

Biologia Molecular

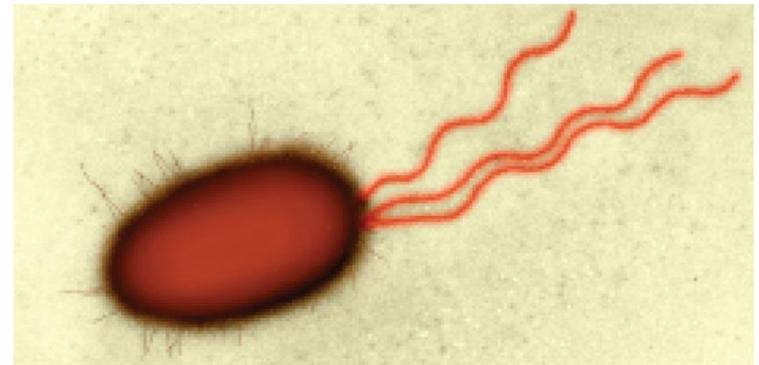
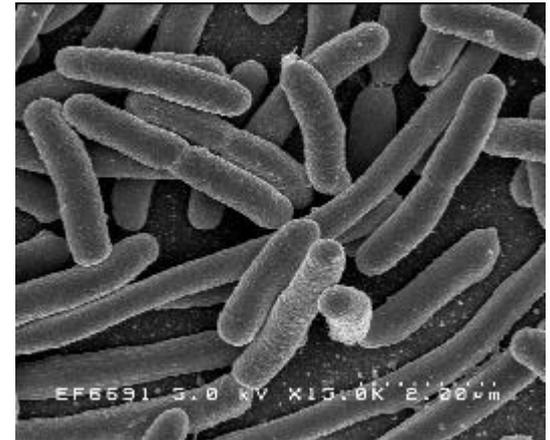
# **Transformação, Conjugação e Transdução bacteriana**

Prof. Dr. Arthur H. C. de Oliveira

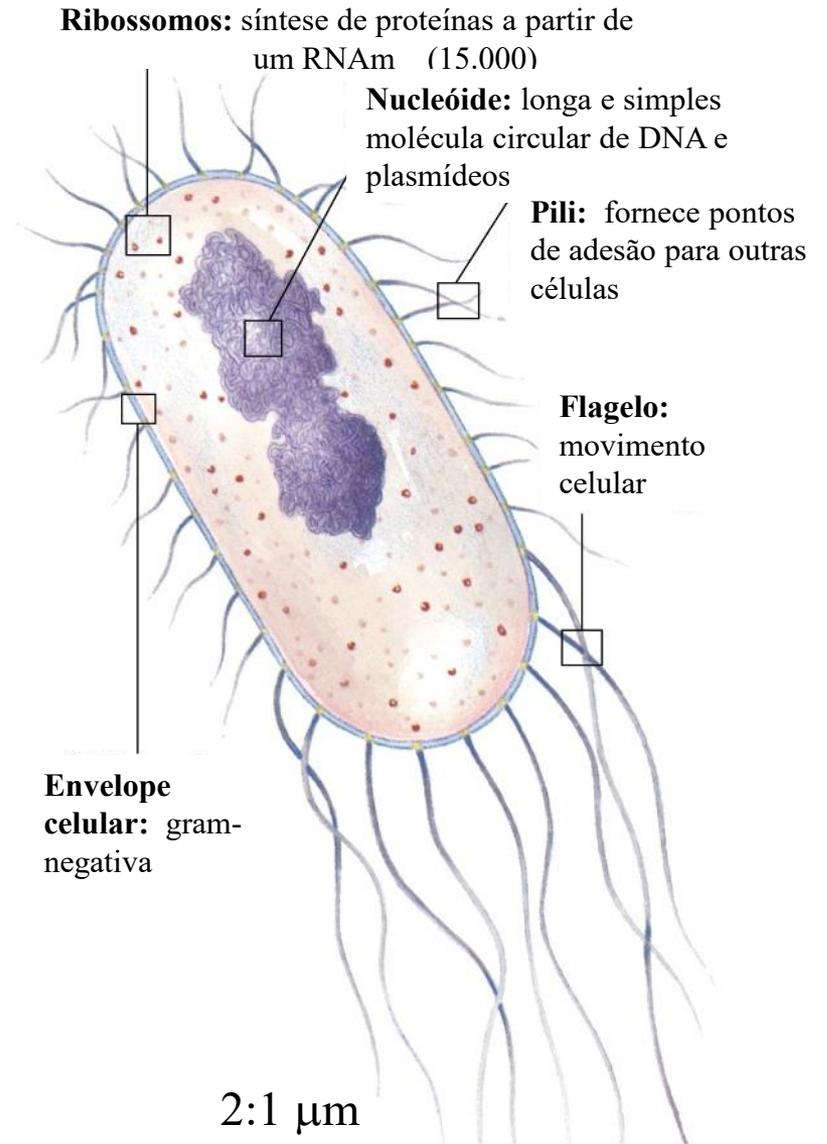
2024

## Organismo modelo: *Escherichia coli*

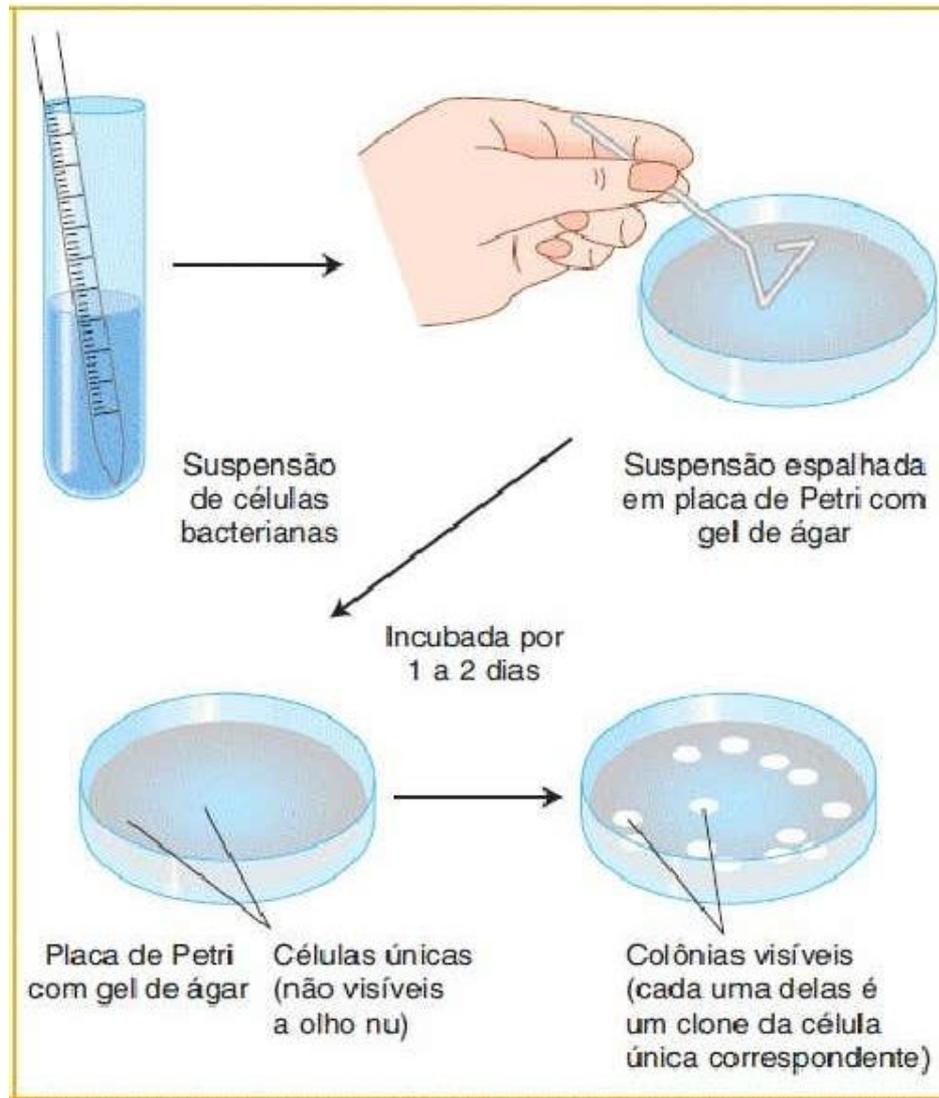
- genoma com 4.6 megabases,
- 4000 genes,
- 35% função desconhecida;
- plasmídeos (ciclo sexual: plasmídeo F) ,
- resistência a drogas e outras caract.



## *Escherichia coli*



# Cultura de bactérias em laboratório



Colônias tornam-se visíveis quando atingem  $\sim 10^7$  células

**Divisão celular: assexuada**



**Variabilidade genética : Geração de diferentes  
mutantes**



**Transferência de material genético bacteriano**

## Cultura de bactérias em laboratório

### **Fissão Binária:**

Crescimento: divisão em duas células

Aumento de tamanho (dobro do original)

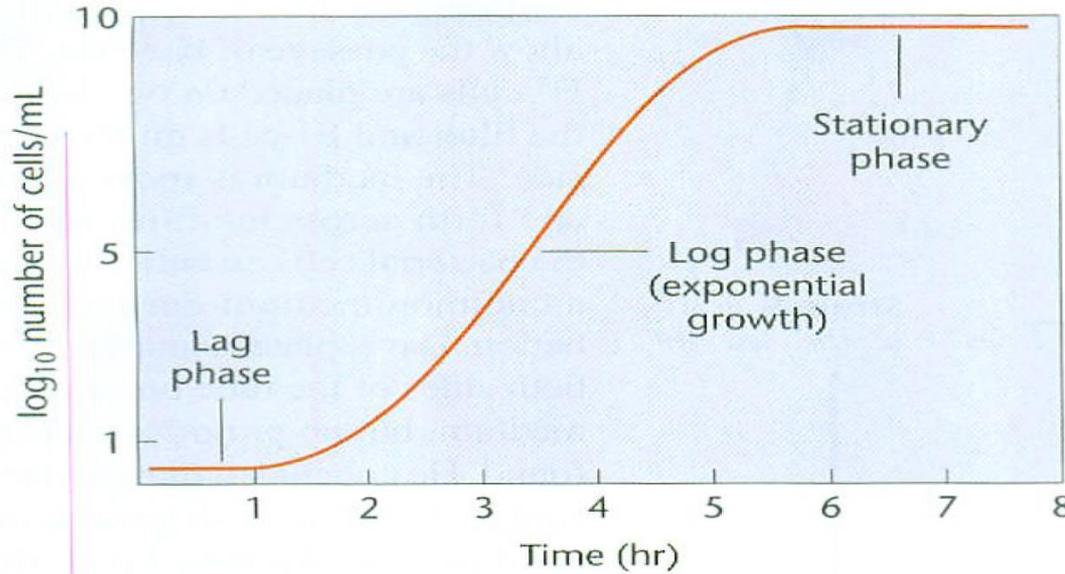
Septação e separação

Ocorrem ao menos 2000 reações químicas: transformação de energia, biossíntese de moléculas pequenas;

