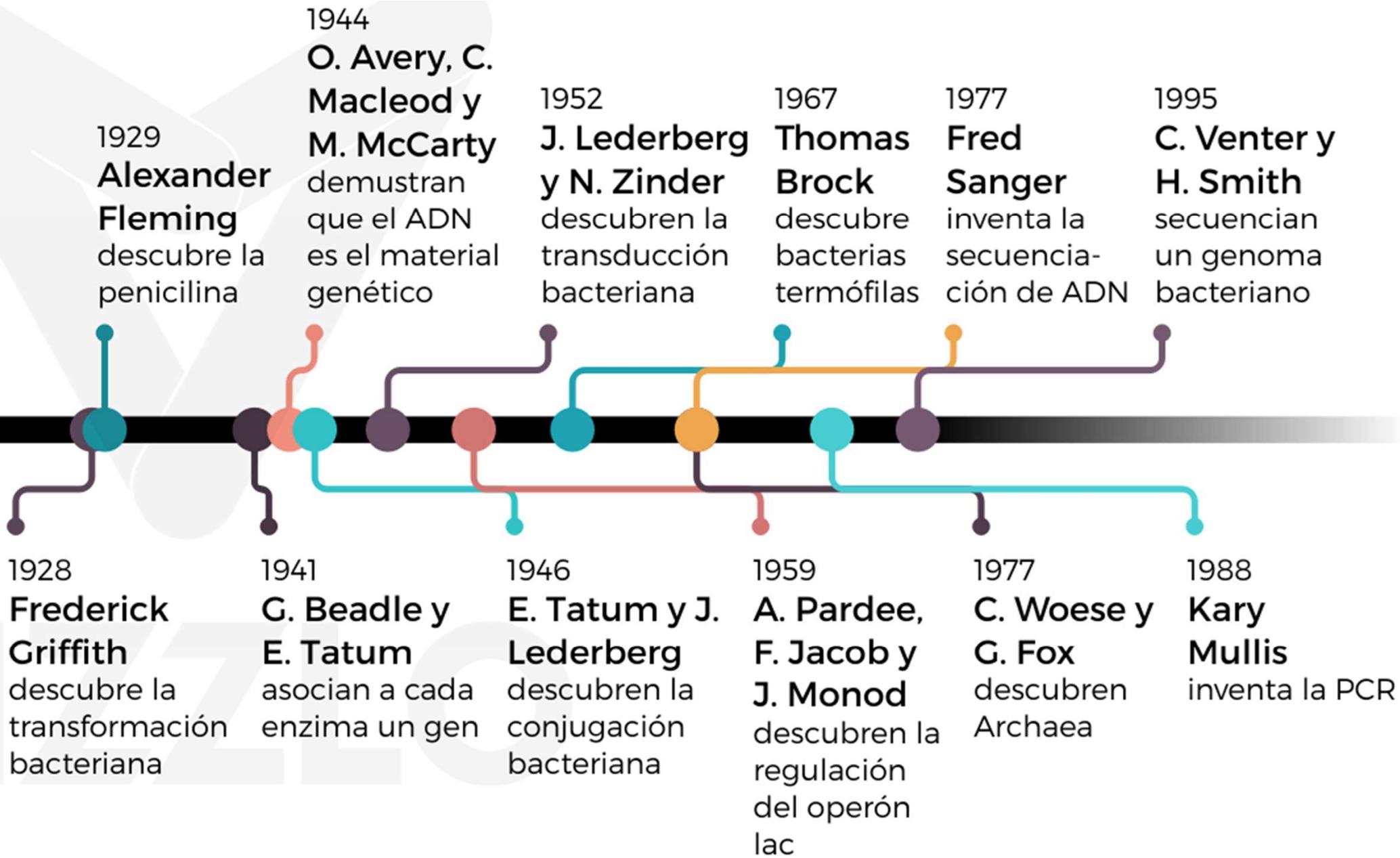




Genética de microorganismos

Transferencia de información



¿Cuál es la molécula que contiene la información heredable?

Candidatos:

- 1) Proteínas: “codigo de aminoácidos” (~21 aminoácidos)
- 2) Ácidos nucleicos: “código de bases” (4 bases)

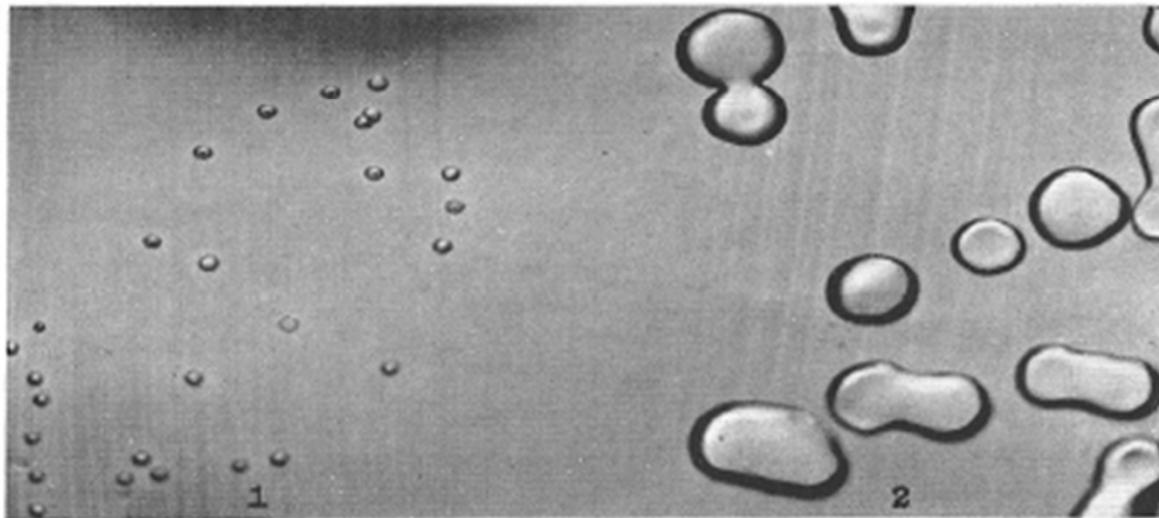
THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE VOL. 79

PLATE 1

Streptococcus pneumoniae

Cepa R (inocua)

cepa S (patógena)

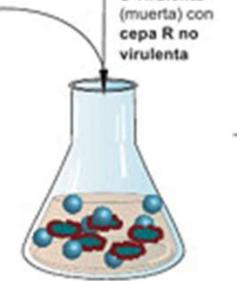
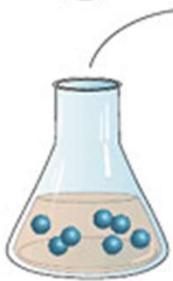
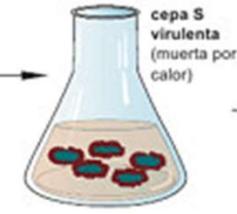
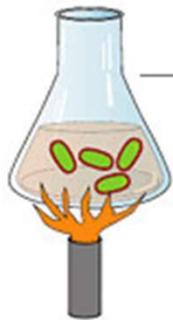
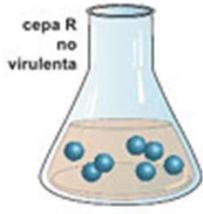
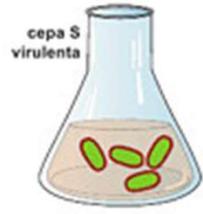


La cápsula mucosa elude al sistema inmune.

(Avery *et al.*: Transformation of pneumococcal types)

EXPERIMENTO DE GRIFFITH

MÉTODO:



RESULTADO:



el ratón muere



el ratón vive



el ratón vive



el ratón muere (se encuentran cepas S vivas en el corazón del ratón)

CONCLUSIÓN:

Existe una sustancia química capaz de transformar una célula en otra

La inoculación de un cultivo de la cepa S causa la muerte de los animales inyectados

La inoculación de un cultivo de la cepa R No afecta a los animales inyectados

La inoculación de un cultivo de la cepa S previamente inactivada por calor NO causa la muerte de los animales inyectados

La co-inyección de la cepa S inactivada y la cepa R no patógena, causa neumonía en los animales inyectados. Y de ellos se puede aislar otra vez la cepa S, con lo que la transformación permanece en el tiempo.

¿Qué es esa sustancia química?

Experimentos de Avery, McLeod y McCarthy

- 1- Purificaron distintas fracciones de neumococos tipo S (patógenos) inactivados por calor.
- 2- Individualizaron la fracción que transformaba a las cepas R (inócuas) en cepas S.
- 3- Analizaron químicamente la fracción que transformaba a la cepa R en S.

TABLE I
Elementary Chemical Analysis of Purified Preparations of the Transforming Substance

Preparation No.	Carbon	Hydrogen	Nitrogen	Phosphorus	N/P ratio
	<i>per cent</i>	<i>per cent</i>	<i>per cent</i>	<i>per cent</i>	
37	34.27	3.89	14.21	8.57	1.66
38B	—	—	15.93	9.09	1.75
42	35.50	3.76	15.36	9.04	1.69
44	—	—	13.40	8.45	1.58
Theory for sodium desoxyribonucleate	34.20	3.21	15.32	9.05	1.69

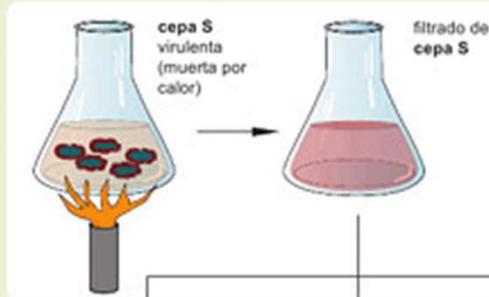
on the basis of the theoretical structure of sodium desoxyribonucleate (tetranucleotide). The analytical figures by themselves do not establish that the substance isolated is a pure chemical entity. However, on the basis of the nitrogen-phosphorus ratio, it would appear that little protein or other substances containing nitrogen or phosphorus are present as impurities since if they were this ratio would be considerably altered.

Sus experimentos concluyeron que el **factor transformante** tenía una composición similar a un **ácido nucleico**, pero no pudieron descartar una contaminación, aunque sea mínima, con otros componentes bacterianos.

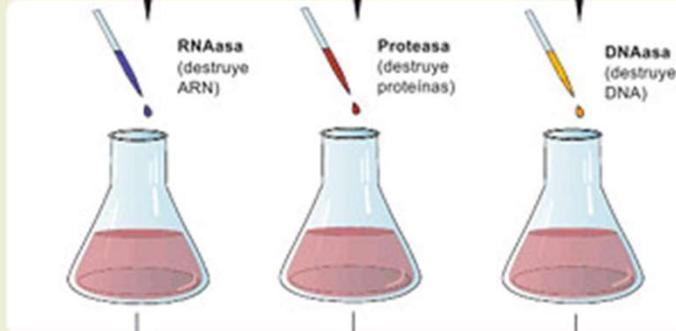
EXPERIMENTO DE AVERY

MÉTODO:

1. Homogeneizar y filtrar



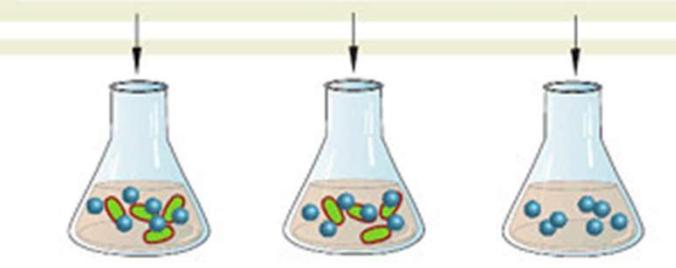
2. Tratamiento del filtrado con enzimas que destruyen el RNA, las proteínas y el DNA



3. El filtrado se añade a un cultivo de cepas R (no virulentas)



RESULTADO:



Los cultivos tratados con **RNAasa** o **proteasa** contienen **cepas S** transformadas...

...sin embargo en el cultivo tratado con **DNAasa** sólo aparecen **cepas R**

CONCLUSIÓN:

Dado que la DNAasa destruye al componente transformante, dicho componente es ADN.

Las bacterias estan formadas por proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, etc. por lo tanto Avery, McLeod y McCarthy añadieron a los neumococos S inactivados **preparados enzimaticos** que digerian distintos componentes de la bacteria **previamente** a la coinyeccion con la cepa R.

TABLE II
The Inactivation of Transforming Principle by Crude Enzyme Preparations

Crude enzyme preparations	Enzymatic activity			
	Phosphatase	Tributyrin esterase	Depolymerase for desoxyribonucleate	Inactivation of transforming principle
Dog intestinal mucosa.....	+	+	+	+
Rabbit bone phosphatase.....	+	+	-	-
Swine kidney ".....	+	-	-	-
Pneumococcus autolysates.....	-	+	+	+
Normal dog and rabbit serum.....	+	+	+	+

Sus experimentos concluyeron que sólo los extractos enzimaticos que eran capaces de degradar acidos nucleicos inactivaban el **factor transformante**.

Por lo tanto, el factor transformante debería ser un ácido nucleico.

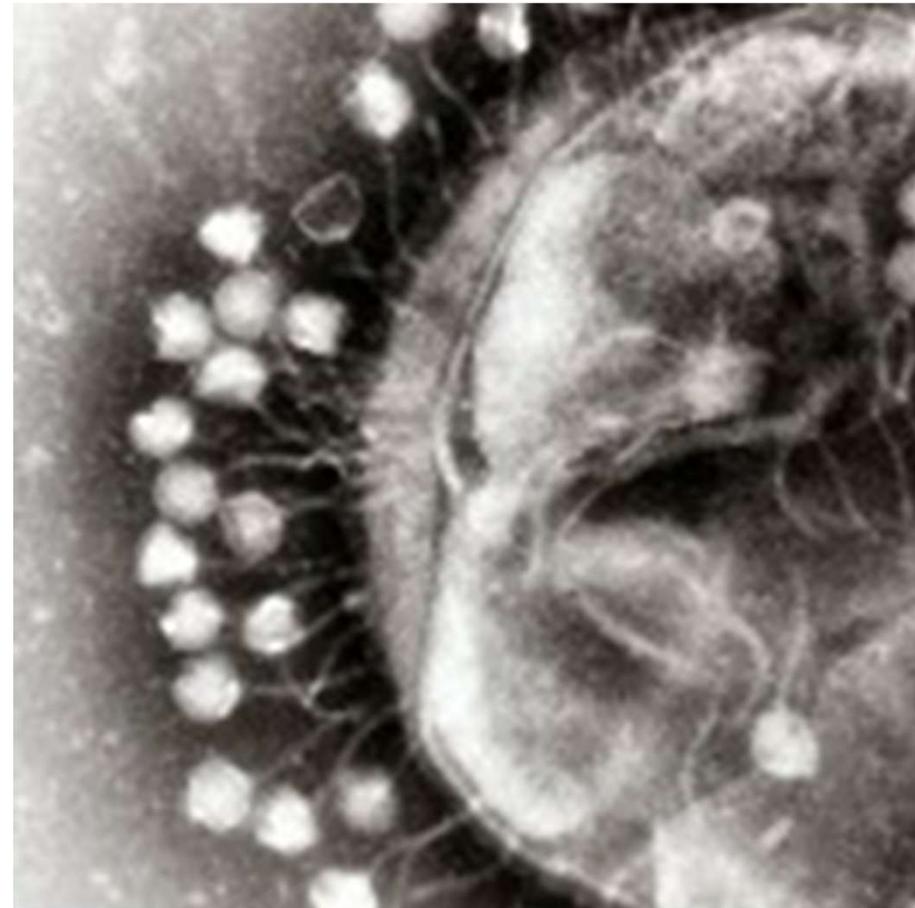
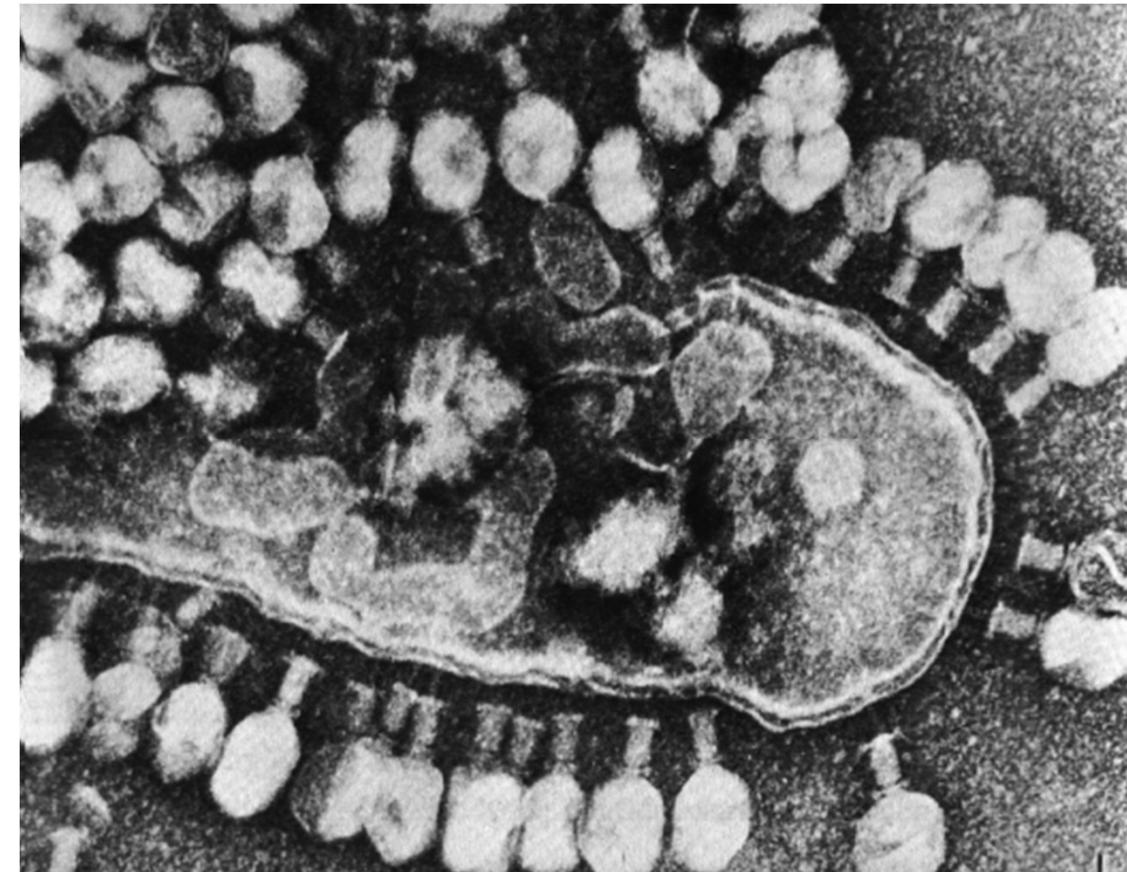
Más evidencia...

