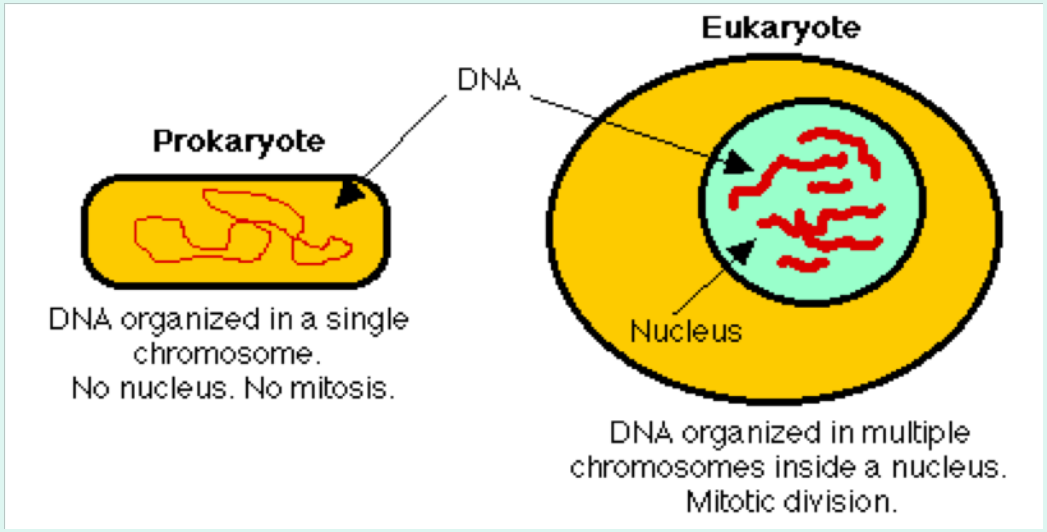
GENÉTICA BACTERIANA

Do que é constituído o material genético?

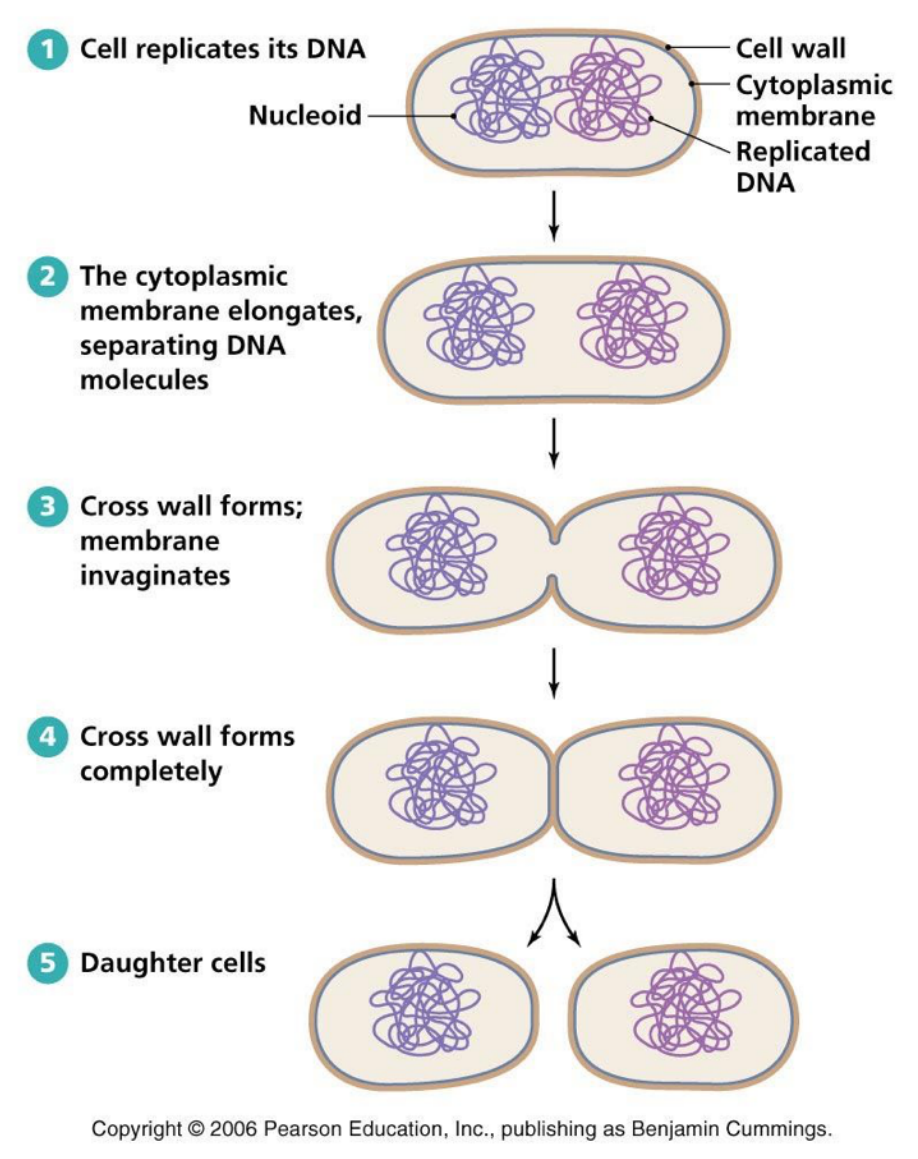
Como o material genético está organizado nas bactérias (procariotos) e nos organismos eucariotos?

Material Genético: Procariotos X Eucariotos

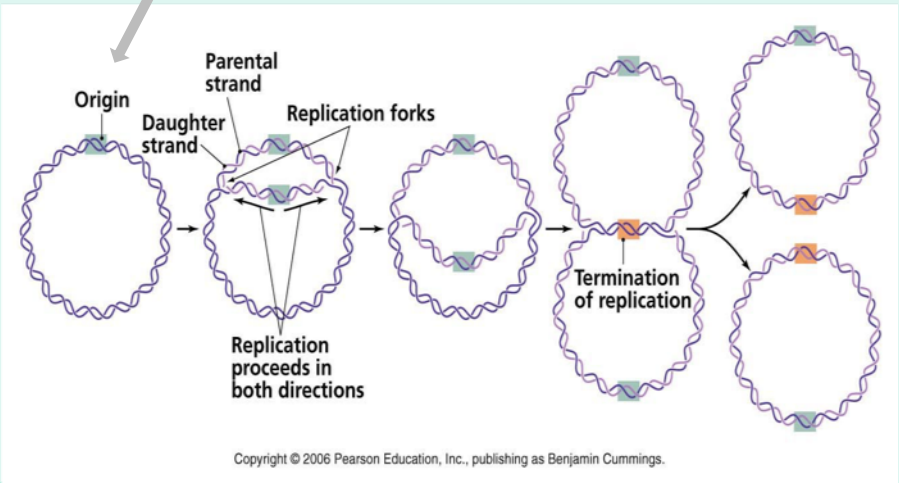


DNA cromossomal	- No citoplasma - Fita dupla - Mais frequentemente circular	- No NUCLEO - Fita dupla - Linear -- Cromossomos
DNA Extracromossomico	- DNA plasmidial - Codifica funções extras: - Resistência a drogas - Resistencia a metais pesados - Adesão, - Invasão - Fermentação de açúcares	- DNA mitocondrial - Cloroplasto (plantas) - DNA plasmidial

Replicação do Material Genético Bacteriano



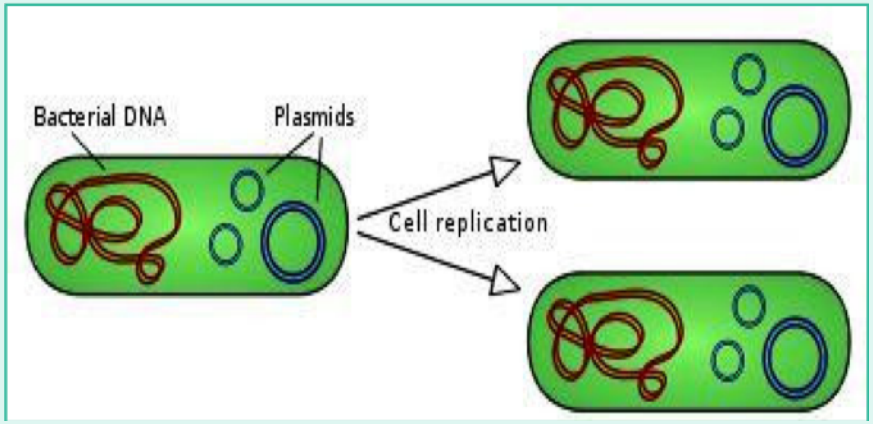
A partir da **origem de replicação** (ligada ao **mesossomo septal** região na membrana citoplasmática), Inicia-se a duplicação em sentido bidirecional



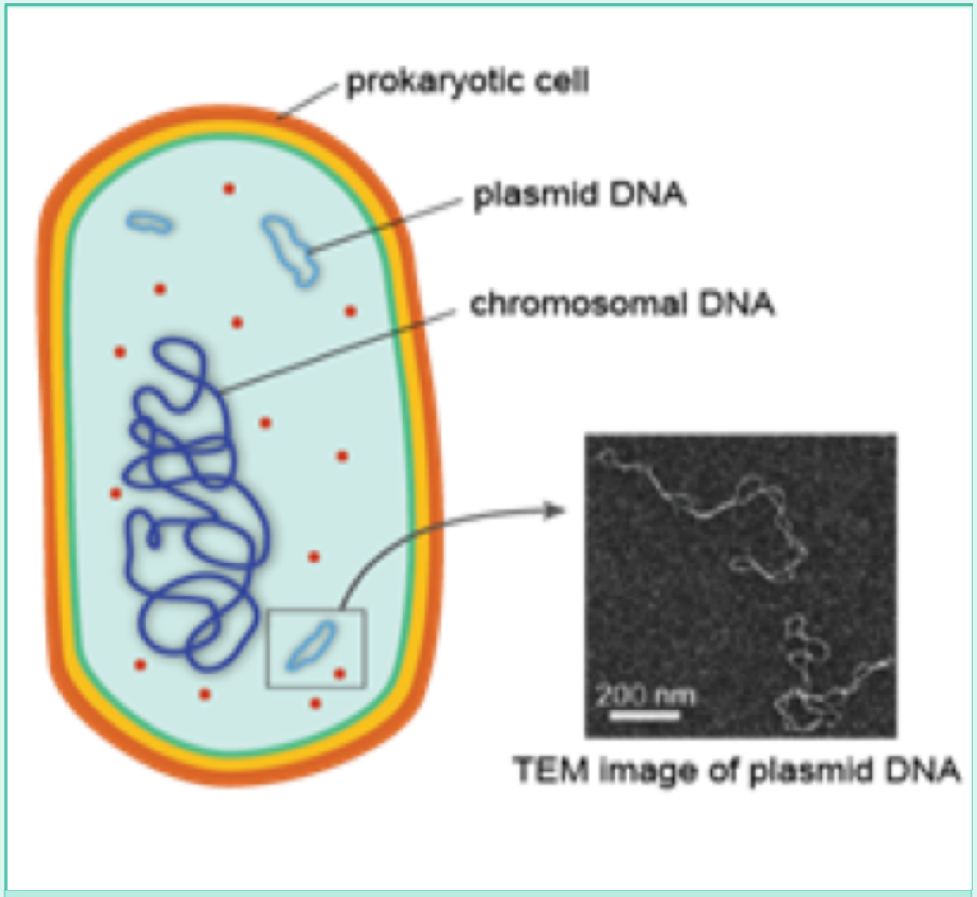
Detalhe do processo de replicação do DNA cromossômico bacteriano.