Tempo de um ciclo completo: *E. coli* : 20 minutos

Micobactérias: 13 – 15 horas

## Cultura de bactérias em laboratório



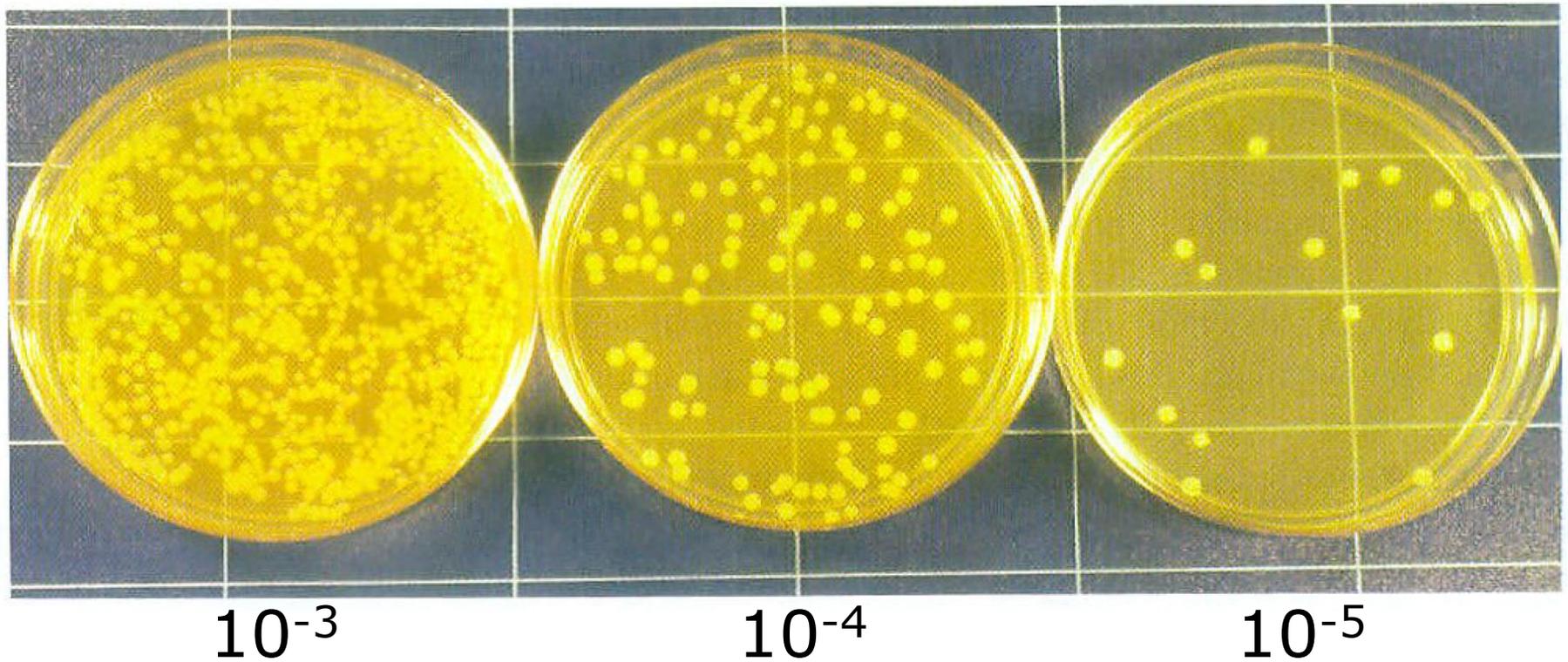
**Fases Lag ou Latente:** Fase de Adaptação; intensa atividade metabólica; Ausência de divisão;

**Fases logarítmica ou exponencial:** Divisão celular máxima - intensa atividade metabólica, Progressão geométrica – Crescimento ou Desenvolvimento

**Fase Estacionária:** Esgotamento de nutrientes ou acúmulo de metabólitos; número de mortes é igual ao de novas;

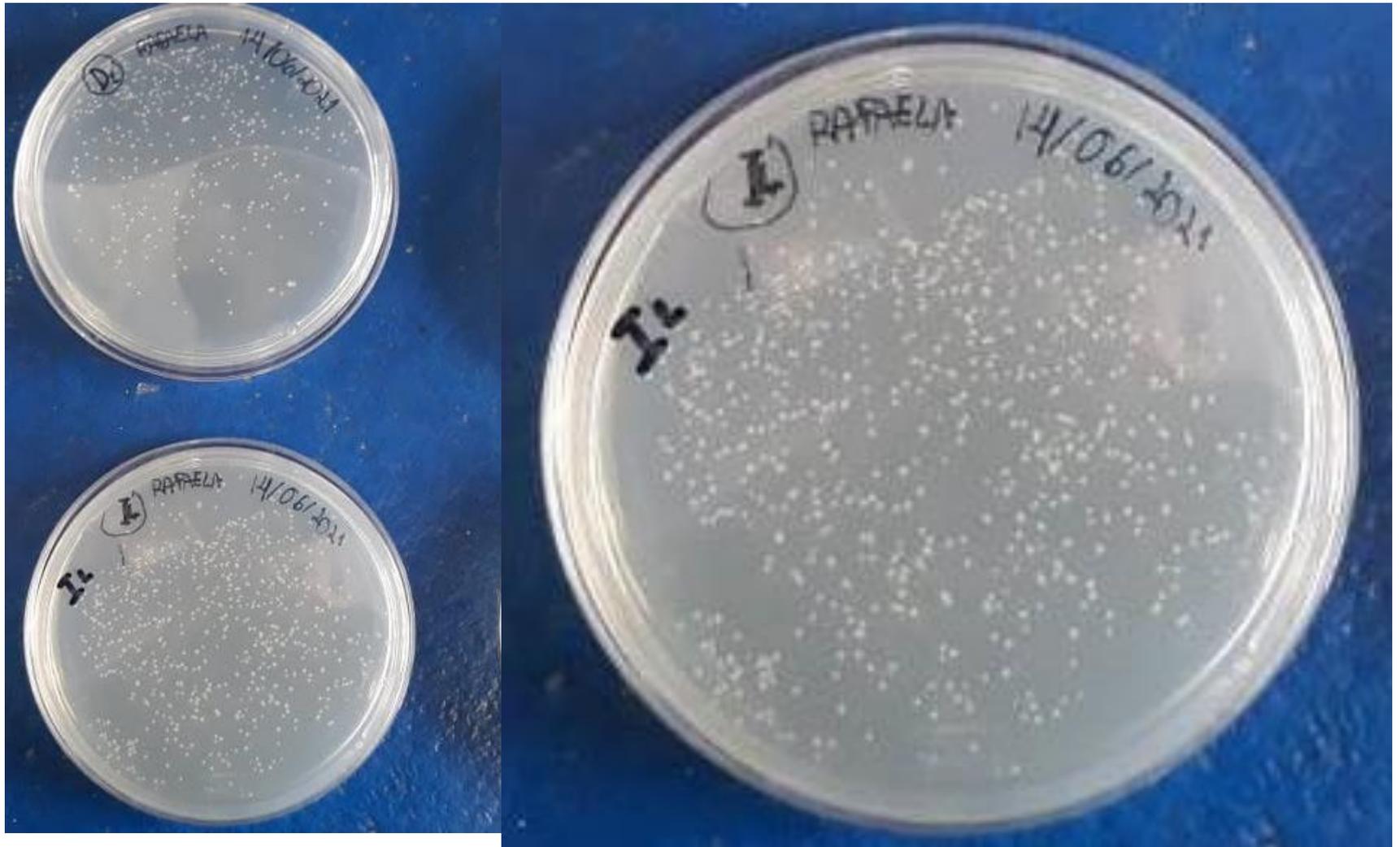
**Fase de declínio ou morte:** Morte das bactérias; Lento ou exponencial;

# Cultura de bactérias em laboratório



- Diluições seriadas
  - Diluição 1:100.000 =  $10^{-5}$  → 15 colônias
  - Solução original →  $15 \times 10^5$  bactérias/ml