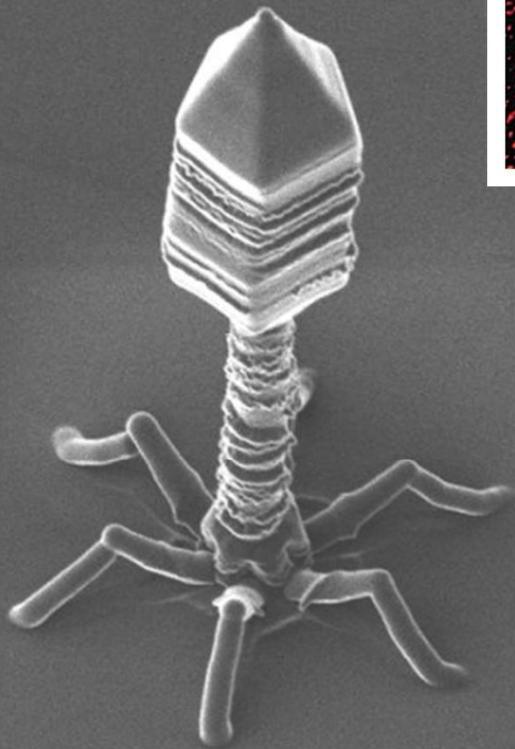
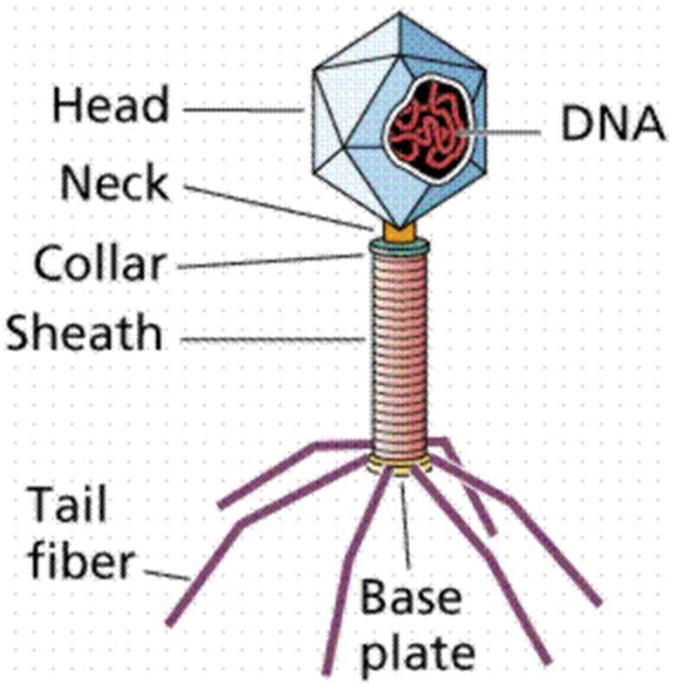
INDEPENDENT FUNCTIONS OF VIRAL PROTEIN AND NUCLEIC ACID IN GROWTH OF BACTERIOPHAGE*

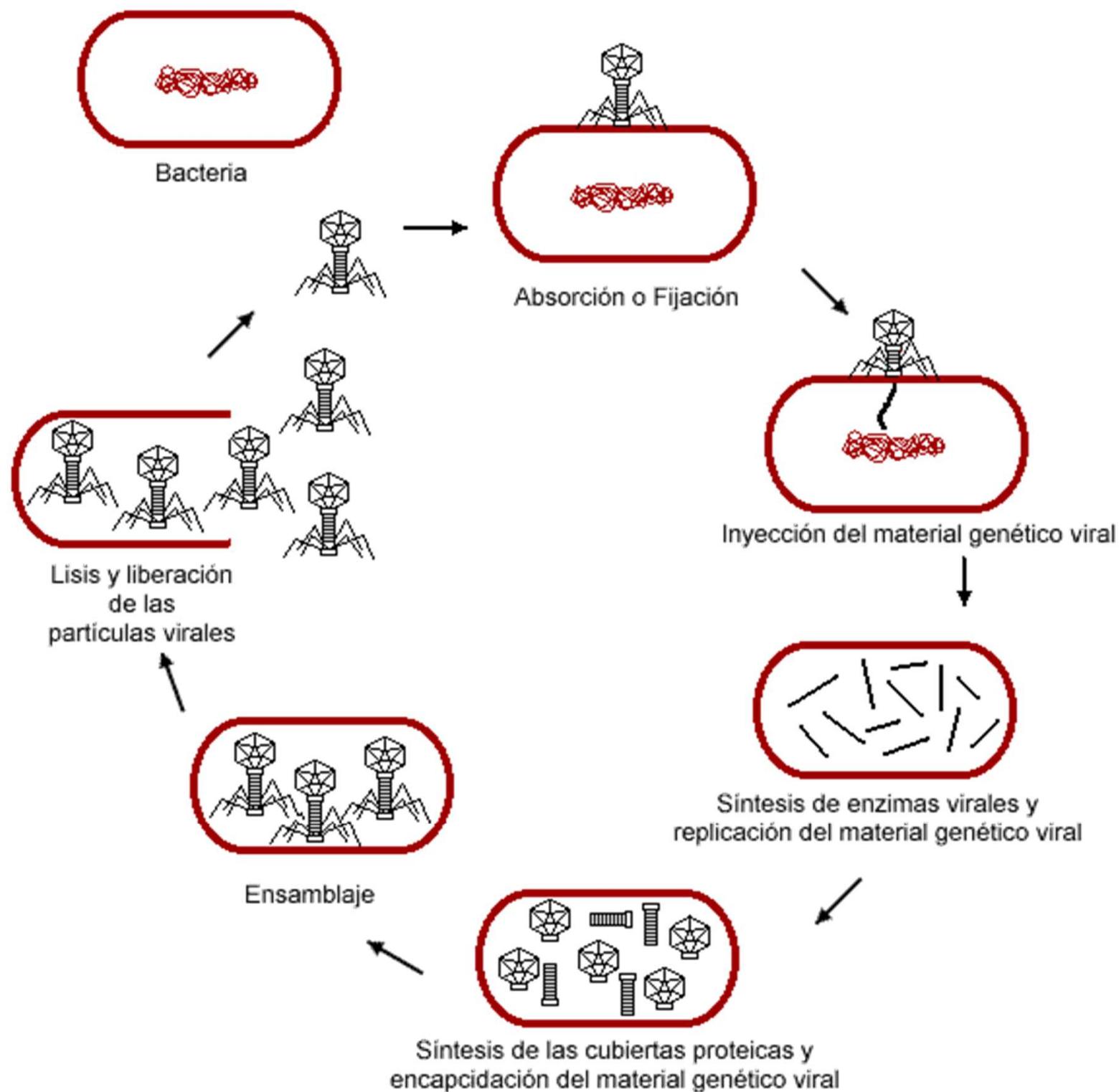
By A. D. HERSHEY AND MARTHA CHASE

(From the Department of Genetics, Carnegie Institution of Washington, Cold Spring Harbor, Long Island)

(Received for publication, April 9, 1952)

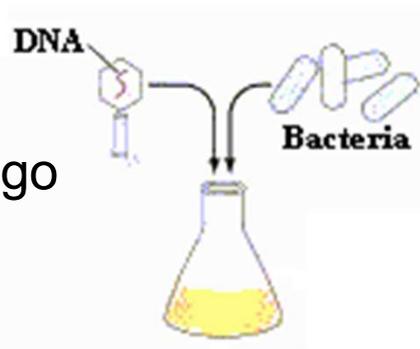




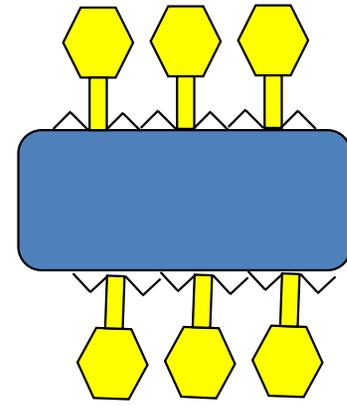


DISEÑO EXPERIMENTAL

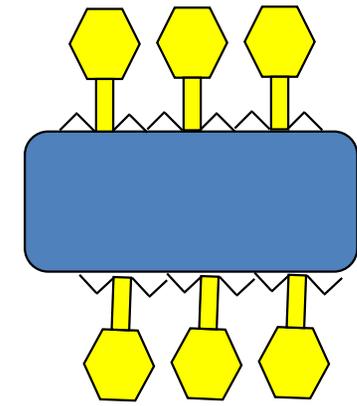
Infección de bacterias con un fago



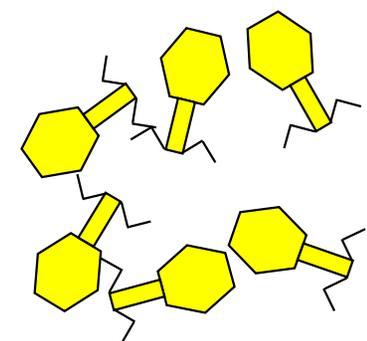
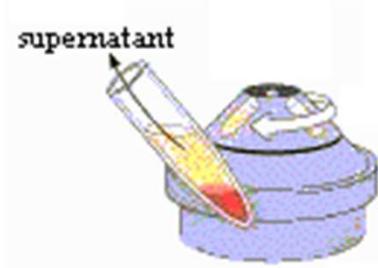
Incubar hasta el comienzo de la adsorción e inyección del material genético



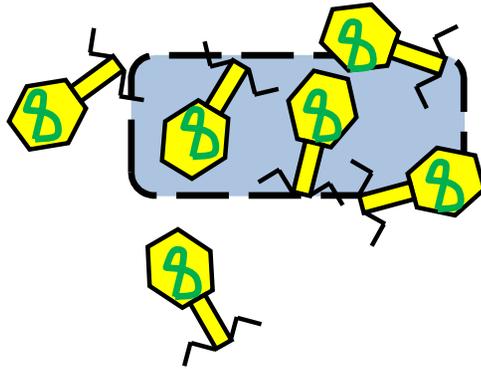
Despegar las bacterias del fago adherido por agitación en una licuadora



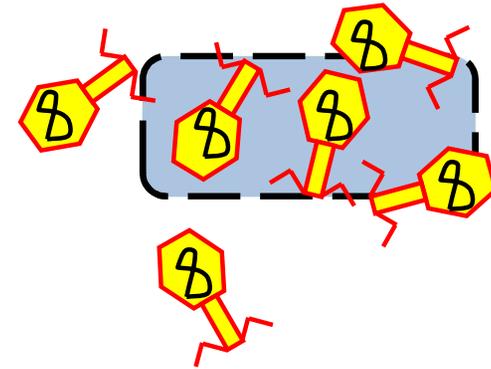
Separar las bacterias del fago suelto por centrifugación



PREMISA: el material inyectado contiene la información genética para generar nuevos Virus.



P^[32] incorporado en ADN



S^[35] incorporado en proteína

¿Con cuál isótopo radiactivo estará marcado el material inyectado (información heredable)?

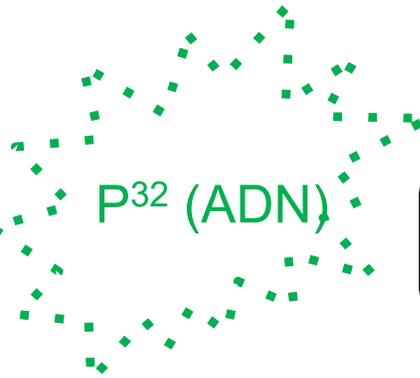
PREDICCIÓN

Si el material genético es de naturaleza proteica, entonces el material inyectado estará marcado con S³⁵.

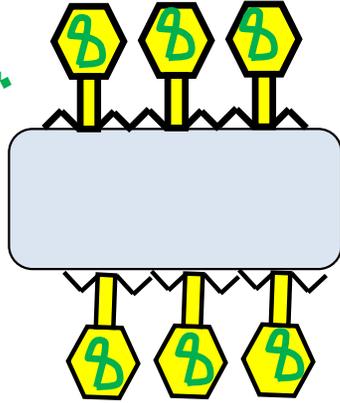
Si el material genético es un ácido nucleico, entonces el material inyectado estará marcado con P³².

RESULTADOS

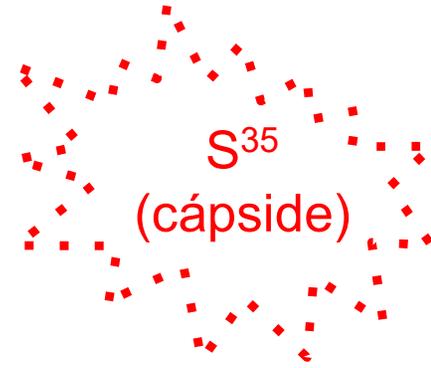
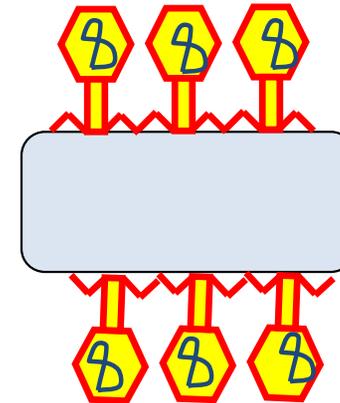
:



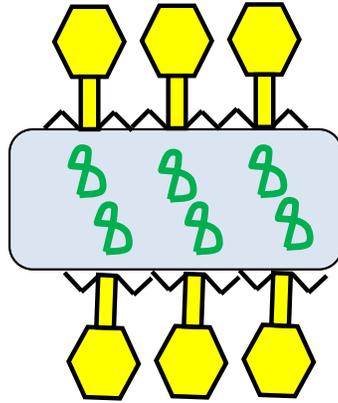
P³² (ADN)



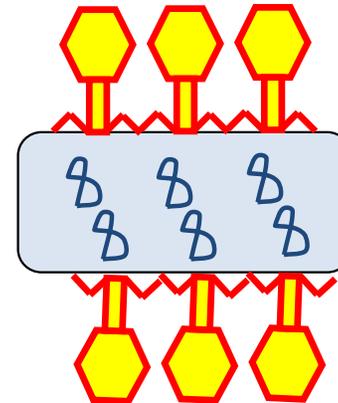
Adsorción



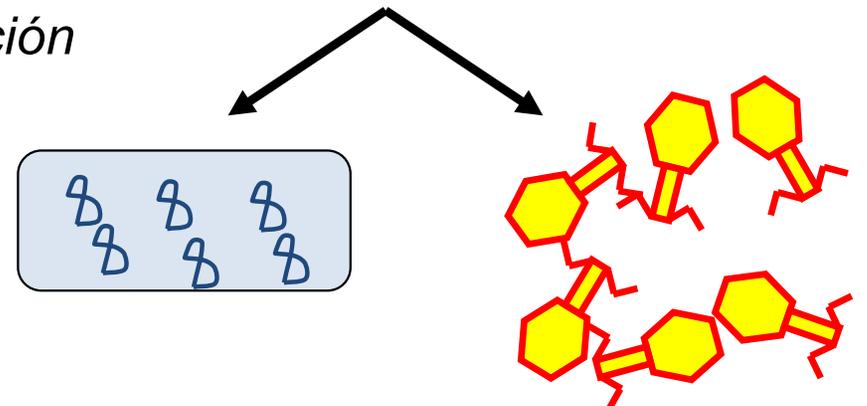
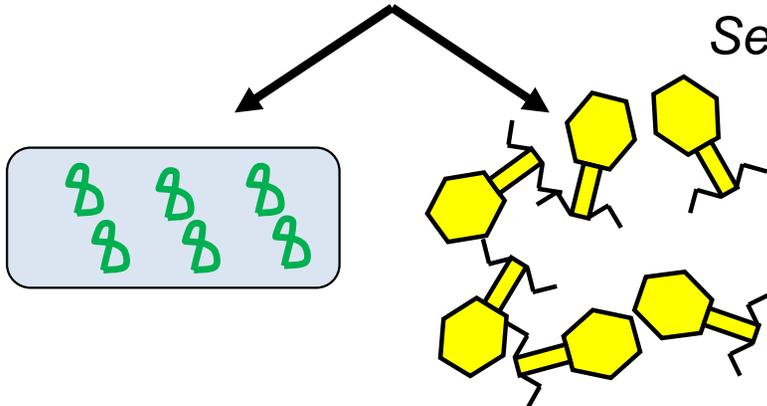
S³⁵
(cápside)



Inyección



Separación



Radiactividad P³² dentro de la bacteria

Radiactividad S³⁵ en el sobrenadante

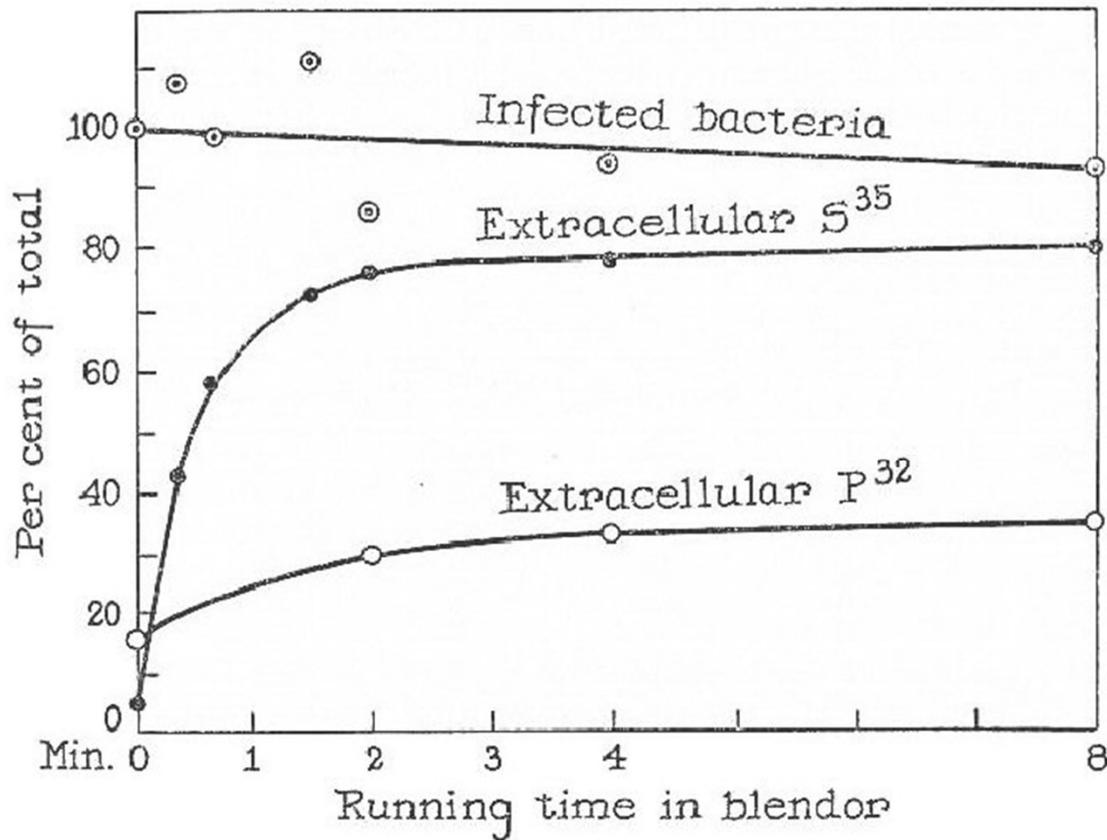


FIG. 1. Removal of S³⁵ and P³² from bacteria infected with radioactive phage, and survival of the infected bacteria, during agitation in a Waring blender.

CONCLUSIONES:

El fago para replicarse inyecta sólo el ADN, por lo tanto es el elemento suficiente para producir las proteínas del mismo fago.

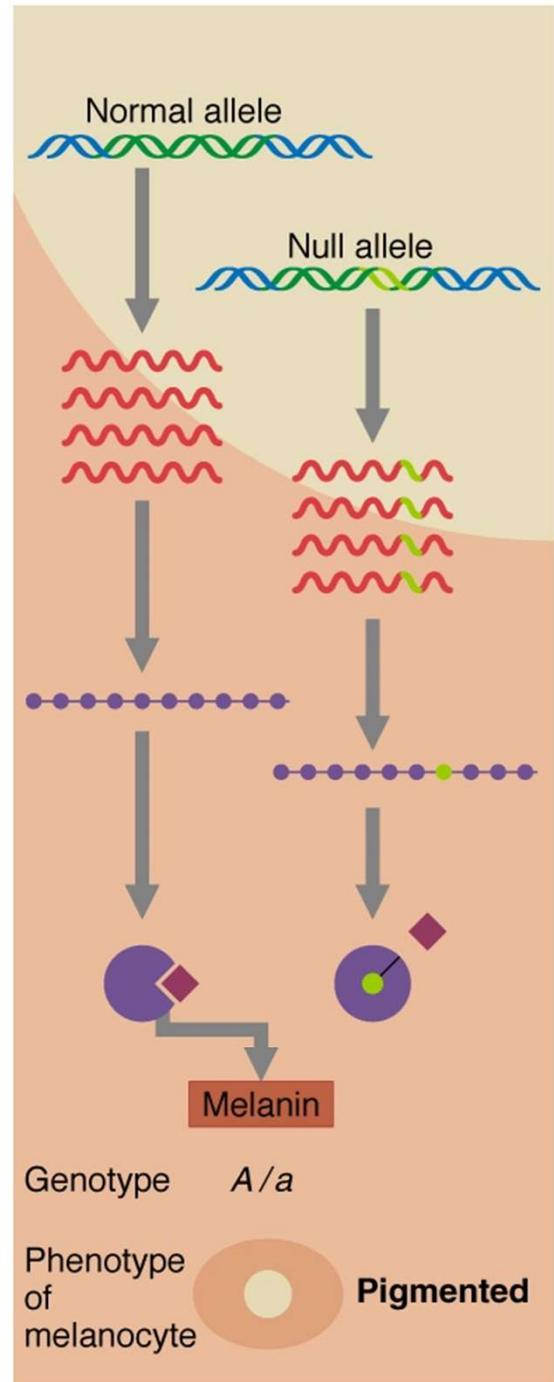
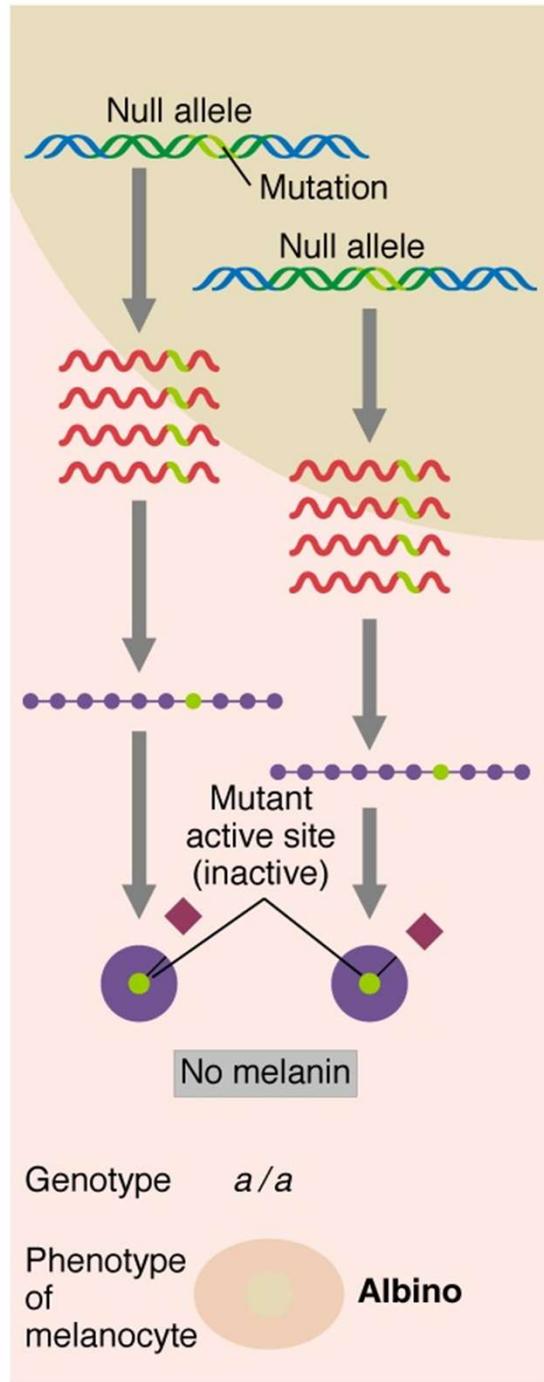
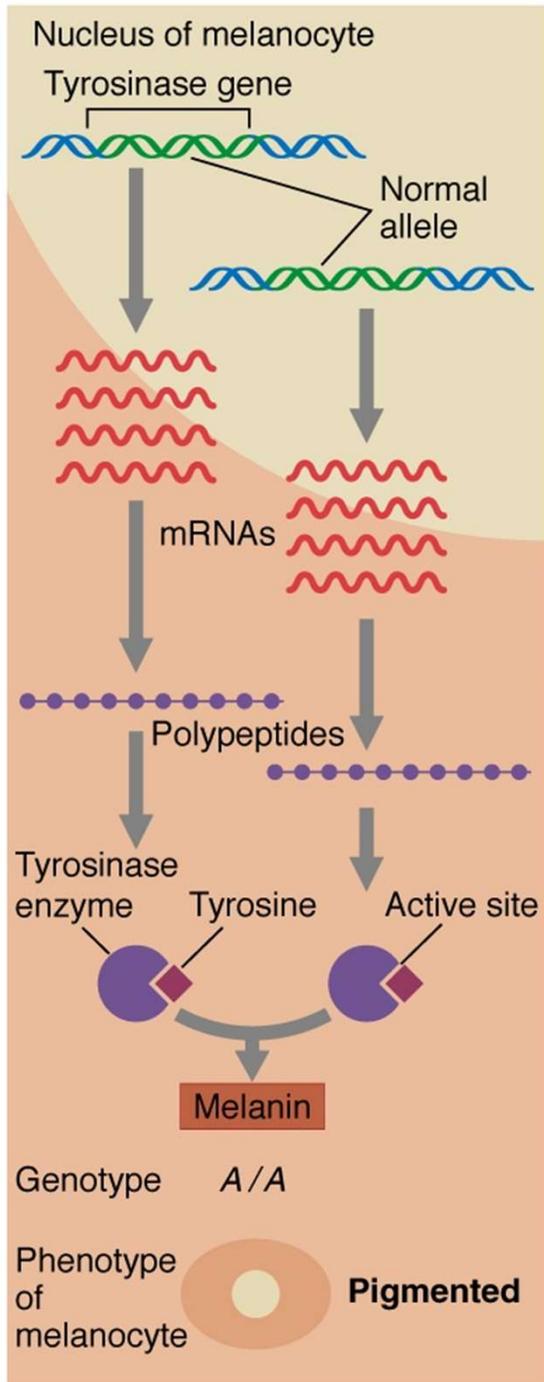
El ADN del fago contiene toda la información genética para su replicación.