Duplicação bacteriana

Replicação do Material Genético Bacteriano



Esquema da replicação de bactéria que tem plasmídeo de replicação autônoma.



Esquema e **M**icroscopia **E**letrônica de **T**ransmissão (**TEM**) mostrando o material genético bacteriano:
- DNA cromossomal, e
- DNA plasmidial de replicação autônoma.

Duplicação bacteriana

Quadro 1: Arranjo do DNA cromossomal de alguns organismos

Espécie	tamanho (pb)	N° genes	DNA cromossomal	DNA plasmidial
Mycoplasma genitalium	$0{,}58.10^6$	480	fita dupla, circular	
Haemophilus influenzae	$1{,}83.\ 10^6$	1.743	fita dupla, circular	
Escherichia coli	$4{,}67.\ 10^6$	4.288	fita dupla, circular	Vários circulares
Borrelia burgdorferi	$1{,}3.\ 10^6$		fita dupla, linear	Vários lineares
Rhodobacter sphaeroides	$4{,}3.\ 10^6$		duas fitas duplas lineares	
Saccharomyces cerevisiae (levedura de cerveja)	$1{,}2.\ 10^7$	5.885	16 cromossomos lineares	Alguns circulares
Homo sapiens (homem)	$3{,}2,\ 10^9$	60.000 - 100.000	46 cromossomos lineares (célula diplóide)	

- ✓ **Autoperpetuação**
- ✓ **Multiplicidade das espécies**

?

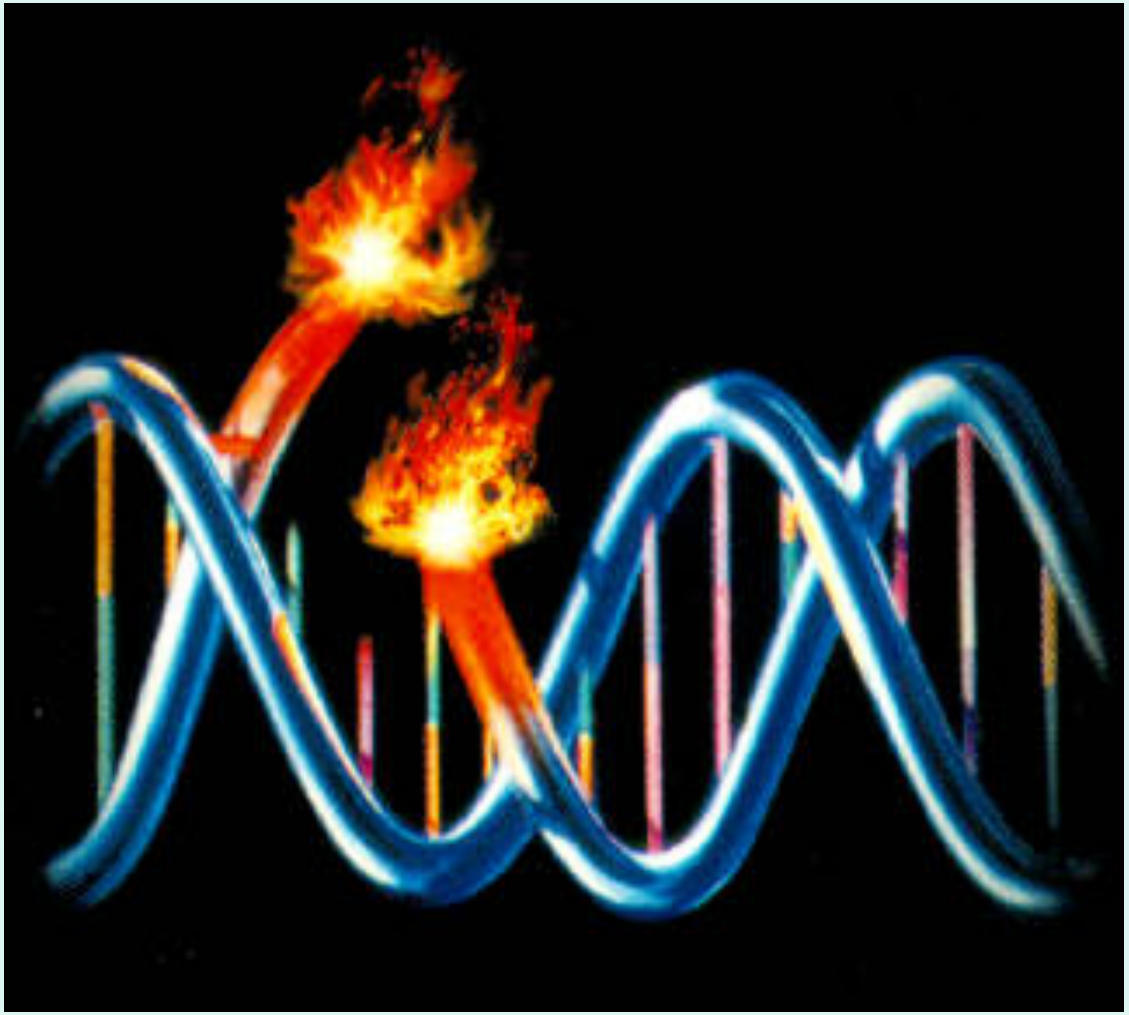
Mecanismos de Variação Genética

Mutação

Recombinação

- **Transformação**
- **Conjugação Bacteriana**
- **Transdução**
- **Elementos Transponíveis - Transposons**

Mutação e Mecanismos de Reparo de DNA



Profª Elisabete J. Vicente
bevicent@usp.br

- **Mutação:**

qualquer modificação súbita ou hereditária no conjunto gênico de um organismo que não é explicável pela recombinação da variabilidade genética preexistente.

- **Mutações espontâneas:** resultado de funções celulares normais ou interações aleatórias com o ambiente.

- **Mutações induzidas:** ocorre devido o tratamento com determinados compostos chamados de mutagênicos ou genotóxicos.

Agentes Mutagênicos

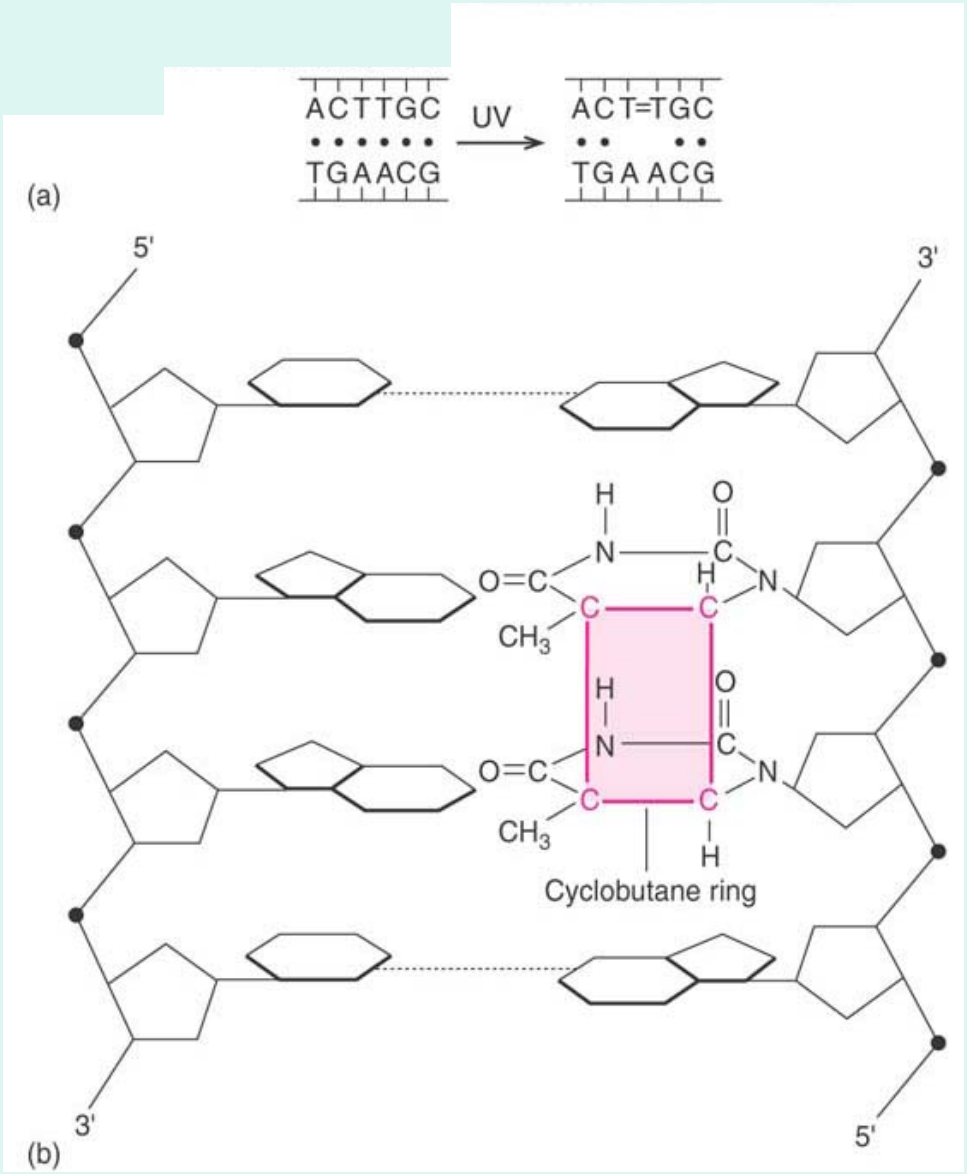
- Mutagênicos físicos:

  - UV (dímeros de pirimidina),
  - Radiações ionizantes (ionização do DNA → quebras das cadeias do DNA simples e duplas
  - Calor

- Mutagênicos químicos:

  - moléculas planares: - Brometo de etídio (EB),
    - Dodecilsulfato de sódio (SDS)
  - Agentes alquilantes: metil metano sulfonato (EMS)
  - Água oxigenada (H_2O_2)

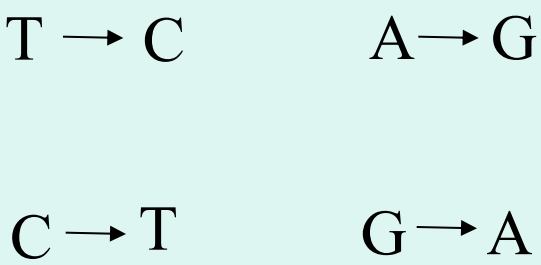
UV (radiação ultravioleta)



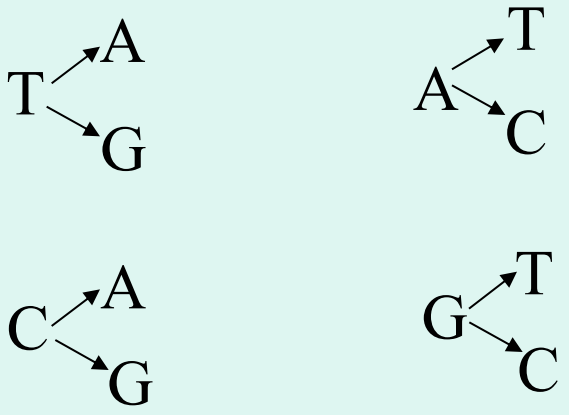
Conceitos:

- **Transição:** substituição de uma **purina (C,T)** por outra **purina** ou de uma **pirimidina (A,G)** por outra **pirimidina**.

- **Transversão:** substituição de uma **purina** por uma **pirimidina** ou vice-versa



Transições



Transversões

OBS.: São possíveis quatro diferentes transições e oito diferentes transversões.

Mecanismos de Reparo de DNA

Todos os seres possuem mecanismos multienzimáticos para a eliminação (reparo) das lesões presentes no DNA

Em presença de Luz:

fotorreativação

Na Ausência de Luz:

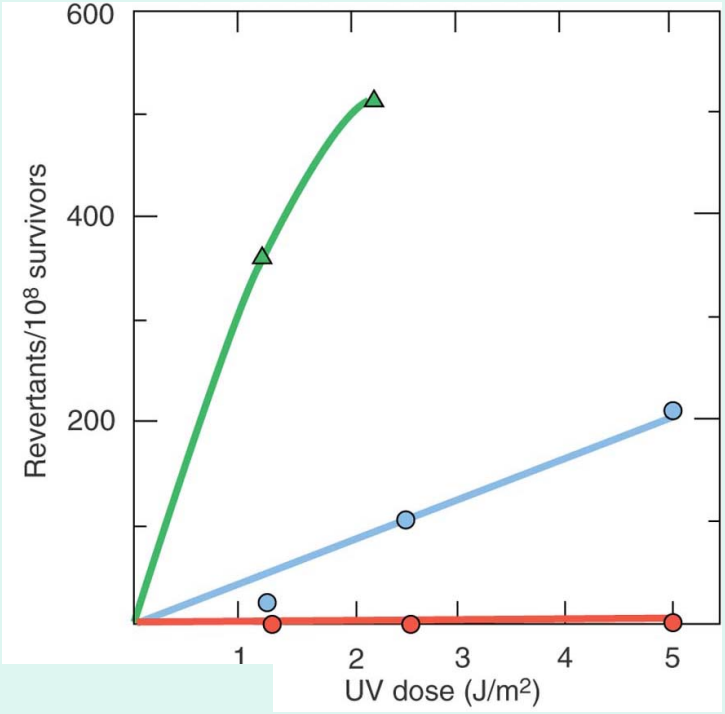
Aplicações

1. Obtenção de Mutantes

2. Testes de Detecção de substâncias mutagênicas

Teste de Ames

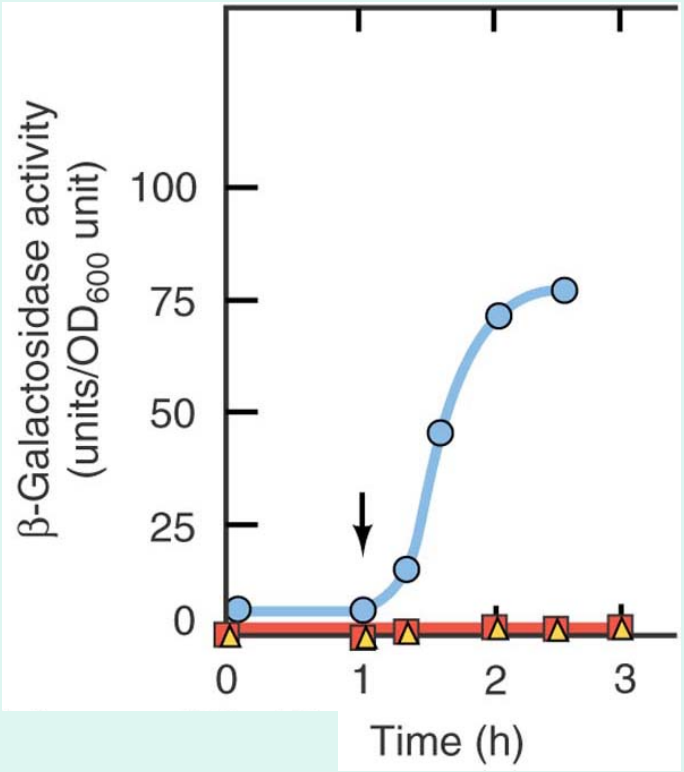
(*Salmonella* thiphimurium – gene *umuCD*)



Detecção: Revertentes *his*+

Cromoteste

(*Escherichia coli* - fusão *sfi-lacZ*)