# Cultura de bactérias em laboratório

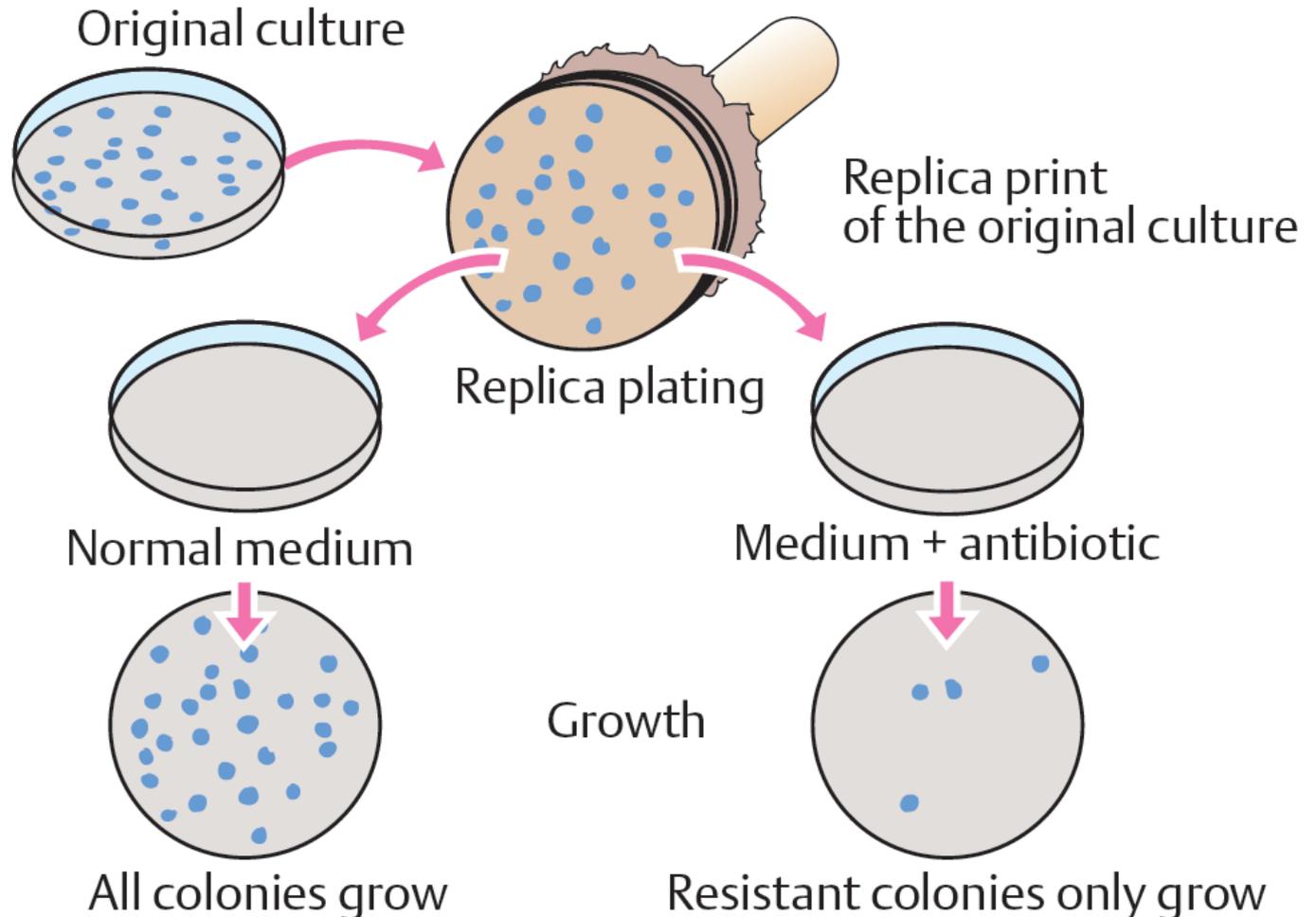


## Meios de Cultura e Linhagens

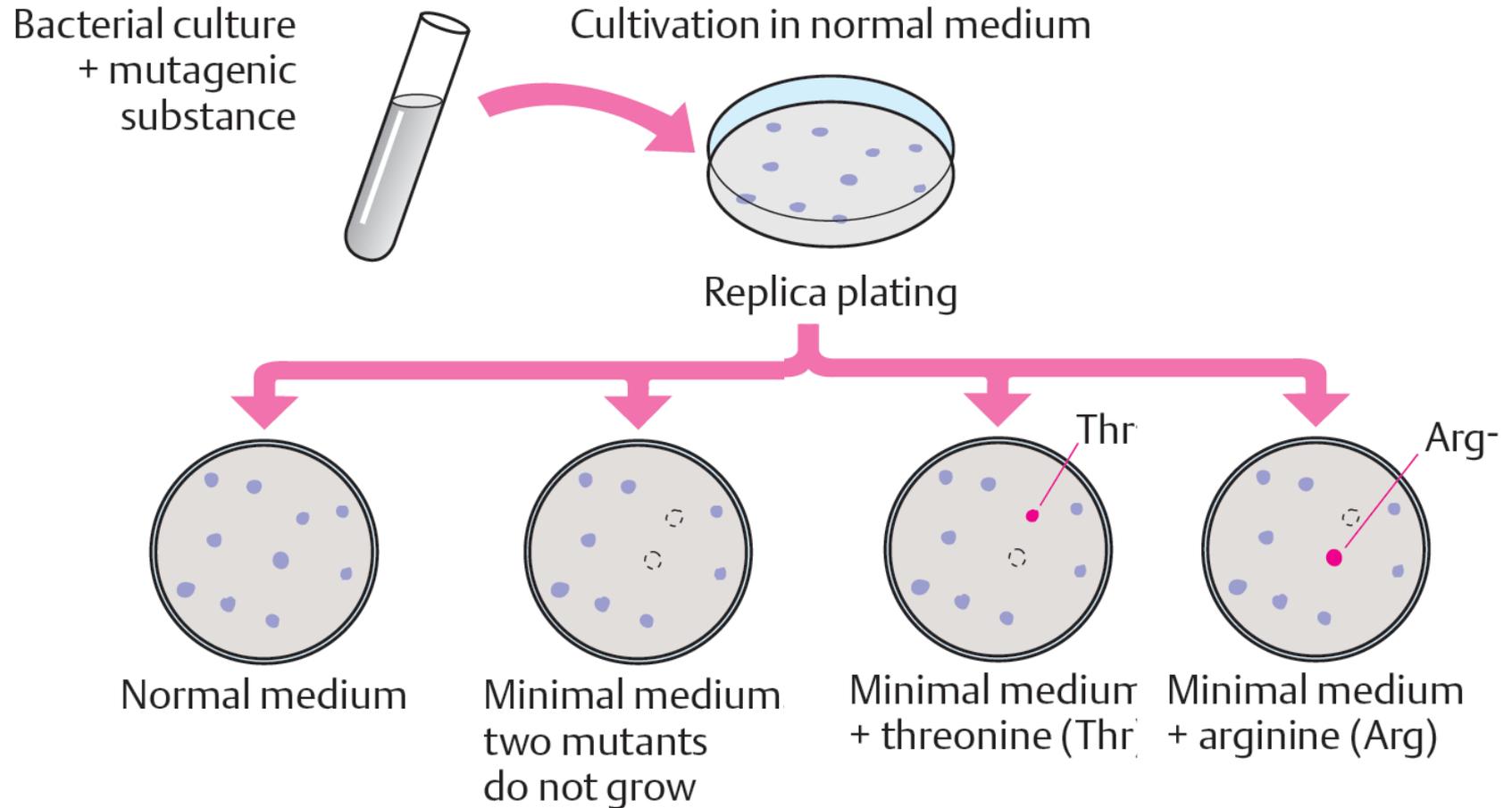
- Meio mínimo (básico):
  - Meio sintético (definido) básico para o crescimento bacteriano (glicose, fosfato de amônia, fosfato de potássio, cloreto de sódio e de magnésio)
- Meio normal (completo):
  - Meio mínimo enriquecido com suplementos (extratos de células) (extrato de proteína (carne), extrato de levedura, cloreto de sódio)
- Linhagens prototróficas:
  - Capazes de crescer em condições básicas (meio mínimo)
- Linhagens auxotróficas:
  - Capazes de crescer apenas sob determinadas condições (meio com suplementos)

## Réplica de placas de cultura de bacterias

1952, Joshua and Esther Lederberg



## Detecção de cepas mutantes



# Mutantes auxotróficos bacterianos

---

| Símbolo                | Característica ou fenótipo associado ao símbolo       |
|------------------------|---|
| <i>bio<sup>-</sup></i> | Requer adição de biotina ao meio mínimo               |
| <i>arg</i>             | Requer adição de arginina ao meio mínimo              |
| <i>met</i>             | Requer adição de metionina ao meio mínimo             |
| <i>lac<sup>-</sup></i> | Não consegue utilizar lactose como fonte de carbono   |
| <i>gal</i>             | Não consegue utilizar galactose como fonte de carbono |
| <i>str<sup>r</sup></i> | Resistente ao antibiótico estreptomicina              |
| <i>str<sup>s</sup></i> | Sensível ao antibiótico estreptomicina                |

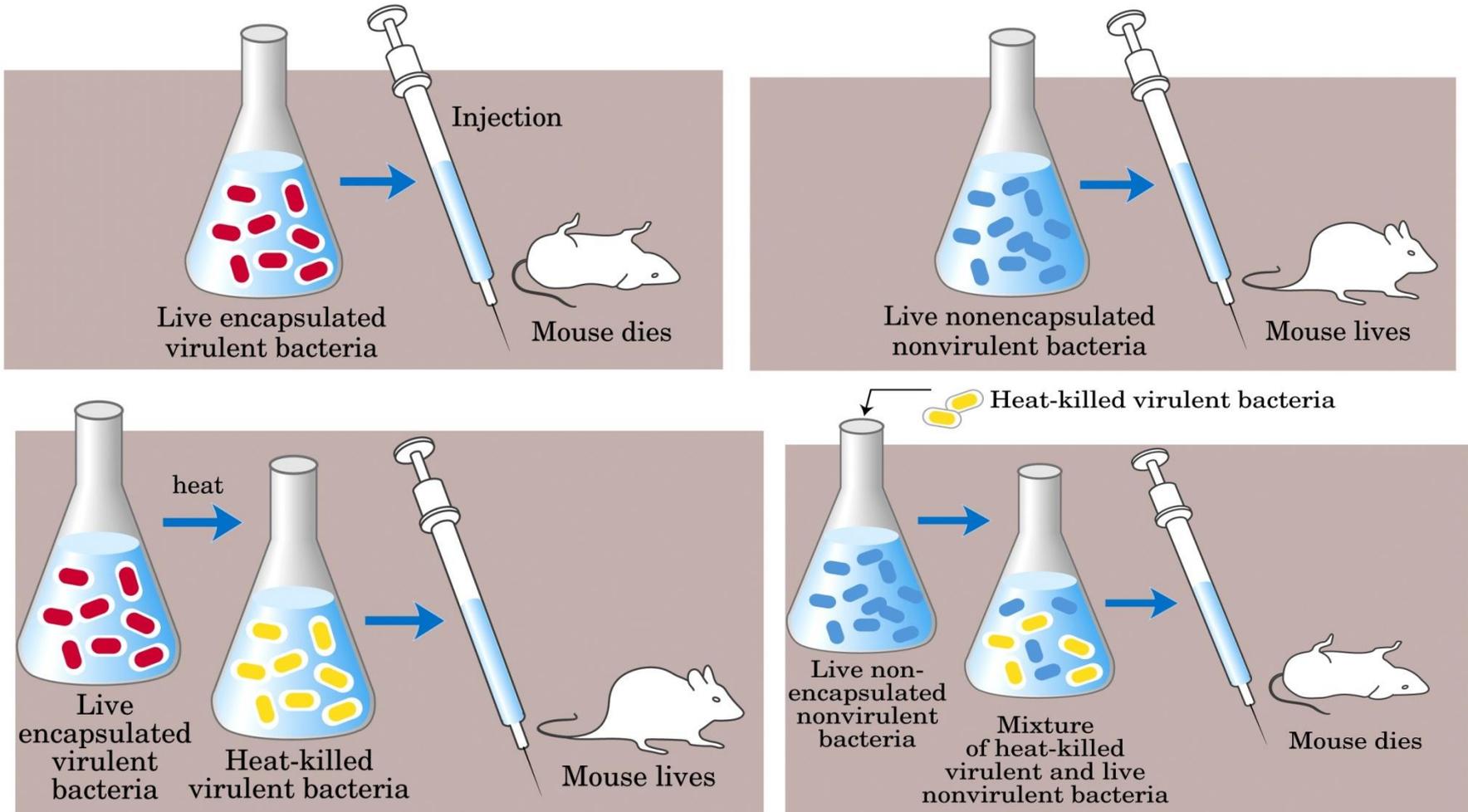
---

## Transferência de material genético bacteriano

- Pode ocorrer via:
  - Transformação
    - Griffith (1928) / Avery, MacLeod e McCarty (1944)
    - DNA livre no meio de cultura
  - Conjugação
    - Lederberg e Tatum (1946)
    - Contato físico entre bactérias  $F^+$  (ou *Hfr*) e  $F^-$
  - Transdução
    - Lederberg e Zinder (1951/1952)
    - Mediado por vírus (contendo material genético bacteriano)