GENETICA

- ¿Cómo pasa la **información** de una generación a la siguiente?
- ¿Cómo fluye esa **información** en un individuo?
- ¿Cómo se regula el flujo de **información**?
- ¿Cómo modifica el ambiente ese flujo de **información**?





Mutación

- Cambio hereditario en el ADN
- Las mutaciones son cambios en la secuencia de nucleotidos debidos a multiples causas
 - integración de **transposones**
 - mutágenos
 - **Errores de replicacion del ADN**

RESUMEN

- Una mutación cambia una forma alélica por otra
- Una mutación es un cambio HEREDABLE.
- Las mutaciones son la fuente de variación genética.
- Los estudios genéticos requieren amenudo generar mutaciones.
- Las mutaciones son espontáneas o inducidas.
- Afectan la secuencia de nucleótidos de un gen.
- A veces, las mutaciones son reparadas.
- Las mutaciones pueden ser somáticas o germinales.

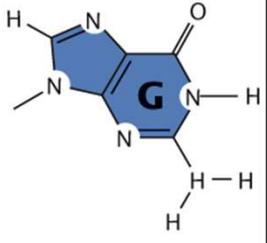
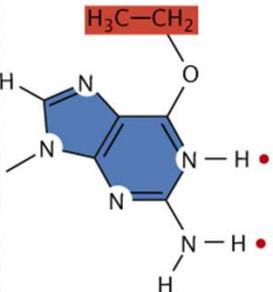
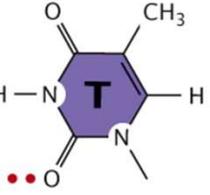
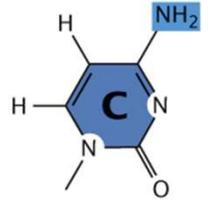
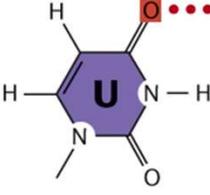
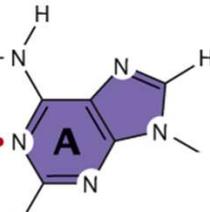
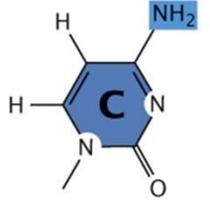
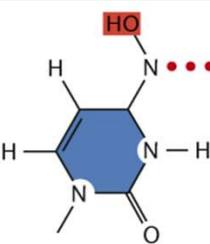
Mutágenos

TABLE 10-1 Mutation Frequencies Obtained with Various Mutagens in *Neurospora*

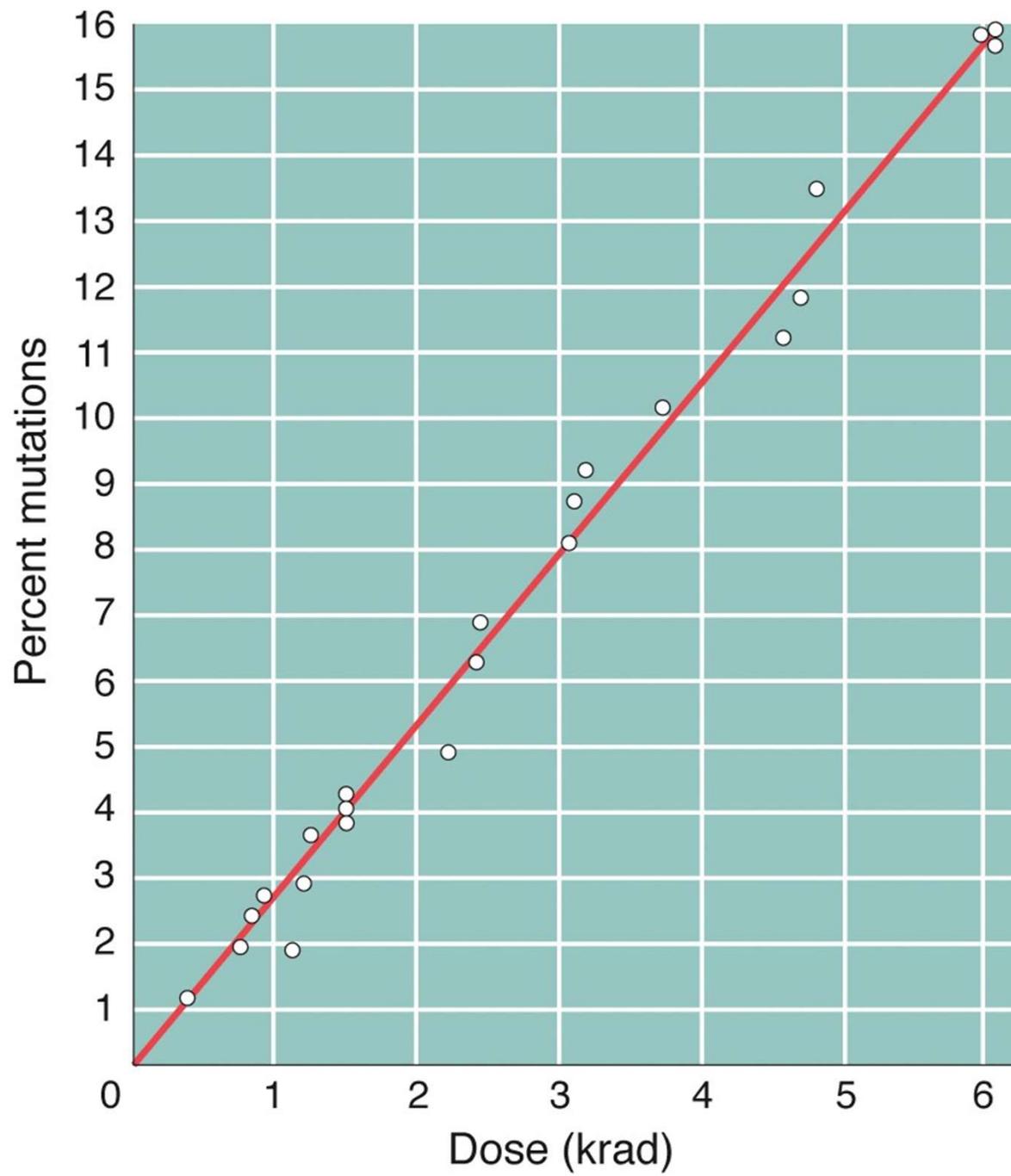
Mutagenic Treatment	Exposure Time (minutes)	Survival (%)	Number of <i>ad-3</i> Mutants per 10 ⁶ Survivors
No treatment (spontaneous rate)	–	100	~0.4
Amino purine (1–5 mg/ml)	During growth	100	3
Ethyl methanesulfonate (1%)	90	56	25
Nitrous acid (0.05 M)	160	23	128
X rays (2000 r/min)	18	16	259
Methyl methanesulfonate (20 mM)	300	26	350
UV rays (600 erg/mm ² /min)	6	18	375
Nitrosoguanidine (25 mM)	240	65	1500
ICR-170 acridine mustard (5 mg/ml)	480	28	2287

Note: The assay measures the frequency of *ad-3* mutants. It so happens that such mutants are red, so they can be detected against a background of white *ad-3*⁺ colonies.

- Agentes intercalantes
 - Moléculas planares que se intercalan entre las bases del DNA afectando la replicación p. ej. proflavina, naranja de acridina, bomuro de etidio
- Daño de las bases
 - Agentes que alteran las bases y por lo tanto no pueden aparear. Resulta en un bloqueo de la replicación y la inserción de nuevas bases no específicas.
- Luz UV
 - Produce dímeros de pirimidina. Activa sistemas de reparación con inserción de bases incorrectas.

	Original base	Mutagen	Modified base	Pairing partner	Type of mutation
(a)	 Guanine	EMS Alkylation	 O^6 -Ethylguanine	 Thymine	CG \rightarrow TA
(b)	 Cytosine	Nitrous acid (HNO_2) Deamination	 Uracil	 Adenine	CG \rightarrow TA
(c)	 Cytosine	Hydroxylamine (NH_2OH) Hydroxylation	 Hydroxylamino-cytosine	 Adenine	CG \rightarrow TA

Fig_17-20 *Genetics, Second Edition* © 2005 W.H. Freeman and Company



Mutaciones puntuales

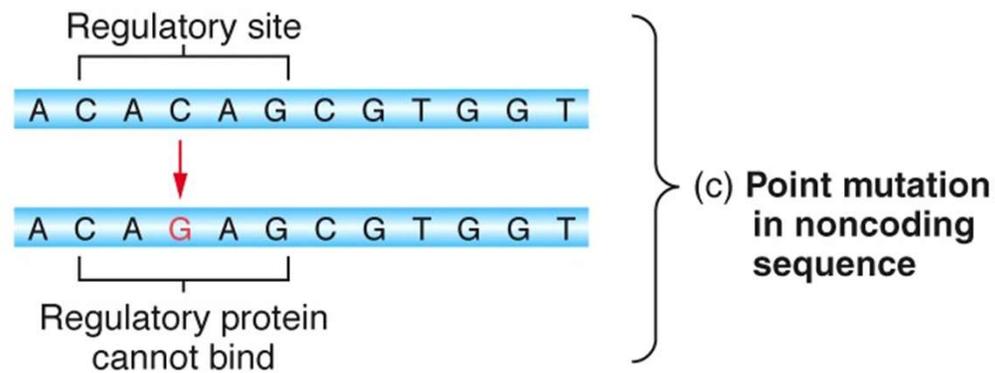
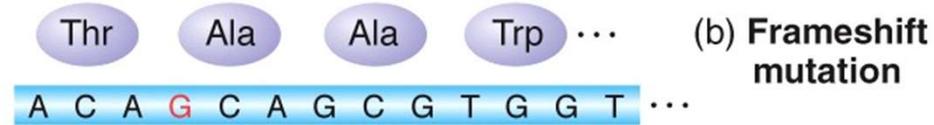
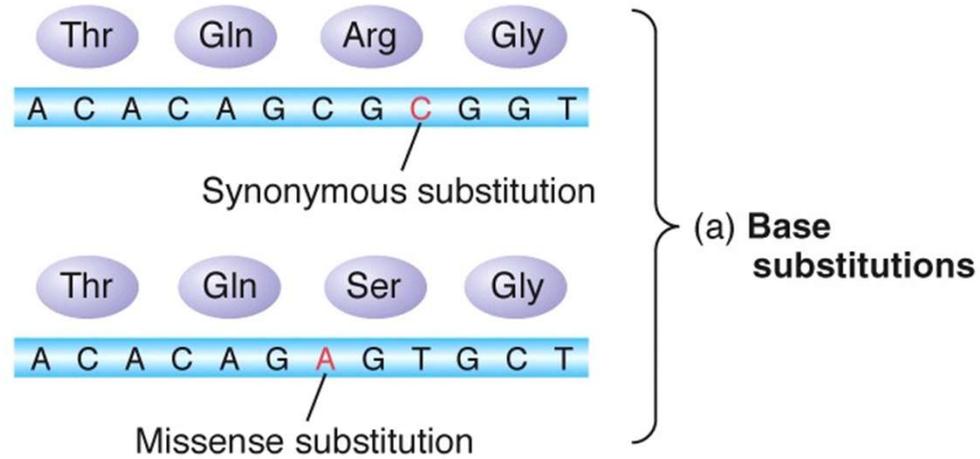
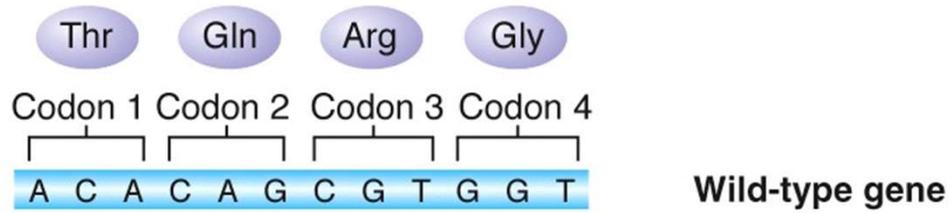
- Cambian una o dos bases
- Origen de las mutaciones
 - Inducidas en el laboratorio
 - Acción de un mutageno
 - Mutagenesis es el proceso de inducir mutaciones
 - Espontáneas
 - En ausencia de un mutágeno conocido
 - Pueden ser causadas por errores de replicación
 - Proveen la base de la diversidad génica
 - Esenciales para el proceso de evolución

Tipos de mutaciones puntuales

- Sustitución de bases
- Adición o deleción de un par de nucleótidos

Consecuencias moleculares (1)

- Mutación sinonímica: no cambia el aminoácido (mutación silenciosa)
- Mutación de cambio de sentido: cambia el aminoácido
- Mutación sinsentido: cambia el codón de un aminoácido por un codón de terminación



Consecuencias moleculares (2)

- Las mutaciones de cambio de sentido tienen severidad variable
 - Un cambio *conservativo* altera poco la función.
 - Una sustitución *no* conservativa seguramente alterará la función de la proteína
 - Las consecuencias dependen del contexto ambiental
- Las mutaciones sin sentido alteran las proteínas produciendo polipéptidos truncados, normalmente no funcionales.
- Mutaciones puntuales en regiones no codificantes pueden o no tener efectos visibles.

Luria, S. E., and M. Delbrück, 1943. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, 28: 491–511.

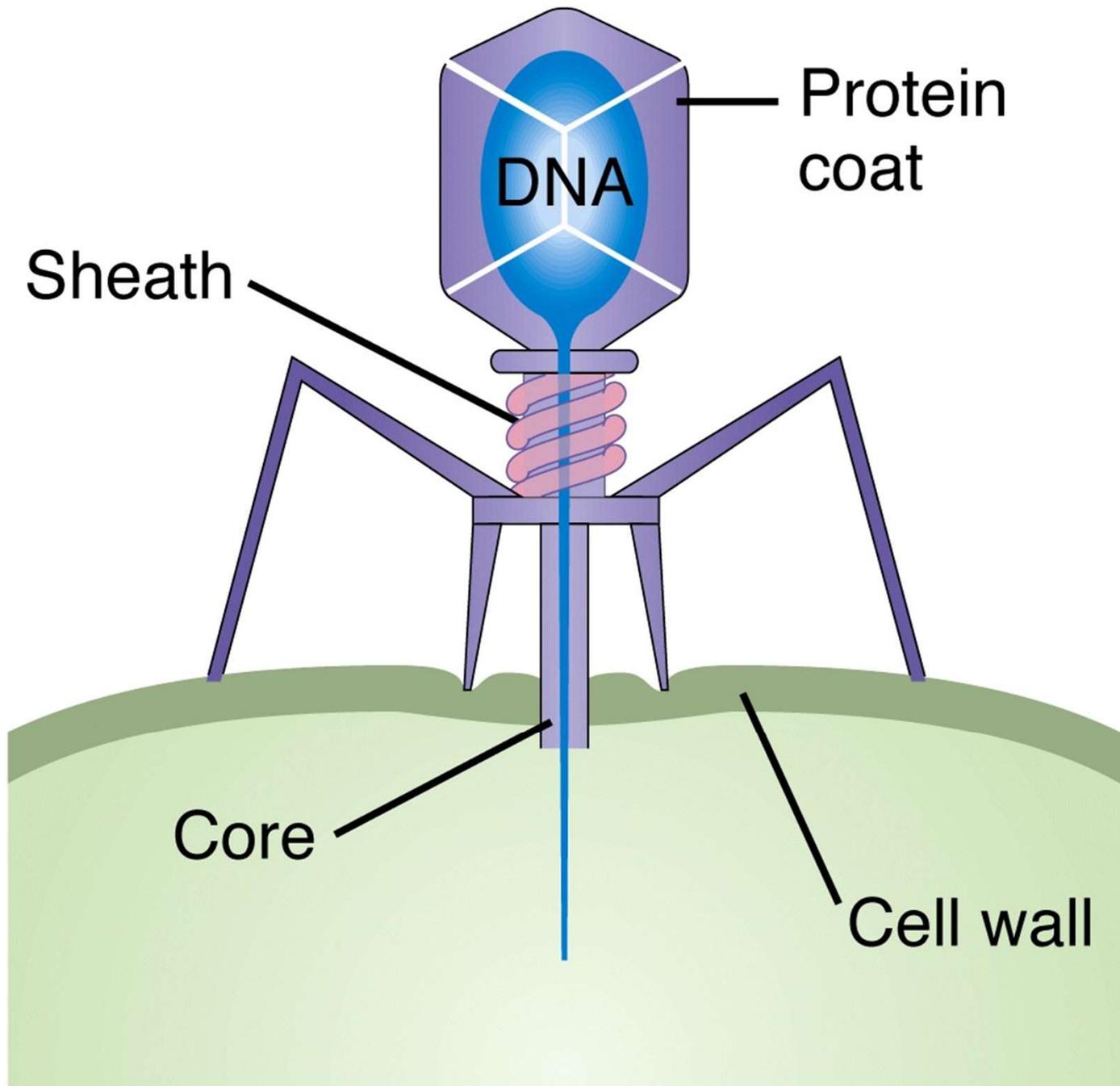
MUTATIONS OF BACTERIA FROM VIRUS SENSITIVITY TO VIRUS RESISTANCE^{3,4}

S. E. LURIA⁵ AND M. DELBRÜCK

*Indiana University, Bloomington, Indiana, and
Vanderbilt University, Nashville, Tennessee*

INTRODUCTION

WHEN A PURE BACTERIAL CULTURE IS ATTACKED by a bacterial virus, the culture will clear after a few hours due to destruction of the sensitive cells by the virus. However, after further incubation for a few hours, or sometimes days, the culture will often become turbid again, due to the growth of a bacterial variant which is resistant to the action of the virus. This variant can be isolated and freed from the virus and will in many cases retain its resistance to the action of the virus even if subcultured through many generations in the absence of the virus.



The aim of the theory is the analysis of the probability distributions of the number of resistant bacteria to be expected on the hypothesis of acquired immunity and on the hypothesis of mutation.

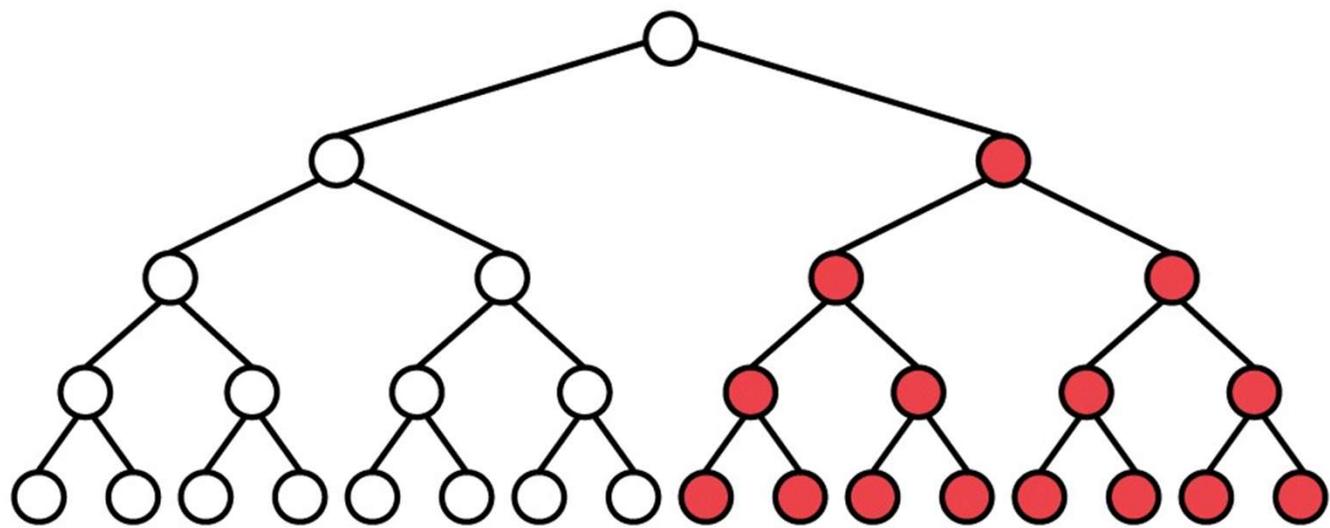
The basic assumption of the hypothesis of acquired hereditary immunity is the assumption of a fixed small chance for each bacterium to survive an attack by the virus. In this case we may therefore expect a binomial distribution of the number of resistant bacteria, or, in cases where the chance of survival is small, a Poisson distribution.

