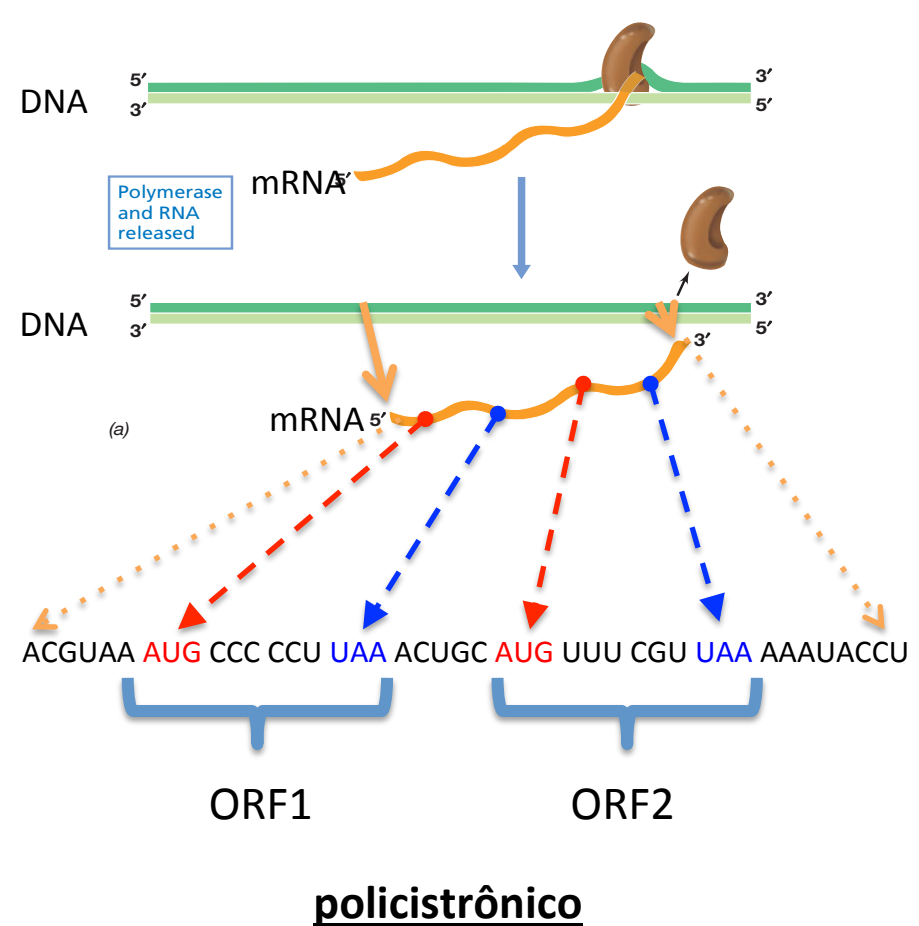
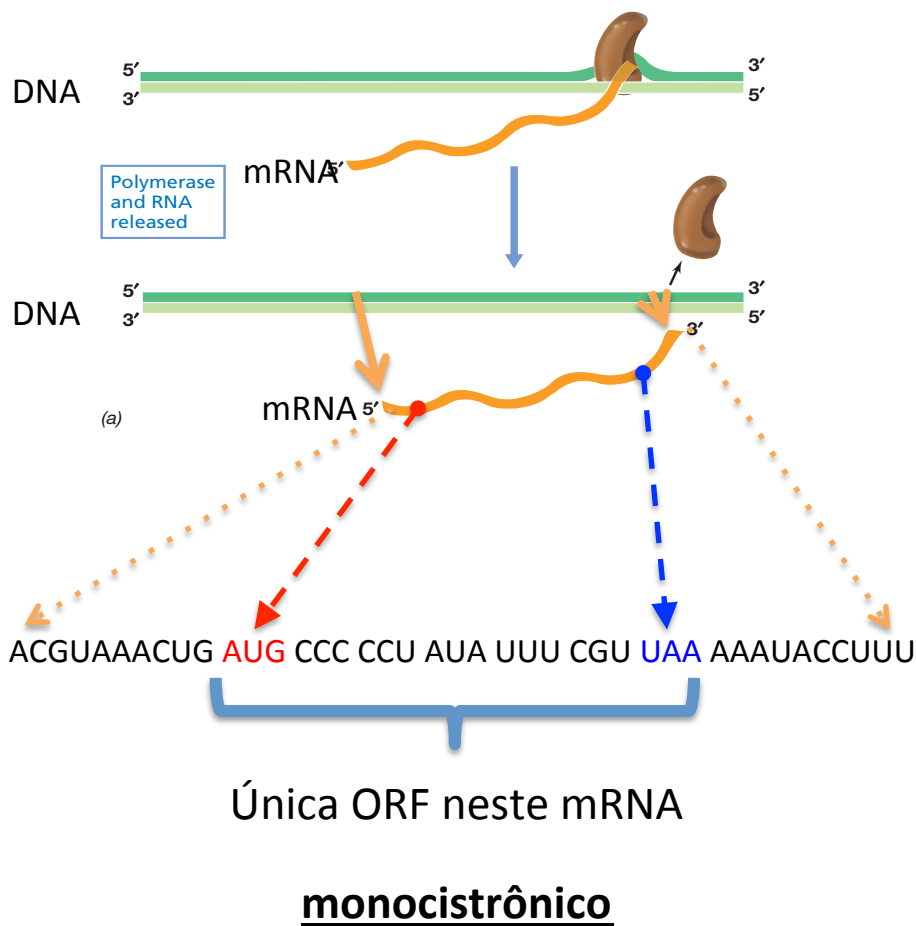
- **Definição:** uma fase aberta de leitura é a sequência de códonos em uma molécula mRNA que determina os aminoácidos de uma única proteína.
- ORFs são compostas por um **códon de iniciação** e um **códon de parada**, e todos os códonos intermediários (ver próximos slides).



- Com exceção do **códon de parada**, cada um dos códonos de uma ORF corresponde, exatamente, a um aminoácido da proteína codificada

Genomas de procaríotos: operons

Em procaríotos, uma única molécula de mRNA pode conter uma ou mais ORFs

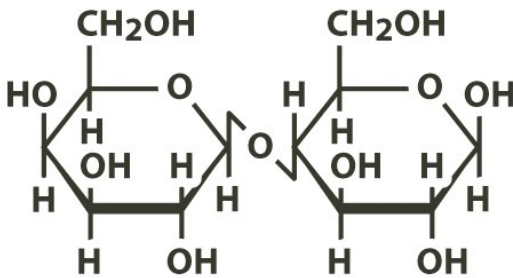
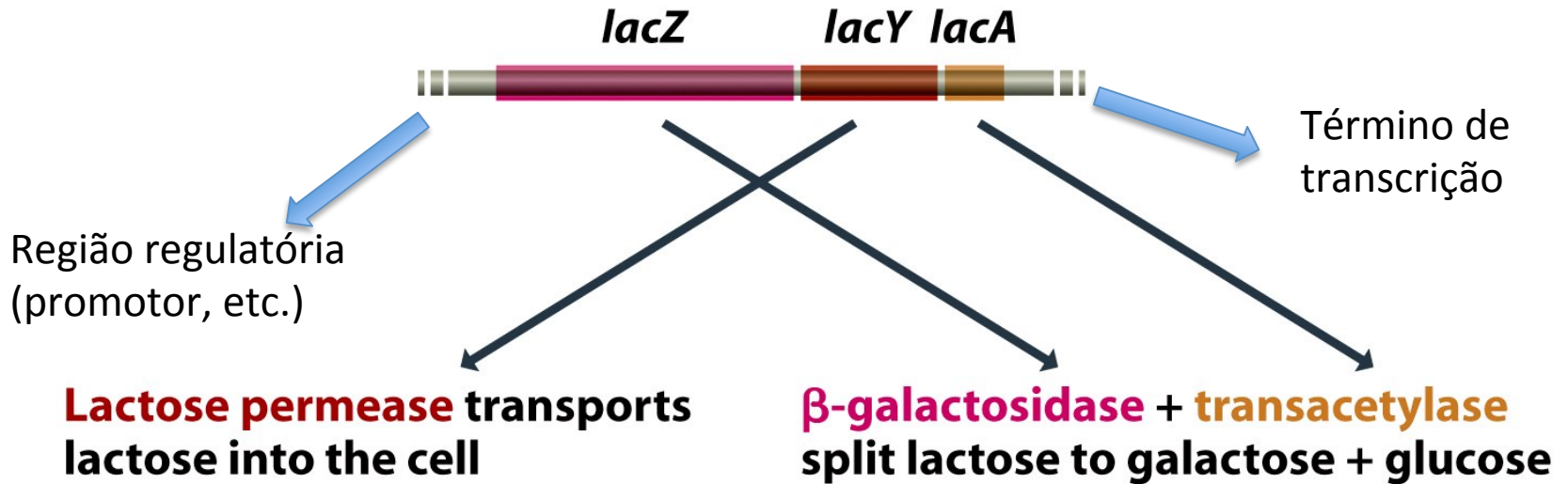


Definição: operon é um conjunto de genes vizinhos, codificantes ou não, transcritos em uma única molécula de mRNA policistrônico.

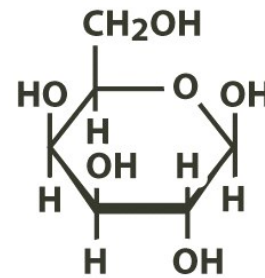
Genomas de procariotos: operons

Lactose operon

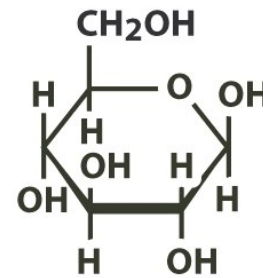
1 kb



Lactose



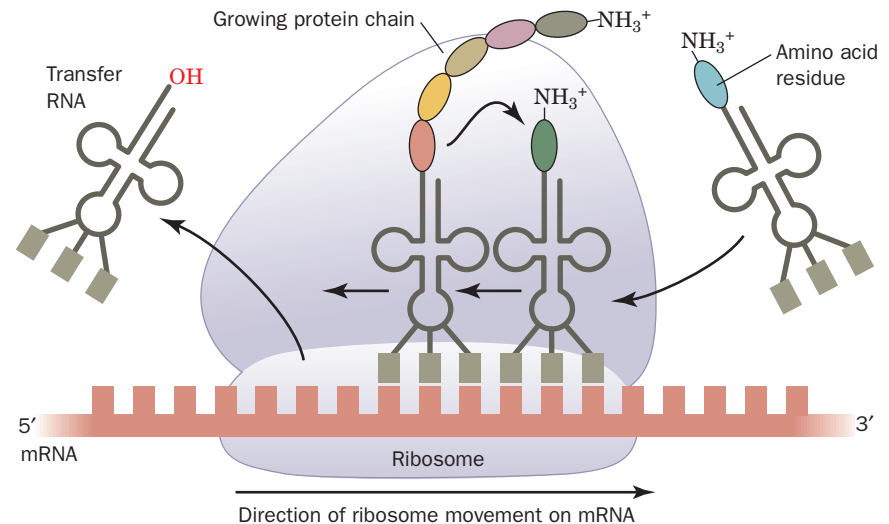
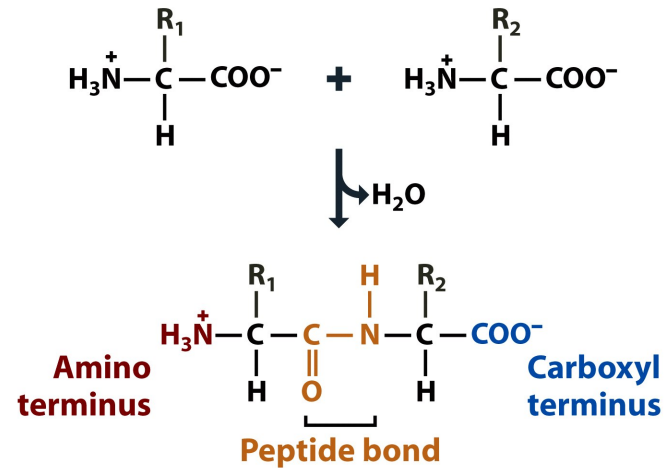
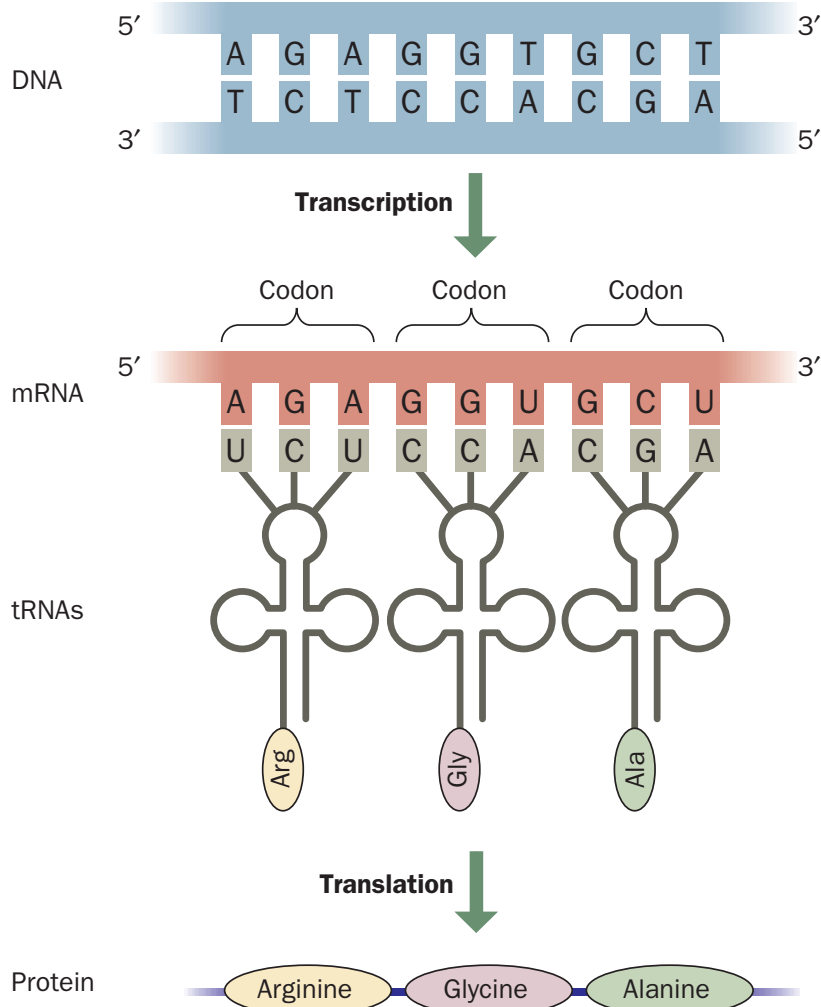
Galactose



Glucose

Síntese de Proteínas: tradução

Tradução – síntese protéica

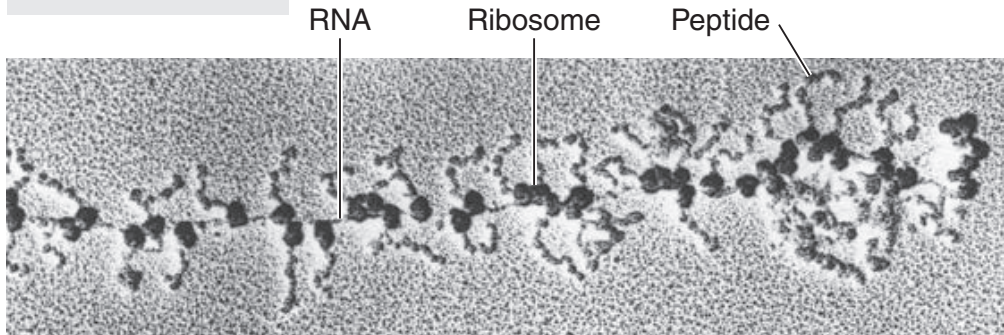
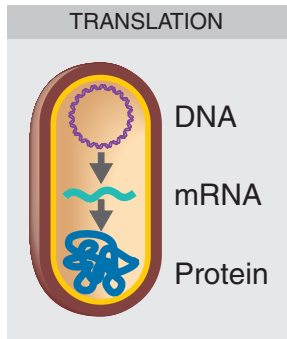