# Transformação bacteriana

- 1928, Frederick Griffith, *Streptococcus pneumoniae*



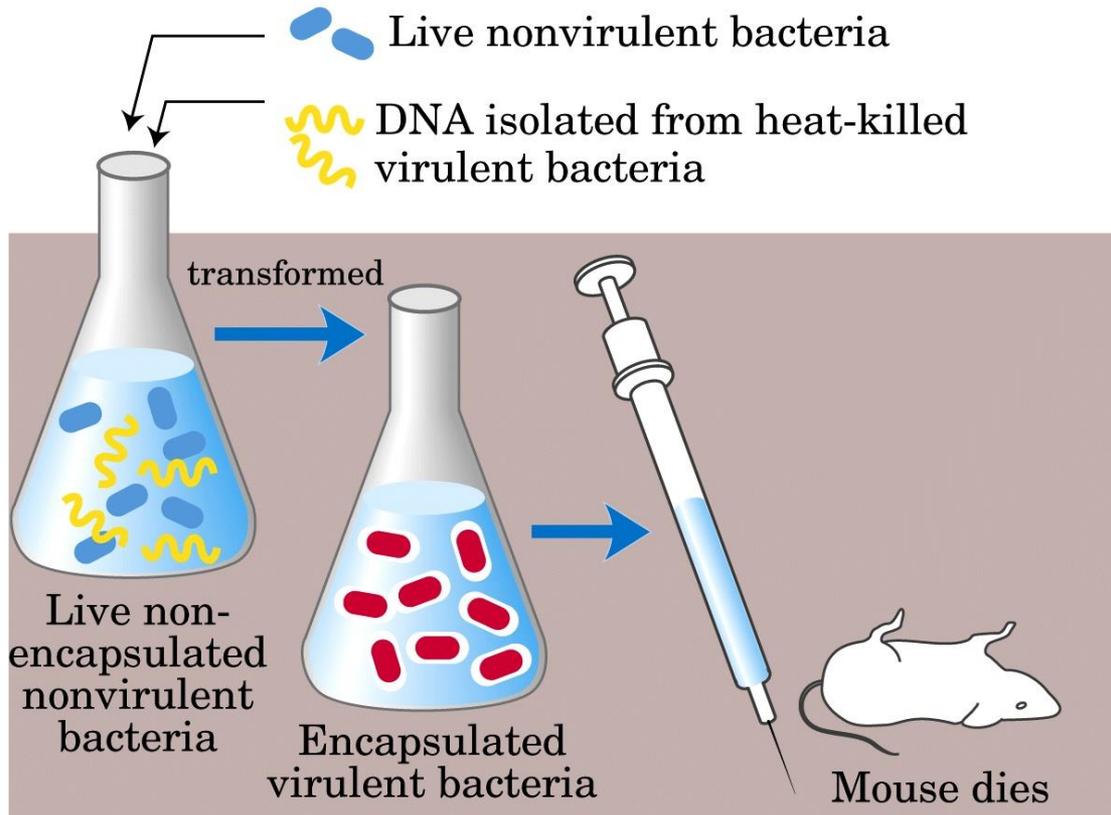
ficava mais virulento se exposto à cepas virulentas mortas:

**“princípio transformante” transferido**

# Transformação bacteriana

Avery, MacLeod, McCarty, 1944

*Streptococcus pneumoniae*



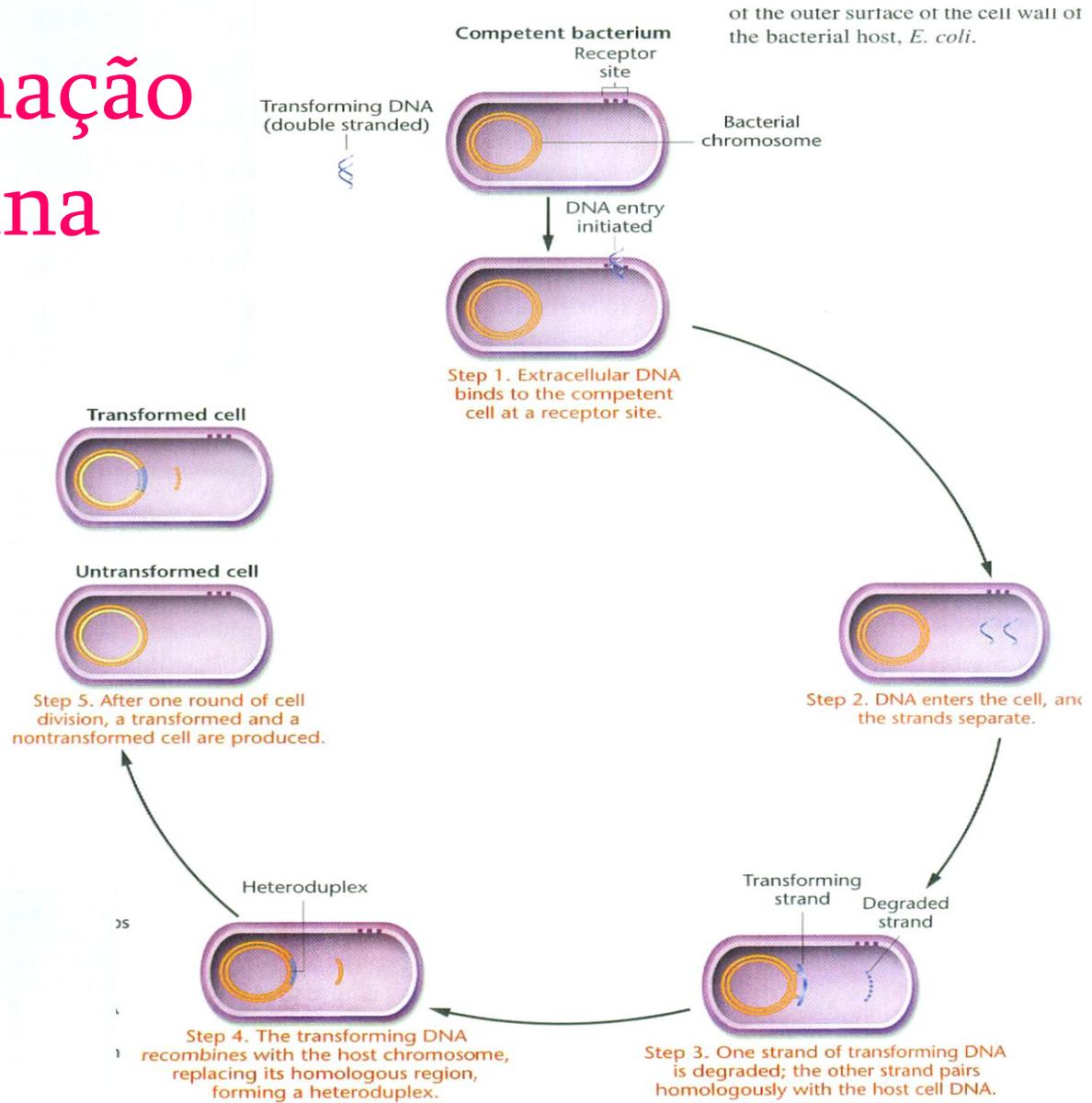
Proteases (não destruiu virulência)

Desoxiribonuclease (INATIVAVA virulência)