The basic assumption of the mutation hypothesis is the assumption of a fixed small chance per time unit for each bacterium to undergo a mutation to resistance. The assumption of a fixed chance per time unit is reasonable only for bacteria in an identical state. Actually the chance

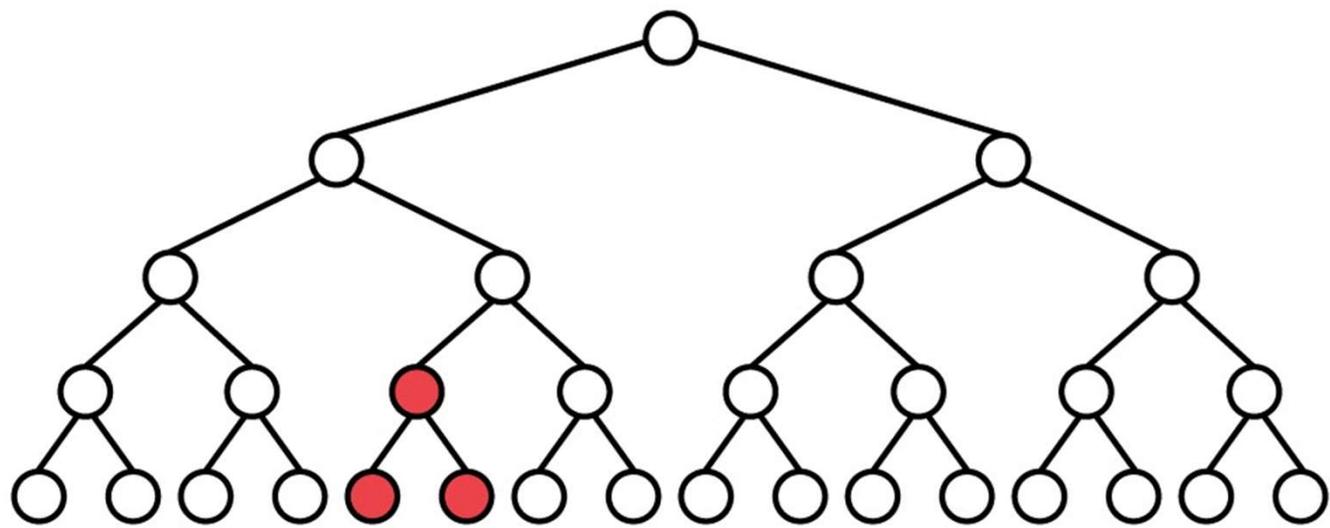
TABLE 1

*The number of resistant bacteria in different samples
from the same culture.*

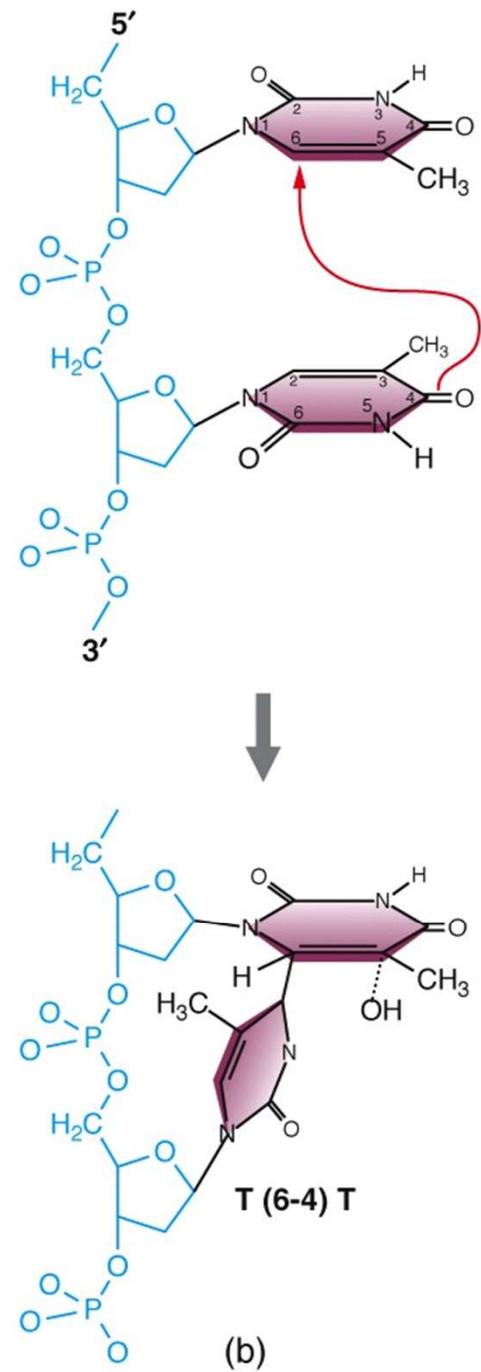
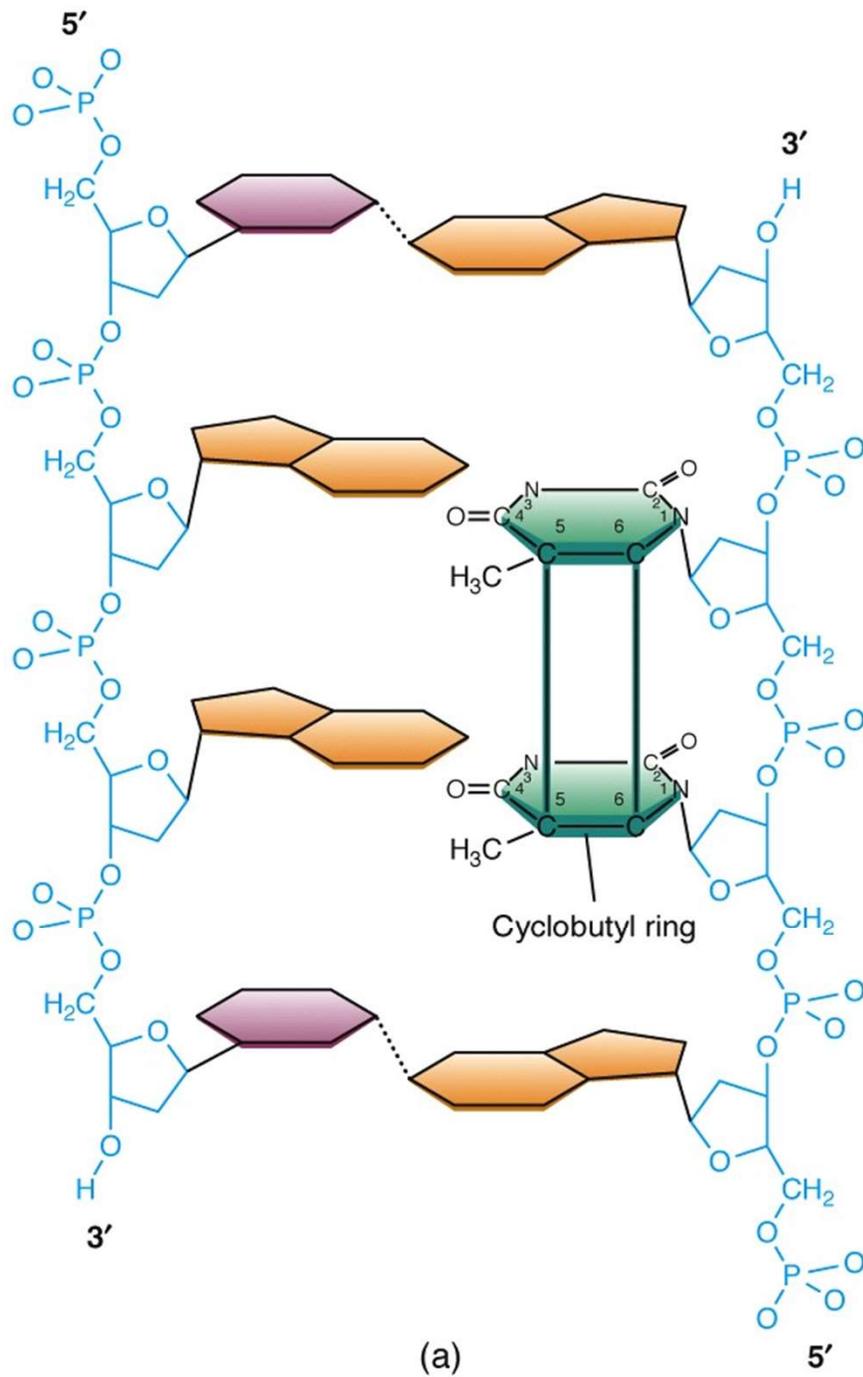
Sample Number	Exp. No. 10a Resistant Colonies	Exp. No. 11a Resistant Colonies	Exp. No. 3 Resistant Colonies
1	14	46	4
2	15	56	2
3	13	52	2
4	21	48	1
5	15	65	5
6	14	44	2
7	26	49	4
8	16	51	2
9	20	56	4
10	13	47	7
mean	16.7	51.4	3.3
variance	15	27	3.8
X ²	9	5.3	12
P	.4	.8	.2



Early mutation



Late mutation



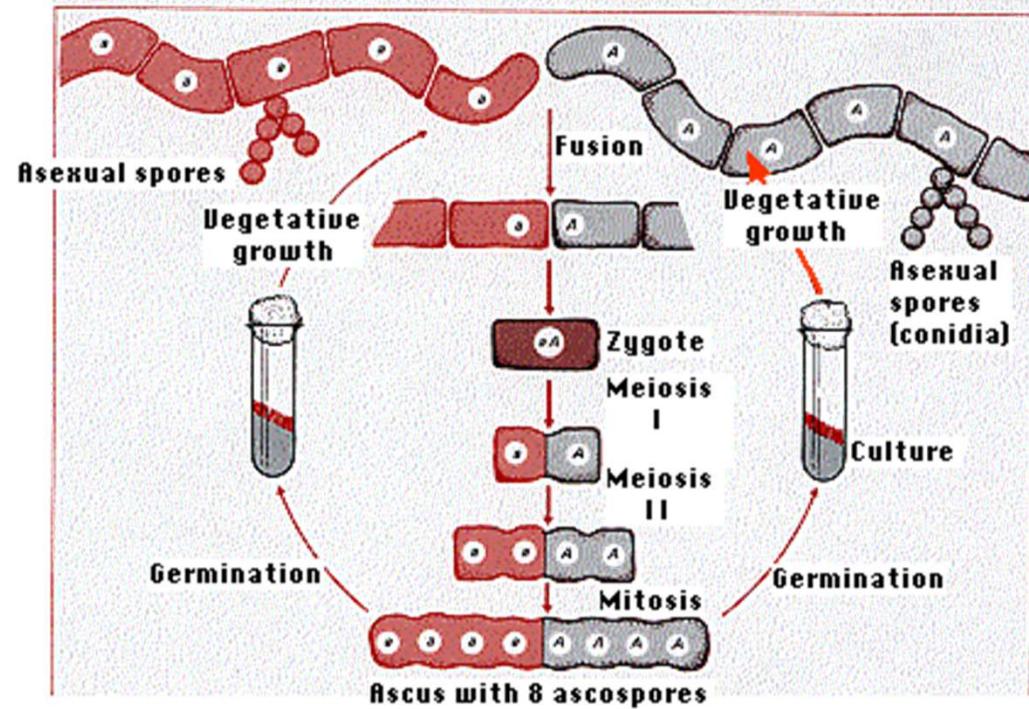
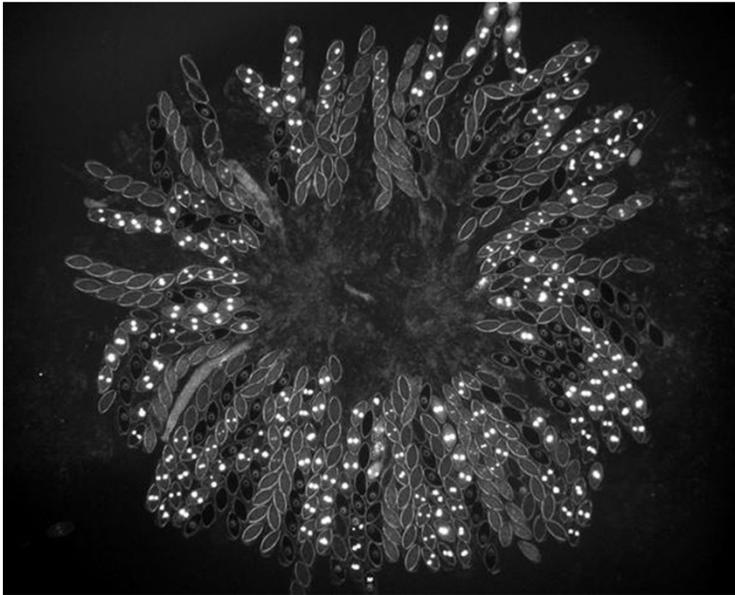
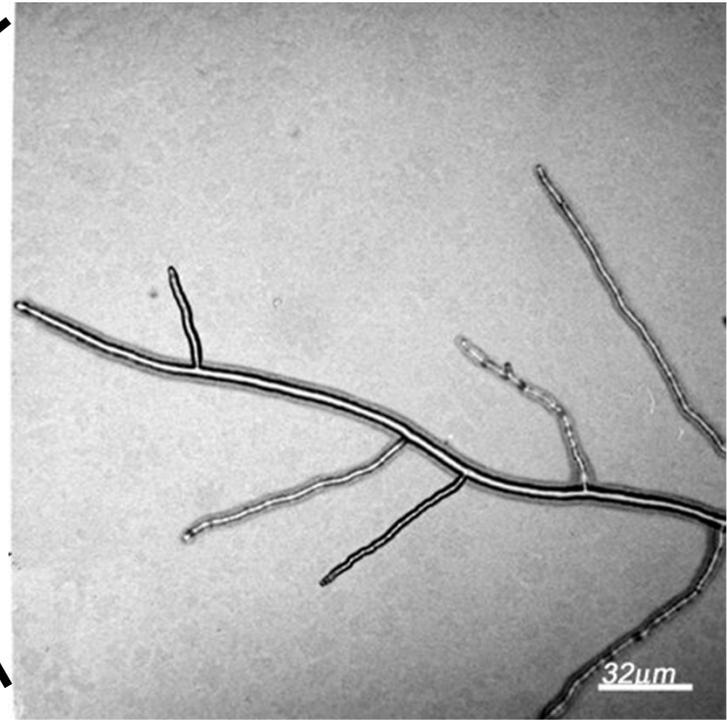
Un Gen, un polipéptido

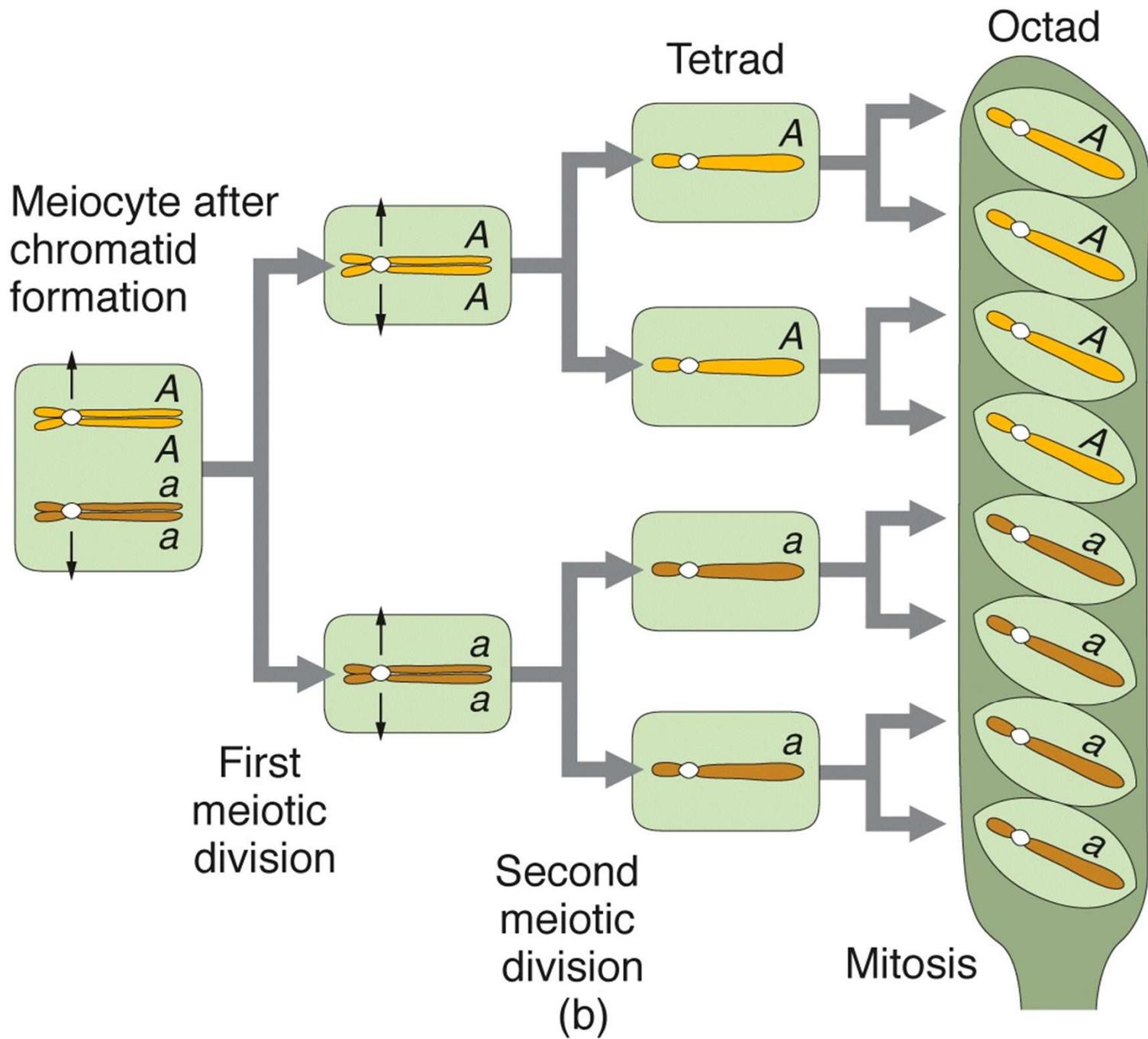
- En la década de 1930, Beadle y Tatum hicieron una serie de experimentos con el fin de entender qué era un gen y qué hace.
- La conclusión de sus experimentos fue “Un gen, una enzima”, concepto que se mantuvo por muchos años.
- Como retomó Crick en la elaboración de su “dogma central” las proteínas hacen casi todos los trabajos celulares y cumplen el rol de moduladores metabólicos, pero también están en procesos como movilidad celular, estructura celular o señalización entre células.
- Hemos visto que el ADN contiene la información genética y que es de algún modo, codificante de las proteínas. Si la secuencia de ADN se hereda, así se heredan las características de las proteínas.



Los experimentos de Beadle y Tatum

- B&T trabajaron con un hongo, *Neurospora crassa*. *N. crassa* crece normalmente como haploide, pero puede ser cruzado para formar organismos diploides (llamados dicariontes). *Neurospora* puede formar esporas haploides.
- *Neurospora* puede crecer en un medio mínimo definido: un conjunto de compuestos químicos que contienen todo lo que el hongo necesita para vivir. A partir de los componentes de ese medio, *Neurospora* sintetiza todo lo que necesita para vivir.
- El razonamiento de B&T: si los genes codifican enzimas, entonces deben existir mutantes que no pueden crecer en medio mínimo y tendrán requerimientos especiales y, en consecuencia, serán AUXOTROFOS. Esos requerimientos indicarán la vía metabólica que afecta ese gen.