Tradução: o verdadeiro código genético

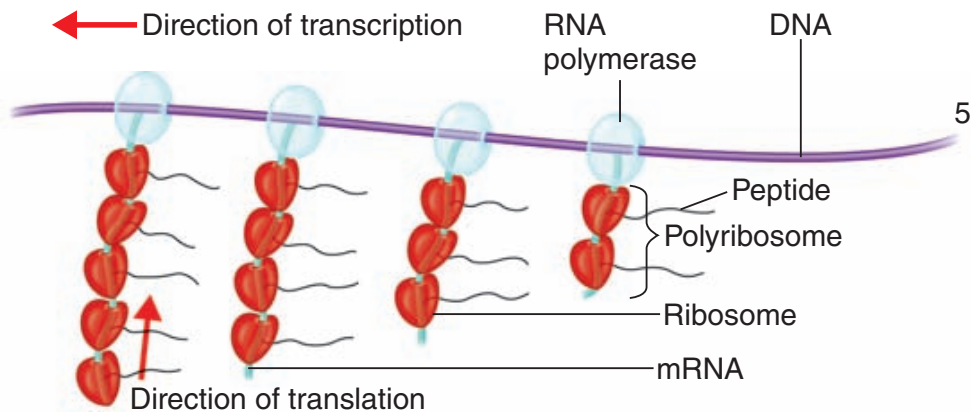
Códon: sequência de três nucleotídeos que codifica um único aminoácido

		Second Position					
		U	C	A	G		
First Position	U	UUU	UCU UCC UCA UCG	UAU	UGU UGC UGA UGG	U C A G	
		UUC		Tyr / Y			Cys / C
		UUA		STOP			STOP
		UUG		STOP			Trp / W
	C	CUU	CCU CCC CCA CCG	CAU	CGU CGC CGA CGG	U C A G	
		CUC		His / H			Arg / R
		CUA		Gln / Q			
		CUG					
	A	AUU	ACU ACC ACA ACG	AAU	AGU AGC AGA AGG	U C A G	
		AUC		Asn / N			Ser / S
		AUA		Lys / K			Arg / R
		AUG		Met / M			
	G	GUU	GCU GCC GCA GCG	GAU	GGU GGC GGA GGG	U C A G	
		GUC		Asp / D			Gly / G
		GUA		Glu / E			
		GUG					

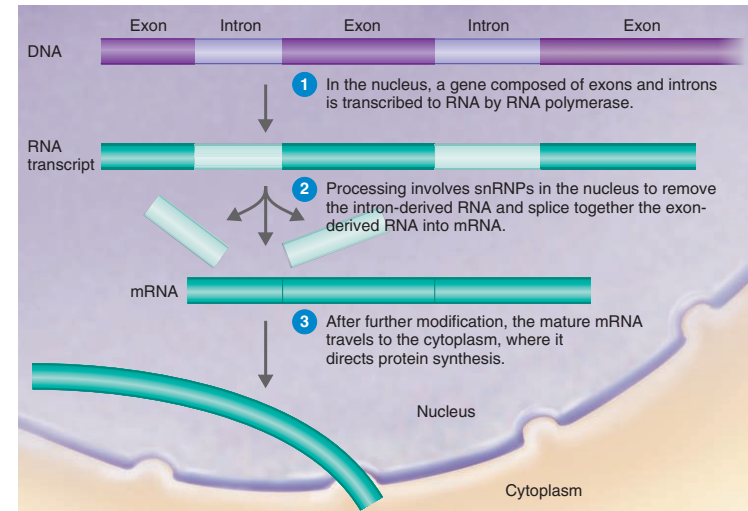
Tradução simultânea em procariotos



TEM 80 nm



Eucariotos



Já em eucariotos, a transcrição ocorre no núcleo mas a tradução ocorre no citoplasma e etapas adicionais de processamento do mRNA (“splicing”) são executadas antes da tradução.

Algumas propriedades dos operons

- Genes de uma mesma via metabólica muitas vezes formam operons no genoma de bactérias
- Agregam genes com funções relacionadas em operons permite que um único promotor regule a expressão de vários genes, garantindo quantidades adequadas dos produtos gênicos (proteínas)
- Como não têm núcleo, as bactérias podem executar transcrição e tradução simultaneamente, no mesmo compartimento. Isso permite aos genes em operons acoplar os processos de transcrição, tradução e formação de complexos, resultando em maior eficiência

Perguntas

- O que são ORFs (fases abertas de leitura)?
- O que são operons?
- O que é genoma?
- A síntese de nucleotídeos ocorre sempre em um único sentido, seja síntese de DNA ou RNA. Que sentido é esse? Mostre as posições no anel da ribose.

Origens da diversidade genética

Mutação e evolução



Mutação



Evolução

Evolução darwiniana

- Teoria da evolução de Darwin
 - As espécies/variedades de organismos vivos mudam com o tempo
 - As mudanças podem gerar variedades diferentes de organismos
 - A origem da variação (**mutação**) entre os organismos de uma população é aleatória e independe dos processos de seleção (abaixo)
 - O sucesso reprodutivo dos organismos mais aptos numa população levam à fixação de características vantajosas (ou seja, a **adaptação** pode ser explicada pelo processo de **seleção natural**)

Mutação

- Nomenclatura
- Técnicas de isolamento de mutantes
- Tipos de mutações

Mutação

- **Definição**

Mutação é uma alteração na sequência de bases de um gene que não altera a composição química do DNA e que, pelo menos em princípio, ser transmitida aos descendentes (hereditária).

- Difere dos danos no DNA, que por impedirem a replicação, não podem ser transmitidos
- Muitas das mutações, porém, surgem a partir do reparo de danos no DNA corrigidos por mecanismos de reparo propensos a erro

Vocabulário de genética bacteriana

	Termo	Definição
Linhagem	Selvagem	Linhagem de referência, isolada e mantida em laboratório
	Mutante	Fenótipo diferente do selvagem parental

- **Mutante**

Linhagem geneticamente diferente da selvagem mas cuja origem pode ser traçada até uma linhagem de referência

- **Marcadores**

Um ou mais **genes** cujas mutações podem ser monitoradas por gerarem **fenótipos identificáveis**

Vocabulário de genética bacteriana

Nomenclatura das mutações / mutantes			
Tipo de alteração	Exemplo	Categoria	Definição
Selvagem	wt	selvagem	referência
Fenotípicas	His ⁺	selvagem	Posso fazer minha própria histidina
	His ⁻	auxotrófico	Tenho que comer histidina pra viver
	Lac ⁺	selvagem	Posso comer lactose
	Lac ⁻		Não como lactose
Genotípicas	Δ hisC1	auxotrófico	His ⁻ porque o gene hisC1 não funciona
	Δ hisC2	auxotrófico	His ⁻ porque o gene hisC2 não funciona

Isolamento de Mutantes

- **Mutações selecionáveis**

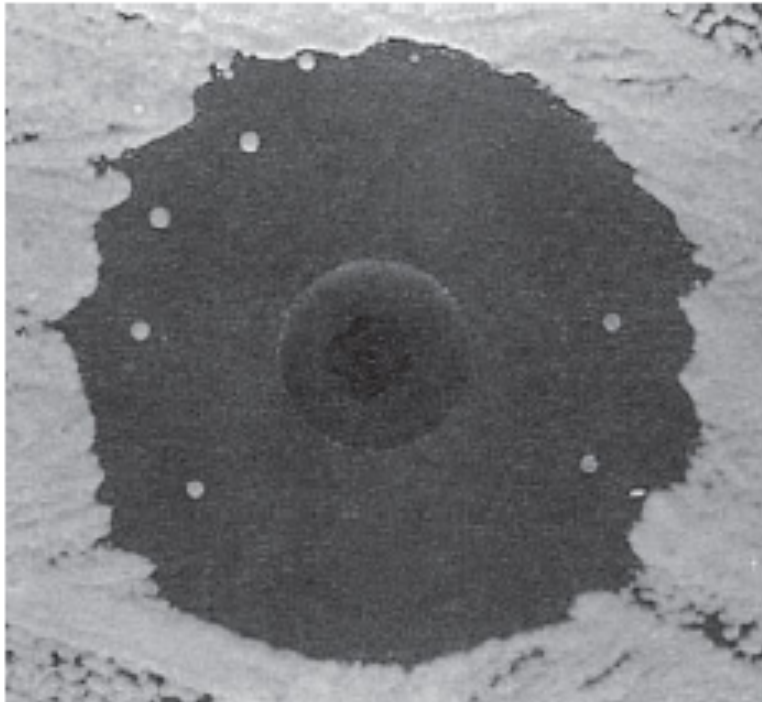
- Mutações com efeito direto na capacidade de sobrevivência do organismo nas condições testadas
- Exemplos: resistência a antibióticos, ganho/perda da capacidade de sintetizar metabólitos e nutrientes
- Organismos não-resistentes podem ser selecionado por meio com antibiótico

- **Mutações não-selecionáveis**

- Produzem efeito fenotípico de fácil observação mas sem valor para a sobrevivência do organismo
- Isolamento só pode ser feito pela observação visual

Isolamento de Mutantes

Mutante Seleccionável



Disco central com antibiótico

Mutante Não-Seleccionável

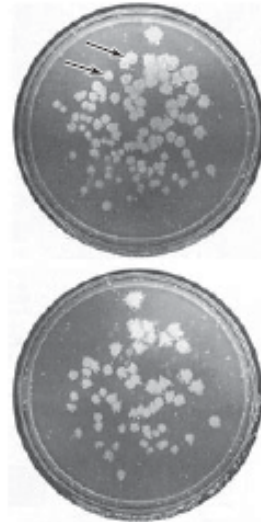
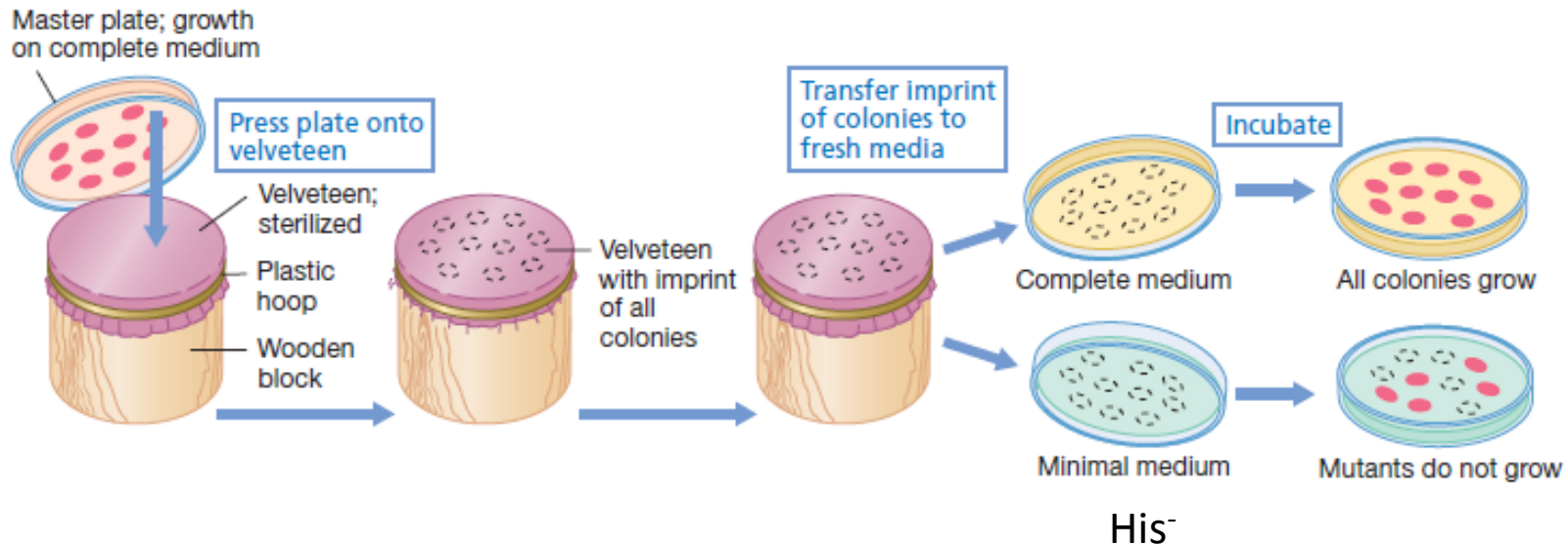


Fungos *Aspergillus nidulans*
Variação na pigmentação

Processo de Varredura de Auxotróficos Nutricionais

Problema: selecionar uma **deficiência**

Técnica de Plaqueamento de Réplica



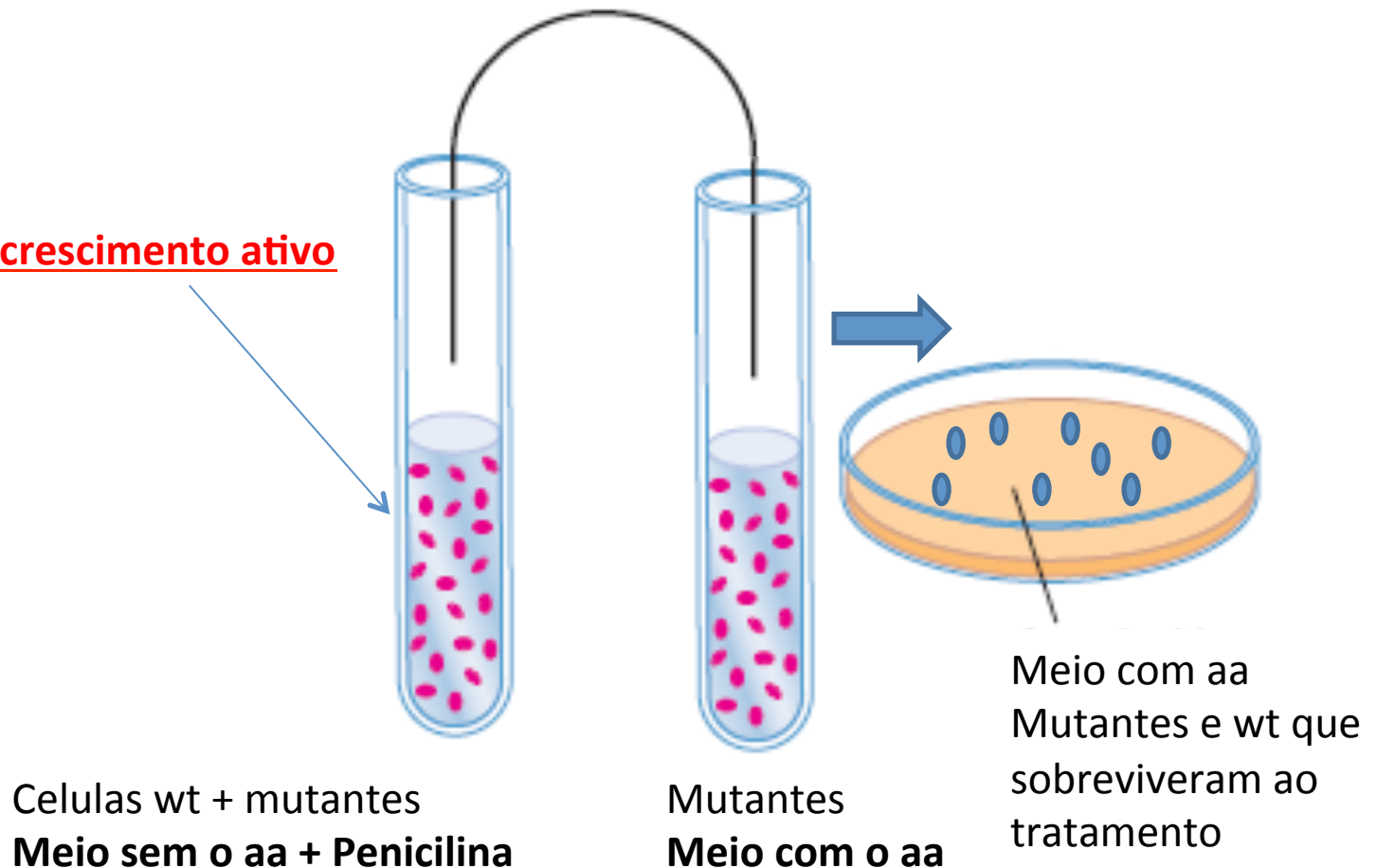
Problema: selecionar uma **deficiência**

Processo de Varredura de Auxotróficos Nutricionais

Problema: selecionar uma **deficiência**

Células Parentais (**wt**) são mortas porque podem crescer sem o aminoácido

Penicilina:
Mata células em crescimento ativo



Mutagênese

- **Espontâneas**

- Causadas por erros do sistema de replicação
- Muito raras nos genomas baseados em DNA
- Ocorrem com frequência 1000x maior em genomas de RNA