Detecção: Cor amarela

Mecanismos de Variação Genética

Mutação

Recombinação

Transformação

Conjugação Bacteriana

Transdução

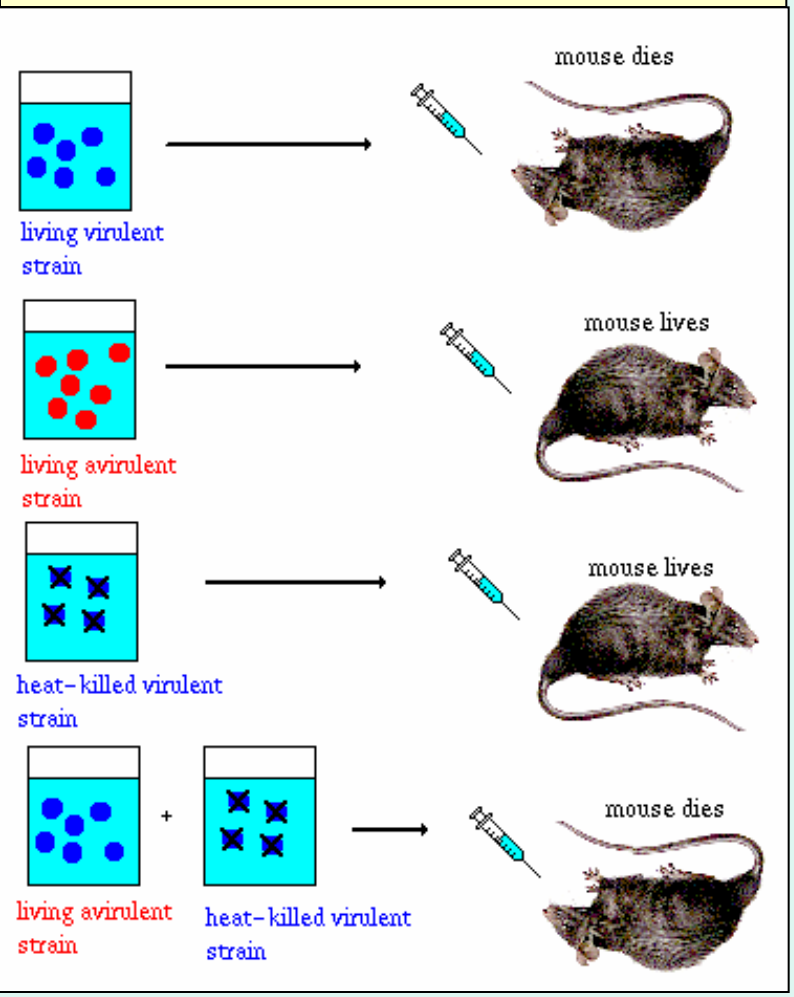
Elementos Transponíveis - Transposons

Transformação bacteriana

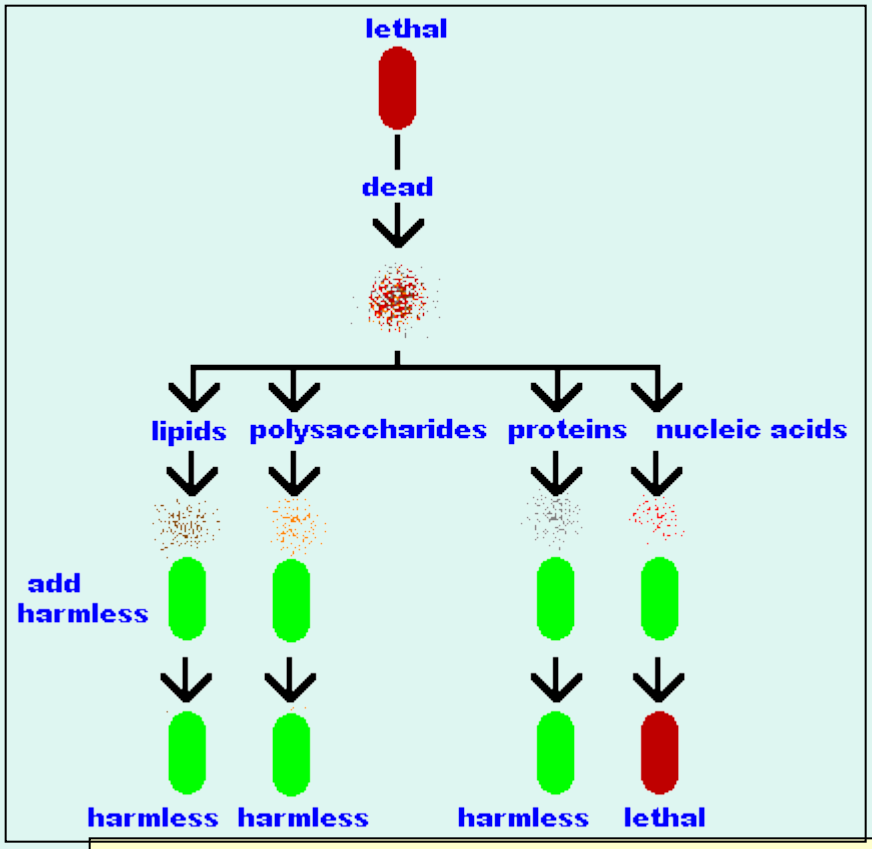
1928: Frederick Griffith

Streptococcus pneumoniae

(Diplococcus pneumoniae)



1944: Avery, MacLeod, McCarty

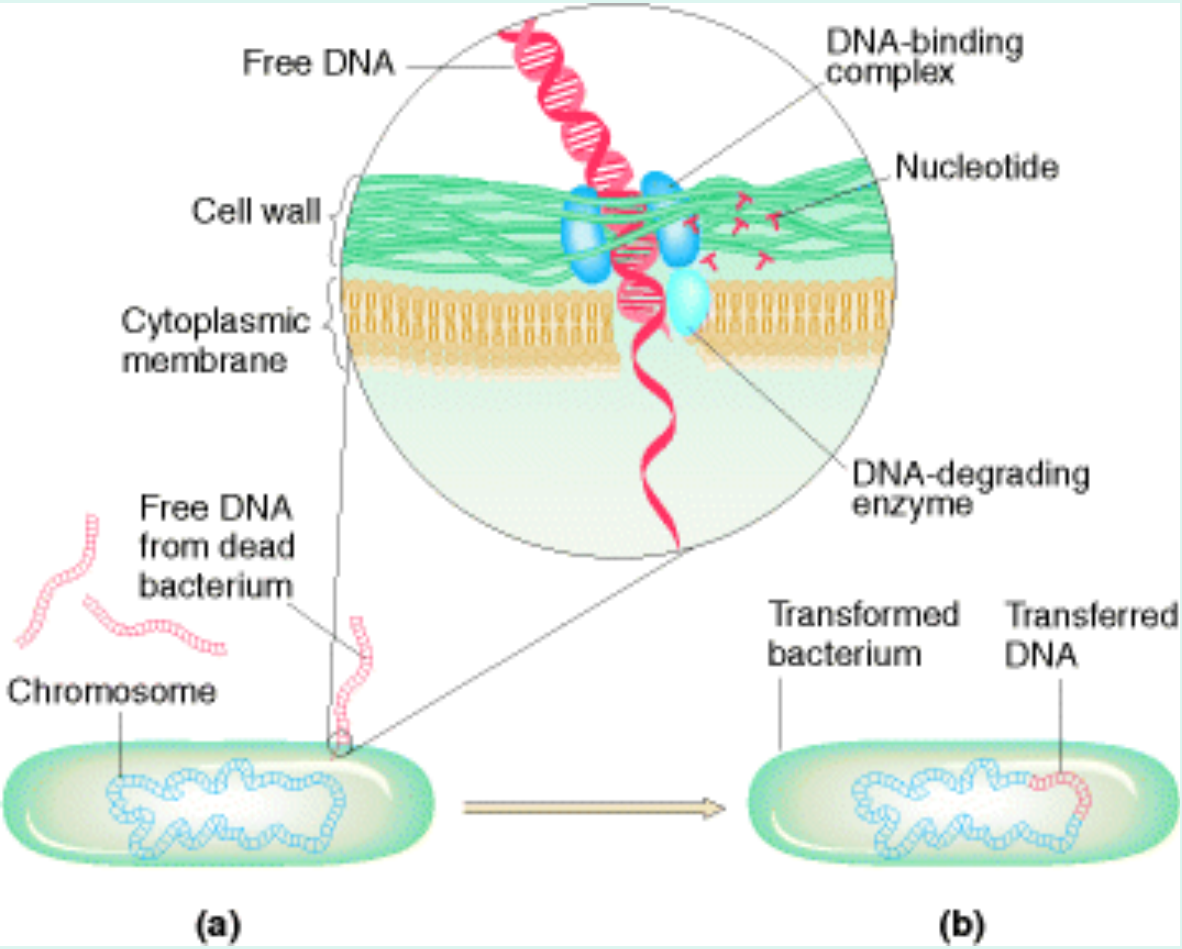


A natureza do princípio transformante

Transformação

Como ocorre?

Mecanismo de transferência do material genético

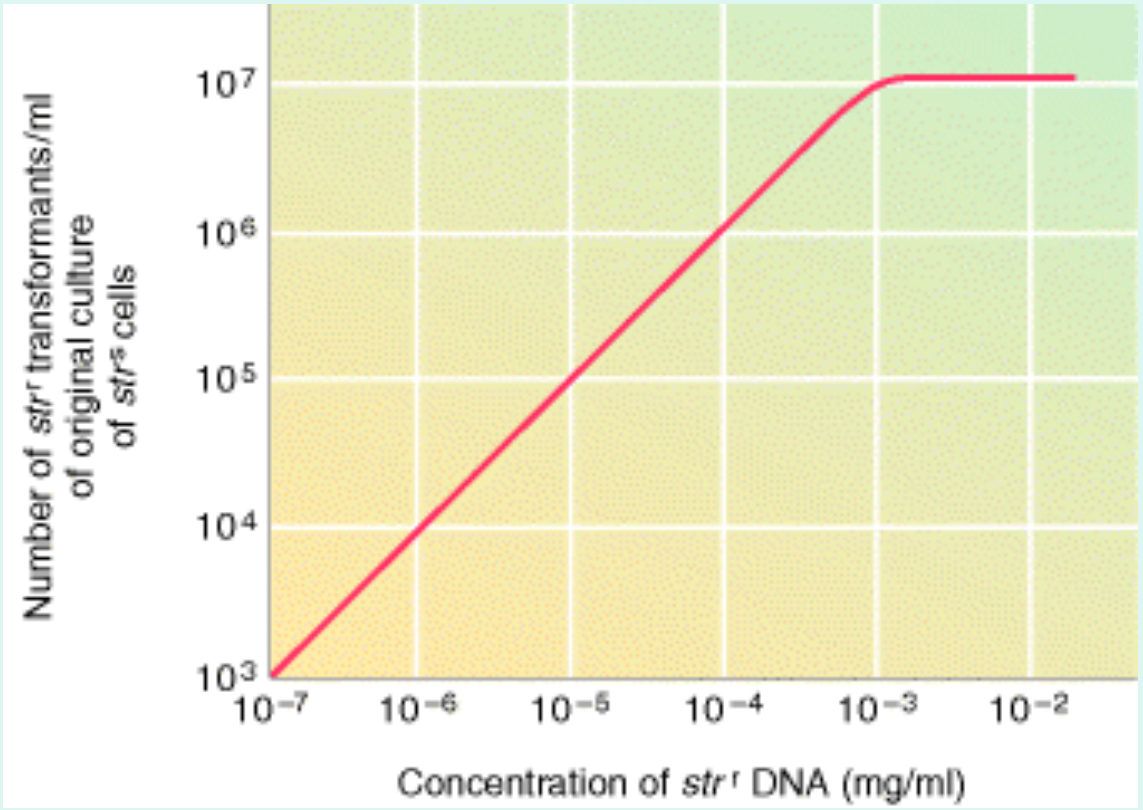


Algumas bactérias recebem DNA linear.

Algumas bactérias recebem preferencialmente plasmídios.

Transformação

O que é então?



