

Exercícios – Elementos genéticos móveis

1. Conjugação, transformação e transposição são formas de transferência de material genético em bactérias.

a. Quais elementos genéticos são transferidos em cada um destes processos? Descreva com detalhes.

Conjugação: plasmídeos.

1. São necessárias duas bactérias. Uma doadora e uma receptora.
2. A bactéria doadora do plasmídeo produz um pili que liga a bactéria doadora à receptora.
3. A enzima relaxase cliva o plasmídeo
4. Uma cadeia de DNA simples fita é então mobilizada pelo pili chegando assim à célula receptora
5. O pili é desfeito
6. O DNA recebido é então duplicado para dupla fita
7. Obs: plasmídios conjugativos podem ser permanentemente plasmídios, ou podem se integrar ao genoma bacteriano, sendo necessária uma etapa adicional onde o plasmídeo sai do cromossomo e volta a ser um plasmídeo circular.

Transformação: plasmídeos

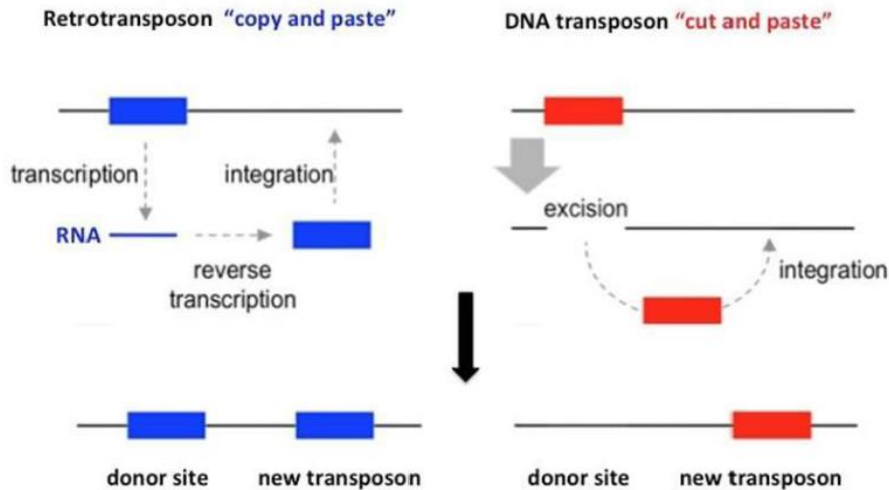
1. A célula a ser transformada passa por um tratamento para se tornar competente (crescimento até fase log, e lavagem com tampão contendo cloreto de cálcio e glicerol, sendo armazenada a -80°C até o momento da transformação).
2. A célula é incubada com o plasmídeo de interesse
3. A célula passa por um choque térmico para permitir a entrada do plasmídeo na célula
4. A bactéria é recuperada do estresse da transformação e tem o gene de resistência a antibiótico expresso durante uma hora em meio rico sem antibiótico.
5. As células são plaqueadas para seleção dos transformantes

Obs: existem na natureza bactérias que conseguem se tornar naturalmente competentes e são capazes de capturar DNA do meio em que crescem

Transposição: transposons

Transposon copia e cola: DNA é transcrito para RNA, uma transcriptase reversa converte o RNA em DNA e esse novo DNA é integrado em outro local do genoma. São semelhantes a retrovírus.

Transposon corta e cola: Transposase corta o transposon, e integra em um novo lugar do genoma. No lugar anterior fica uma pequena "cicatriz" correspondente as extremidades repetidas.



b. Que tipos de genes esses elementos podem carregar?

Plasmídios:

Todos os plasmídios vão ter uma origem de replicação. Plasmídios usados em biologia molecular vão ter também uma marca de seleção a antibiótico. Na natureza plasmídios vão conter genes que ofereçam alguma vantagem de sobrevivência, não tendo que ter um gene de resistência a antibiótico, podem ter genes de virulência, bacteriocinas, para degradar substâncias tóxicas e no caso de plasmídios conjugativos é necessária a presença de diversos genes de fertilidade (responsáveis por toda a maquinaria de conjugação).

Transposons: os transposons do tipo copia e cola possuem ao menos um gene da transposase, e sequencias de repetições curtas e invertidas em cada um dos lados.

Transposons do tipo corta e cola possuem ao menos uma transcriptase reversa, integrase e repetições terminais longas nas extremidades.

Podem possuir genes de resistência.

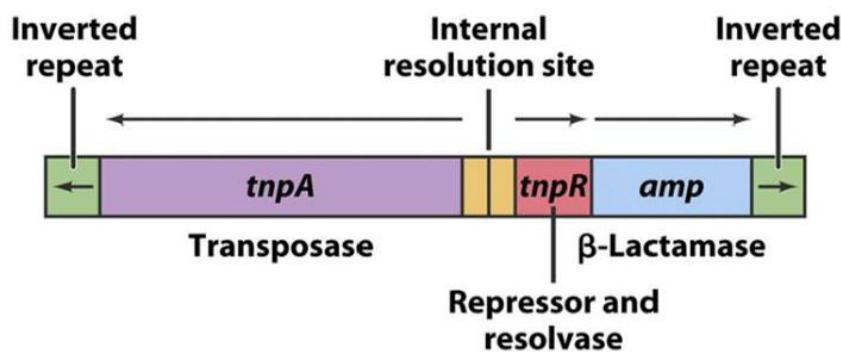


Figure 24-49 Fundamentals of Biochemistry, 2/e © 2006 John Wiley & Sons

2. O fato de bactérias patogênicas estarem se tornando resistentes a um grande número de antibióticos é um sério problema de saúde pública. Uma cepa bacteriana em um paciente que vinha sendo tratado com um antibiótico pode subitamente se tornar resistente não apenas a este antibiótico, mas a outros também aos quais não foi exposta. Especule sobre a base molecular deste problema.

Como a bactéria não foi anteriormente exposta ao antibiótico não se trata de uma seleção de resistentes espontâneos, logo essa resistência teve que ser adquirida de outra forma.

Nesse caso a bactéria deve ter adquirido a resistência por transferência horizontal de genes, quer por conjugação, transdução ou transformação.