- **Induzidas**

- Provocadas por agentes químicos ou físicos externos à célula

Agentes químicos mutagênicos

Análogos de bases

5-Bromouracil	Incorporada como timina; par com guanina (G)	AT => GC, às vezes GC => AT
2-Aminopurine	Incorporada como adenina, par com citosina (C)	AT => GC, às vezes GC => AT

Compostos que reagem com o DNA

Ácido nitroso (HNO ₂)	Deamina adenina e citosina	AT => GC e GC => AT
Hydroxylamine (NH ₂ OH)	Reage com citosinas	GC => AT

Agentes alquilantes

<u>Monofuncional:</u> etil-metanosulfonato	Adiciona grupos metil à guanina; pareamento com timina	GC => AT
<u>Bifuncionais:</u> mitomicina, nitrosoguanidina	Ligações cruzadas entre as fitas do DNA; região danificada removida pela DNase	Mutações de ponto e deleções

Corantes intercalantes

Acridinas, brometo de etídeo	Inserem-se entre dois pares de bases	Microinserções ou microdeleções
------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------

Radiação

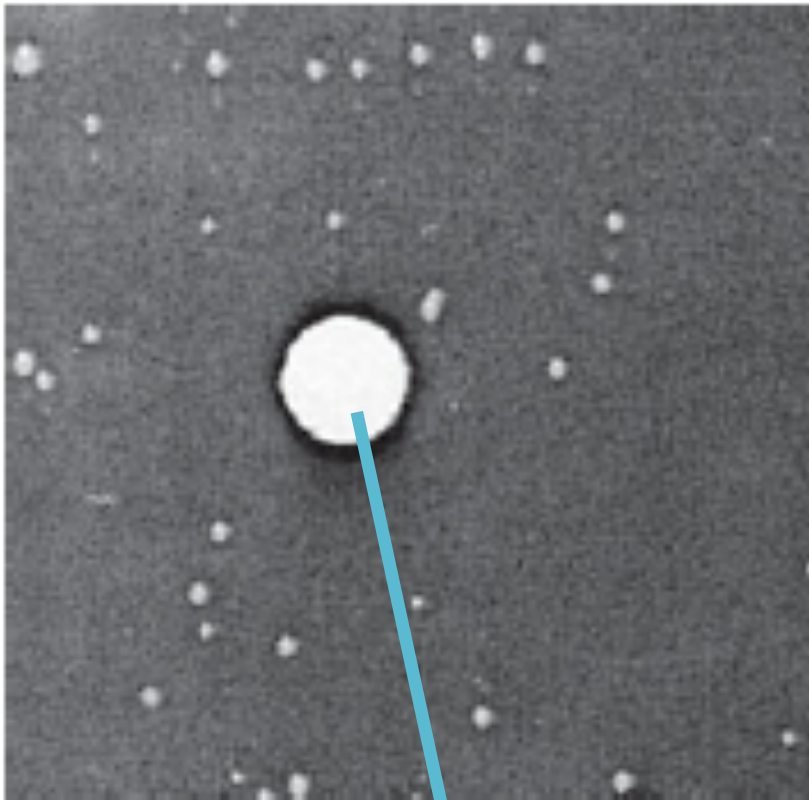
Ultravioleta	Dímeros de pirimidinas	Reparo com erro ou deleção
Radiação ionizante (raios-X)	Dímeros de pirimidinas	Reparo com erro ou deleção

Teste de Ames (Bruce Ames)

Avaliação da capacidade mutagênica de um composto com base no número de colônias que revertem ao estado selvagem

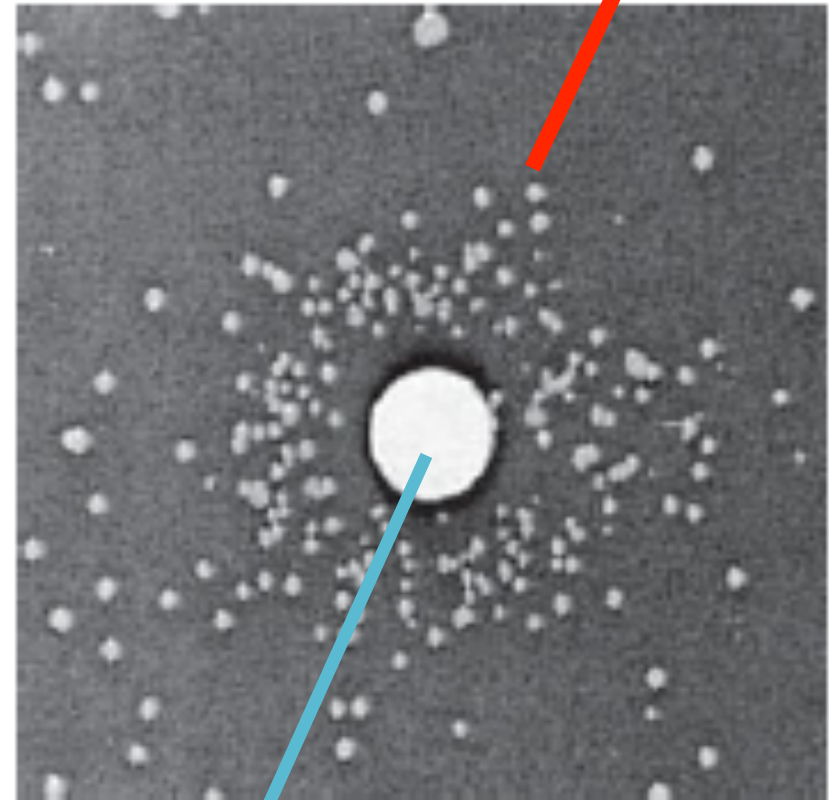
Mutantes

Meio His⁻



Controle negativo

Meio His⁻



Agente mutagênico

Tipos de mutações

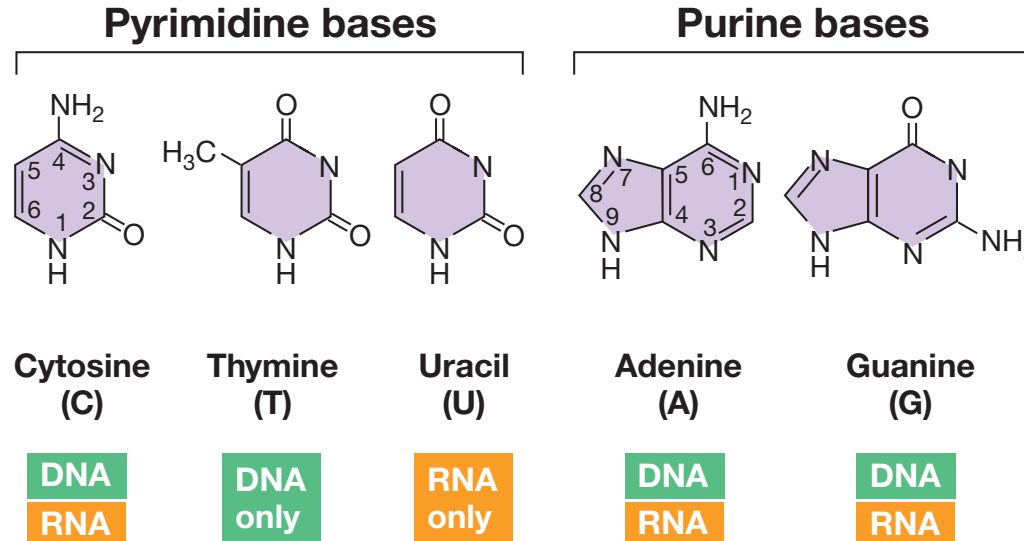
O efeito das mutações sobre regiões codificantes será determinado pela fase de leitura e pela estrutura do código genético

		Second Position						
		U	C	A	G			
First Position	U	UUU	Ser / S	UAU	STOP	UGU	Third Position	
		UUC		UCC		Tyr / Y		Cys / C
		UUA		UCA		UAA		UGA
		UUG		UCG		UAG		UGG
	C	CUU	Pro / P	CAU	Gln / Q	CGU	Arg / R	
		CUC		CCC		CGC		
		CUA		CCA		CGA		
		CUG		CCG		CGG		
	A	AUU	Thr / T	AAU	Lys / K	AGU	Ser / S	
		AUC		ACC		AGC		
		AUA		ACA		AGA		
		AUG		ACG		AGG		
	G	GUU	Ala / A	GAU	Glu / E	GGU	Gly / G	
		GUC		GCC		GAC		
		GUA		GCA		GAA		
		GUG		GCG		GAG		

Tipos de mutação: mutações pontuais

Mutações pontuais correspondem à **troca de uma única base no genoma**

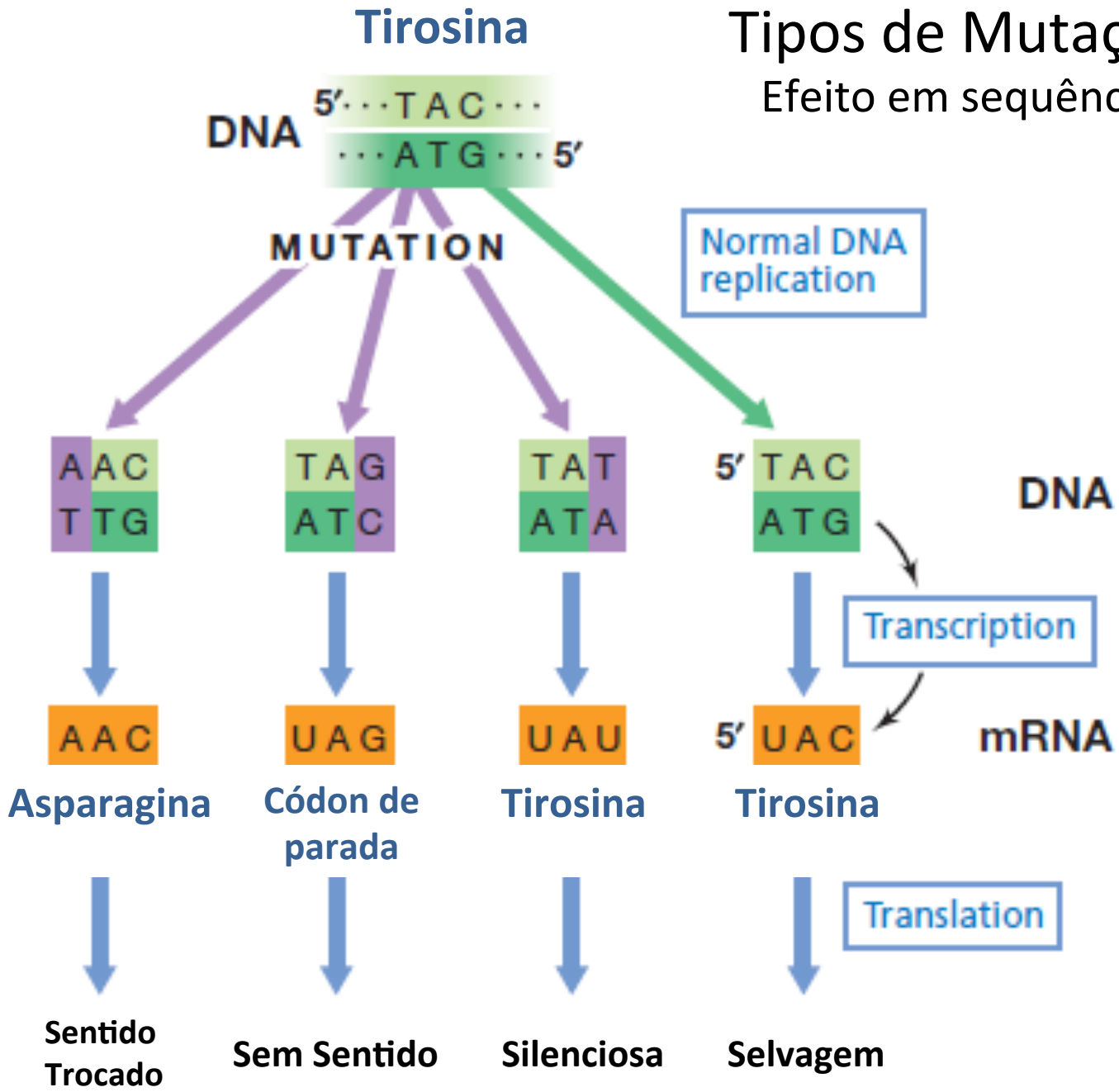
São também conhecidas como polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs)



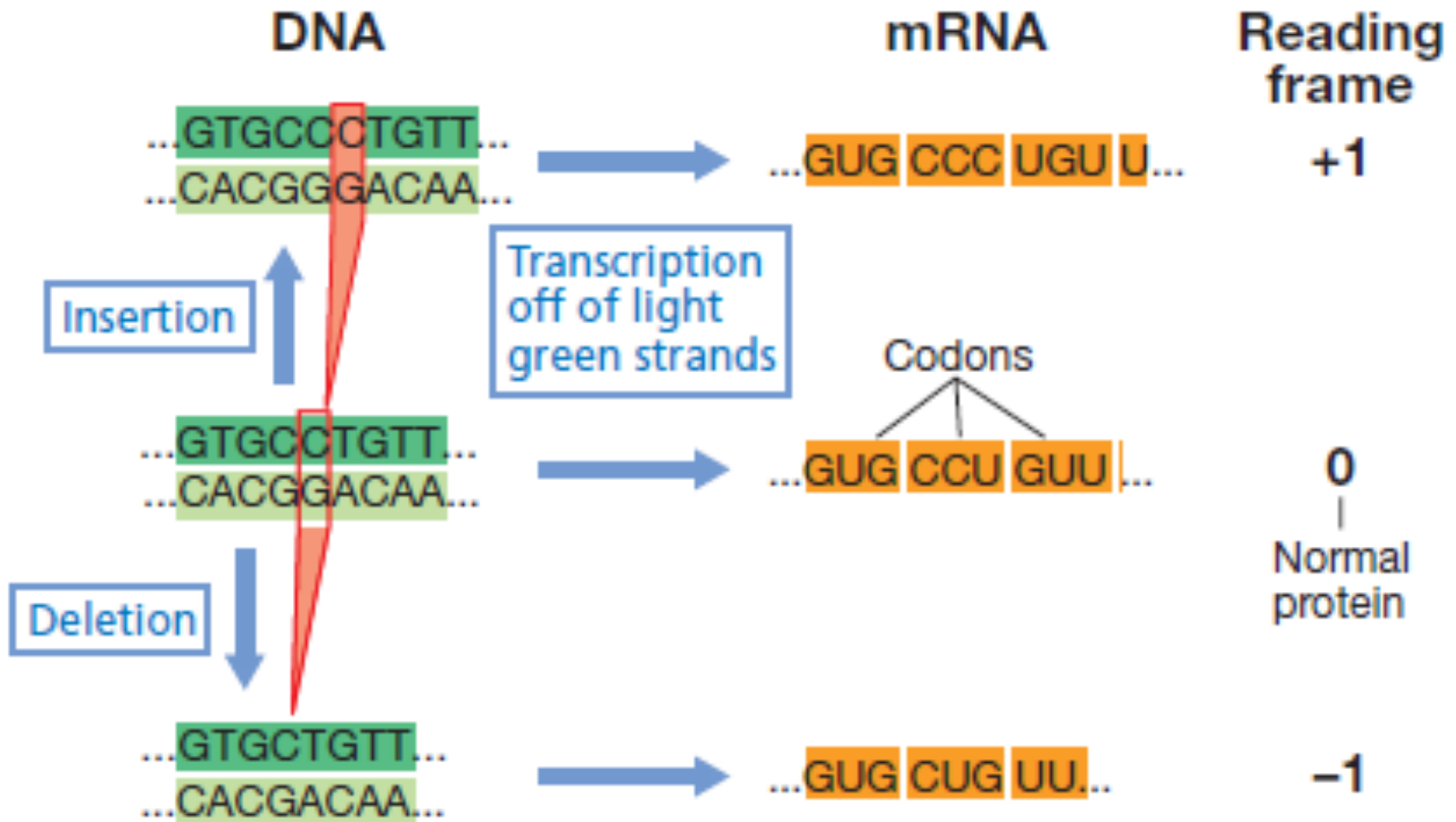
Transição		Transversão	
Purina – Purina	Pyrimidina – Pirimidina	Purina – Pirimidina	Pirimidina - Purina
A → G	C → T	A → T	T → A
G → A	T → C	A → C	T → G
		G → T	C → A
		G → C	C → G