Mecanismos de Variação Genética

Mutação

Recombinação

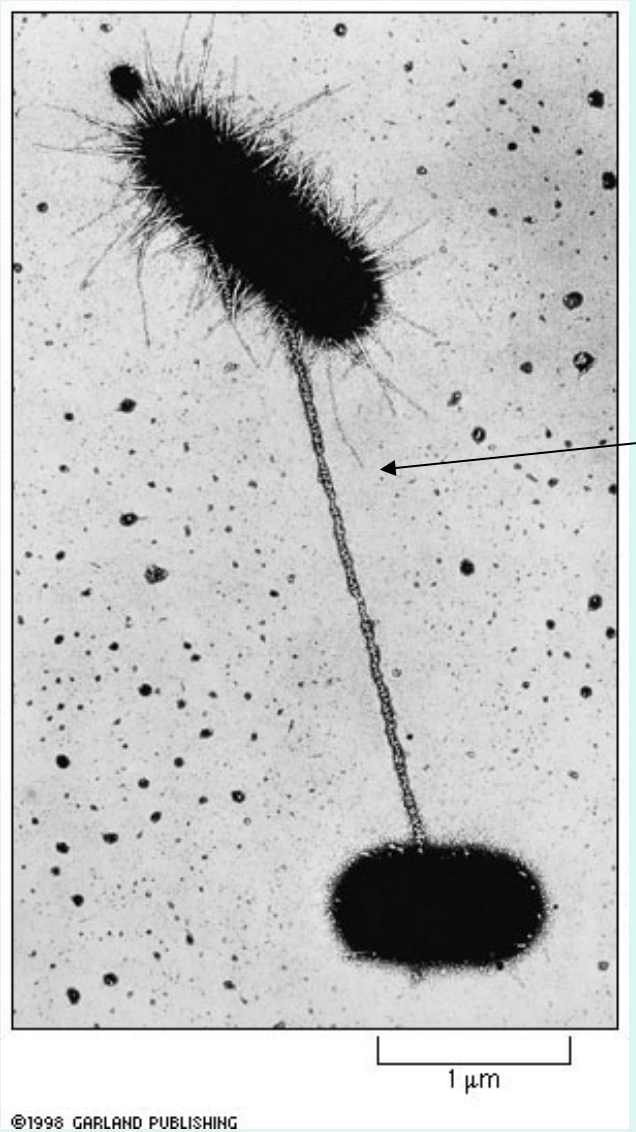
Transformação

Conjugação Bacteriana

Transdução

Elementos Transponíveis - Transposons

Conjugação Bacteriana



Mecanismo de transferência do material genético

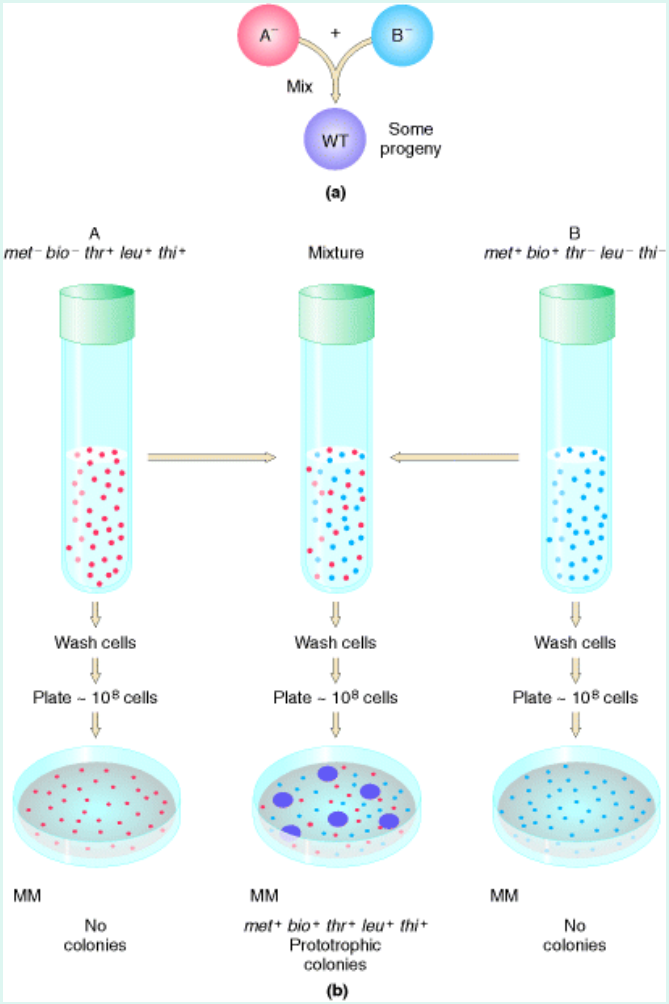
Pili (fímbria)

de conjugação

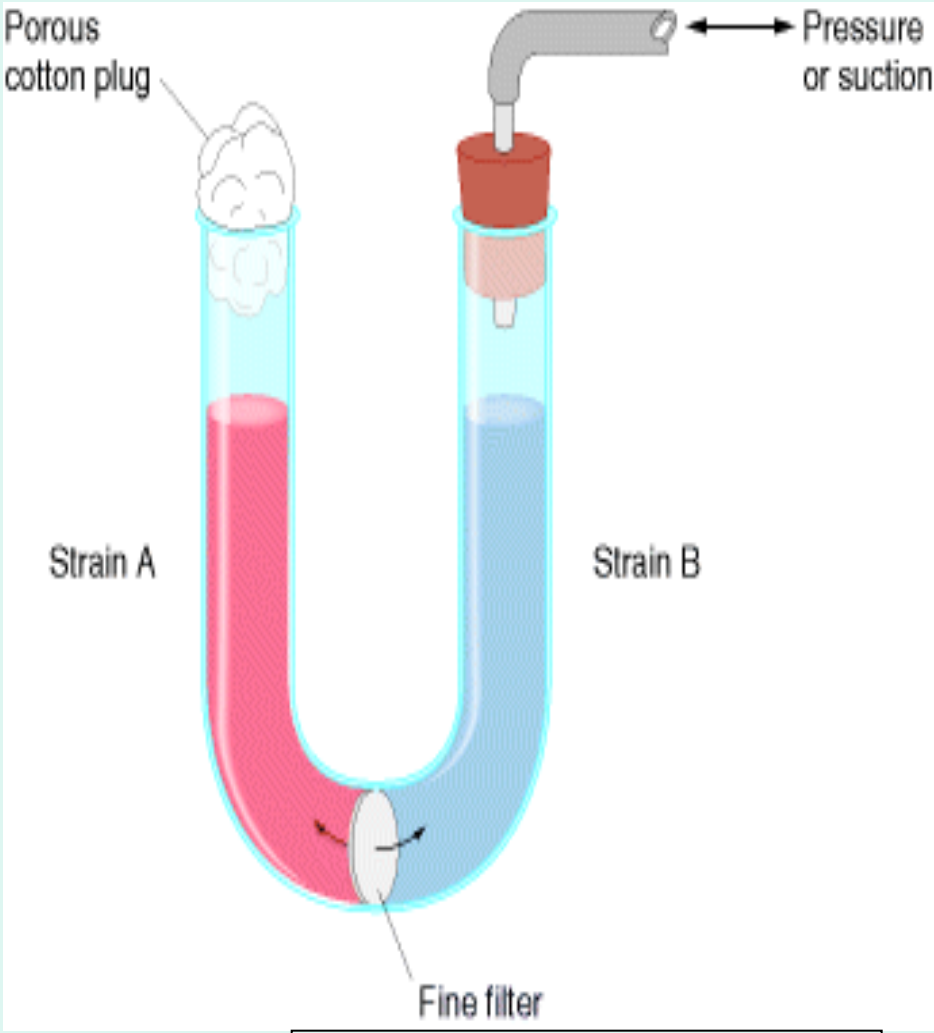
Conjugação Bacteriana

Mecanismo de transferência do material genético

1946: J. **Lederberg** e E.L. **Tatum**



Conjugação Ocorre



Conjugação <u>NÃO</u> ocorre

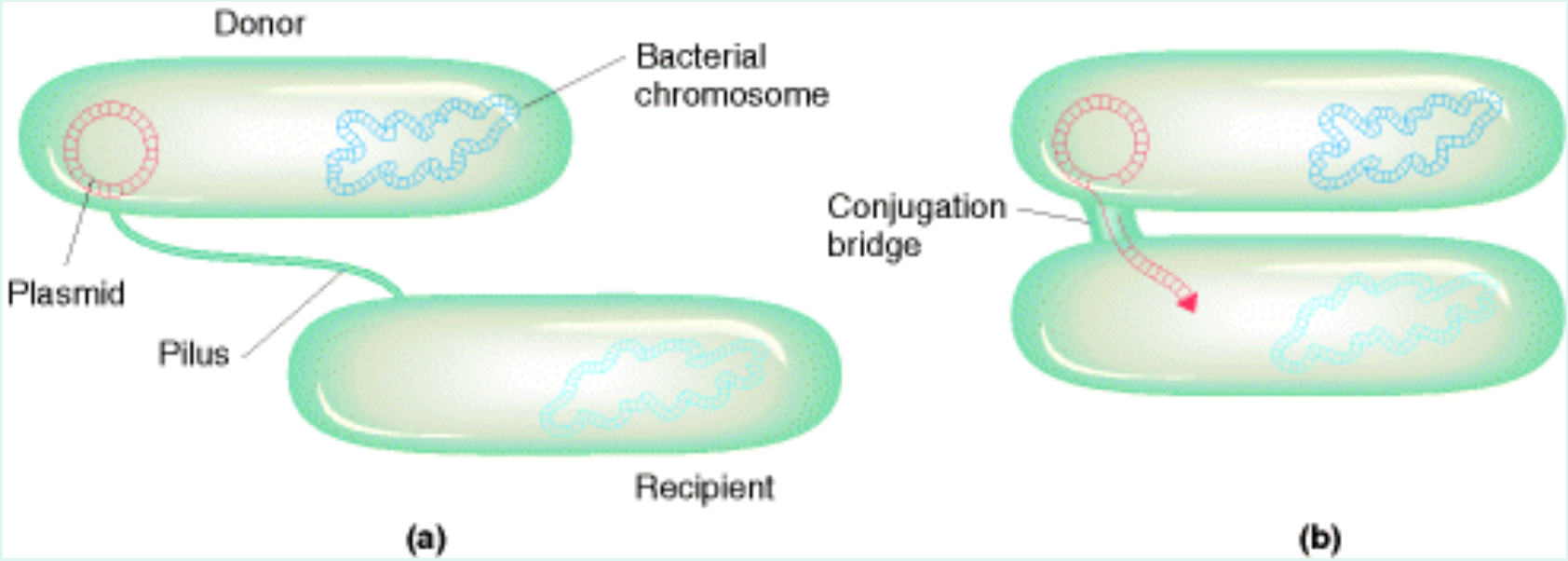
Conjugação Bacteriana

Conjugação Bacteriana

Tabela 2: Determinantes Genéticos de origem em plasmídeo

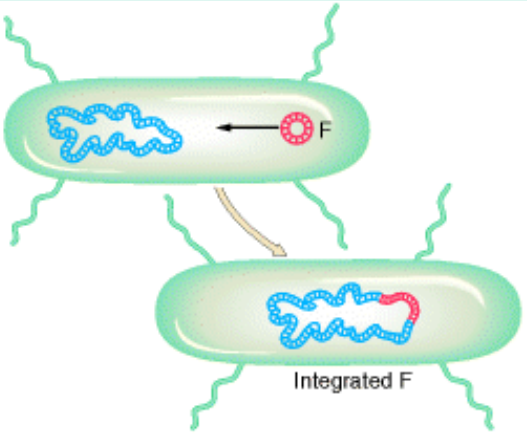
Características	Exemplos de Plasmídios
Fertilidade	F, R1, Col
Produção de Bacteriocina	Col E1
Resistência a metais pesados	R6
Resistência a drogas (antibióticos)	R1
Produção de Enterotoxina	Ent
Metabolismo de canfora	Cam
Tumor em plantas	T1 (*Agrobacterium tumefaciens)*

Conjugação Bacteriana



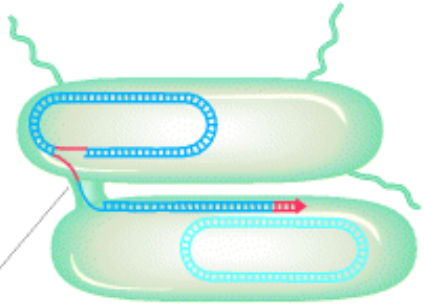
Transferência de plasmídeos

Bactéria Hfr: Transferência de genes cromossômicos.