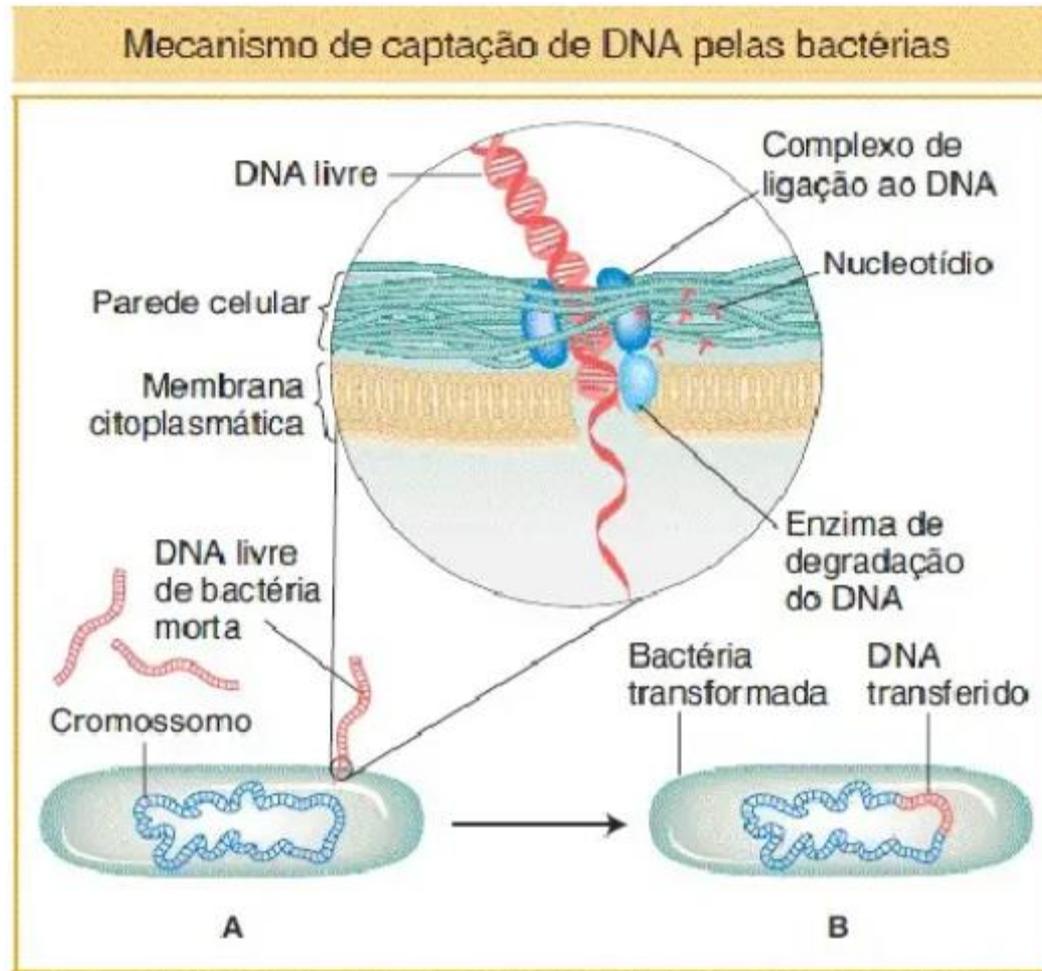
**Gerações Virulentas**

**DNA purificado leva informação de virulência, transformando a linhagem**

## Transformação bacteriana



## Transformação bacteriana

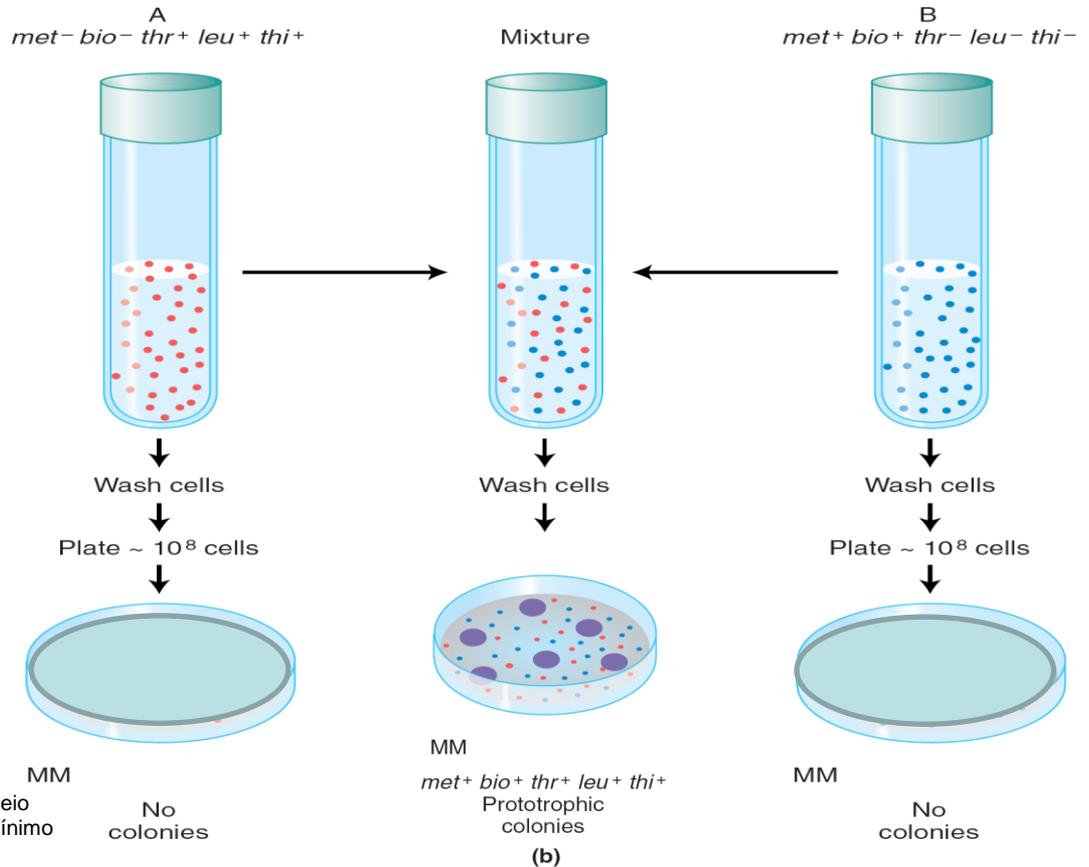
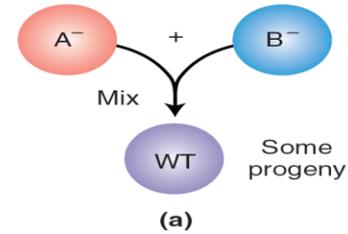


**OBS:** No laboratório de biologia molecular, prepara-se as **bactérias competentes** para receber DNA linear ou **plasmidial (circular)**

## Conjugação bacteriana

- Joshua Lederberg e Edward Tatum (1946)

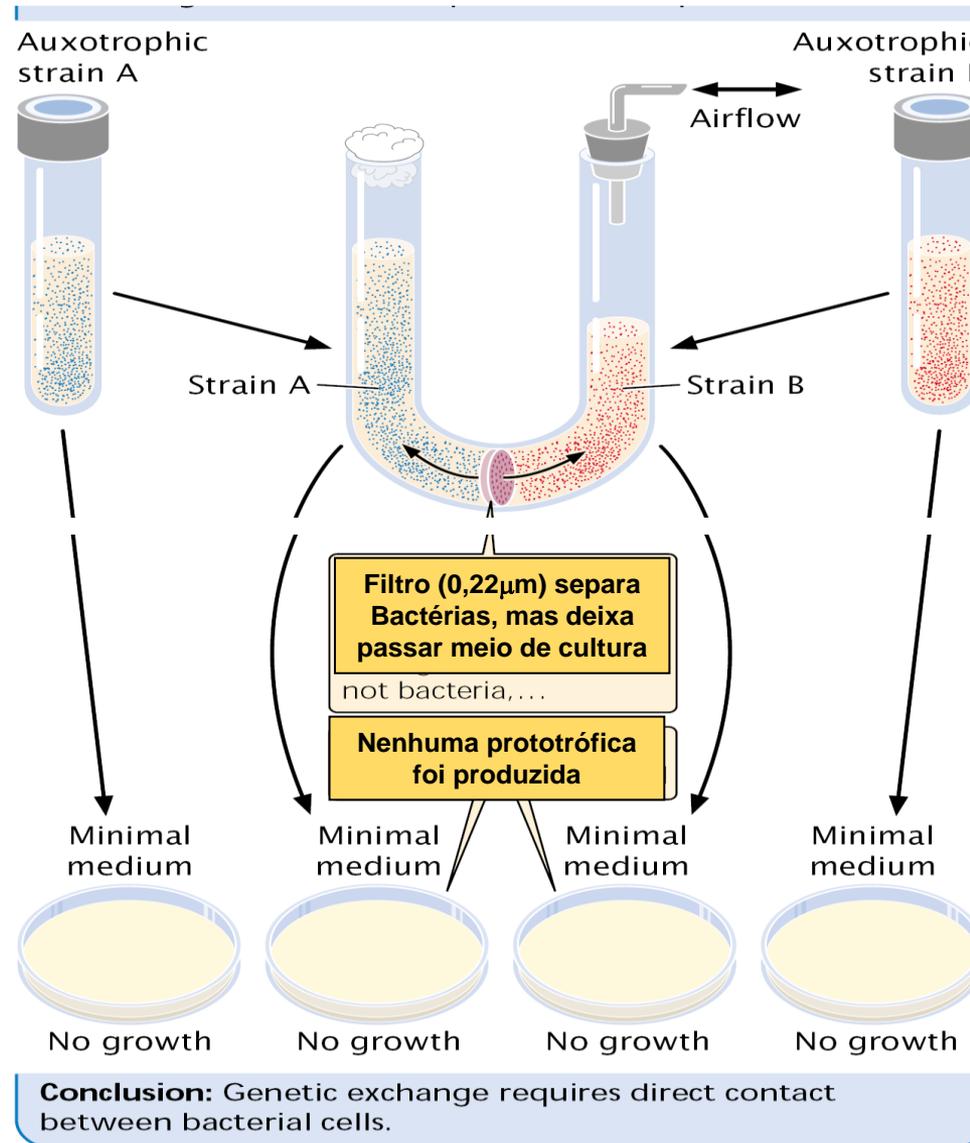
- Evento raro:
  - ~1 a cada  $10^7$  células tornam-se prototrófica



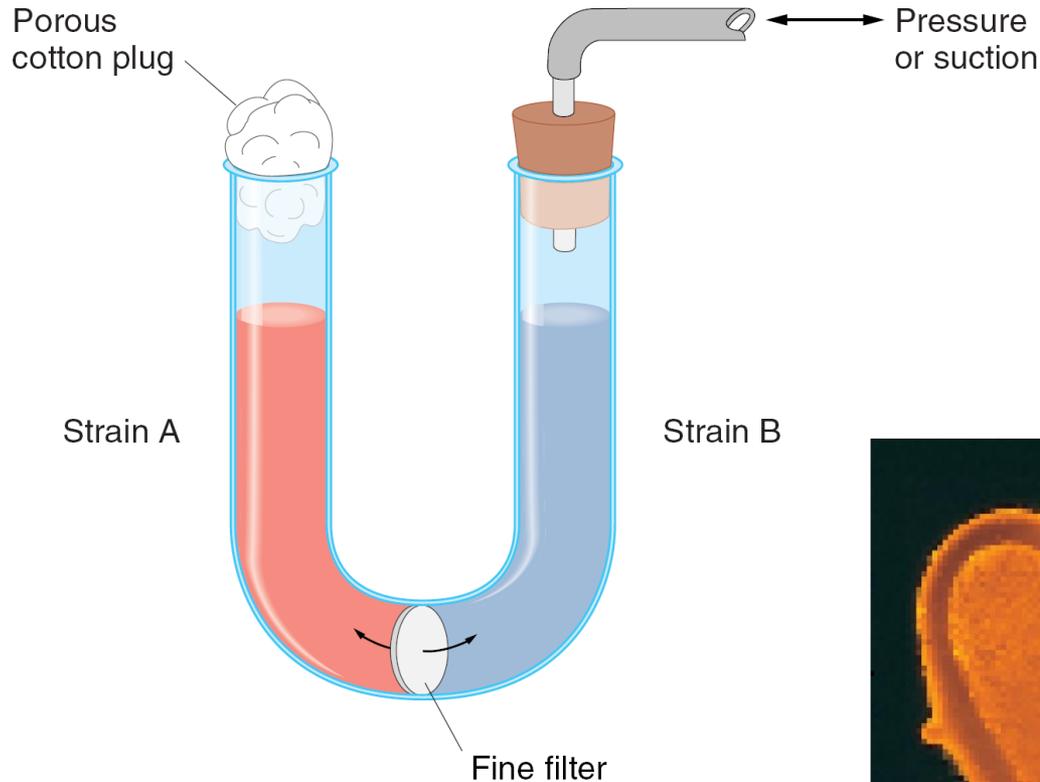
Algun tipo de troca de material genético ocorreu que gerou bactérias prototróficas.

## Comprovação de troca genética por Bernard Davis

Poderia ser troca de metabólitos?