Tipos de Mutações Pontuais

Efeito em sequências codificantes



Inserção ou Deleção de Uma base



Rearranjos e transposição

- **Rearranjos cromossômicos**

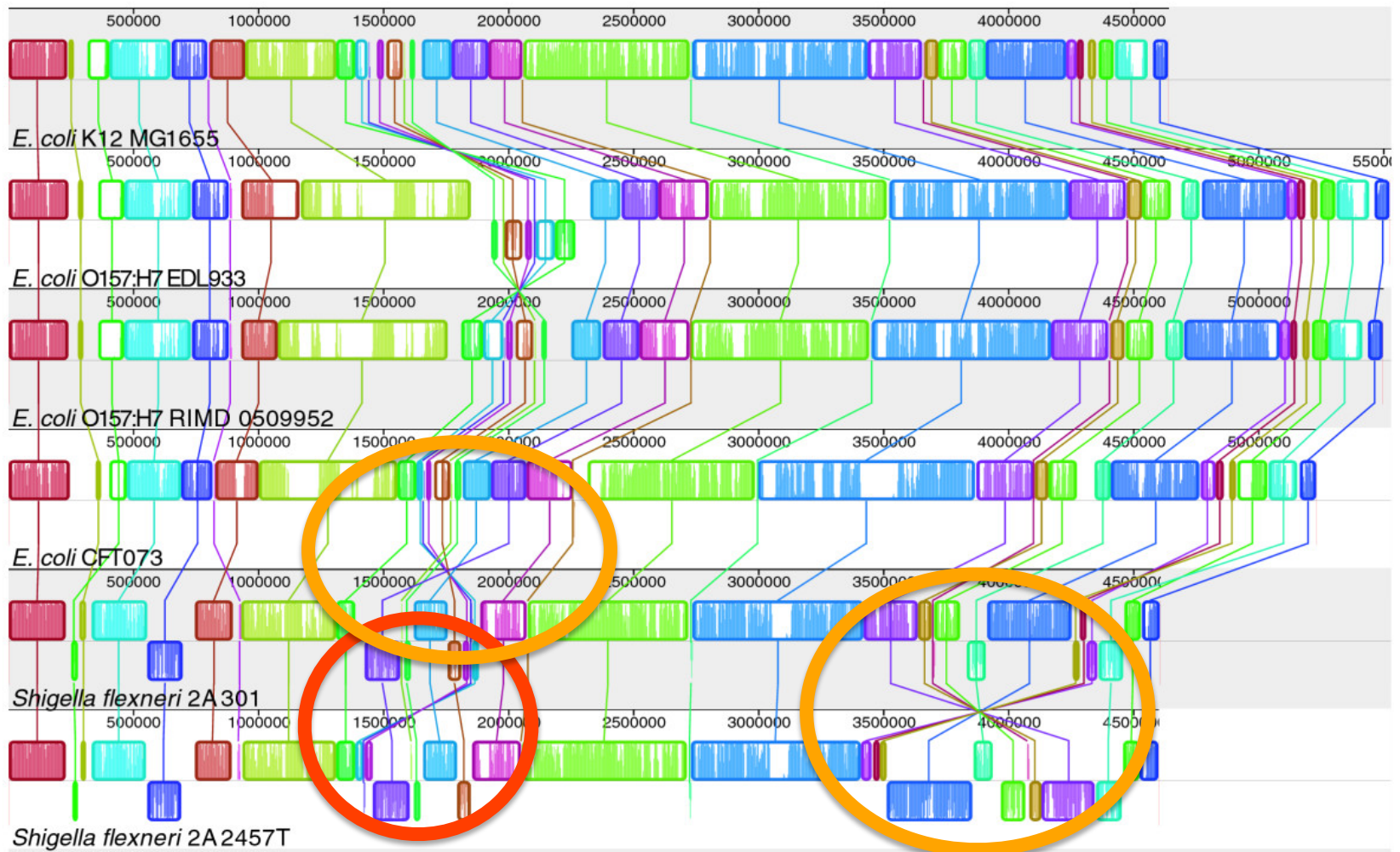
- Mudança da ordem dos genes pela realocação de segmentos arbitrárias
- Consequência de recombinação intra-cromossômica associada ao reparo de quebras das duas fitas do DNA ou à finalização da replicação

- **Transposição**

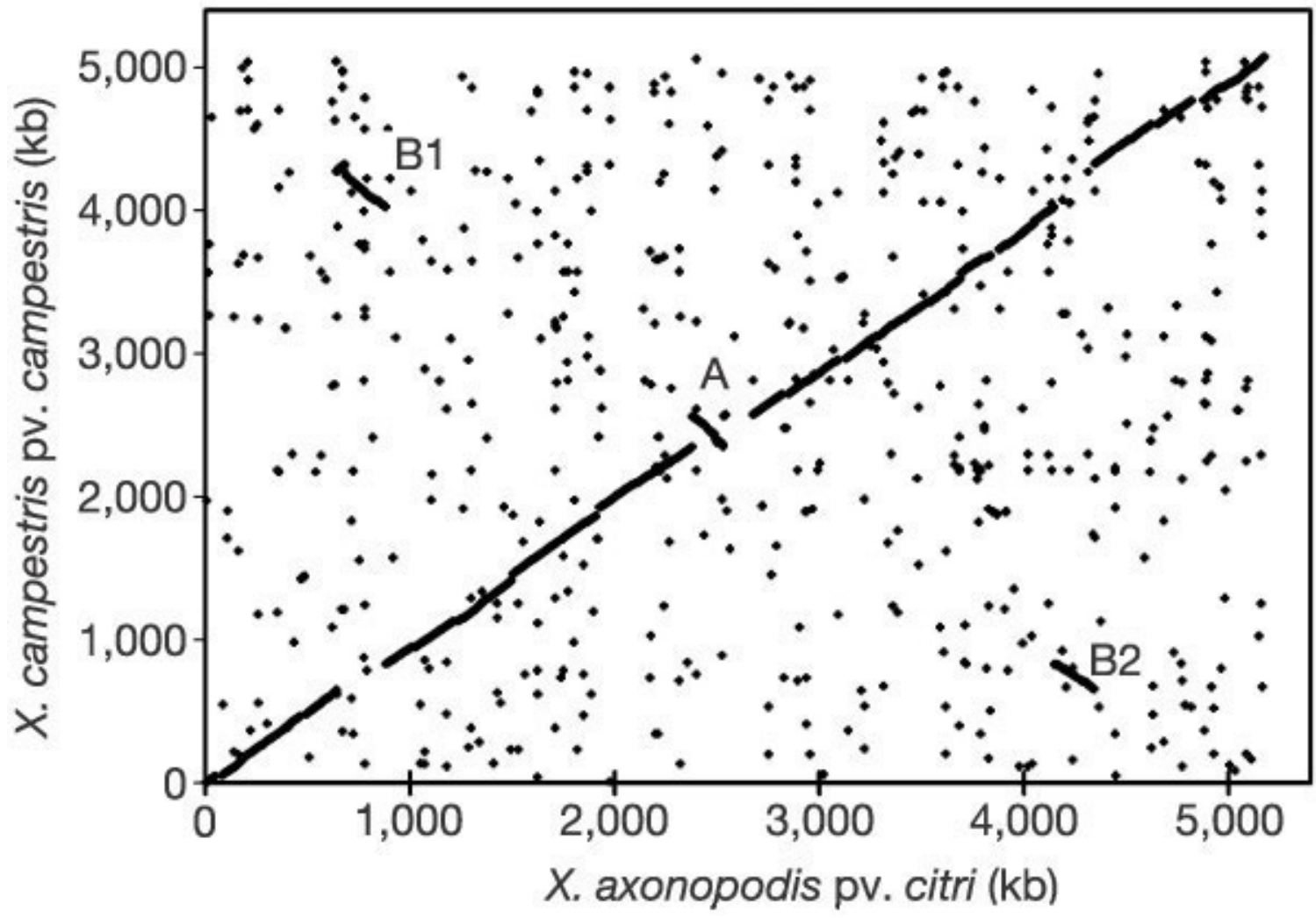
- Mobilização ou duplicação de porções do genoma mediadas por enzimas especializadas (transposases)
- Associadas a elementos genômicos mais ou menos autônomos, chamados **elementos móveis**

Rearranjos genômicos

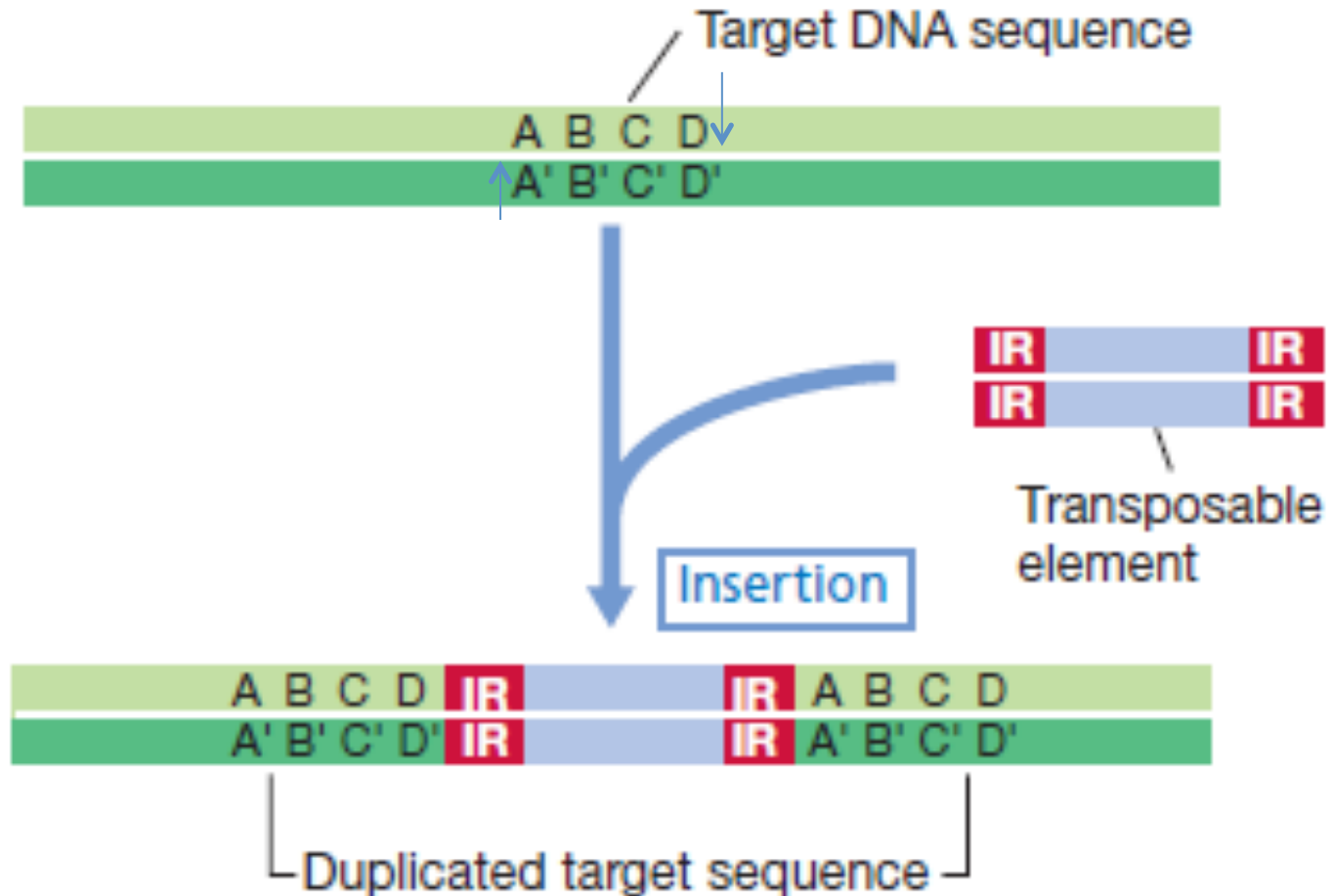
Comparação do genoma de diferentes linhagens de *E. coli* e *Shigella*
São visíveis regiões homólogas com mais de 1000 pares de bases (1Kbp)



Comparação de genomas: Xanthomonas

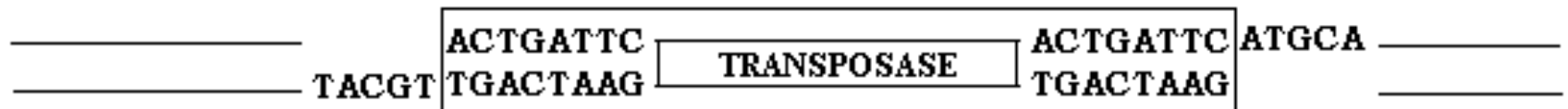
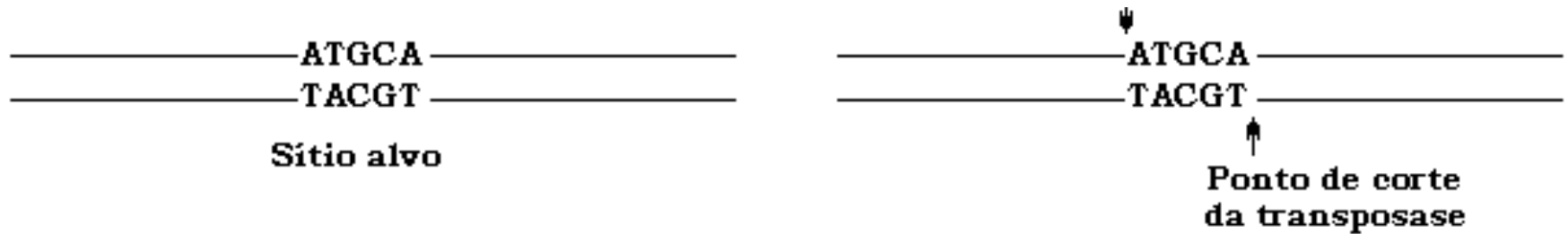