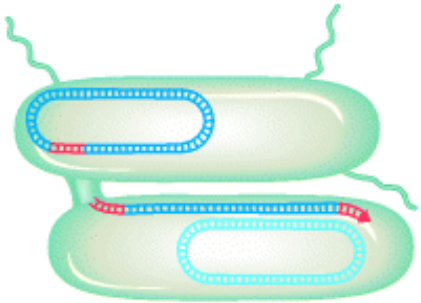


F is integrated into the host chromosome

(a)

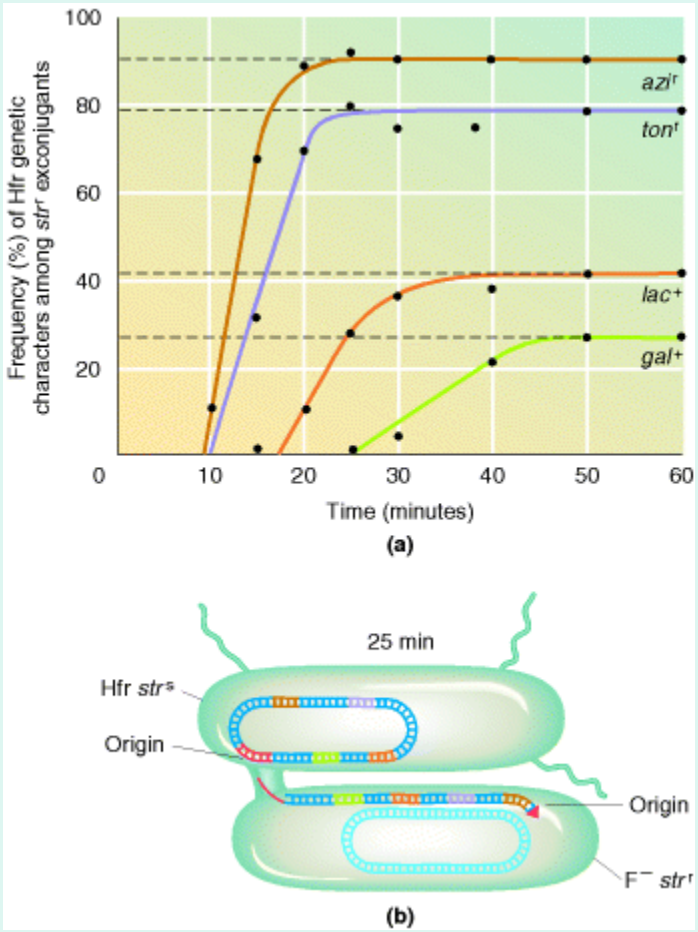


A single strand of F is transferred, along with a copy of part of the host chromosome, to a recipient cell, where a second strand is synthesized.



A copy of the host chromosome with F integrated (both generated by replication) remains in the donor cell after replication of the remaining single strand.

(b)



Bactéria Hfr: Transferência de genes cromossômicos.

Mecanismos de Variação Genética

Mutação

Recombinação

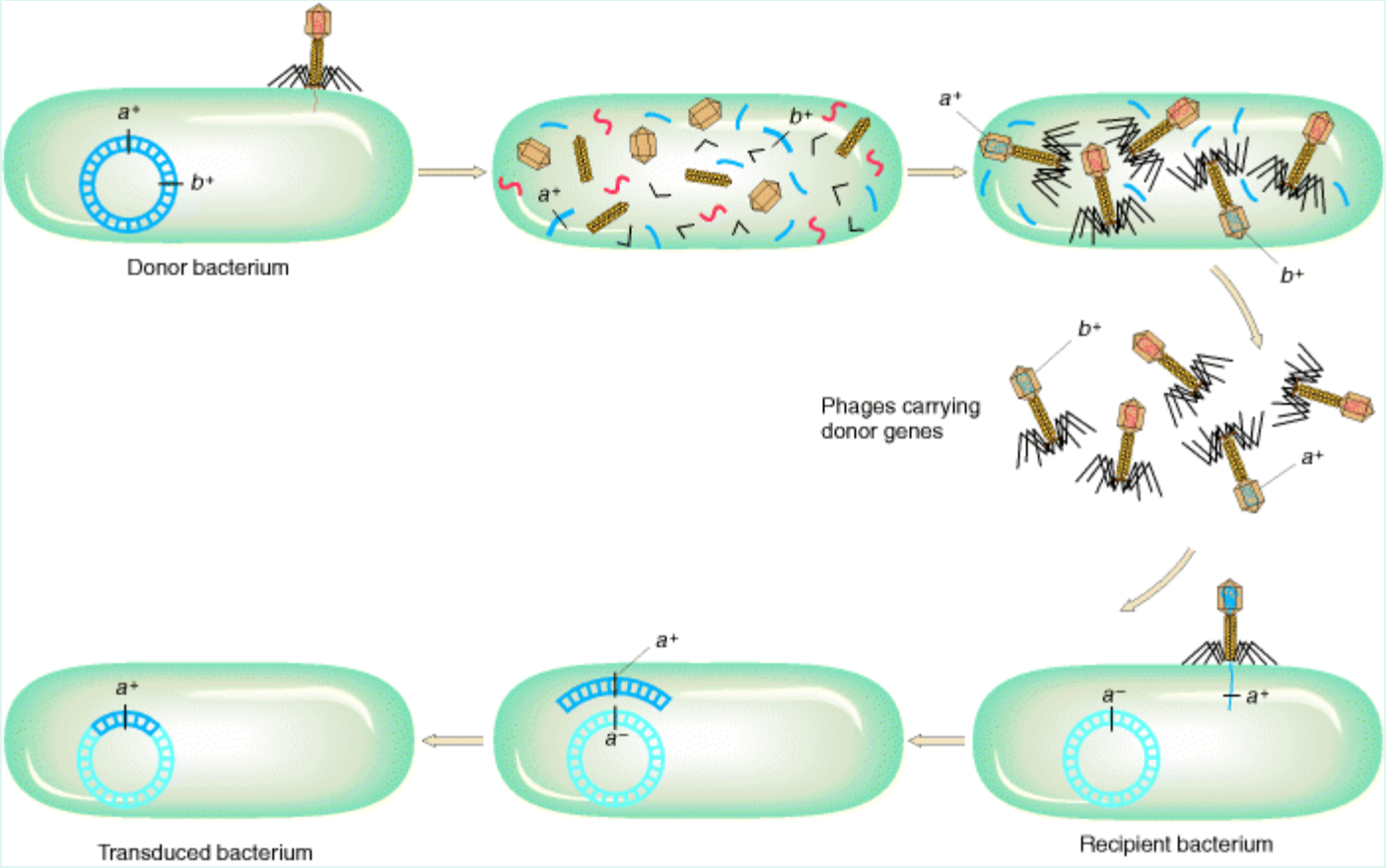
Transformação

Conjugação Bacteriana

Transdução

Elementos Transponíveis - Transposons

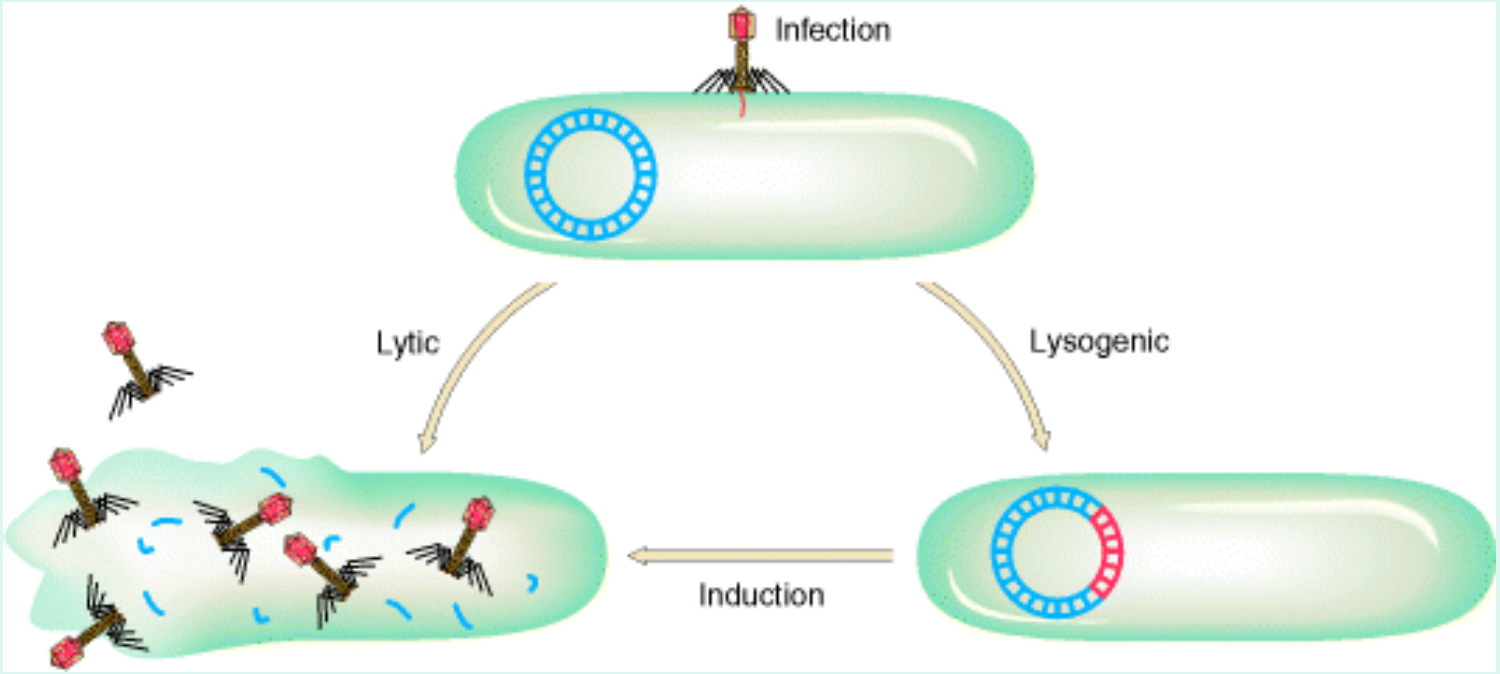
Transdução


a+
b+
Donor bacterium
b+
a+
a+
b+
Phages carrying
donor genes
b+
a+
a−
a+
a+
a−
a+
Transduced bacterium
Recipient bacterium