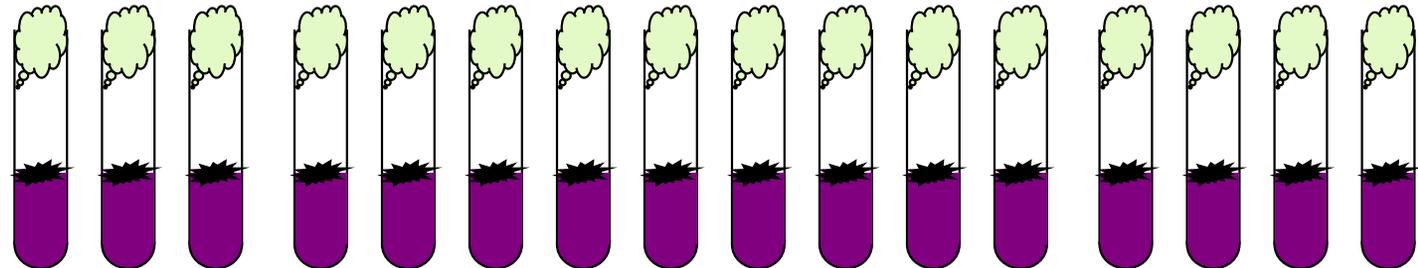
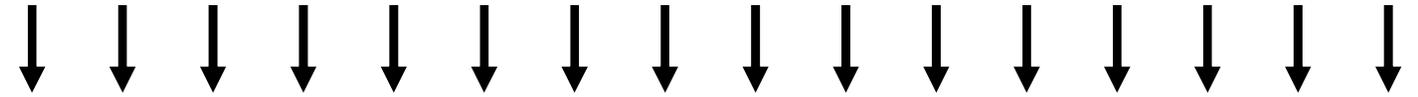
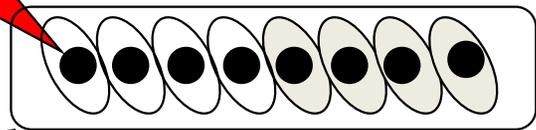
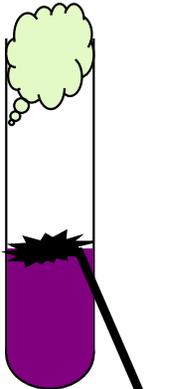
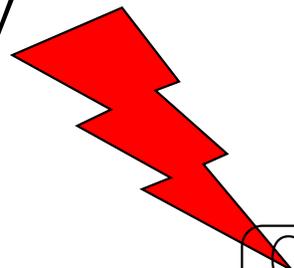




Selección de auxótrofos

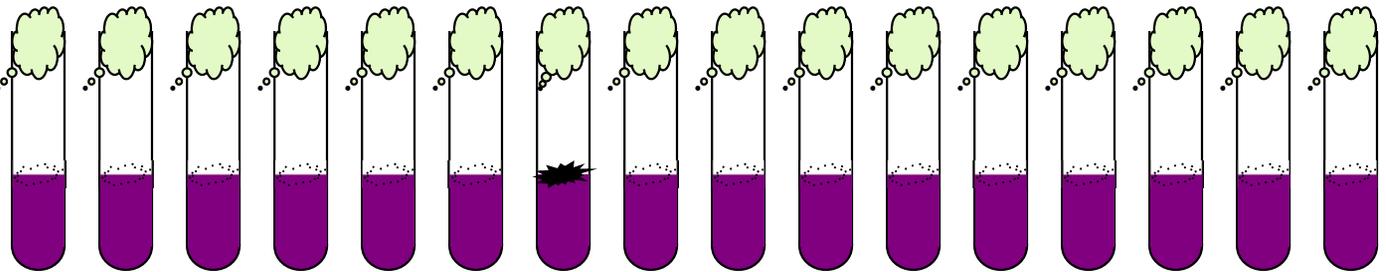
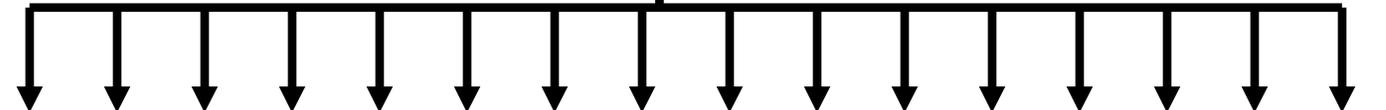
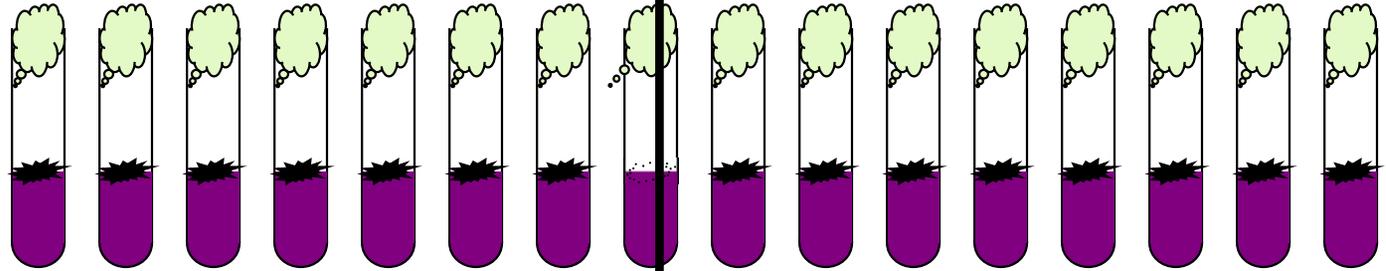
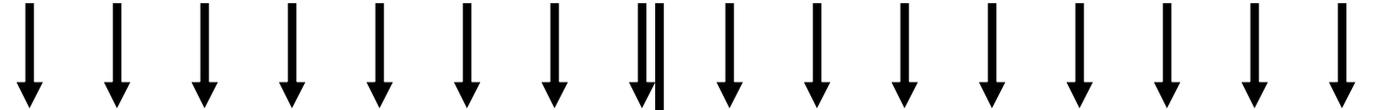
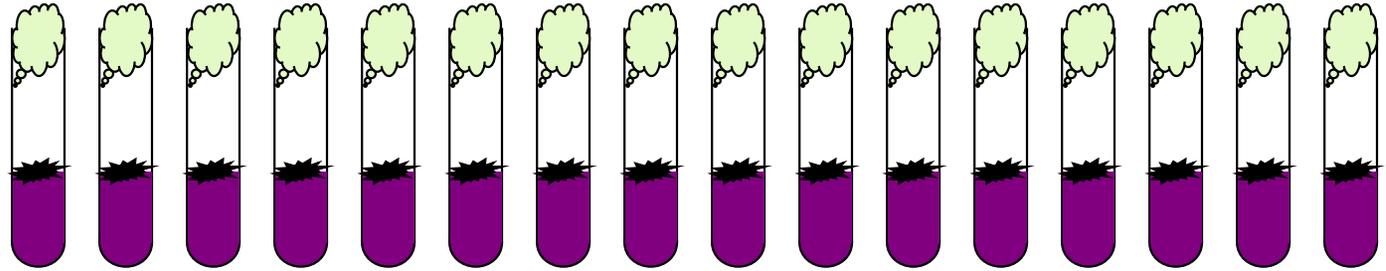
1. B&T irradiaron esporas con luz UV.
1. Separaron las esporas y las crecieron individualmente en un medio que contenía todos los nutrientes (medio RICO). En ese medio, el hongo crece sin problemas.
1. Algunas células de cada tubo se transfirieron a un tubo con medio MÍNIMO. Algunas crecieron en medio mínimo, pero otras no. Estas últimas son las AUXÓTROFAS -> incapaces de sintetizar alguna molécula indispensable.
1. Para determinar qué compuesto necesitaban estas cepas auxótrofas cada una se repicó a medio mínimo suplementado con un aminoácido o vitamina específico.
1. Se aislaron auxótrofos para un requerimiento especial.
1. Los auxótrofos se clasificaron de acuerdo a sus necesidades en grupos, por ejemplo ARG⁻ (necesitan arginina), TRP⁻ (necesitan triptofano), etc.

Rayos X,
Luz UV



Medio rico

Medio rico

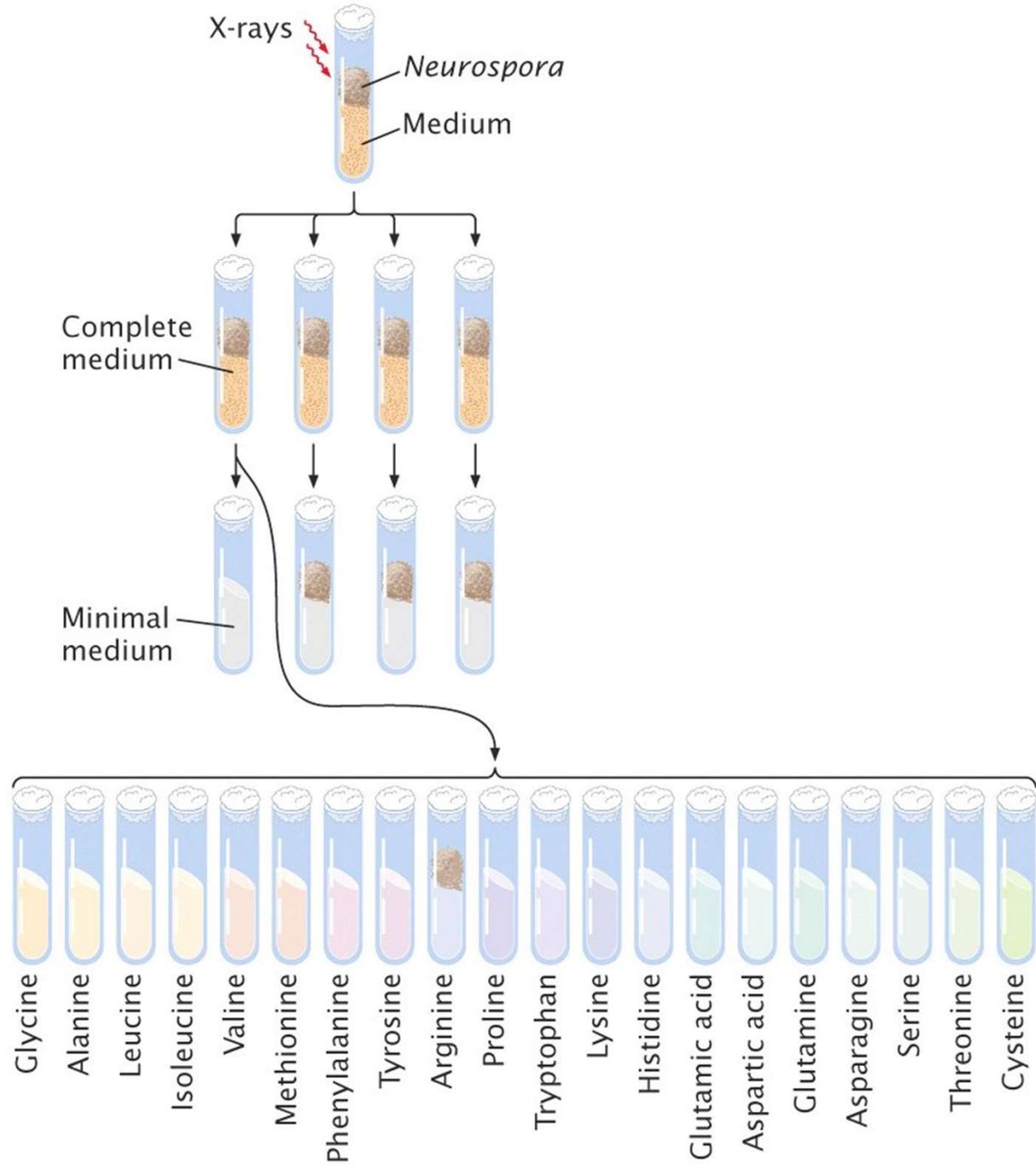


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Medio mínimo
(sin aminoácidos)

Medio mínimo
+

Aminoácido



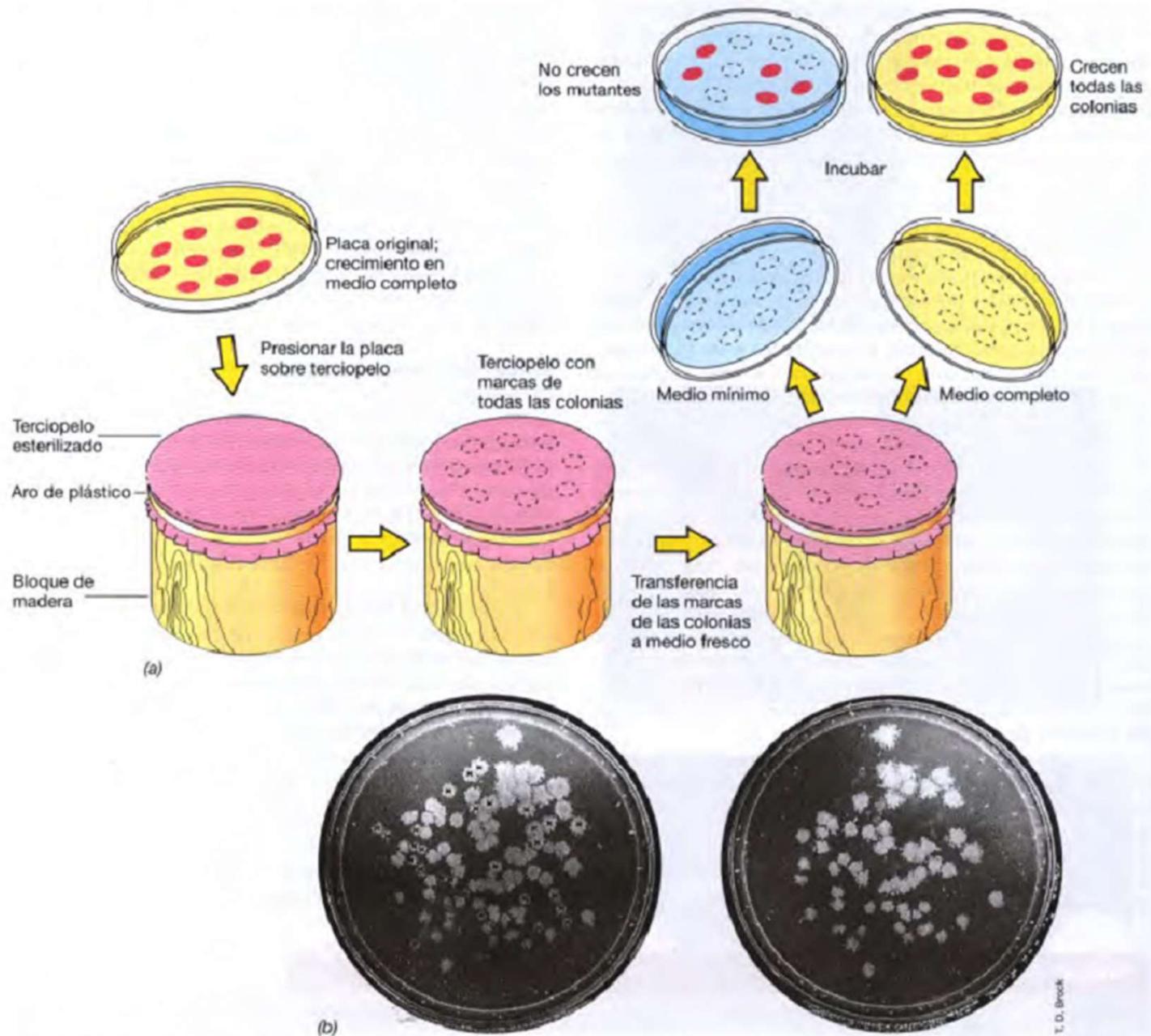
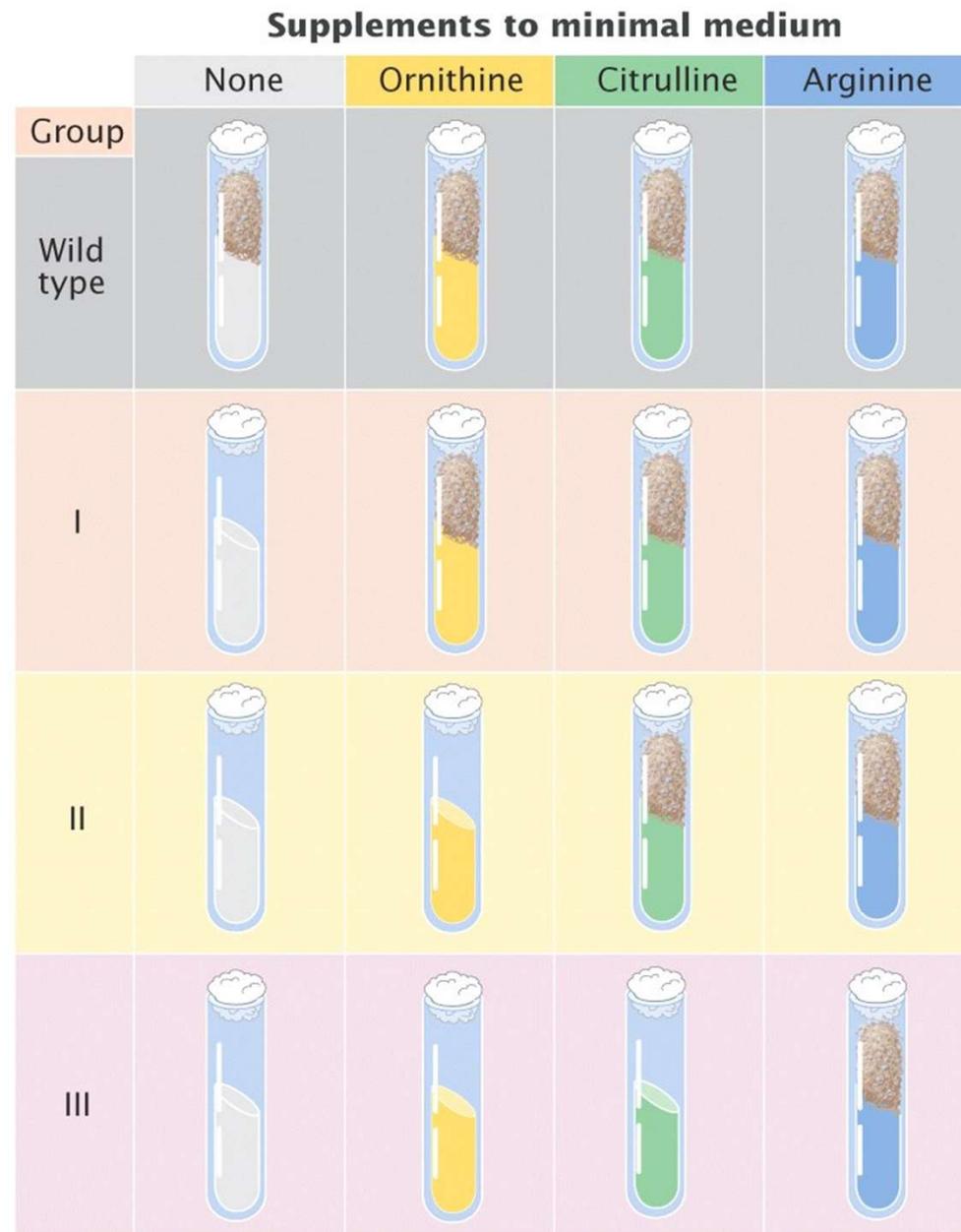


Figura 10.2 (a) Método de la réplica en placa para la detección de mutantes nutricionales. (b) Mutantes nutricionales detectados por el método de la réplica en placa. La fotografía de la izquierda muestra la placa original. Las colonias que no aparecen en la placa replicada están marcadas con una X. La placa réplica carecía de un nutriente (leucina) que estaba presente en la placa original. Por tanto, las colonias marcadas con una X son auxotrofos para la leucina.

Complementación

- B&T mostraron que cada mutante obtenido fue incapaz de sintetizar un compuesto particular.
- Con este sistema fueron capaces de generar miles de mutantes. Estos mutantes se agruparon de acuerdo al aminoácido afectado.
- Luego hicieron lo que se llamó un test de complementación: hicieron diploides de todas las combinaciones de mutantes distintos para un mismo grupo, con dos resultados posibles:
 - 1. El diploide es auxótrofo como cada haploide, esto significa que las dos mutaciones afectan el mismo gen. A esto se lo llama NO COMPLEMENTARIO.
 - 2. El diploide es prototrofo. Esto significa que las mutaciones son en genes distintos y , por lo tanto, se complementan.

Dedución de rutas metabólicas



Interpretation of data

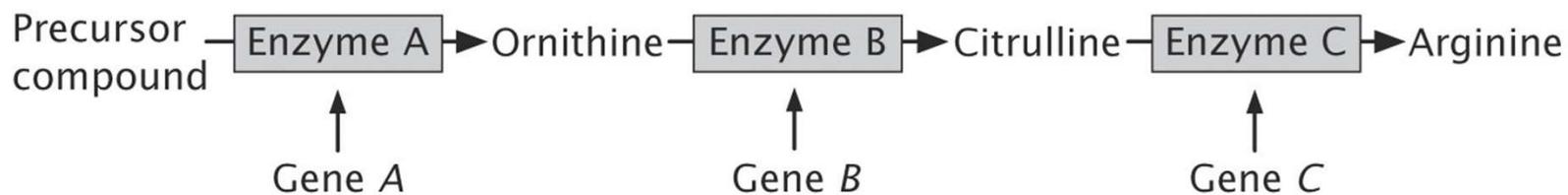


Table 15.1

Growth of arginine auxotrophic mutants on minimal medium with various supplements

Mutant Strain Number	Ornithine	Citrulline	Arginine
Group I	+	+	+
Group II	–	+	+
Group III	–	–	+

Note: + indicates growth; – indicates no growth.

Resultados

- Cada número es un mutante auxotrofo para Arg-.
- Cada cuadradito representa un diploide heterocigoto.
- “+” significa que el heterocigoto es prototrofo
- “-” significa que el heterocigoto es auxotrofo.
- Hay entonces 4 genes que llamamos (arbitrariamente) A, B, C, D.
- Los mutantes que afectan cada gen son:
 - A: 1, 3, 4
 - B: 2, 6
 - C: 5
 - D: 7

Determinación de vías metabólicas

- El trabajo bioquímico nos permite saber que un aminoácido se sintetiza en etapas sucesivas, con intermediarios.
- Por ejemplo, la arginina se sintetiza a partir de ácido glutámico en las siguientes etapas:

ácido glutámico -> N-acetil glutamato -> ornitina -> citrulina -> arginina.