Transposição

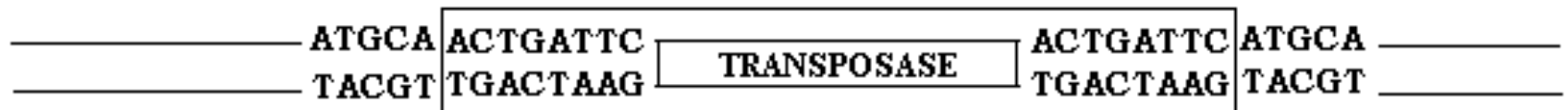


Inserção de um transposon

É um exemplo de recombinação sítio específica



Transposon inserido



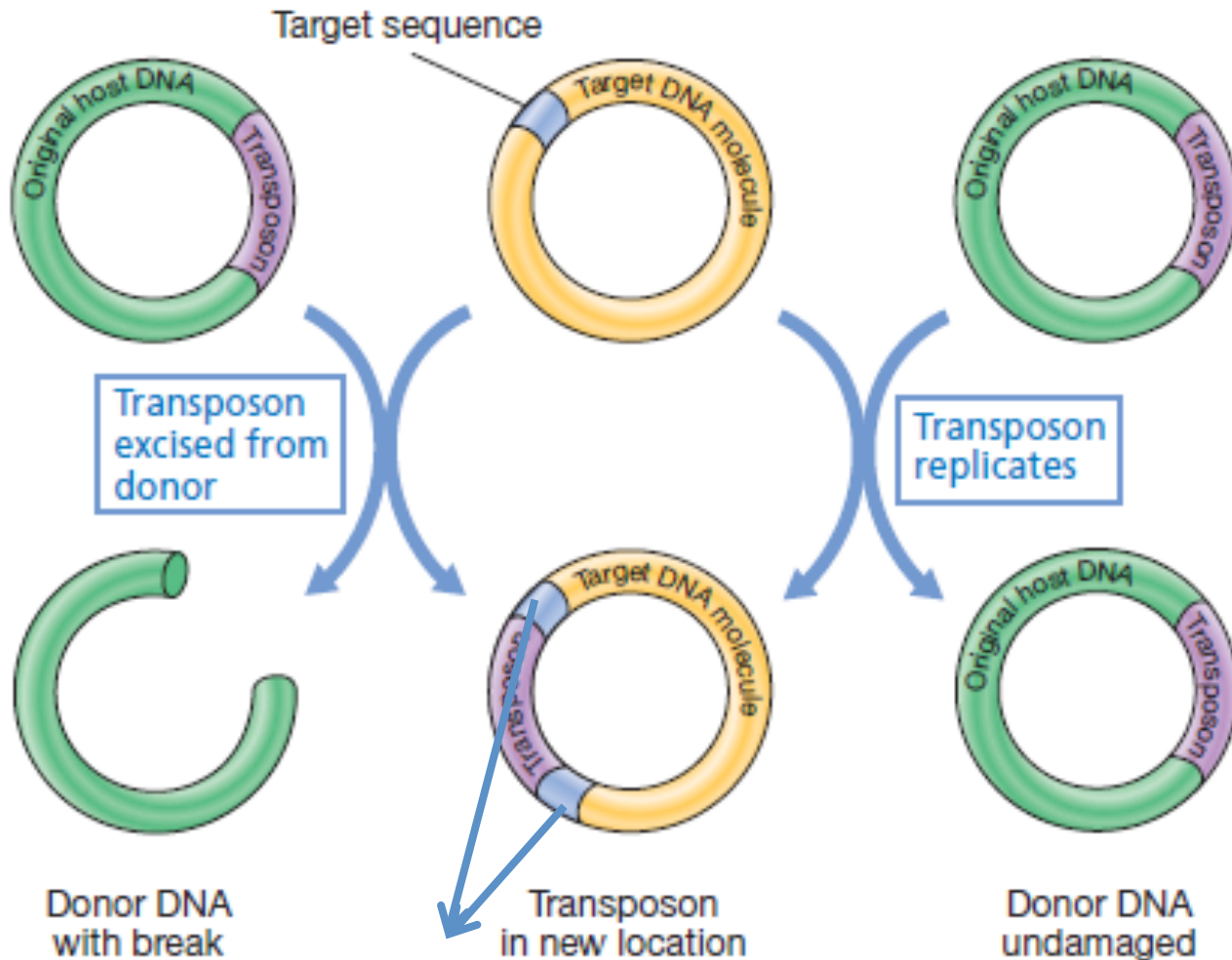
Complementação da falhas

Sítio alvo duplicado

Mecanismo de Transposição

Conservative transposition

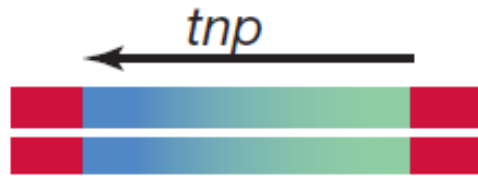
Replicative transposition



Elementos Transponíveis

IS: Sequência de Inserção

IS2

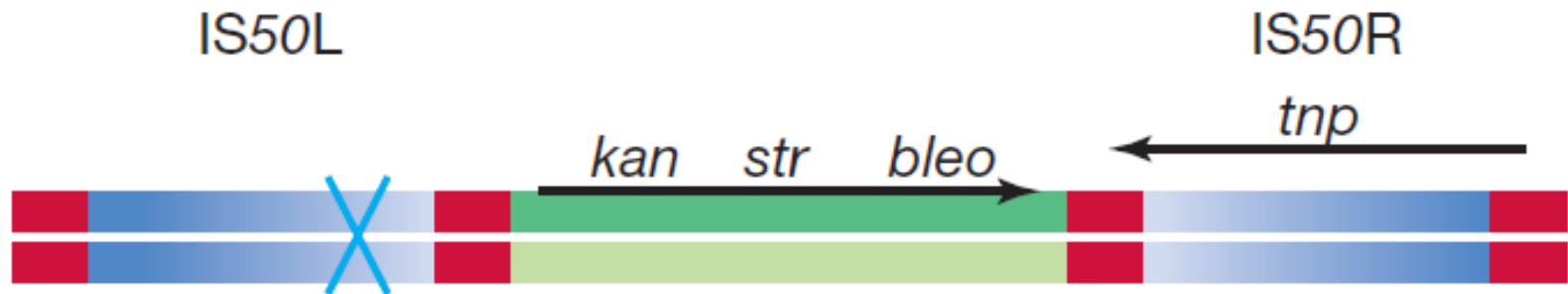


- Elemento transponível mais simples
- Repetições invertidas (IR) de 10-50pb
- Possui apenas um gene (transposase)

Transposon

- Elemento transponível composto
- Pode carregar genes não envolvidos na mobilização do elemento

Tn5



Mutação sem sentido na primeira transposase impede transposição independente

Permuta Genética em Procaríotos

Três Mecanismos de Troca Genética

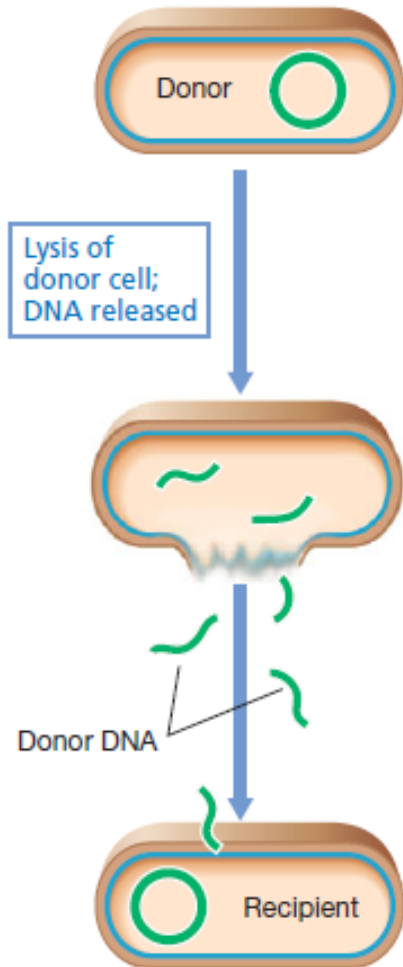
- Transformação
 - Competência
- Transdução
 - Generalizada
 - Específica
- Conjugação
 - Plasmídeos
 - Cepas Hfr

Transferência Horizontal de DNA

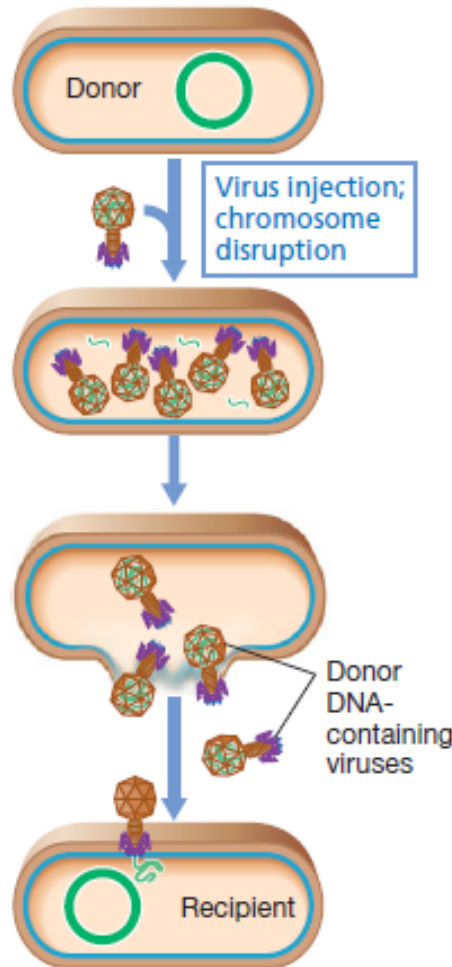
Transformação

Transdução*

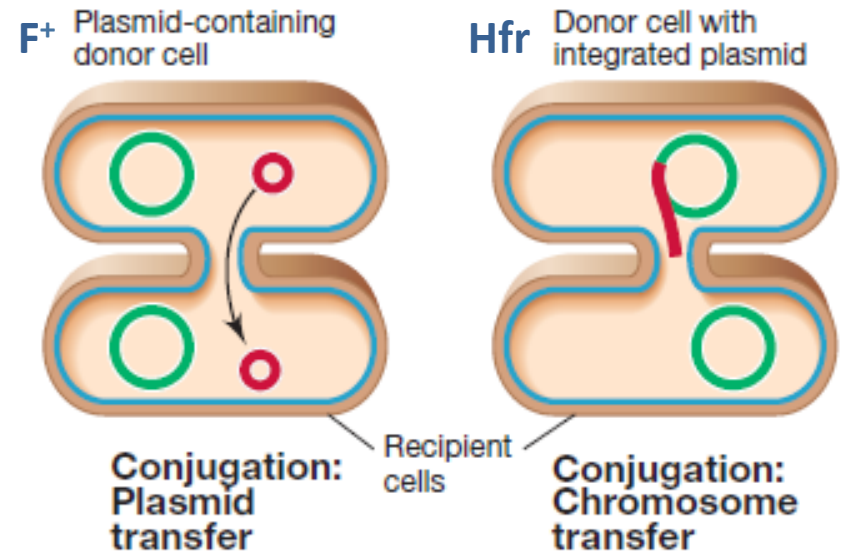
Conjugação



DNA livre



Mediado por vírus

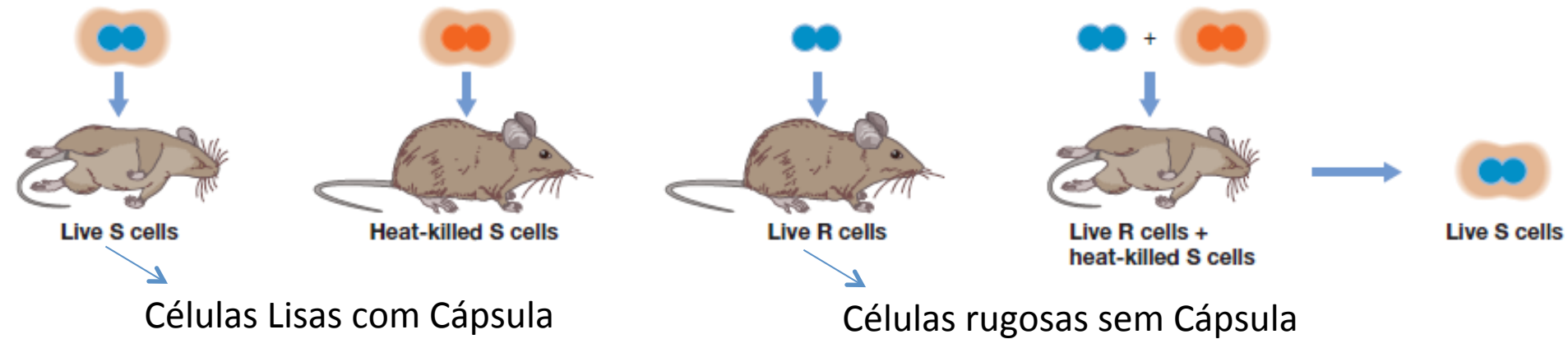


- mediado por plasmídeos
- Exige contato célula-célula
- Depende de pilus

* transdução = transfecção

Experimento de Griffith com *Streptococcus pneumoniae*

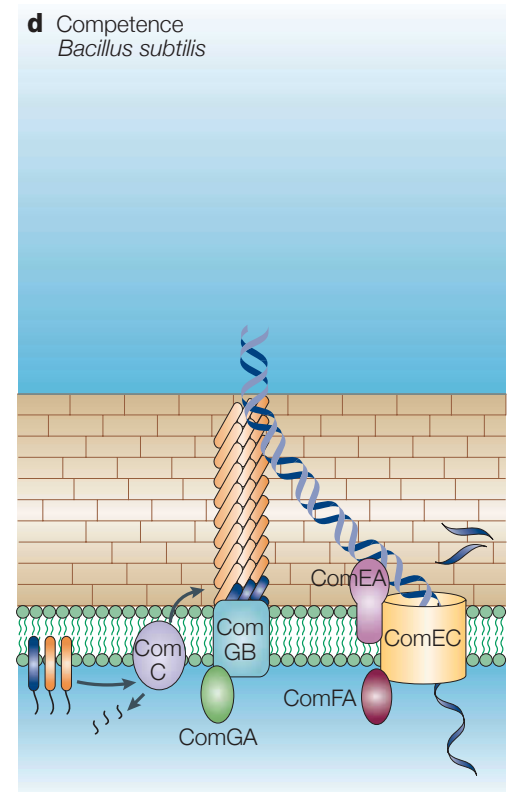
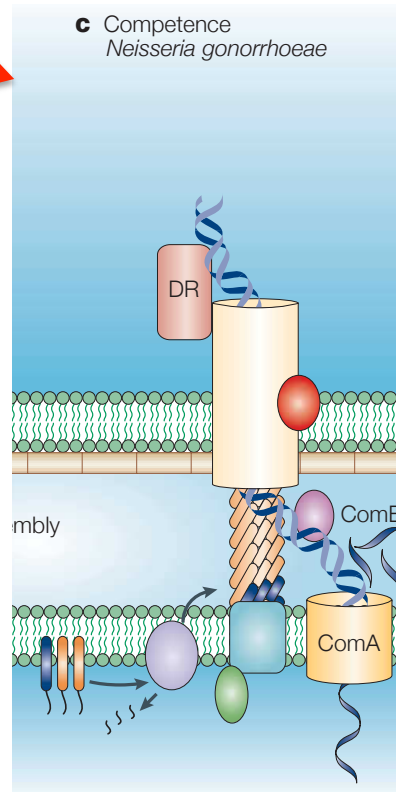
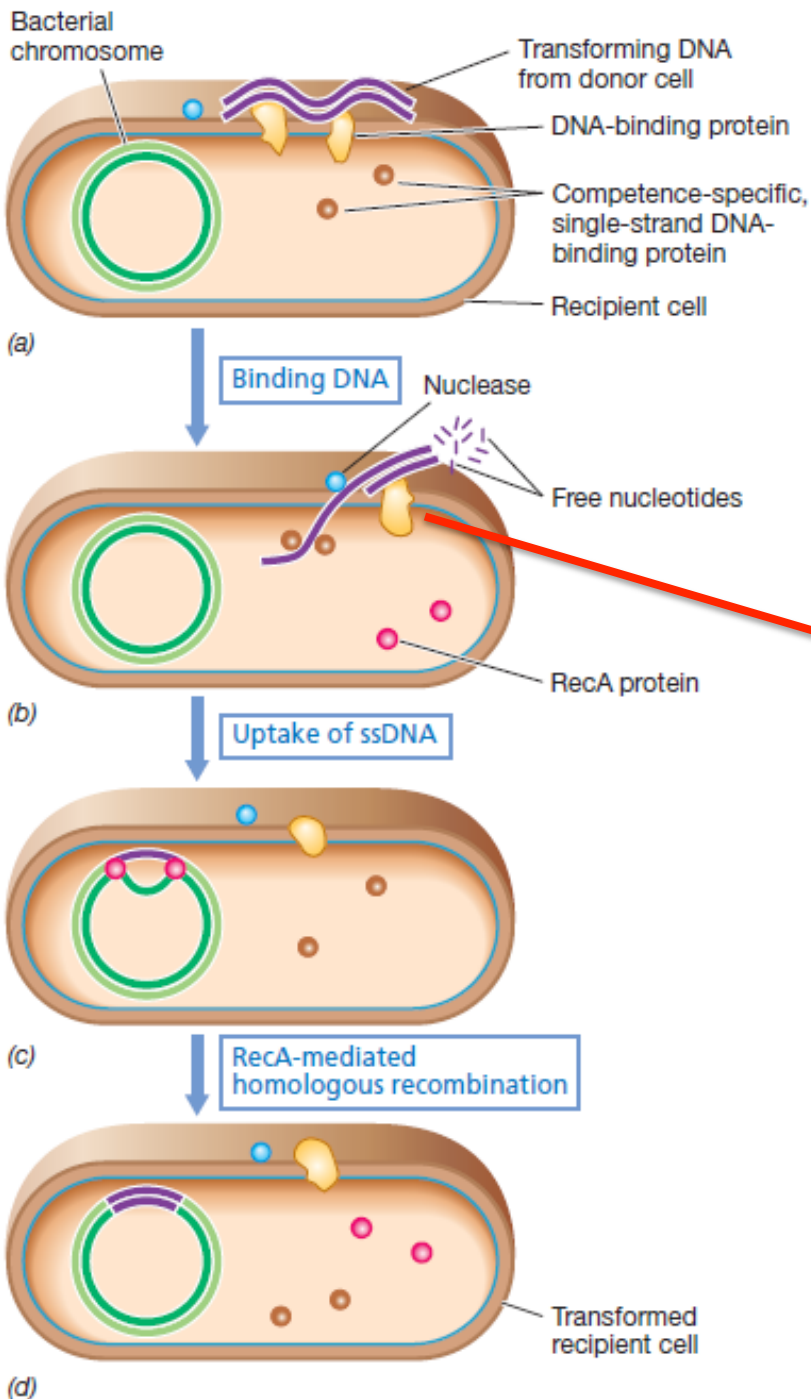
Pneumonia Fatal