Transdução

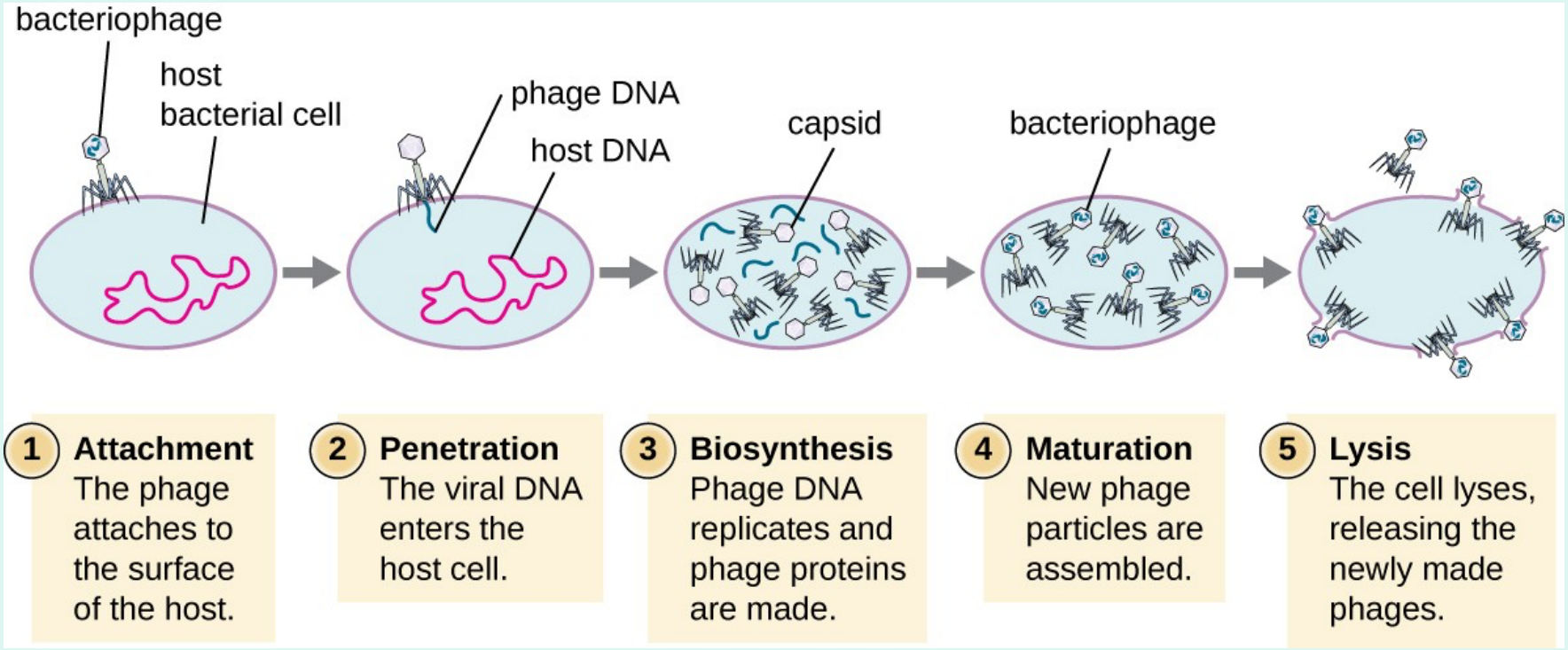
Transdução generalizada

Transdução especializada



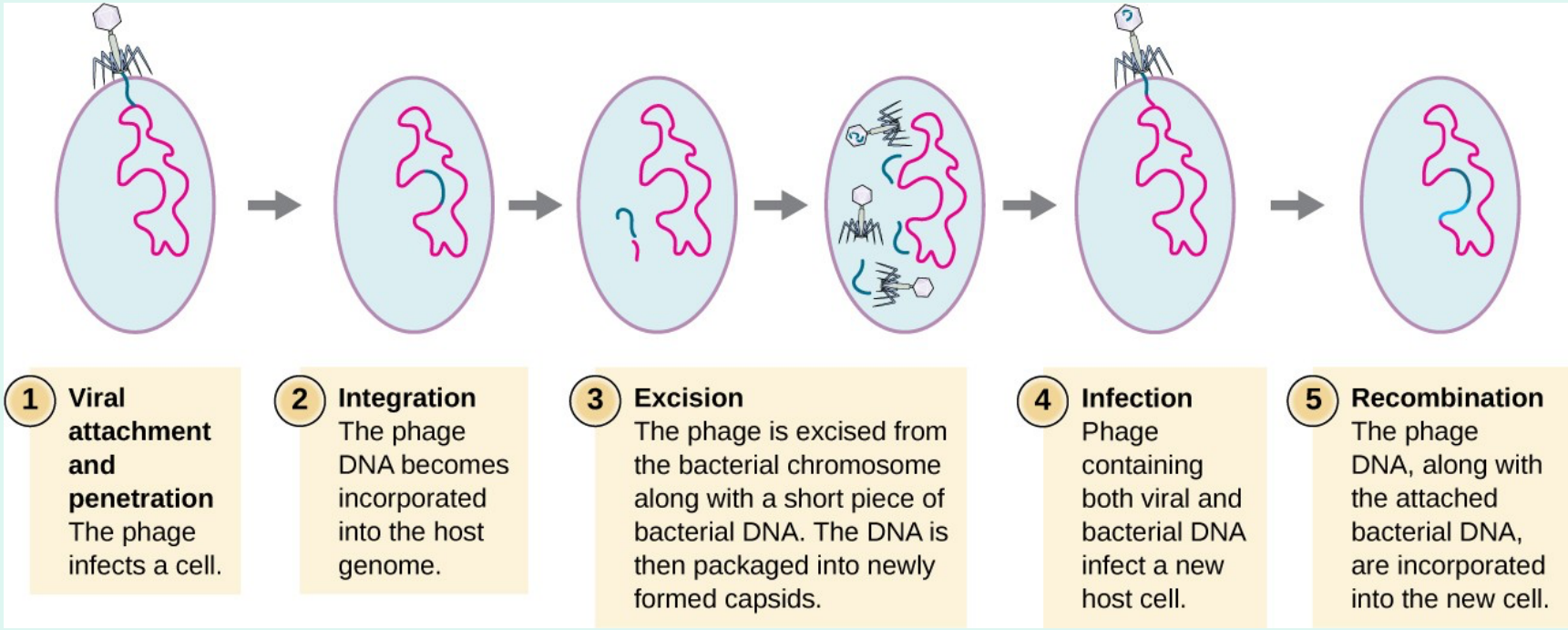
Transdução

Transdução generalizada



Transdução

Transdução especializada



1 **Viral attachment and penetration** The phage infects a cell.

2 **Integration** The phage DNA becomes incorporated into the host genome.

3 **Excision** The phage is excised from the bacterial chromosome along with a short piece of bacterial DNA. The DNA is then packaged into newly formed capsids.

4 **Infection** Phage containing both viral and bacterial DNA infect a new host cell.

5 **Recombination** The phage DNA, along with the attached bacterial DNA, are incorporated into the new cell.

Mecanismos de Variação Genética

Mutação

Recombinação

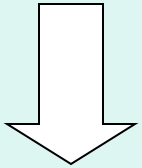
- **Transformação**
- **Conjugação Bacteriana**
- **Transdução**
- **Elementos Transponíveis - Transposons**

Elementos genéticos Transponíveis

TRANSPOSONS

A maioria dos genes tem uma posição fixa no cromossomo

Nos anos 1940 foram identificados seqüências de DNA que alteram, suas posições.



Elementos Transponíveis

The picture can't be displayed.

Descoberta dos Transposons

Experiência clássica de **Bárbara MacClintock**

Born	June , 1902 16 - Hartford, Connecticut
Died	September 2 , 1992 -Huntington, New York
Notable prizes	Nobel Prize in Physiology or Medicine (1983)

1940: resultados que desafiavam a genética Clássica

?

- Controlling elements
- Cassettes
- jumping genes
- roving genes
- mobile genes
- mobile genetic elements
- transposons
- **TRANSPOSABLE GENETIC ELEMENTS**

?