- Cada etapa es catalizada por una enzima (proteína)
- Cada etapa puede ser bloqueada si destruimos la enzima
- Un mutante puede bloquear una etapa específica
- **Si cualquier etapa es bloqueada, el mutante es auxótrofo para arginina!!!**

Pathway of
arginine
biosynthesis

Mutants

N-Acetylornithine



← *argE*

Ornithine



← *argF*

Citrulline



← *argG*

Argininosuccinate



← *argH*

Arginine

¿Por qué nos podría interesar esto?



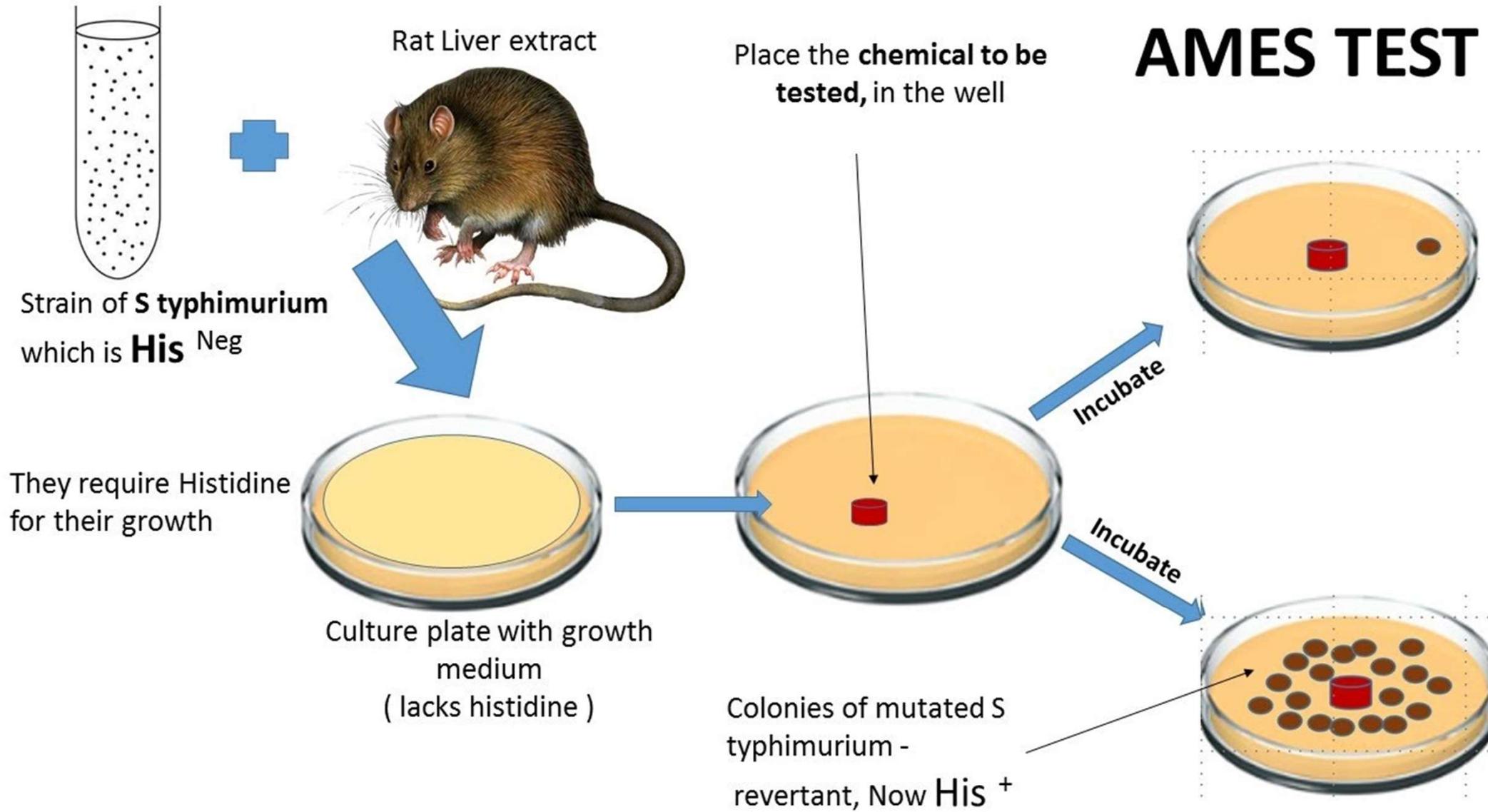
Para detectar mutágenos en el ambiente

Ames, B. N., Sims, P. and Grover, P. L. (1972) Epoxides of Carcinogenic Polycyclic Hydrocarbons are Frameshift Mutagens. *Science* 176, 47-49

Ames, B., F. Lee, and W. Durston. 1973. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 782-786.

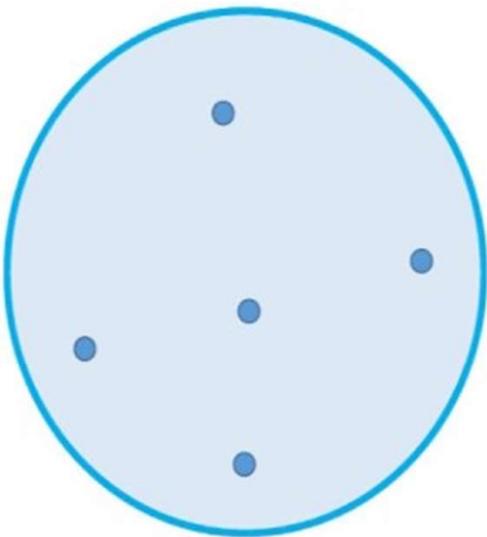
Ames, Bruce N., and Lois S. Gold. "The Causes and Prevention of Cancer: The Role of Environment." *Biotherapy* 11 (1998): 205-220.

Ensayo de Ames



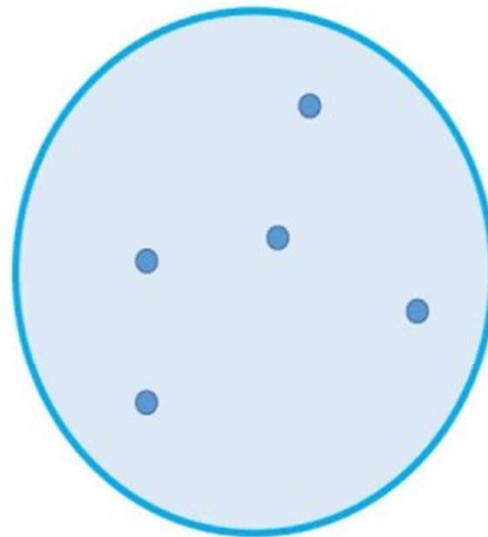
Scenario 1

Plate	# of colonies
A (his ⁻ medium + his ⁻ bacteria)	5
B (his ⁻ medium + his ⁻ bacteria + compound X)	5
C (his ⁻ medium + his ⁻ bacteria + rat liver enzyme)	5
D (his ⁻ medium + his ⁻ bacteria + rat liver enzyme + compound X)	75



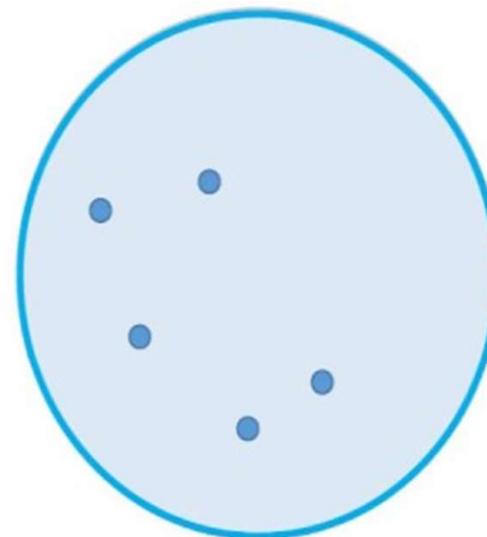
A

His⁻ medium
His⁻ bacteria



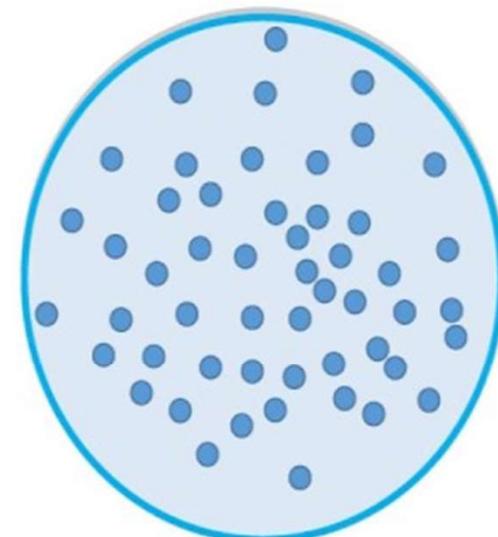
B

His⁻ medium
His⁻ bacteria
Compound X



C

His⁻ medium
His⁻ bacteria
Rat liver enzyme



D

His⁻ medium
His⁻ bacteria
Rat liver enzyme
Compound X

Test de Ames

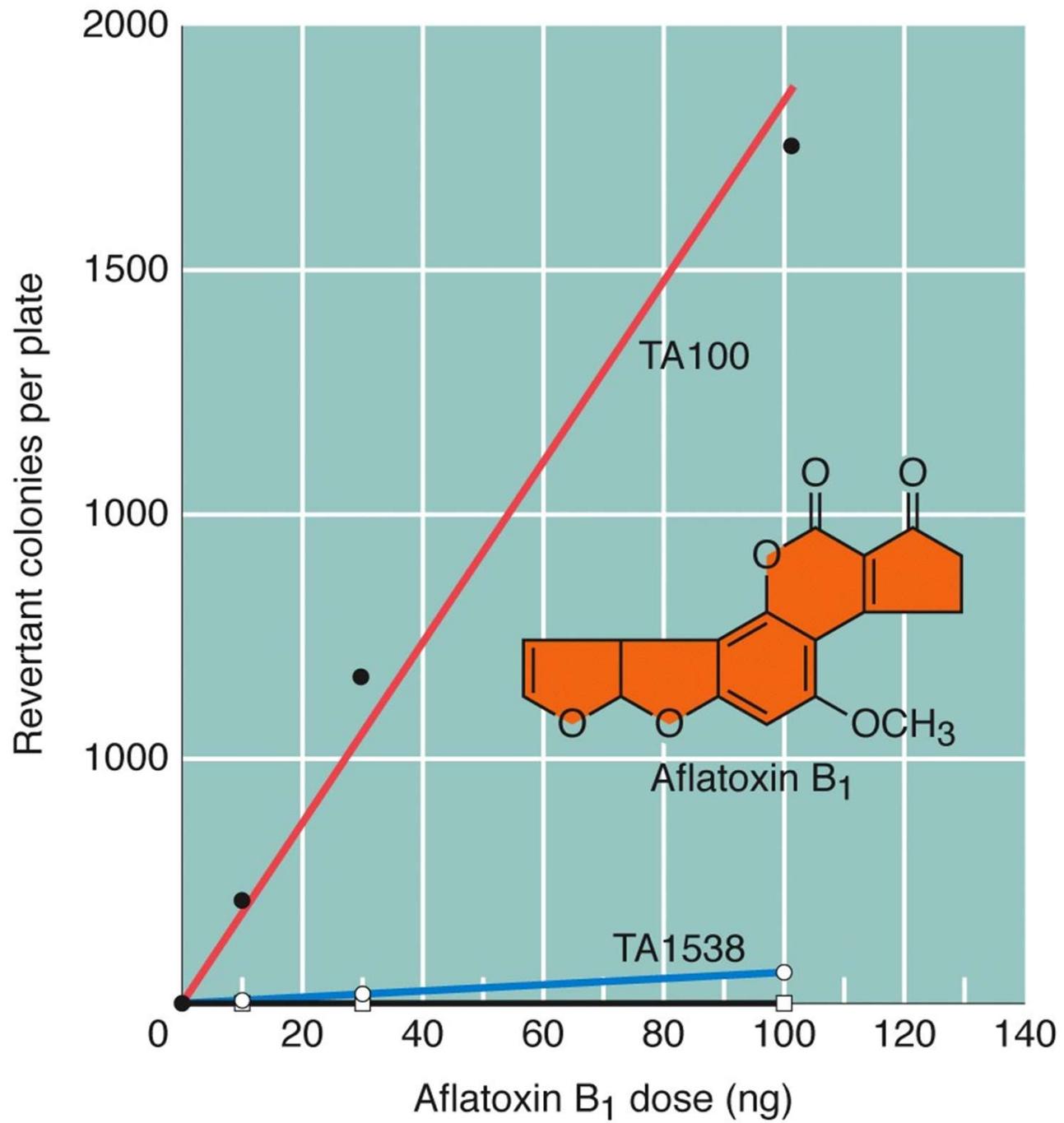
Salmonella typhimurium his(-)



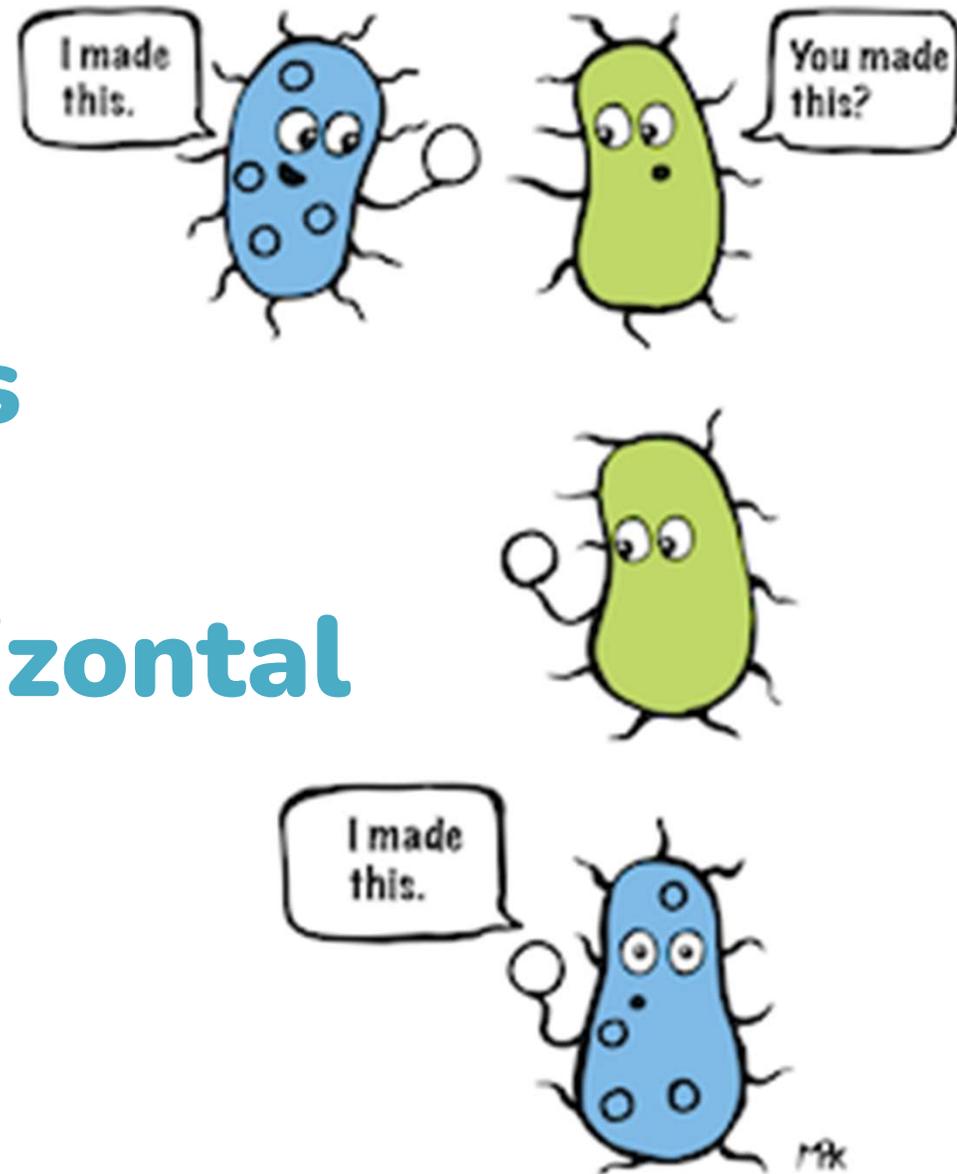
Agente mutagénico



Agente mutagénico = N° mutantes revertidos en presencia del agente debe ser doble al del que existiría en ausencia del mismo



Elementos Génicos y Transferencia Horizontal en Procariotas



Cromosomas procariotas

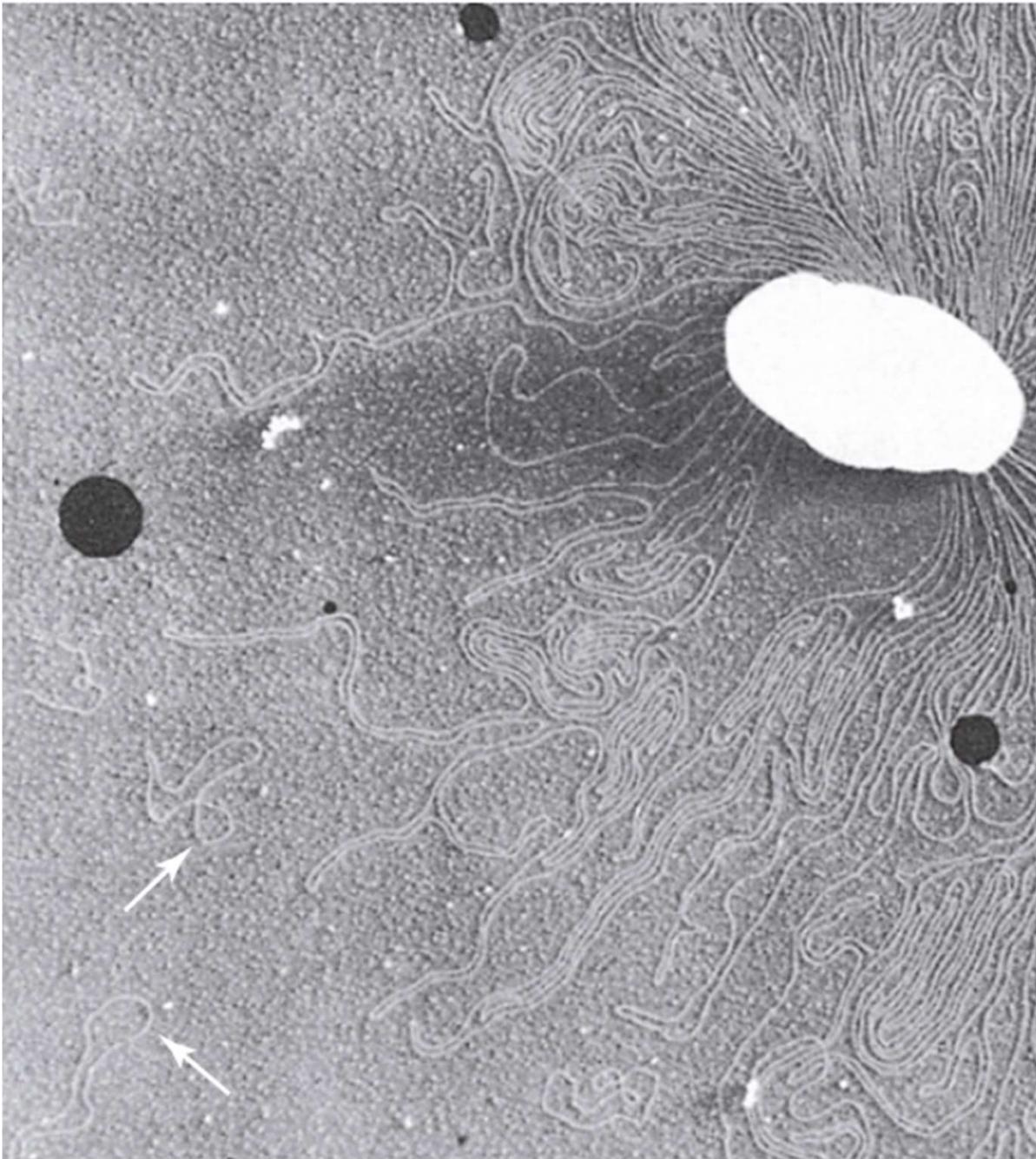
Contienen el material genético cuyos productos están implicados en etapas metabólicas esenciales *bajo todas las condiciones de crecimiento*

- Generalmente es uno y circular.
- En algunas especies con genomas complejos, puede haber más de un tipo de cromosoma por célula.
- La mayoría de los procariotas puede tener elementos génicos adicionales llamados plásmidos

Plásmidos (I)

Elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma.

- Generalmente circulares y bicatenarios. Tamaño variable, menor o igual a 1/20 del cromosoma. También los hay mayores
- Contienen genes que pueden conferir propiedades importantes (por ej., resistencia a antibióticos)
- No contienen genes esenciales (*house-keeping*)
- No causan daño a la célula y no tienen formas extracelulares (esto los diferencia de los virus)
- La mayoría de las especies procariotas posee plásmidos. Una célula, puede tener o no, uno o varios tipos de plásmidos.



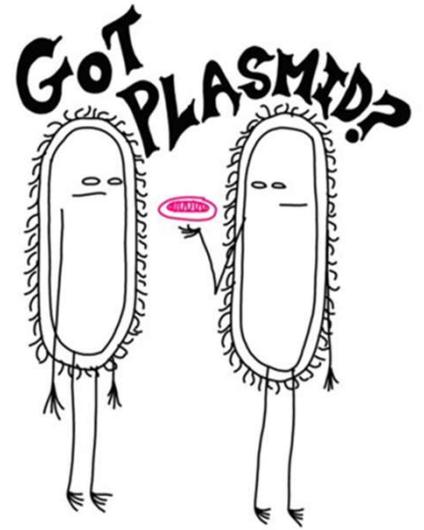
Cromosoma bacteriano y plásmidos bacterianos vistos al microscopio electrónico.