- 1920 : Primeira evidência de transformação Frederick Griffith
- Preparou o palco para a descoberta do DNA
- 1940: Oswald T. Avery mostrou que o agente transformante era o DNA
- 1953: James Watson e Francis Crick e a estrutura do DNA

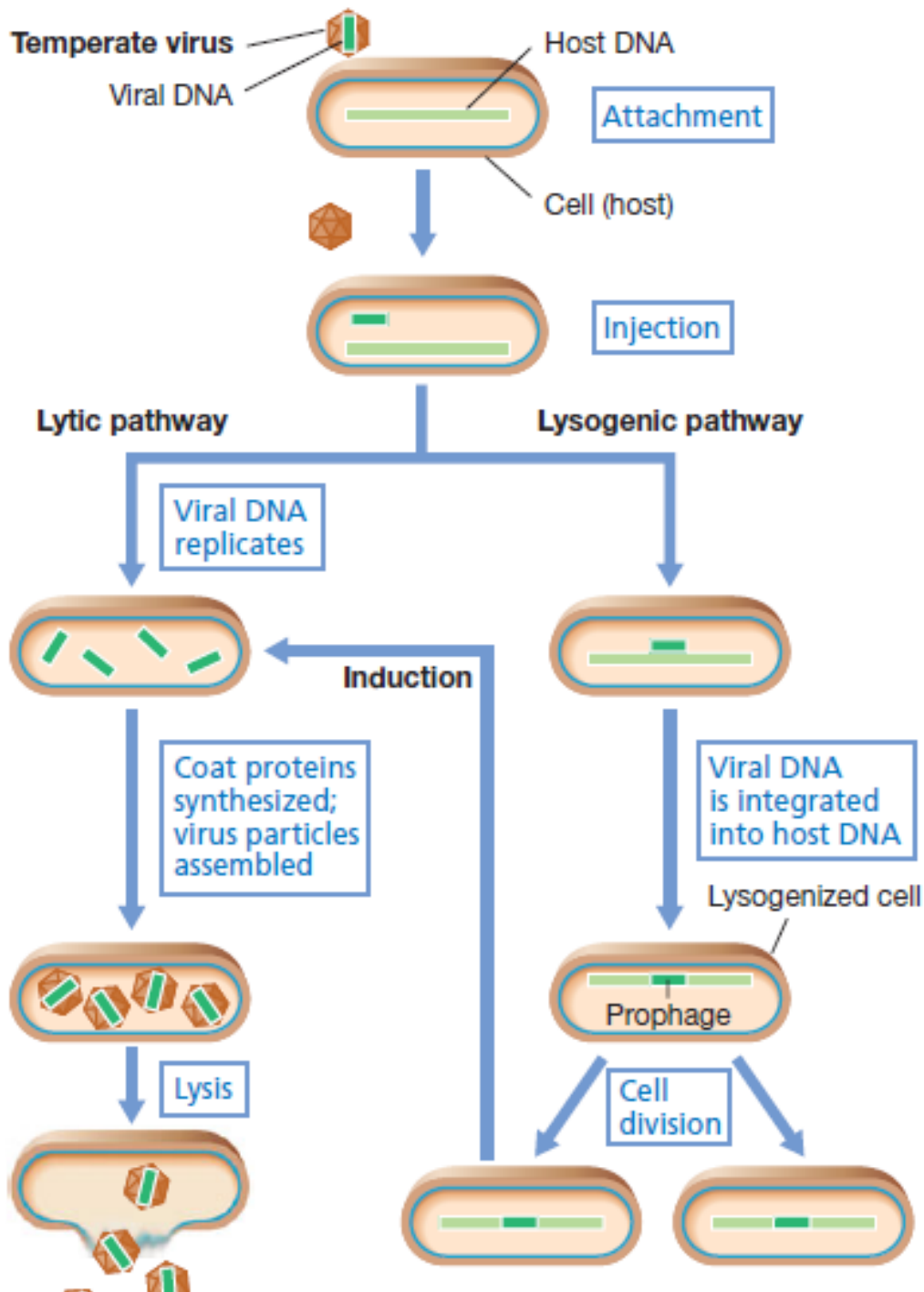
Transformação

- Em geral, são transferidos fragmentos de DNA pequenos
- Proteínas especializadas protegem o DNA da degradação intracelular
- Recombinação necessária para herança do DNA capturado



Competência na Transformação

- Bactérias naturalmente transformáveis são chamadas **competentes**. Exemplos:
 - *Bacillus*: 20% das células se tornam competentes e permanecem por horas
 - *Streptococcus* durante o ciclo de crescimento 100% ficam competentes – período curto de tempo
- Células não competentes
 - Tratamentos físicos e químicos permitem induzir a permeabilidade da parede celular
 - Cloreto de Cálcio
 - Eletroporação: aplicação de pulsos elétricos curtos de alta voltagem

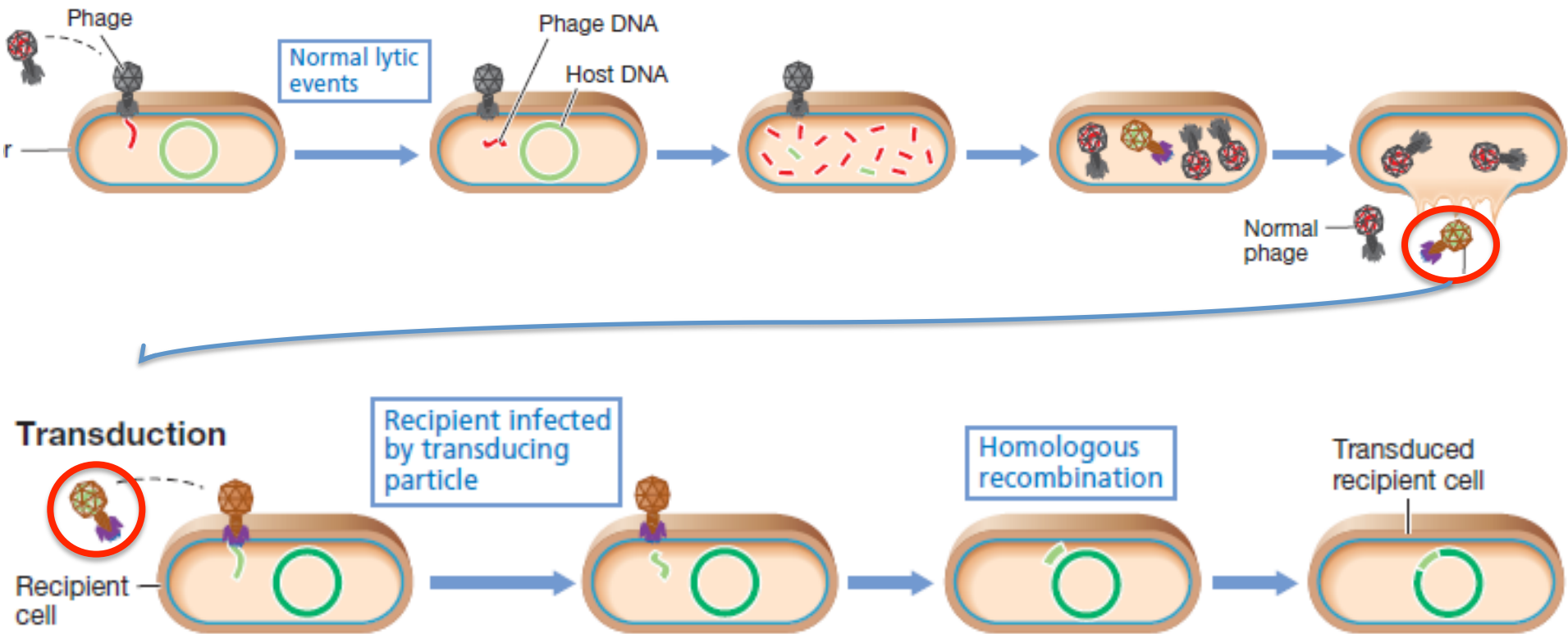


Transdução

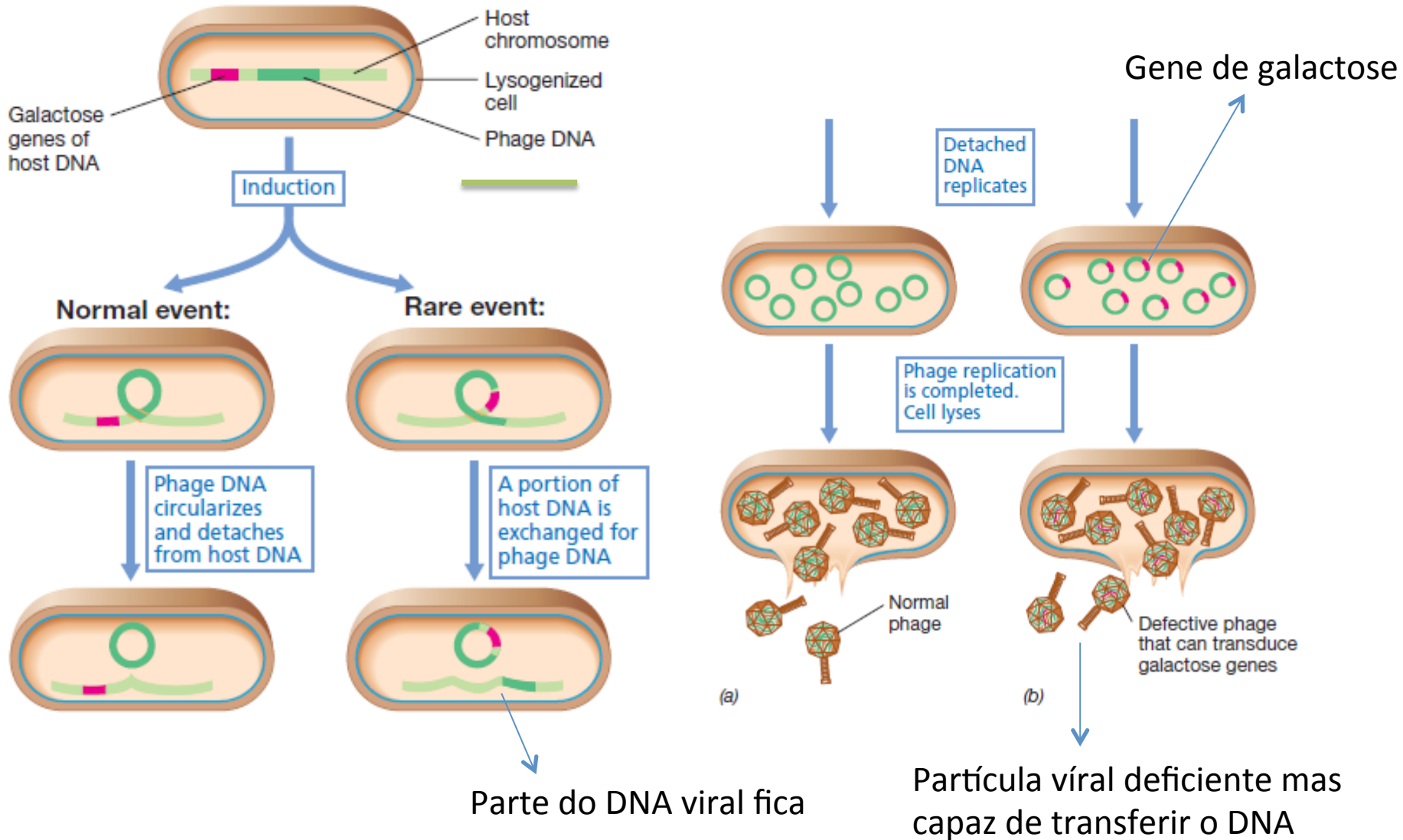
Ciclo Lítico
e
Via lisogênica

Transdução Generalizada

Uma pequena parcela das partículas serão transdutoras, ou seja, carregarão um fragmento do DNA genômico ao invés de uma cópia do vírus!



Transdução Específica



Conjugação

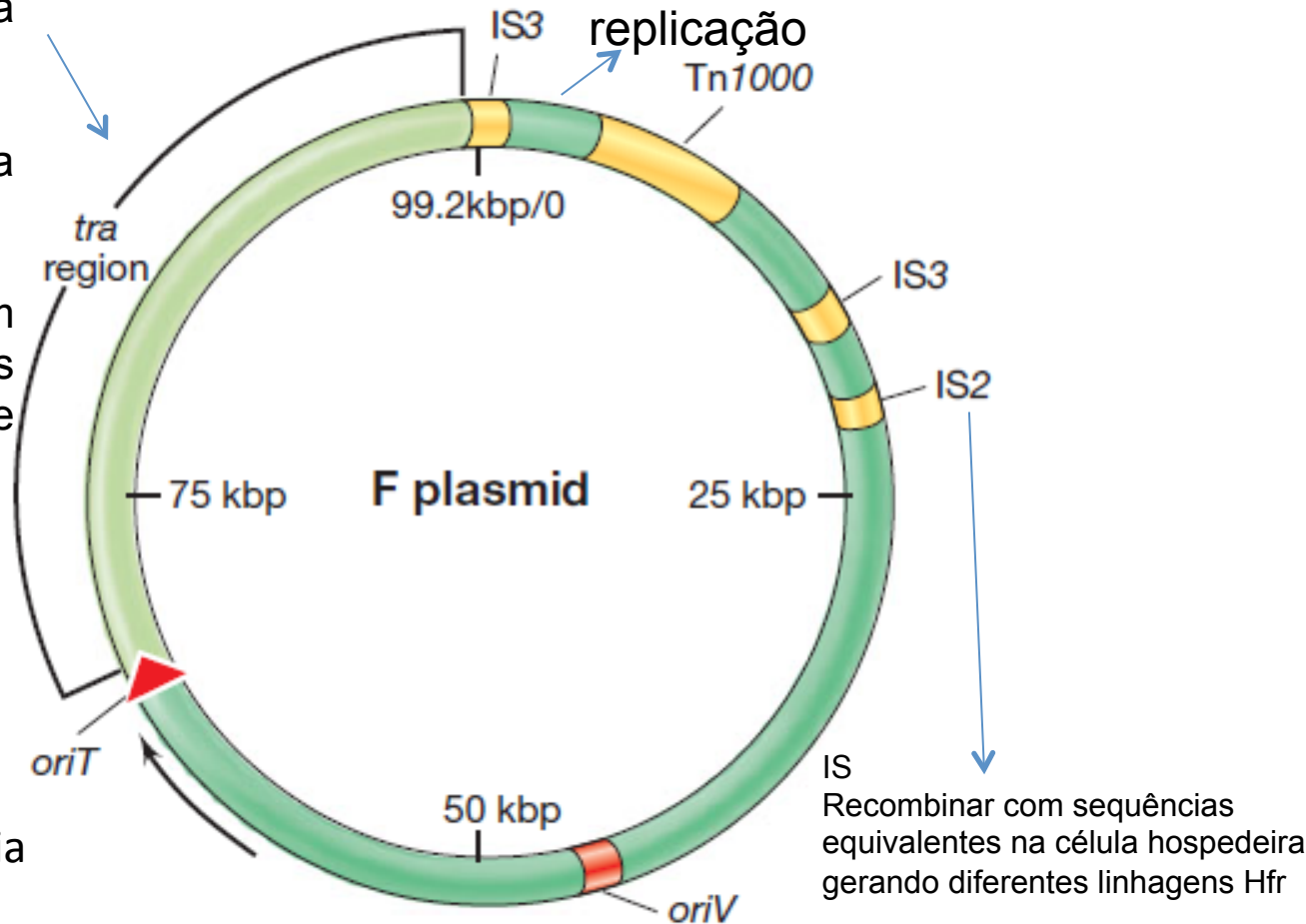
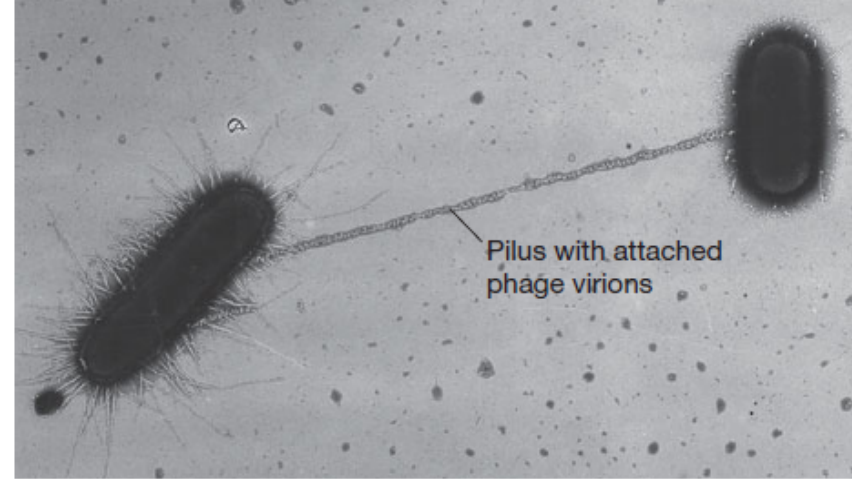
- Conjugação: Transferência genética entre duas células que envolve contato
- Envolve: célula doadora e receptora
- Mecanismo de transferência pode exibir diferenças dependendo do plasmídeo envolvido
- A maioria das bactérias Gram-negativas usam um mecanismo semelhante ao do plasmídeo F
- Normalmente, o plasmídeo é replicado por polimerases celulares e segregado por proteínas próprias
- Pode também ser integrado no cromossomo da célula hospedeira por intermédio de sequências de inserção (IS)