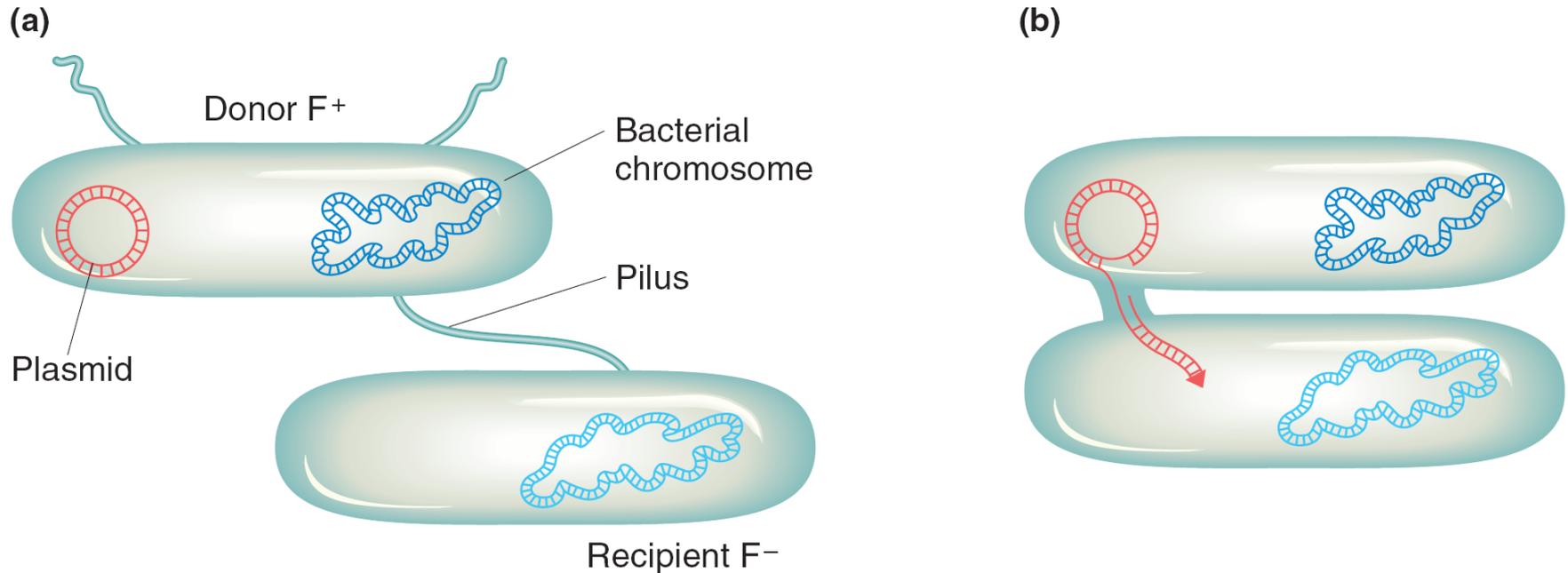
## Conjugação bacteriana



**Contato físico é necessário!**



## Conjugação bacteriana



- Bactéria F<sup>+</sup> → doadora
  - Mais de 20 genes envolvidos na transferência de informação genética
  - Emissão de *pilus* (plural, *pili*)
- Bactéria F<sup>-</sup> → receptora



## Conjugação bacteriana

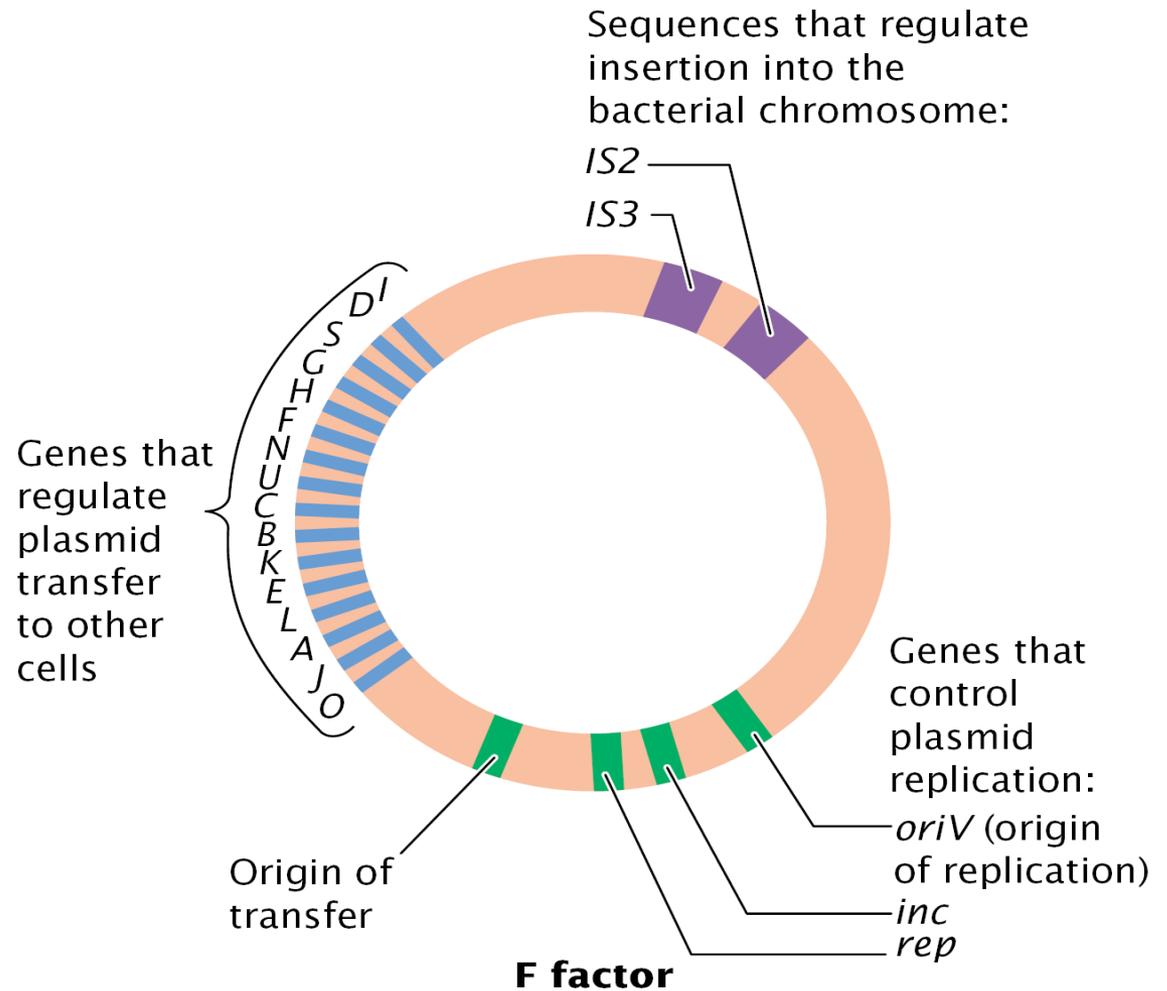
### Plasmídeos

- Estrutura de DNA circular que se replica de forma autônoma, encontrados em bactérias
- Embora estejam normalmente separados do cromossomo bacteriano, eles possuem genes e podem se integrar ao cromossomo (episomo).

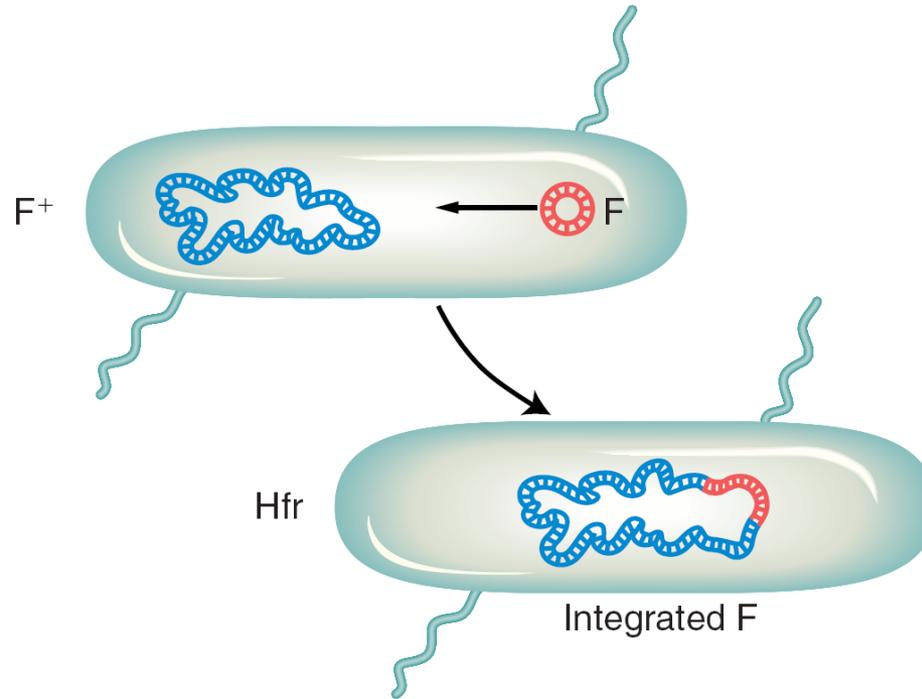
# Conjugação bacteriana

## Plasmídeo F (Fertility factor)

100kb



## Conjugação bacteriana

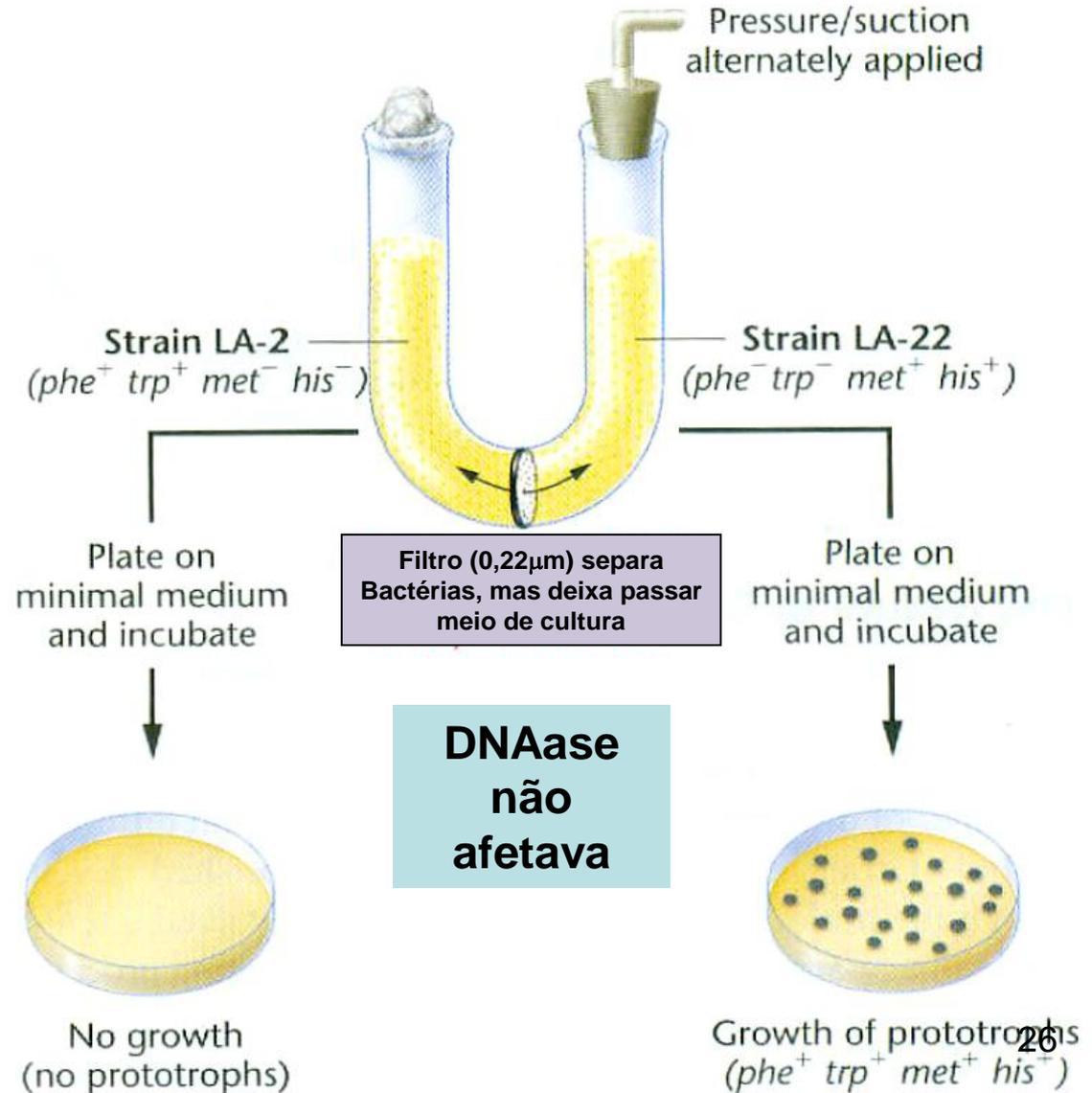


- O plasmídeo F (*fertility*) pode se integrar ao cromossomo (Epissomo) via recombinação, gerando uma linhagem Hfr (*High frequency of recombination*)