Los plásmidos (flechas) son las estructuras circulares y son mucho más pequeños que el DNA cromosómico principal. La célula (estructura blanca, grande) se ha roto con cuidado, de manera que el DNA quedara intacto.



Esquema de un plásmido típico.

Los plásmidos se esquematizan de esta forma, normalmente se marca el origen de replicación y el gen de interés.



Plásmidos (II)

- Número de copias: suelen estar presentes varias copias por célula. El n° está regulado por el propio plásmido y su interacción con la célula.
- Algunos tipos de plásmidos pueden coexistir en una célula (compatibles) y otros no (incompatibles)
- Algunos plásmidos pueden integrarse al cromosoma. Se llaman episomas. Ante ciertas condiciones, la célula puede eliminarlos. Este proceso se llama “curado”.

Tabla 4.2 Ejemplos de rasgos fenotípicos conferidos por plásmidos en procariontas

<i>Rasgo fenotípico</i>	<i>Organismo</i>
Producción de antibióticos	<i>Streptomyces</i>
Conjugación	Amplio rango de bacterias
Funciones metabólicas	
Degradación de octano, alcanfor, naftaleno	<i>Pseudomonas</i>
Degradación de herbicidas	<i>Alcaligenes</i>
Formación de acetona y butanol	<i>Clostridium</i>
Utilización de lactosa, sacarosa, citrato o urea	Enterobacterias
Producción de pigmentos	<i>Erwinia, Staphylococcus</i>
Producción de vesículas de gas	<i>Halobacterium</i>
Resistencia	
Resistencia a antibióticos	Amplio rango de bacterias
Resistencia a metales tóxicos	Amplio rango de bacterias
Virulencia	
Producción de tumores en plantas	<i>Agrobacterium</i>
Nodulación y fijación simbiótica de nitrógeno	<i>Rhizobium</i>
Producción de bacteriocinas y resistencia	Amplio rango de bacterias
Invasión de células animales	<i>Salmonella, Shigella, Yersinia</i>
Coagulasa, hemolisina, enterotoxina	<i>Staphylococcus</i>
Toxinas y cápsula	<i>Bacillus anthracis</i>
Enterotoxinas, antígeno K	<i>Escherichia coli</i>

Transferencia Horizontal de Genes



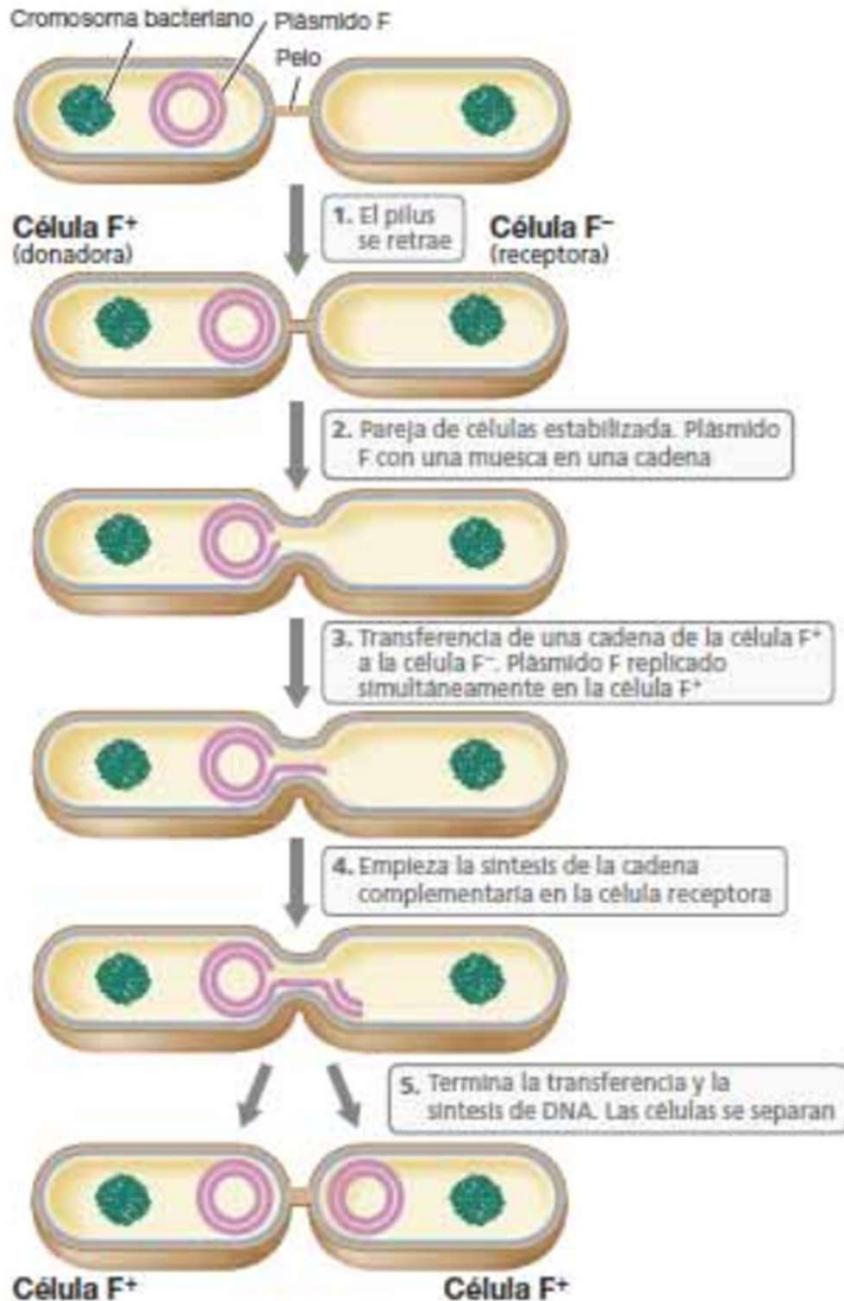
Proceso mediante el cual un organismo transfiere material genético a otra célula que no es descendiente.

Es considerado como uno de los mecanismos fundamentales de la **evolución** procariota.

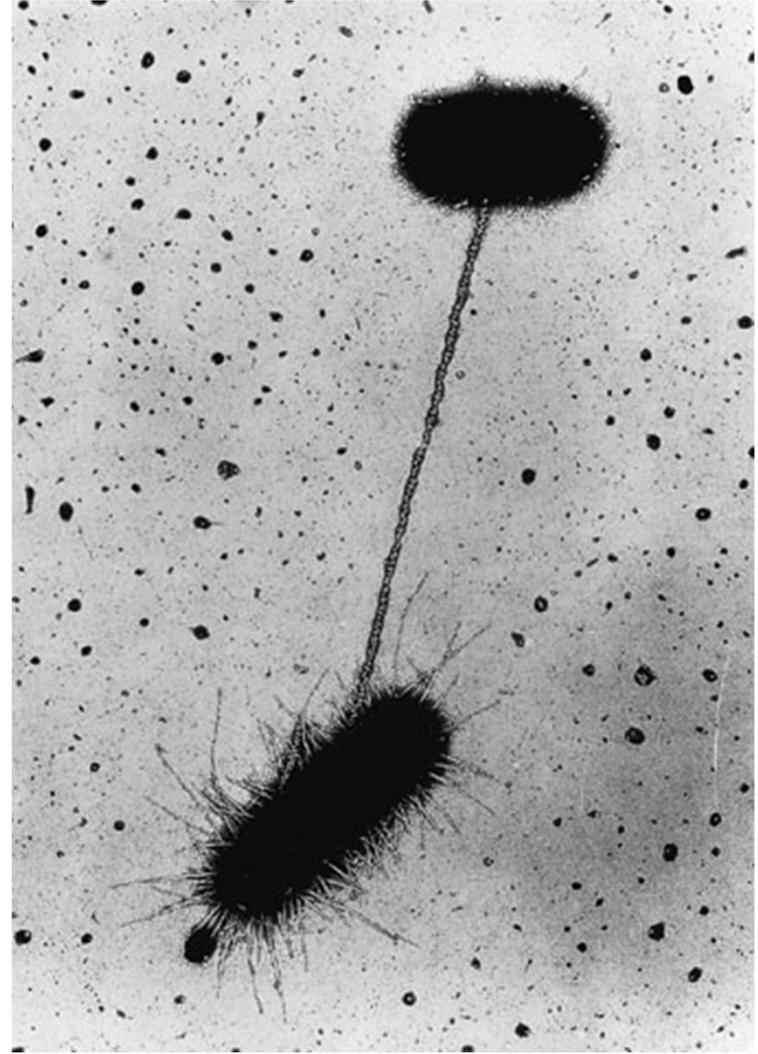
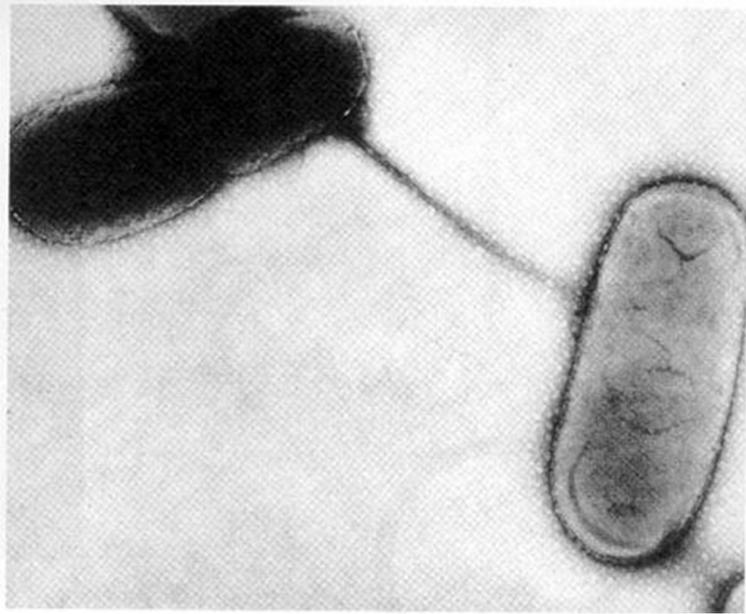
Existen tres mecanismos básicos:

- Conjugación
- Transformación
- Transducción

Conjugación



- Transferencia directa de información genética desde F^+ (plásmido conjugativo) a otra célula aceptora (F^-).
- Pelo F como canal de paso del material genético.
- Las especies de las bacterias donadora y aceptora pueden ser diferentes.
- Plásmido F eventualmente se puede introducir por recombinación en el cromosoma bacteriano dando lugar a una célula Hfr.



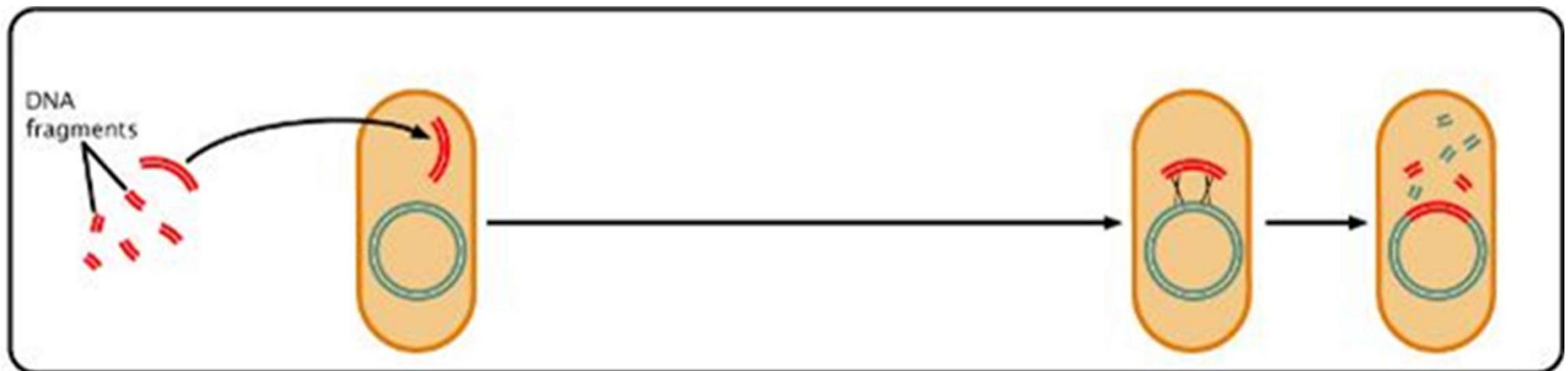
Transformación

- Captación de material genético libre en el medio ambiente por una célula bacteriana que lo incorpora a su material genético y lo expresa como propio.

- Células Competentes (Naturales o Inducidas).

- El material incorporado puede:

Replicarse autónomamente si posee un origen de replicación (plásmidos) o integrarse por recombinación o perderse al dividirse la célula.

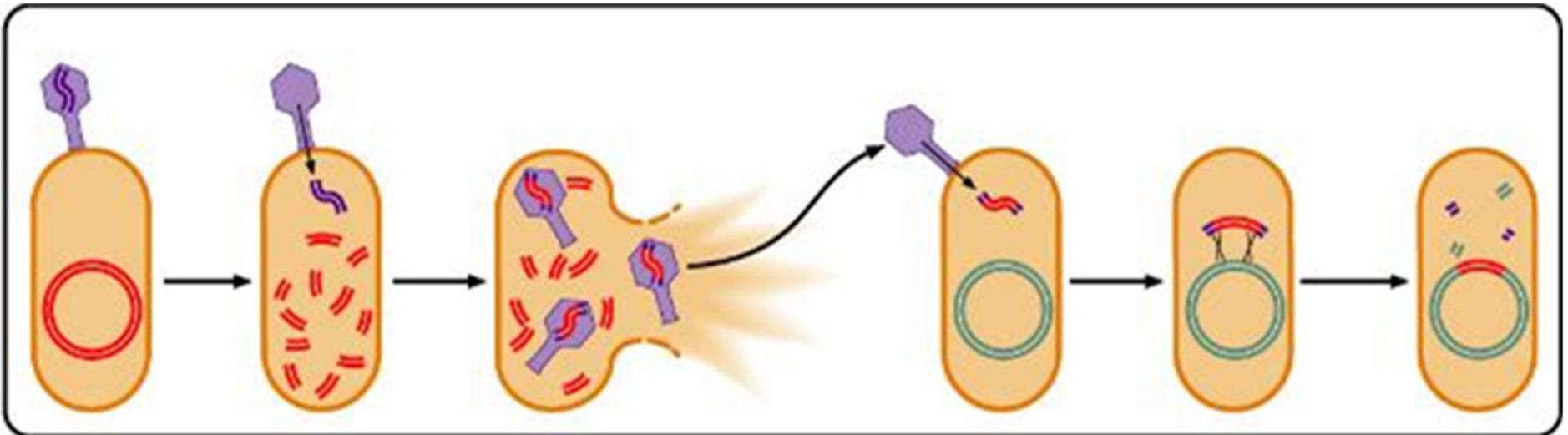


Transducción

Ocurre cuando un Bacteriófago infecta una célula bacteriana y los viriones resultantes incluyen en su material genético parte del de la bacteria.

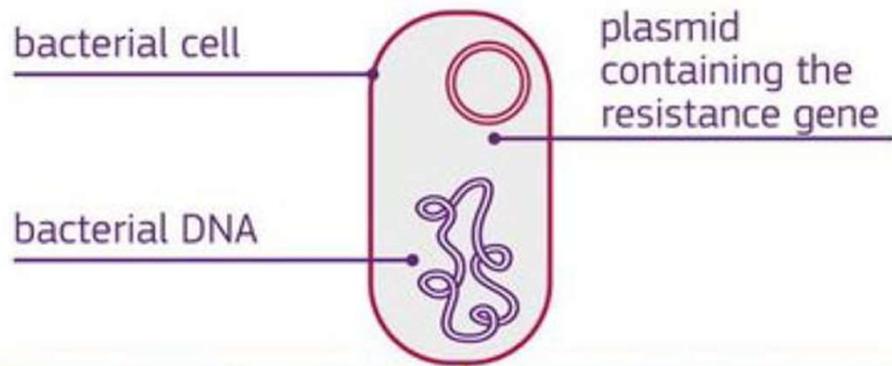
La transducción puede ser:

- generalizada cuando el fago incluye un fragmento de cualquier parte del genoma de la bacteria
- restringida cuando sólo se incluyen determinadas secuencias



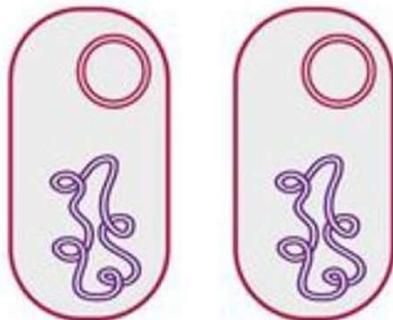
En resumen

A: Vertical Transmission

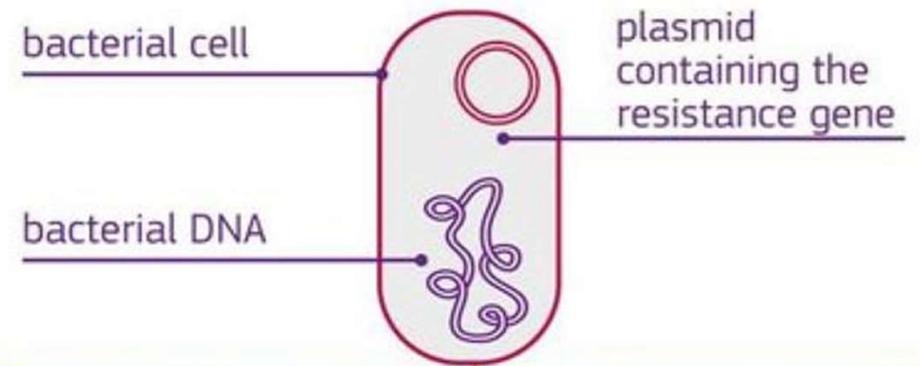


Plasmid transferred during replication to daughter cells

Daughter cells

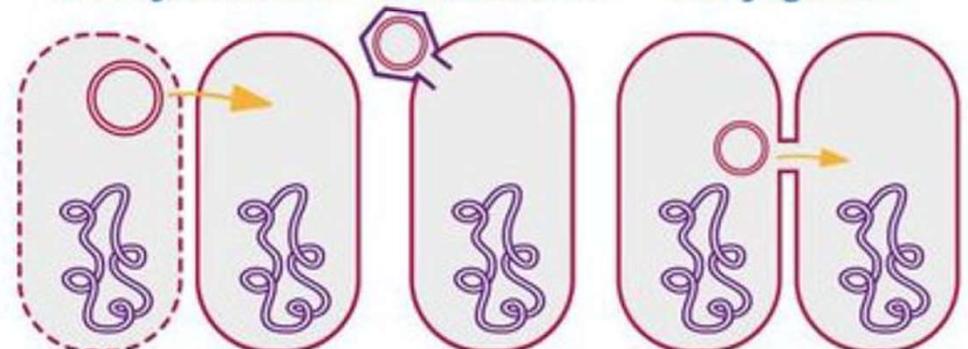


B: Horizontal Transmission

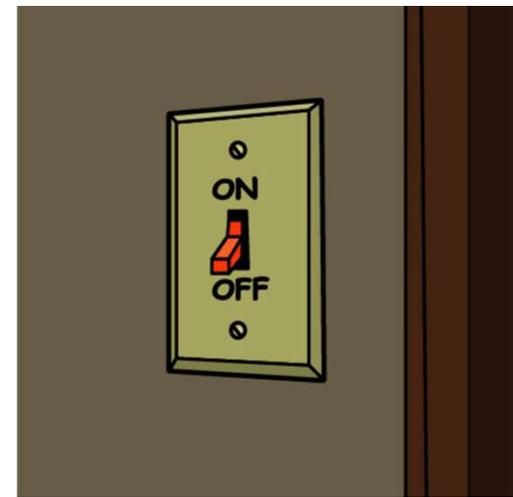


Plasmid transferring to other bacteria of the same generation

Transformation Transduction Conjugation



Regulación de la expresión de genes



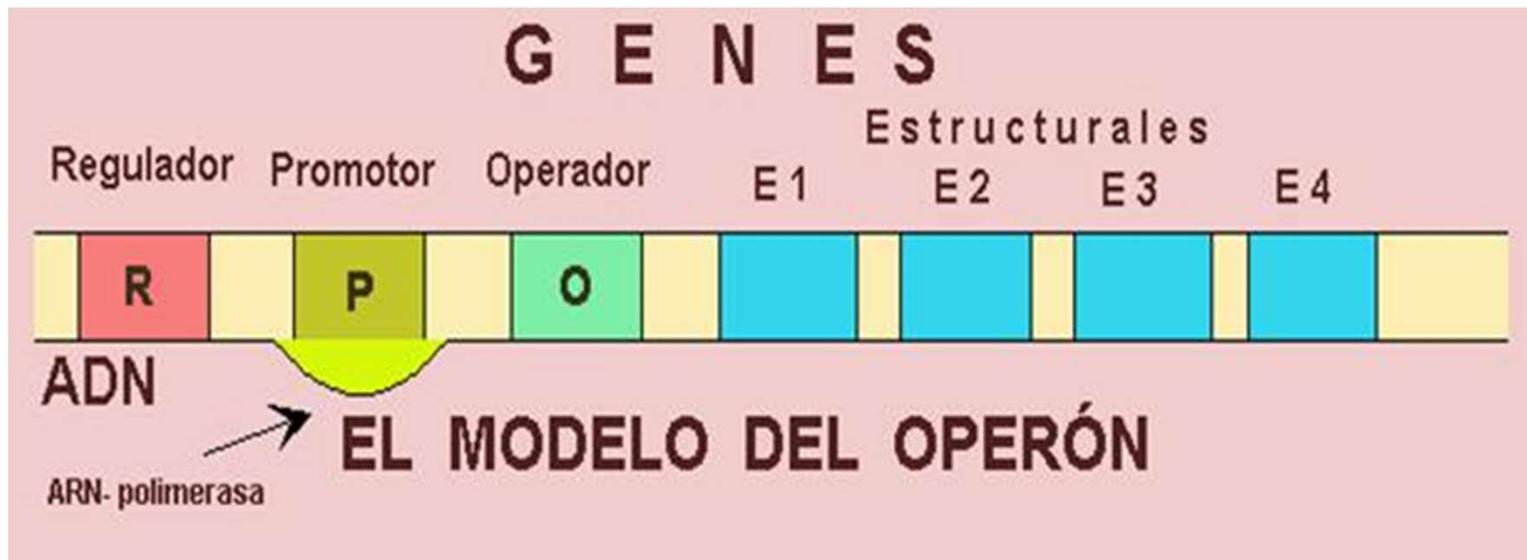
- Cada célula contiene todo el material genético necesario para su crecimiento y desarrollo.
- Algunos de estos genes se expresan continuamente (genes de procesos bioquímicos vitales por ej. respiración)
- Otros genes son “encendidos” o “apagados” según las necesidades circunstanciales.