Plasmídeo F

Genes envolvidos na transferência do plasmídeo, como proteínas envolvidas na biossíntese do pili F

Genes envolvidos na formação do par conjugante

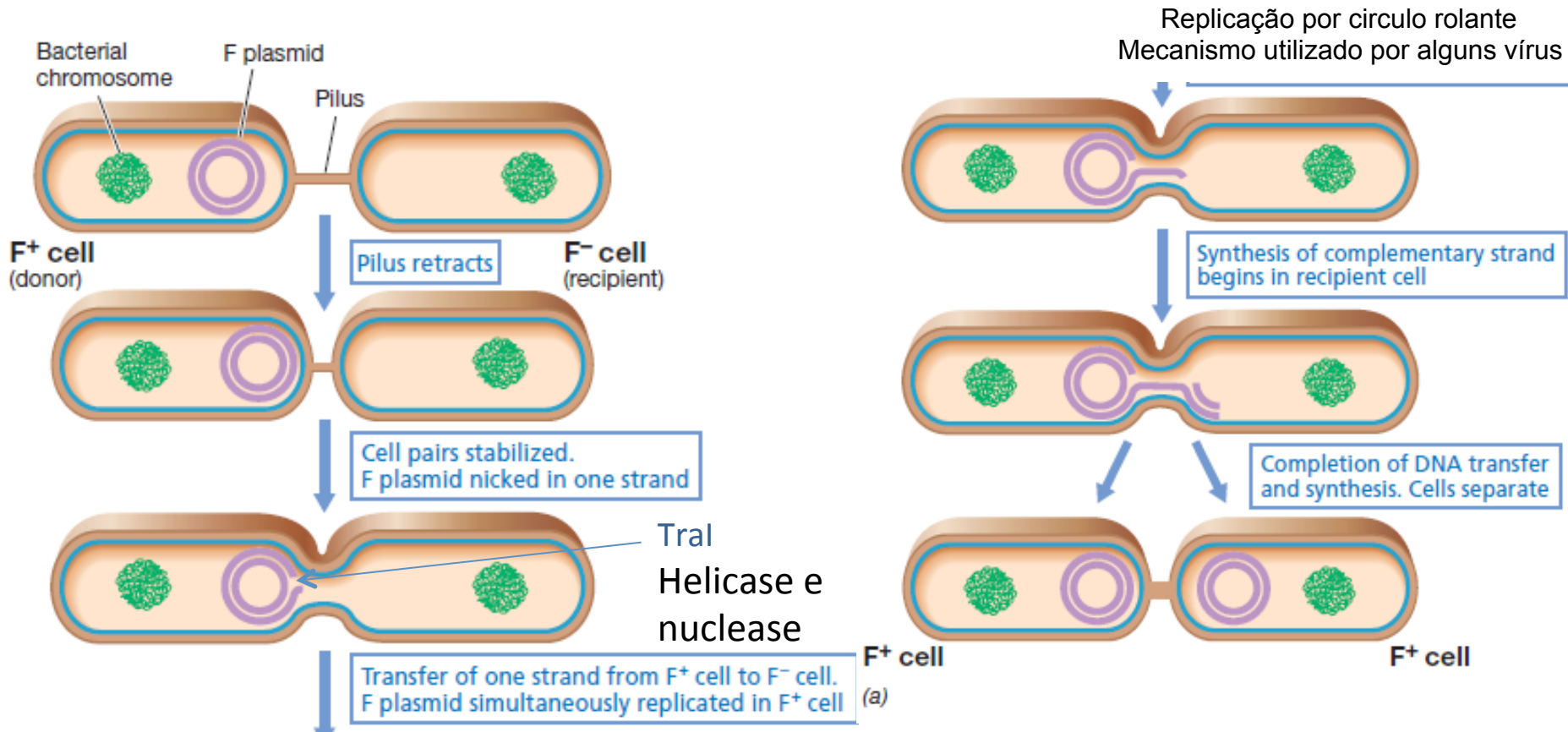
Diferentes plasmídeos podem codificar proteínas diferentes que vão ter o pili ligeiramente diferente



Origem de transferência

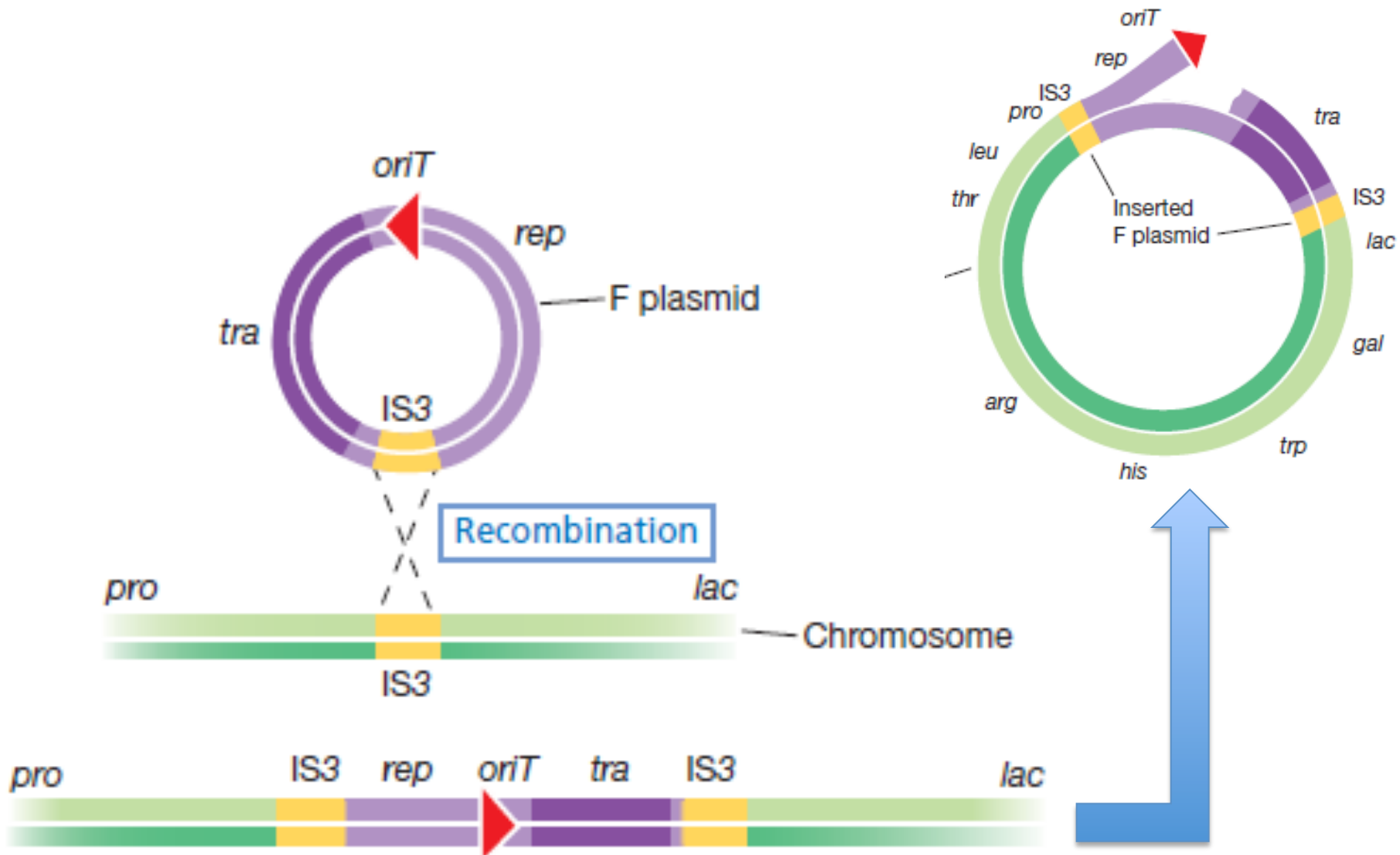
Transferência do DNA Plasmidial por Conjugação

- Processo que leva 5min (plasmídeo de 100 kbp)
- O Plasmídeo consegue se dissimular rapidamente na população e é, portanto, **um agente infeccioso**

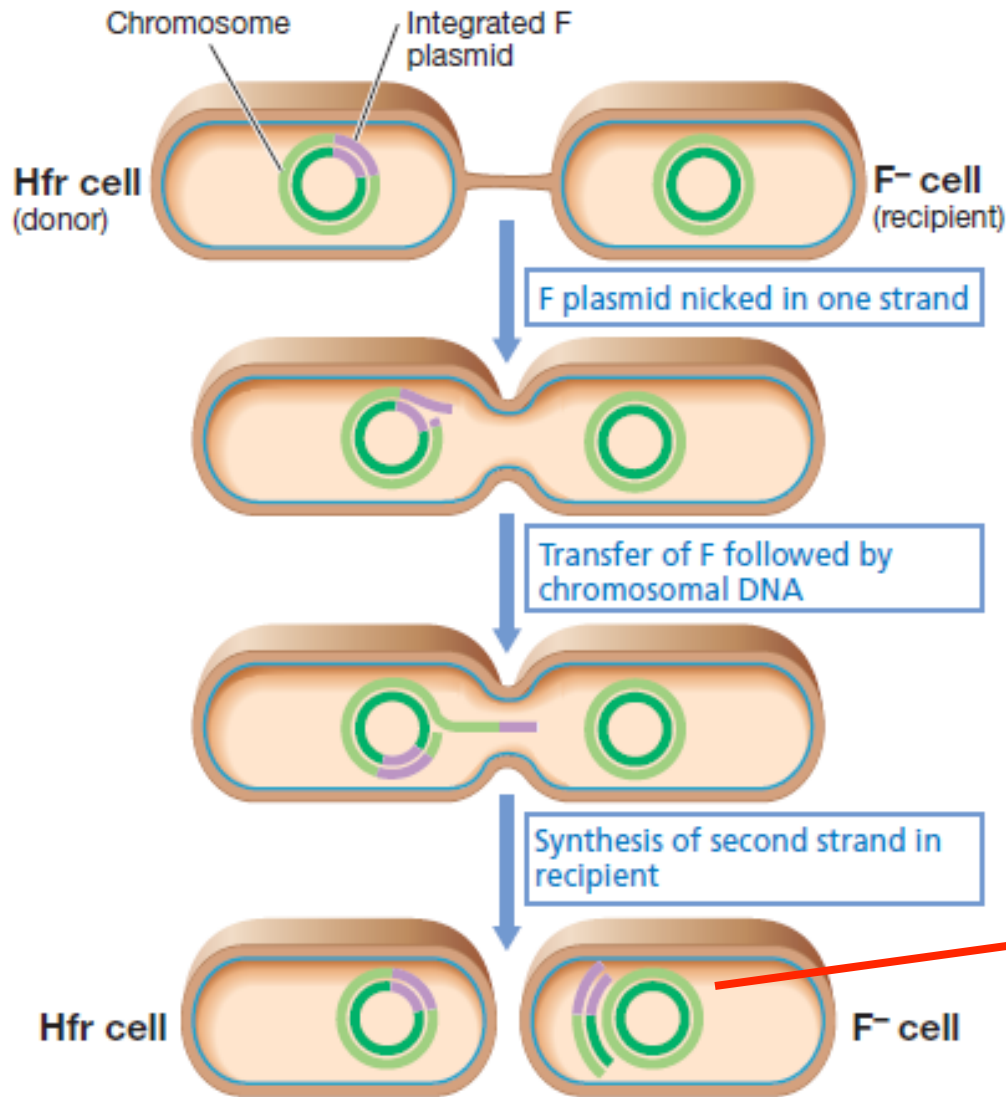


Nota: a célula receptora pode perder o plasmídeo

Processo de integração do plasmídeo F (Hfr) Recombinação Sítio específica



Transferência de alguns genes cromossomais por conjugação

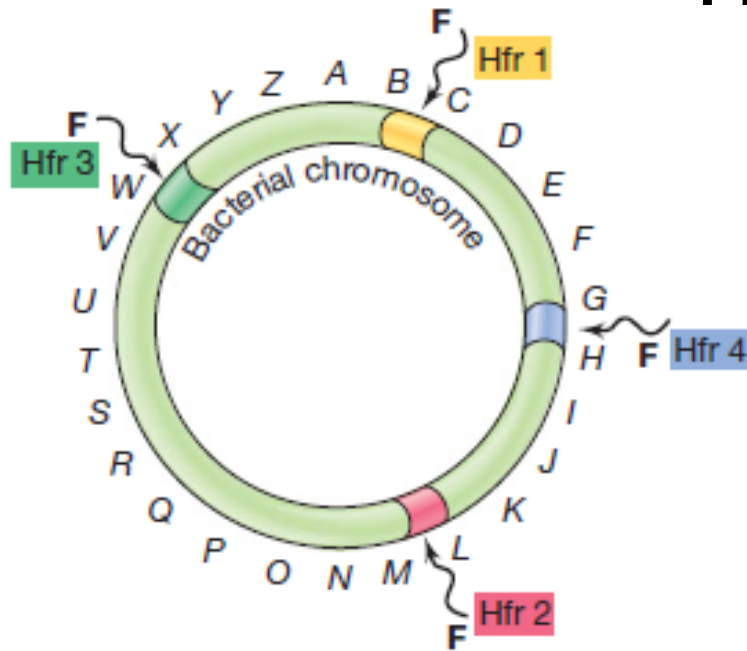


- Hfr: Alta frequência de recombinação
- Plasmídeo está integrado
- Transferir grandes quantidades de genes
- Receptora não será Hfr : apenas uma parte do plasmídeo é transferida

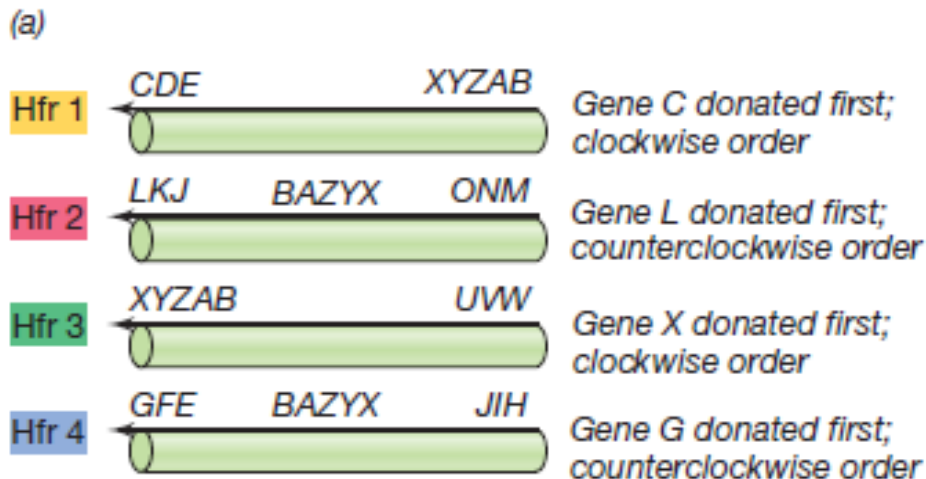
O fragmento transferido é integrado na célula aceptora por recombinação da parte homóloga (verde)