# Transdução bacteriana

- Joshua Lederberg e Norton Zinder (1951/1952)

*Salmonella*

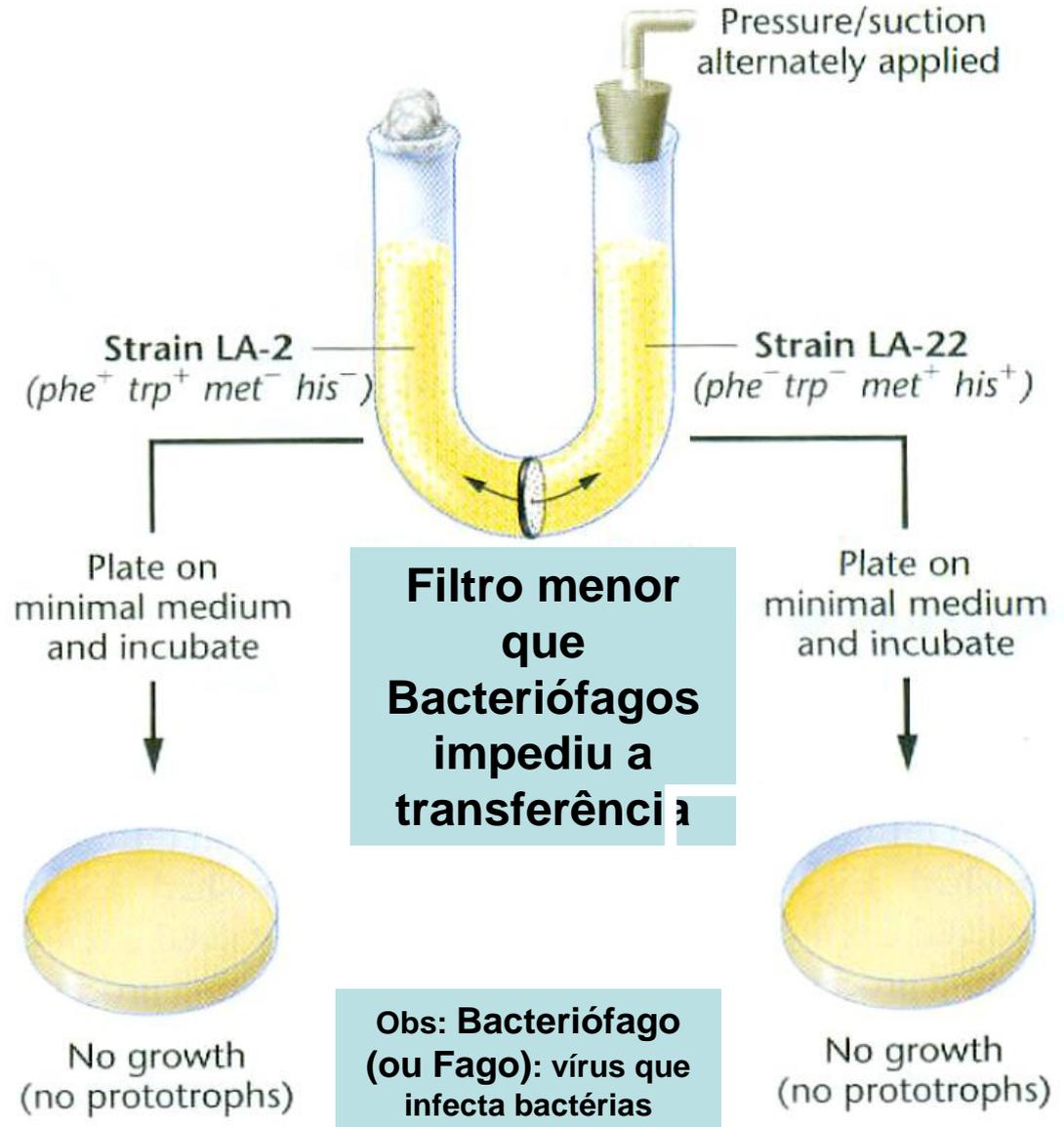


Algun agente carregava os genes para outra bactéria

# Transdução bacteriana

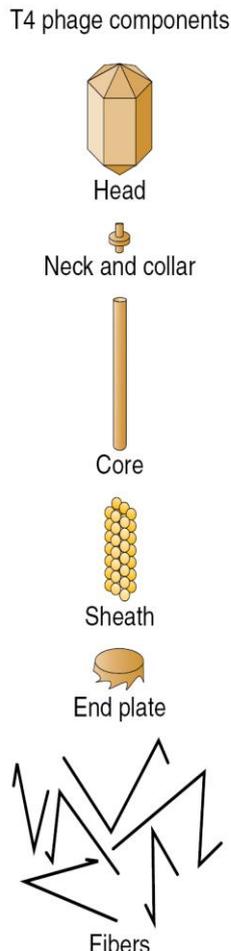
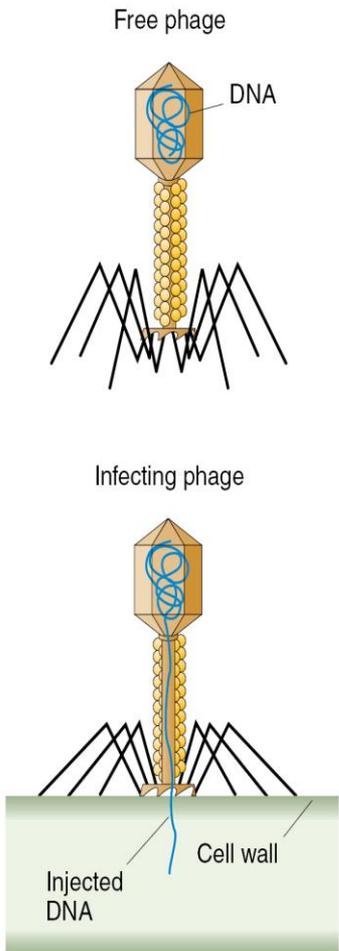
- Joshua Lederberg e Norton Zinder (1951/1952)