Regulación en bacterias: operones

- Varios genes relacionados que están regulados conjuntamente (se transcriben juntos).
- Sólo se encuentran en organismos procariotas
- Generalmente regulan procesos bioquímicos importantes

Componentes básicos de un operón:

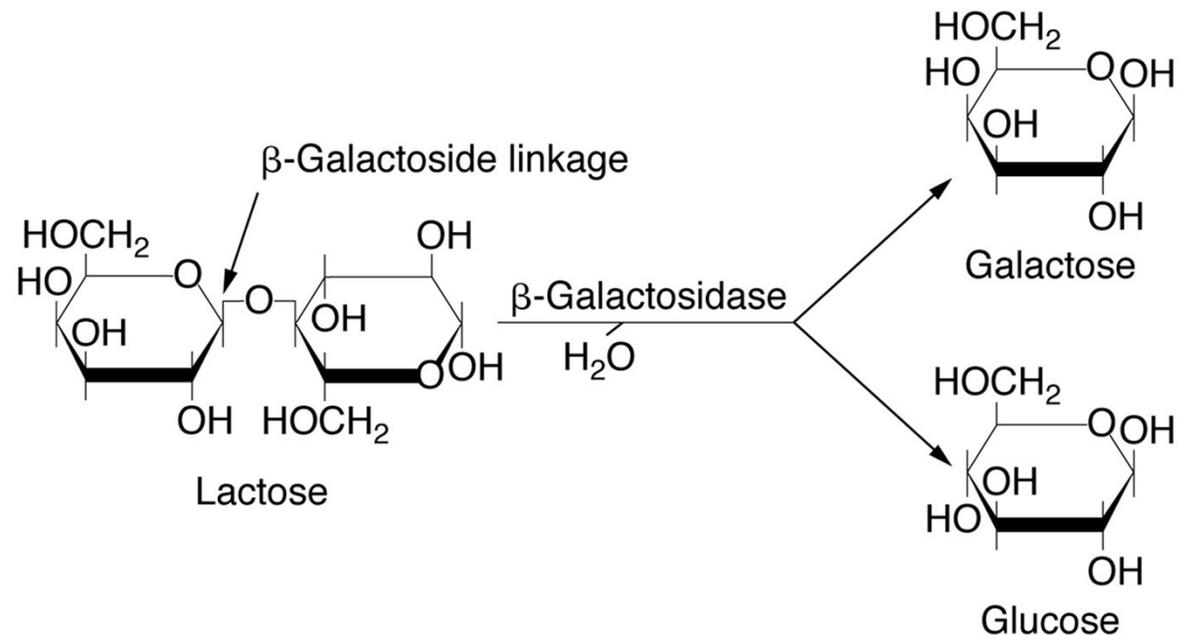
- gen regulador
- operador
- promotor
- genes estructurales (codifican para proteínas)



El operon *lac*

- El operon *lac* consiste en tres genes involucrados en el metabolismo de la lactosa
- Uno de ellos (*lacZ*) es el gen que codifica la enzima **β -galactosidasa**

• Esta enzima hidroliza la lactosa generando glucosa y galactosa.



Según el ambiente...

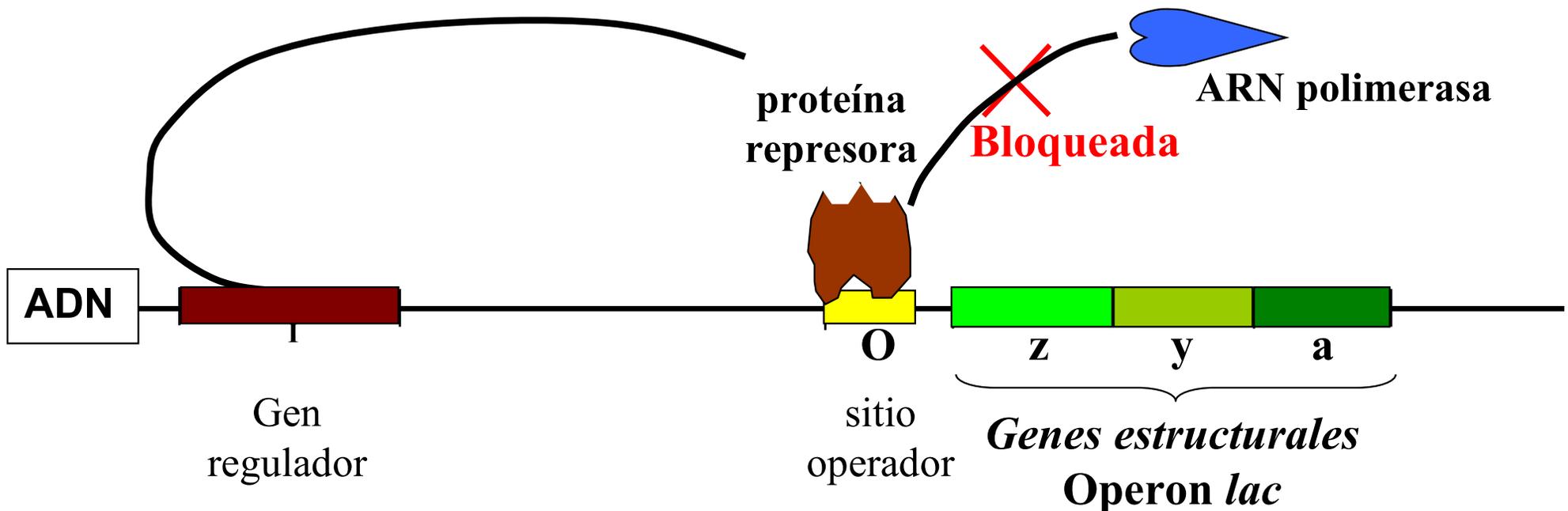
- *E. coli* puede usar glucosa, monosacárido, o lactosa, disacárido.
- Pero la lactosa necesita ser previamente hidrolizada.
- Por eso la bacteria prefiere la glucosa mientras esté presente.

Hay 4 situaciones posibles

1. Cuando hay glucosa **presente** en el medio y ausencia de lactosa *E. coli* **no** produce β -galactosidasa.
2. Cuando hay glucosa y lactosa **presentes** en el medio de cultivo *E. coli* **no** produce β -galactosidasa.
3. Cuando **no hay** glucosa ni lactosa en el medio de cultivo *E. coli* **no** produce β -galactosidasa.
4. Cuando **no hay** glucosa pero está **presente** la lactosa en el medio *E. coli* **produce** β -galactosidasa.

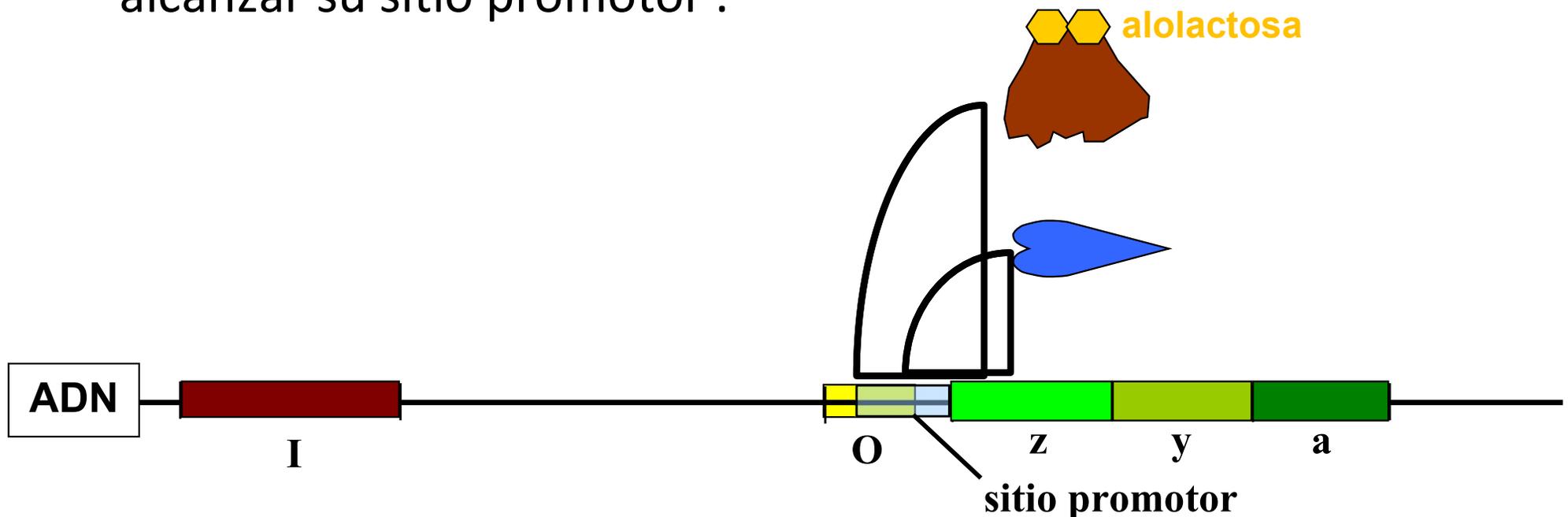
1. Cuando la lactosa esta ausente

- Se sintetiza continuamente la proteína represora. Esta se une a la secuencia de ADN llamada **Operador**, justo antes de los **genes estructurales del operon**.
- La proteína represora bloquea el promotor, por lo tanto, la ARN polimerasa no puede iniciar la transcripción.



2. Cuando la lactosa está presente

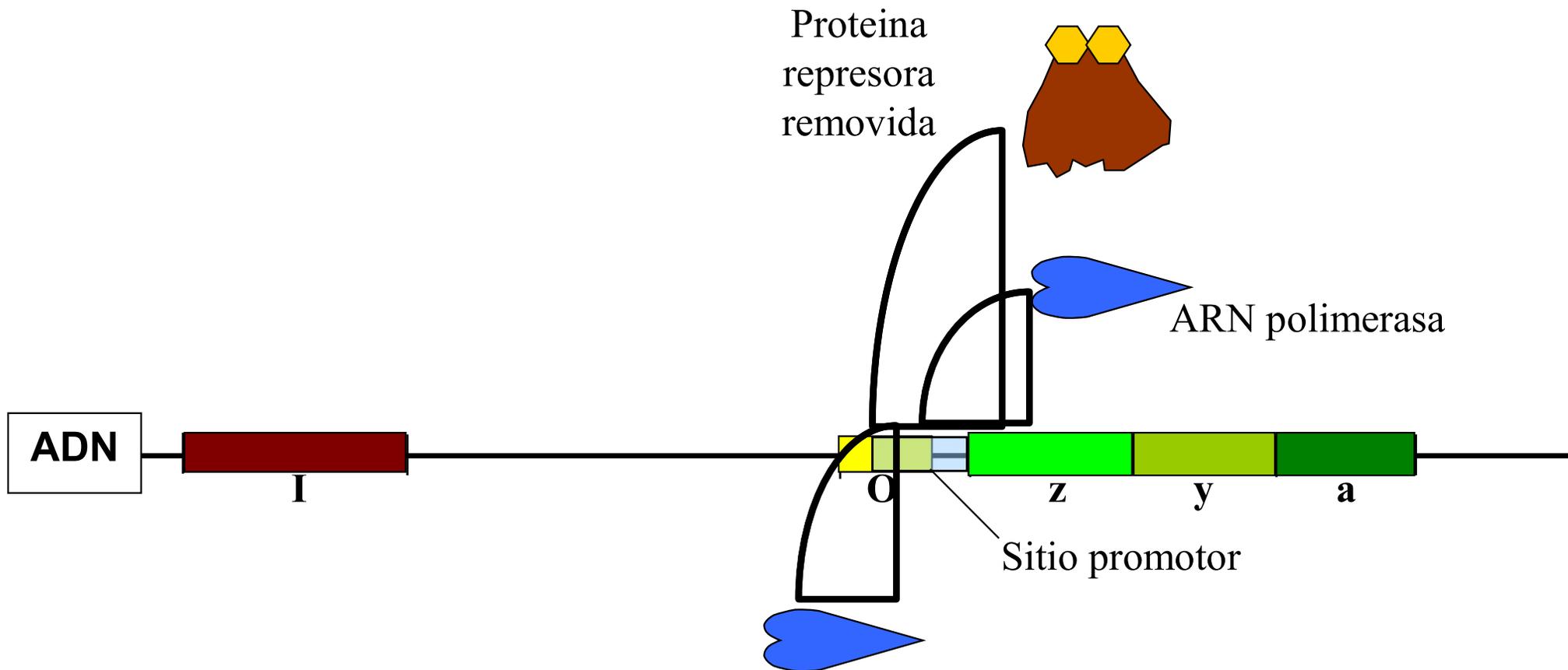
- Se forma una pequeña cantidad de alolactosa dentro de la célula bacteriana. La alolactosa se une a la proteína represora en un sitio alostérico.
- Esto hace que la proteína represora cambie su forma (un cambio conformacional). Ya no se puede unir en el sitio del operador y se suelta. La ARN polimerasa puede ahora alcanzar su sitio promotor.



3. Cuando hay presencia de glucosa y lactosa?

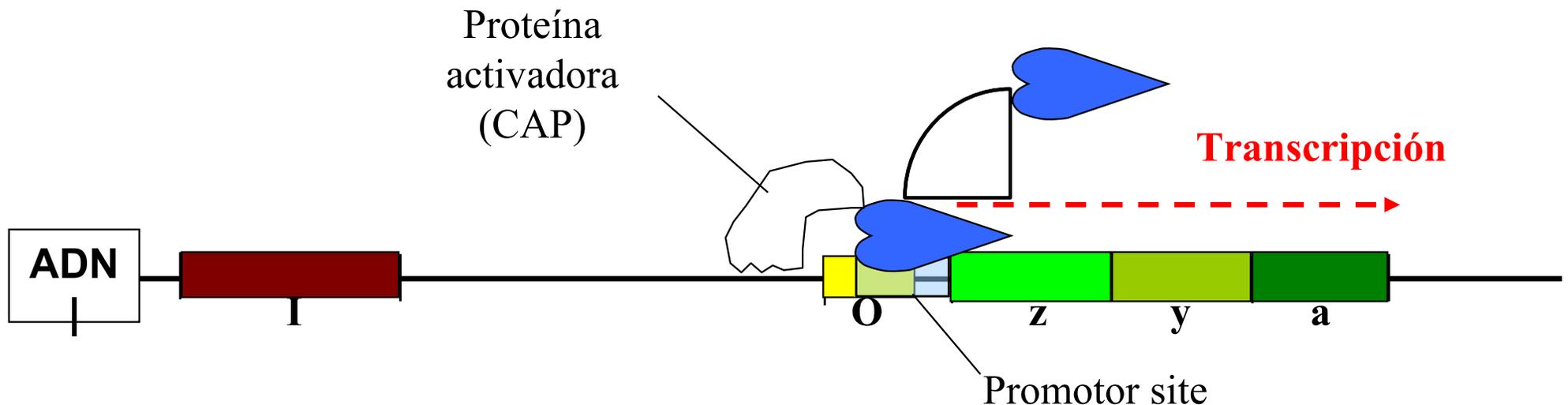
- Lo anterior explica cómo el operón lac está «desreprimido» cuando la lactosa está presente.
- Pero..... no explica por qué el operón no se transcribe cuando la glucosa y la lactosa están presentes.

- Cuando la glucosa y la lactosa están presentes la ARN polimerasa puede unirse al sitio promotor, pero de forma inestable, se suelta.



4. Cuando no hay glucosa pero la lactosa esta presente

- Es necesario otra proteína, una **proteína activadora (CAP)**. Ésta estabiliza a la ARN polimerasa.
- La proteína activadora sólo se produce en ausencia de glucosa. Esto se censa por aumento de cAMP, que une CAP.
- De esta manera, *E. coli* sólo genera enzimas para metabolizar otros azúcares en ausencia de glucosa



Resumen operon *lac*

Carbohidratos	Proteína activadora	Proteína represora	ARN polimerasa	Genes estructurales
+ GLUCOSA + LACTOSA	No se une al ADN	Se suelta del operador	Se suelta del promotor	No hay transcripción
+ GLUCOSA - LACTOSA	No se une al ADN	Se une al sitio operador	Bloqueada por el represor	No hay transcripción
- GLUCOSA - LACTOSA	Se une al ADN	Se une al sitio operador	Bloqueada por el represor	No hay transcripción
- GLUCOSA + LACTOSA	Se une al ADN	Se suelta del operador	Se une al promotor	Transcripción

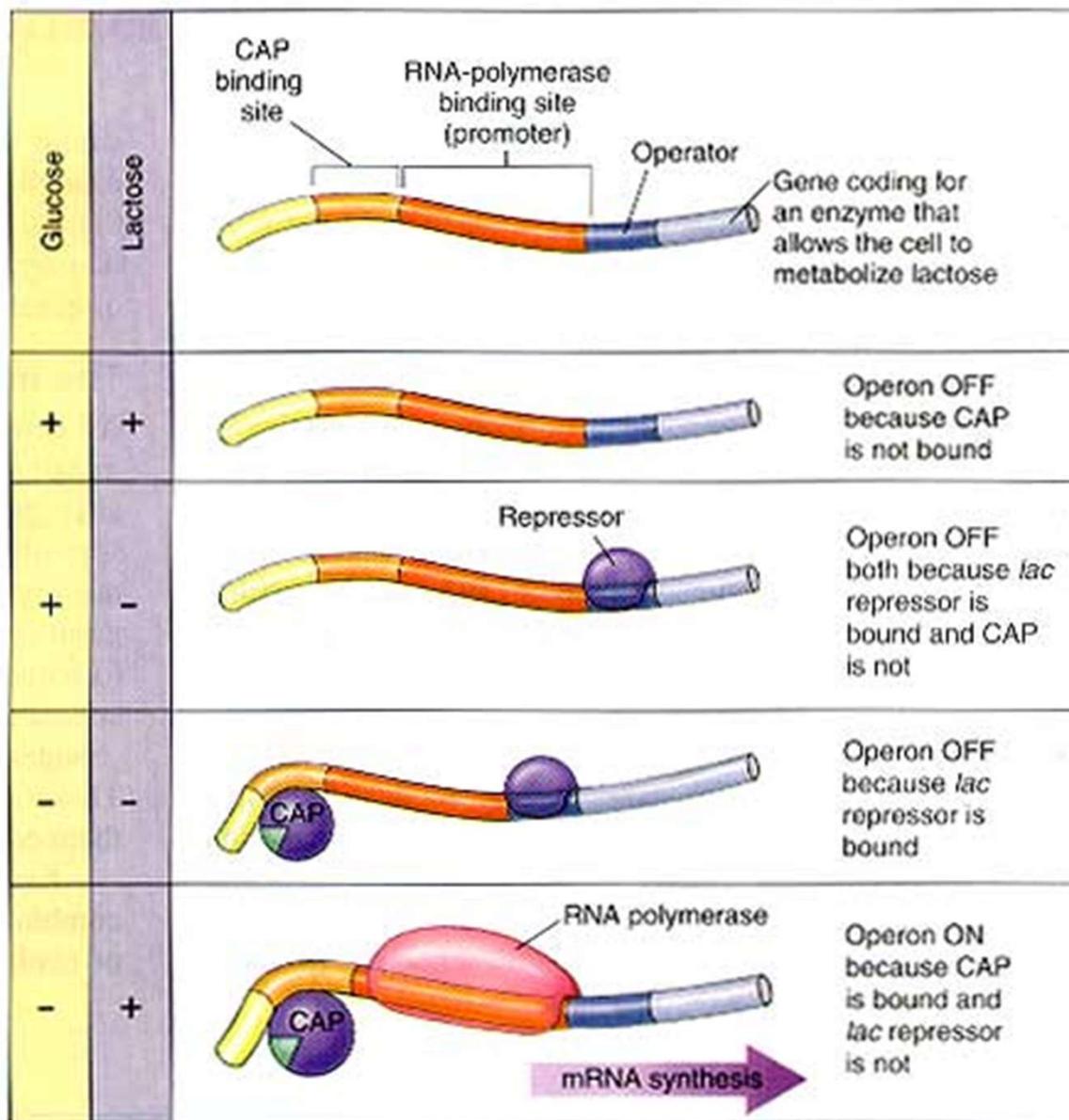


Figure **Activators and repressors at the *lac* operon.**

Together, the *lac* repressor and the activator called CAP provide a very sensitive response to the cell's need for and ability to use lactose-metabolizing enzymes.