Formação de Diferentes Linhagens

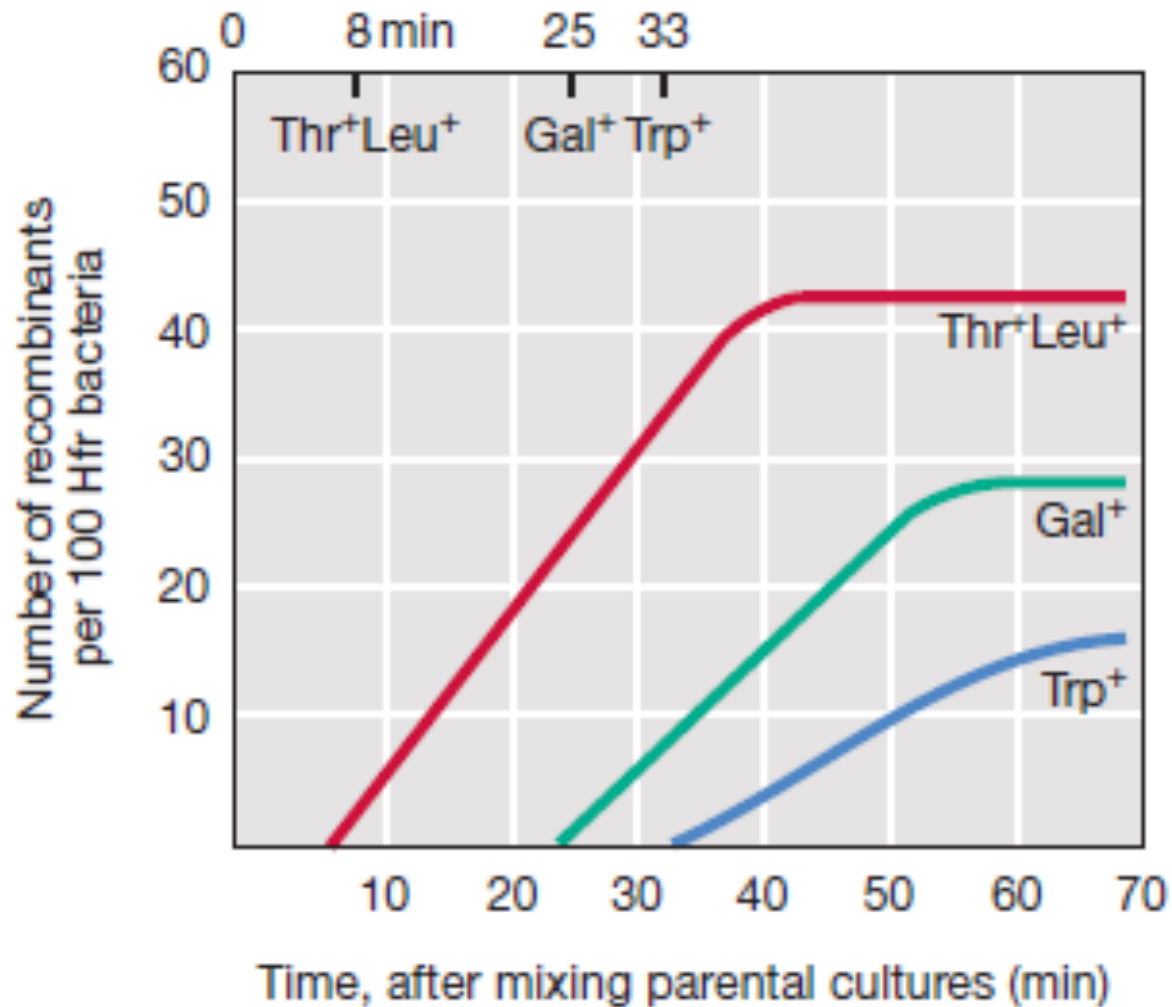
Hfr



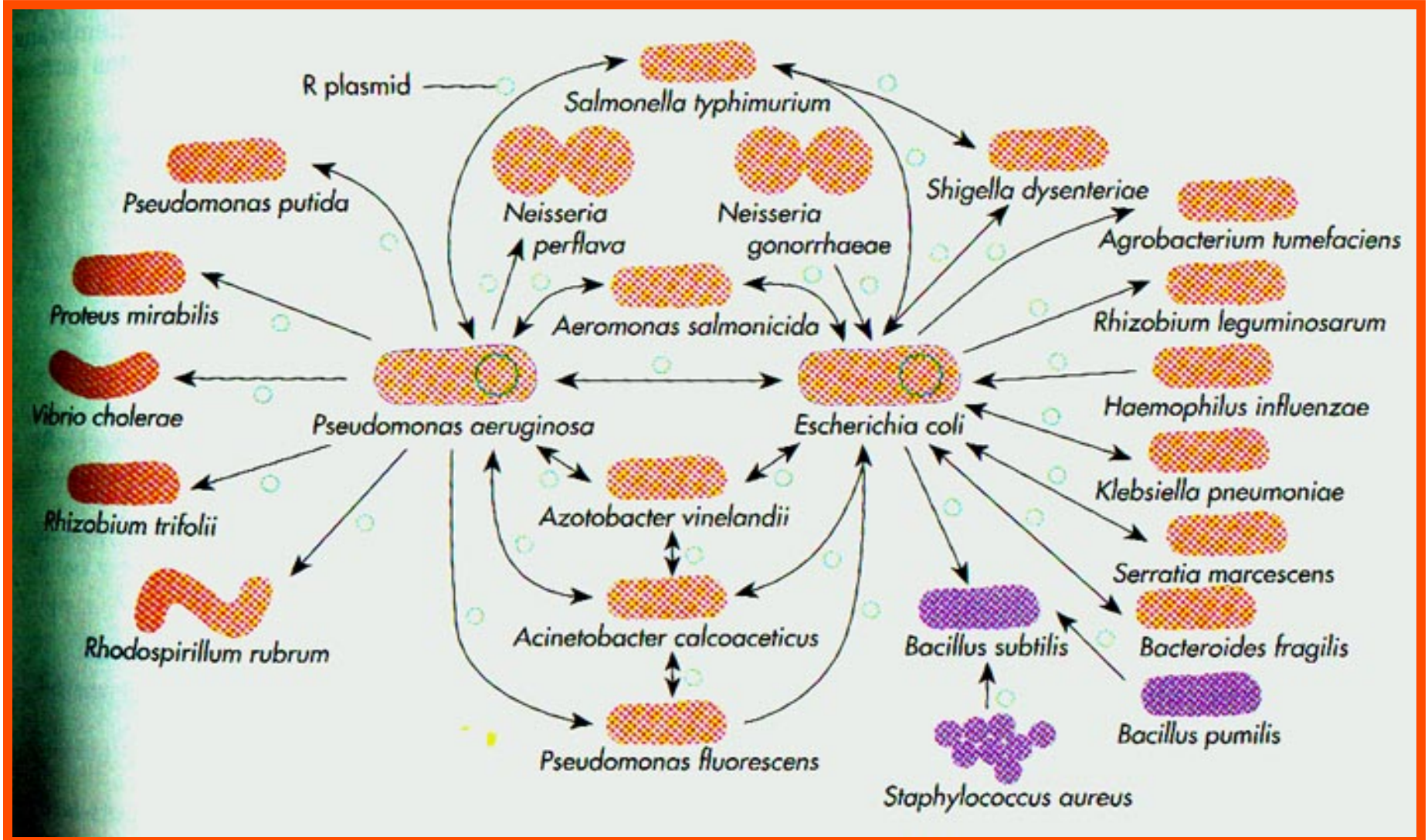
- Diferentes linhagens Hfr: Ilustrado 4 linhagens diferentes
- Diferentes sítios de inserção
- Direção de inserção pode ser diferente – transferência de genes é diferente



Tempo de transferência de genes em uma cultura de acasamento



Malha de transferência lateral de genes em bactérias



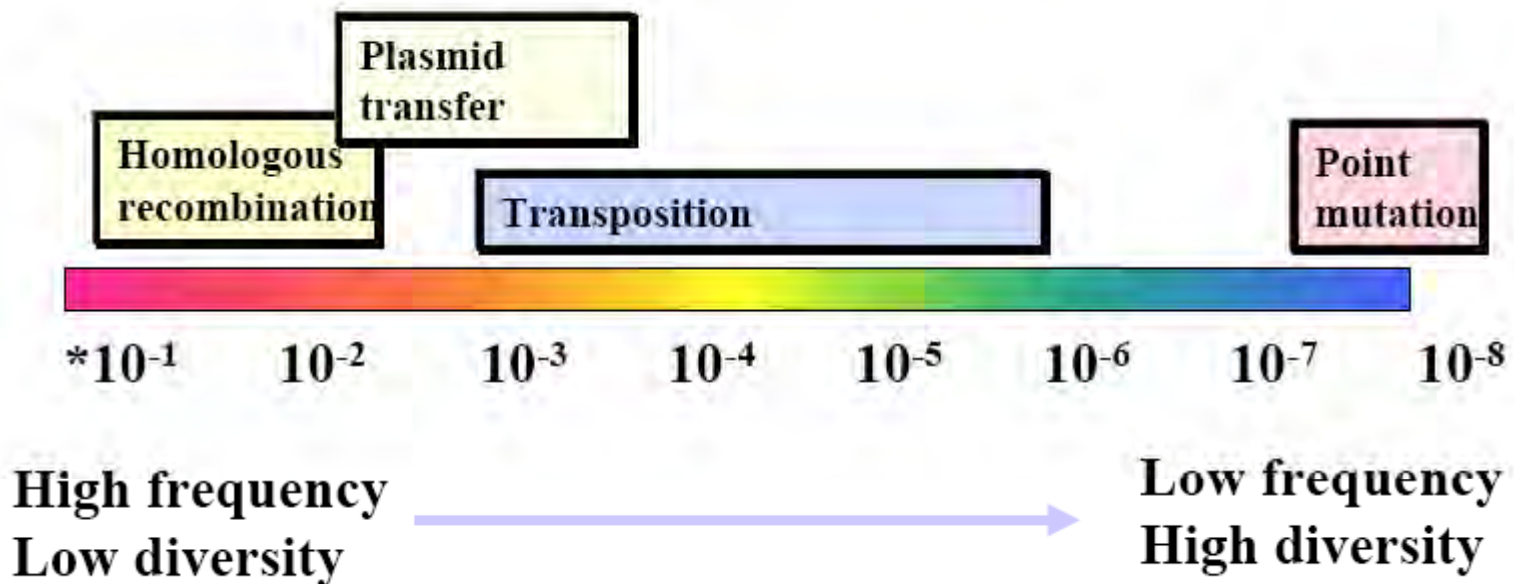
Origens da diversidade genética em bactérias

– Resistência cromossomal

- Mutações cromossômicas

– Resistência extra-cromossomal

- Transferência lateral



* As frequency per cell per generation

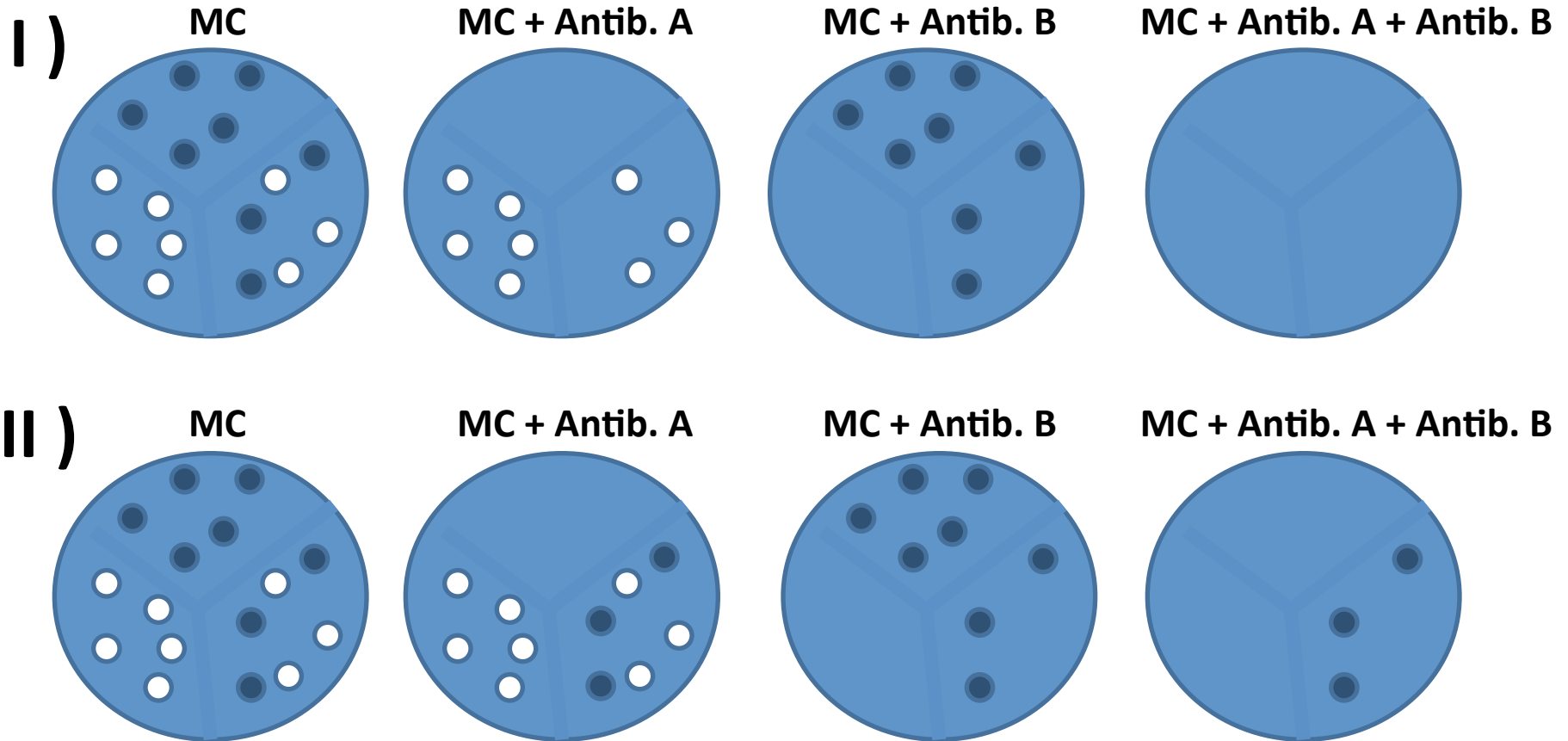
Perguntas

- Você tem Hfr, His⁺ e Lac⁺ e uma célula F⁻ resistente a canamicina. Qual fenótipo você espera observar para a célula conjugada? A célula F⁻ se transforma em F⁺ e Hfr?
- Mutação de sentido trocado pode causar que problemas para a célula?
- Uma célula F⁺ com resistência aos antibióticos Amp, Str e Gen, torna a célula receptora resistente a quais antibióticos? O processo de conjugação pode ser um problema para a saúde pública, em qual aspecto?

Perguntas

- Na transdução especializada, a célula receptora pode em alguns casos replicar o DNA da célula doadora? E no caso da transdução generalizada?
- O que é competência no processo de transformação?

Os resultados abaixo foram obtidos a partir de dois experimentos de transferência de resistência a antibióticos por conjugação:



a. Em qual dos experimentos a conjugação bacteriana ocorreu com sucesso? Identifique a célula doadora e a receptora. Justifique suas respostas.

b. Quais características a célula Receptora, doadora e conjugada possuem: A^r , B^r e Lac^+

Referências

- Microbiologia de Brock (12a. Edição)
 - **Capítulo 6**: Biologia Molecular de Bactérias
 - **Unidade 10**: Genética de bactérias e arqueas

E agora... vamos para aula prática!!!!

LAB COAT STYLES



PRIM AND PROPER
I AM... A SCIENTIST!



TOO COOL
(TO USE THE
BUTTONS)



BACKWARDS
ODD, BUT... KINDA
MAKES SENSE?



WRONG SIZE
OR DID YOU GAIN
WEIGHT?

JORGE CHAM © 2010