*Salmonella*

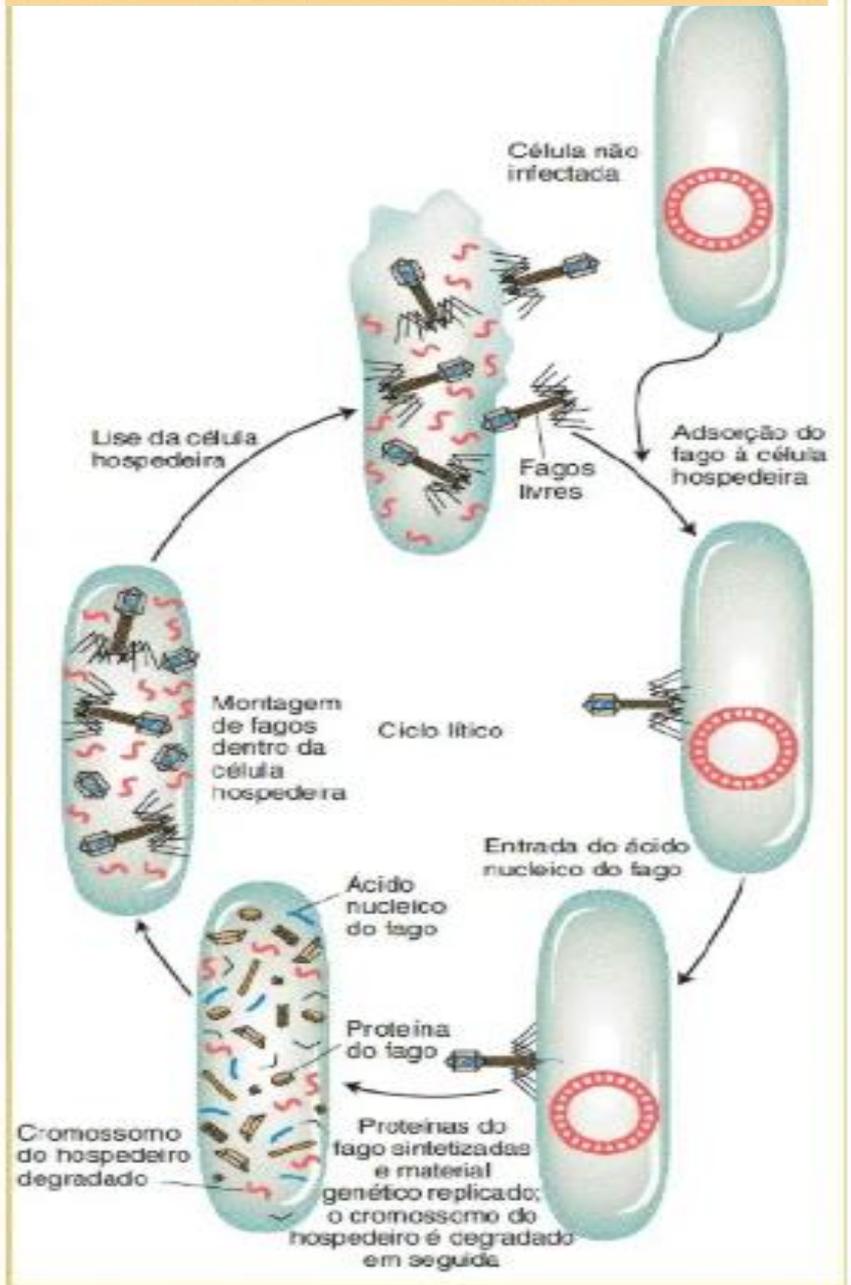


Bacteriófago P22 carregava os genes para outra bactéria

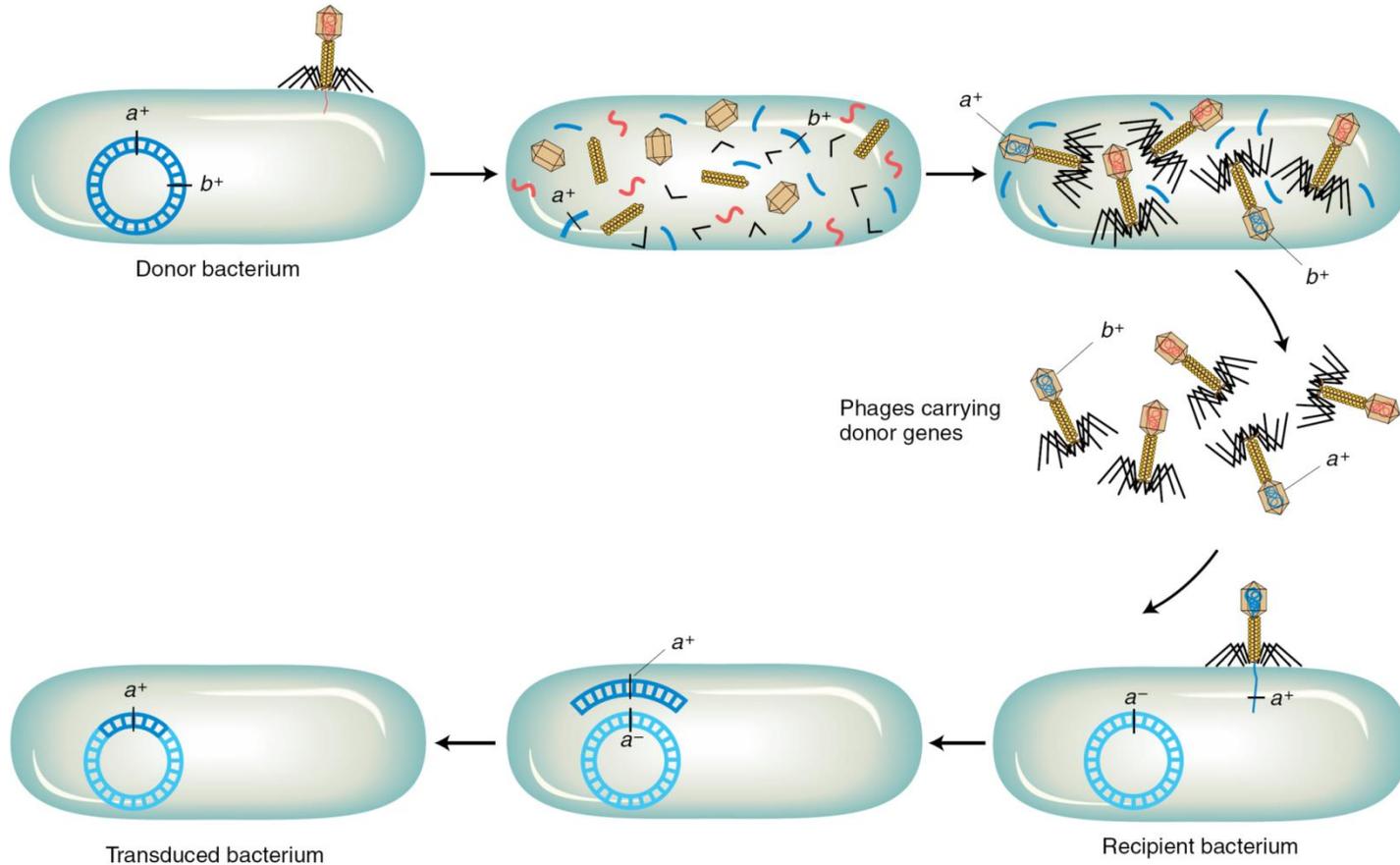
# Transdução bacteriana



Ciclo do fago que lisa as células hospedeiras



# Transdução bacteriana



Com inserção de material no cromossomo do hospedeiro por recombinação

# Troca de material genético em bactérias

- **Conjugação**

- É a transferência direta de material genético de uma bactéria doadora para uma receptora
- Um plasmídeo ou parte do cromossomo bacteriano pode ser transmitido
- Ocorre *crossing-over* entre seqüências homólogas presentes no DNA transferido e no cromossomo da célula receptora
- Não ocorre transferência recíproca de material genético

- **Transformação**

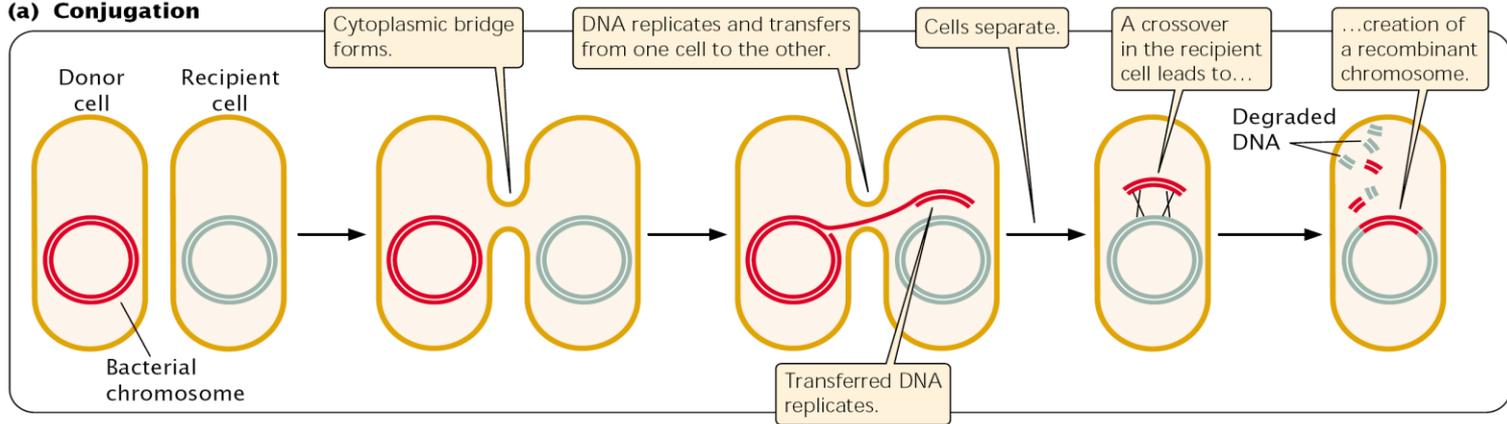
- DNA presente no meio extra-celular é incorporado pela bactéria receptora
- Ocorre “*crossing-over*” envolvendo o DNA introduzido e o DNA do cromossomo da célula receptora

- **Transdução**

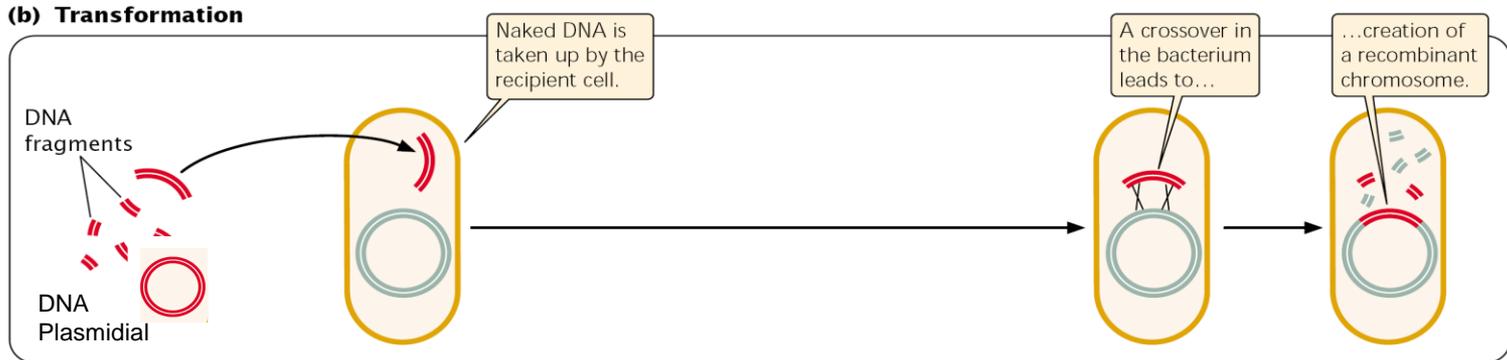
- Vírus bacteriófagos transferem DNA de uma bactéria para outra
- Ocorre *crossing-over* envolvendo o DNA introduzido e o DNA do cromossomo da célula receptora

# Genética Bacteriana

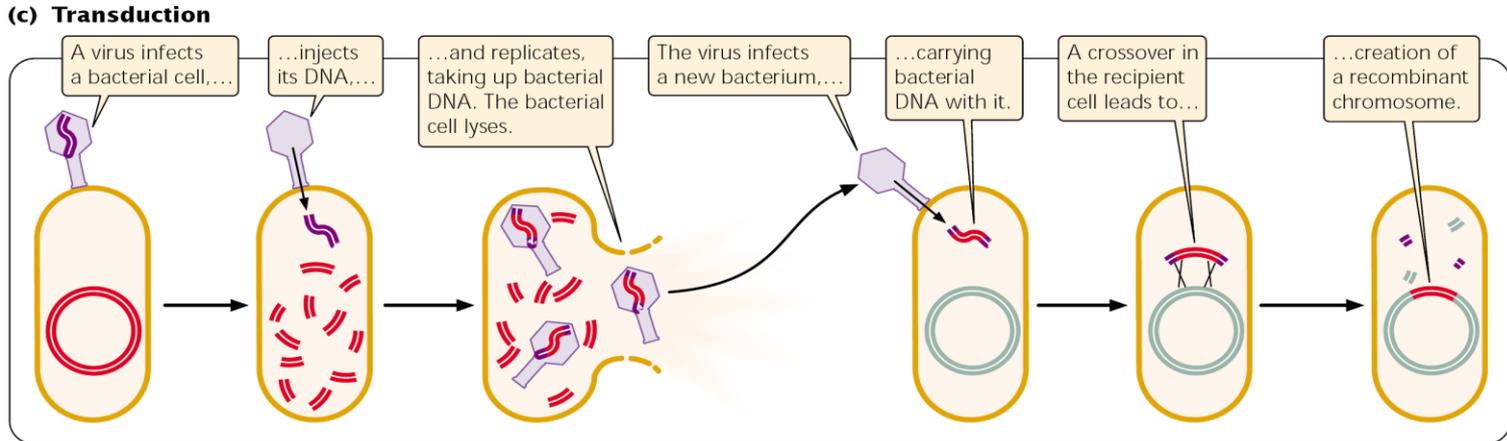
## (a) Conjugation



## (b) Transformation



## (c) Transduction



## Referências Bibliográficas

Griffiths, J. F. et al (2015) Susan R. Wessler, Sean B. Carroll, John Doebley. Introduction to Genetic Analysis. (11th Ed). (W. H. Freeman).

Lodish H. et al. (2012). Molecular Cell Biology. Seventh edition, W.H. Freeman.-

Nelson D. L. e M. M. Cox. Princípios de Bioquímica de Lehninger, 7ª Ed. 2019. Editora Artmed.