- TRANSPOSIÇÃO:

Transferência de um segmento de DNA de uma posição para outra

⇩

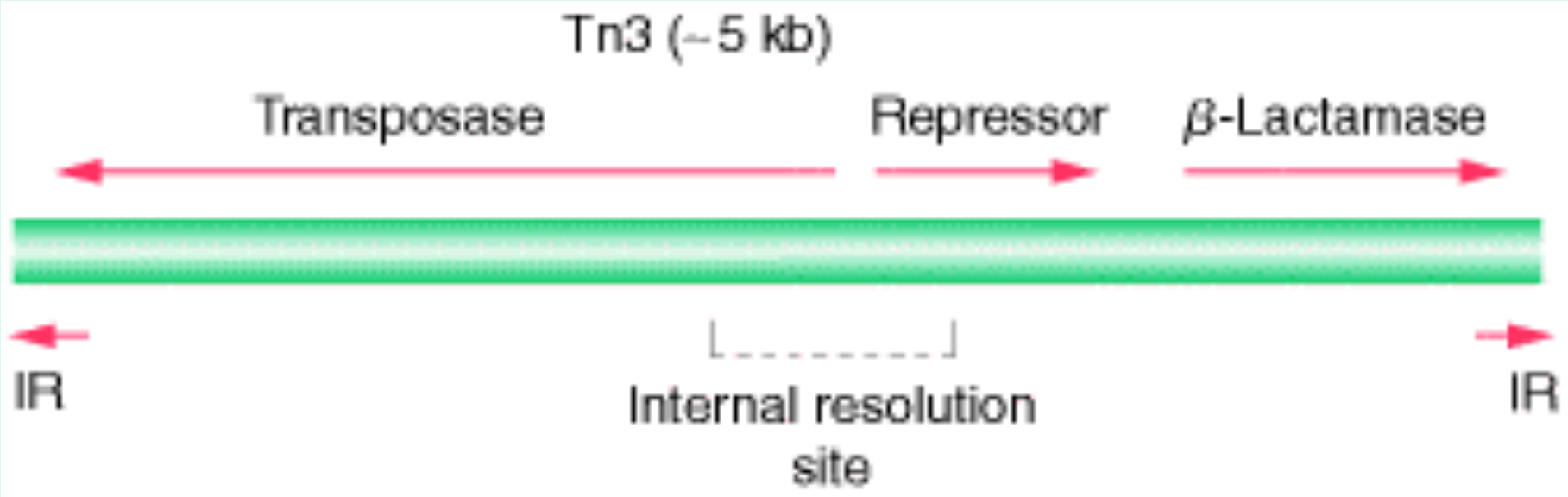
REARRANJOS ESTRUTURAIS

- O que é transposto?

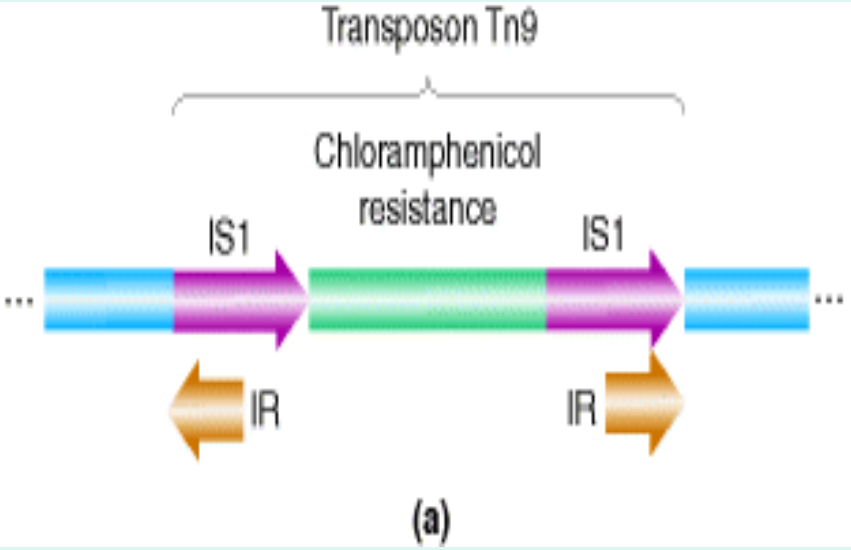
- um gene;
- um pequeno número de genes ligados;
- qualquer entidade genética deste tamanho.

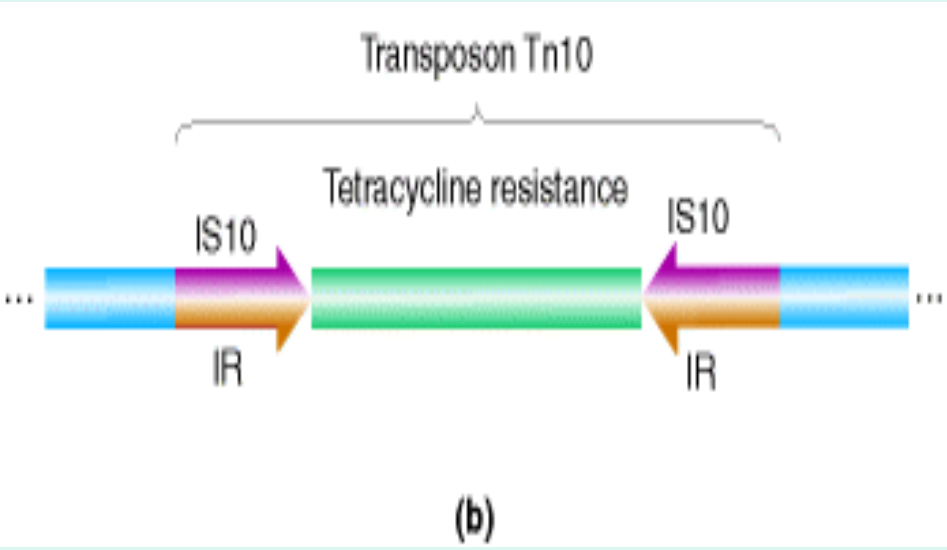
⇩

“ELEMENTO GENÉTICO”


Tn3 (~5 kb)
Transposase
Repressor
β-Lactamase
IR
Internal resolution site
IR

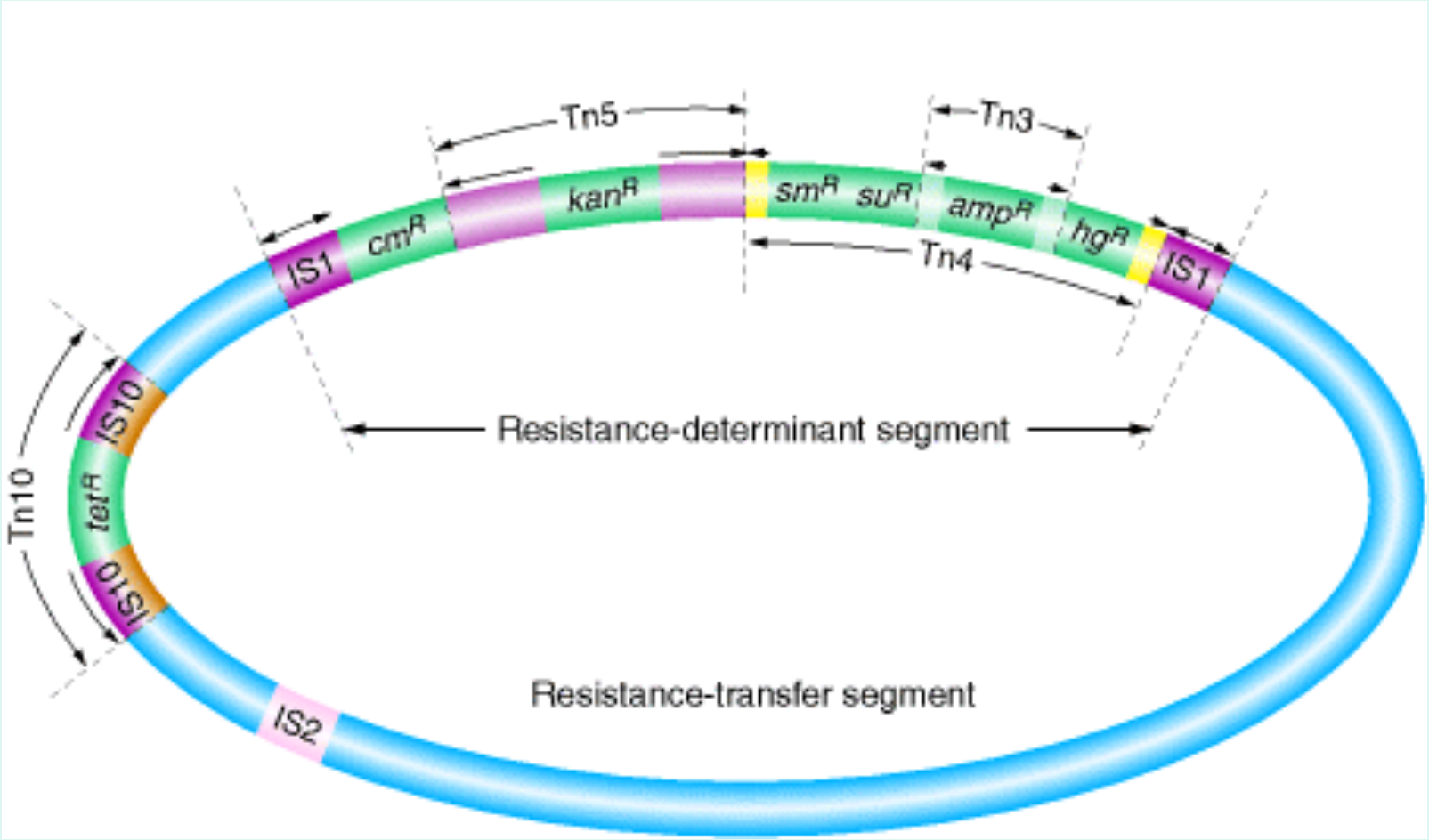
Tn 3


Transposon Tn9
Chloramphenicol resistance
IS1
IS1
IR
IR
(a)


Transposon Tn10
Tetracycline resistance
IS10
IS10
IR
IR
(b)

Alguns Transposons de Bactérias

Transposon	Marcador	Comprimento (bp)	"Inverted repeat"
Tn1	Ampicillin	4,957	38
Tn2	Ampicillin		
Tn3	Ampicillin		
Tn4	Ampicillin,	20,500	Short
	streptomycin,		
	sulfanilamide		
Tn5	Kanamycin	5,400	1500
Tn6	Kanamycin	4,200	Not detectable
Tn7	Trimethoprim,	14,000	Not detectable
	streptomycin		with electron
Tn9	Chloramphenicol	2,638	18/23*
Tn10	Tetracycline	9,300	1400
Tn951	*lac*	16.600	curto
Tn1681	enterotoxina termoestável	2.088	768 (IS1)



Papel dos **elementos transponiveis** na evolução dos plasmidios resistentes a múltiplos antibióticos

Obrigada!

Elisabete Vicente

Instituto de Ciências Biomédicas / USP

bevicent@usp.br