



Universidad del sureste

Microbiología y parasitología I

Doc. Arriola Jiménez Enrique Eduardo

Trabajo de investigación

Ana luisa ortiz Rodríguez



Introducción

Este proyecto consiste sobre los mecanismos de transferencia genética, donde se explicará que es la conjugación, transducción, y transferencia, cuales son las funciones que desempeñan y las estrategias de uso que tiene cada uno de estos mecanismos.

Asimismo, el cambio que generan estos mecanismos genéticos para llevar a cabo sus funciones genéticas mediante cada uno de los pasos que serán mencionados en este proyecto.

Conjugación

La conjugación bacteriana es el proceso de transferencia de información genética desde una célula donadora a otra receptora, promovido por determinados tipos de plásmidos, y que requiere contactos directos entre ambas, con intervención de estructuras superficiales especializadas y de funciones específicas.

El descubrimiento de la transformación había revelado ya la existencia de recombinación genética entre porciones de genomioms bacterianos. En mitad de los años 40, la pregunta que se planteaba era: ¿existe algún tipo de recombinación bacteriana que suceda al estilo de la reproducción sexual de los eucariotas?

Se descubrió que ciertas bacterias presentan una forma de recombinación que recordaba en algunos rasgos a la sexualidad: un tipo de célula donadora (“macho”) donaba directamente parte de su material genético a otro tipo (la receptora, equivalente a la “hembra”), con ulterior recombinación entre ambos. A este fenómeno se le denominó **conjugación**, por su similitud aparente con lo que sucede en eucariotas. Sin embargo, como veremos enseguida, la conjugación no es una forma auténtica de sexualidad al estilo de los eucariotas.

Joshua Lederberg y Edward Tatum (1946) mezclaron dos cepas doblemente auxotrofas, dotadas de distintos marcadores genéticos:

Cepa "A" (Met ⁻ , Bio ⁻ , Thr ⁺ , Leu ⁺)		cepa "B" (Met ⁺ , Bio ⁺ , Thr ⁻ , Leu ⁻)	
Sembrar 2 · 10 ⁸ céls de "A"	Sembar 10 ⁸ céls de "A" + 10 ⁸ céls de "B"	Sembrar 2 · 10 ⁸ céls de "B"	
plaquear en medio mínimo e incubar varios días			
No crecimiento	Colonias prototrofas a una frecuencia de 10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶ , muy superior a la frecuencia esperada de doble reversión (10 ⁻¹⁴).	No crecimiento	
Estos prototrofos debían haber surgido por recombinación			

¿Qué proceso de transferencia genética había dado origen a los recombinantes?
Se descartó que fuera por transformación:

No había recombinantes si se usaban extractos libres de una cepa y se mezclaban con células enteras de la otra cepa.

Si en el experimento original se añadía DNasa, no cambiaban los resultados.

Se vio que se necesitaban contactos directos entre las células de las dos cepas, mediante el experimento del tubo en "U" de Davis: si en cada rama de la U se coloca una cepa distinta, y ambas están separadas físicamente (en la base de la U) por un filtro con poros de tamaño inferior al del diámetro de las bacterias, no aparecían recombinantes.

En ulteriores experimentos se comprobó que existían dos tipos de cepas de cara a la producción de recombinantes

cepas fértiles (F^+): aquellas que, al mezclarlas con otras, daban lugar a recombinantes;

Cepas infértiles (F^-).

Los cruces de tipo $F^+ \times F^-$ dan origen a recombinantes;

Los cruces de tipo $F^- \times F^-$ no dan origen a recombinantes.

Por otro lado, se observaron dos importantes propiedades de los cruces $F^+ \times F^-$:

El origen de ambos fenómenos estriba en la posesión, por parte de las células F^+ , del llamado "factor sexual o factor de fertilidad F", (que hoy sabemos que es un plásmido, pero tal extremo se desconocía aún en esa época). Por lo tanto, de alguna manera el factor F debía de tener la doble capacidad de transferirse con alta frecuencia (casi el 100%) a las células F^- , y de dar origen en ellas a recombinantes, pero con mucha menor frecuencia.

FISIOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA CONJUGACIÓN

Podemos distinguir en la conjugación dos grandes fases:

- 1) contactos entre células F^+ (o, en su caso, Hfr) y F^- ;
- 2) transferencia del ADN.

CONTACTOS ENTRE CÉLULAS F^+ Y F^-

Las células F^+ (o las Hfr) forman de 1 a 10 pelos sexuales (*repasar aquí lo que se dijo oportunamente en el que son distintos de las fimbrias de tipo adhesivo*). El pelo interacciona específicamente, a través de su punta, con un receptor de la célula F^- (concretamente, parece ser que se trata de la proteína OmpA, de la membrana externa).

En los cruces se ha visto que más que parejas de cruce existen **agregados de cruce**, donde varias células de ambos tipos (hasta unas 20) se encuentran relacionadas por contactos directos. Las cosas ocurren de la siguiente manera:

- 1) Una célula F^+ contacta por medio de la punta de su pelo F con el receptor de superficie de una F^- .
- 2) El pelo F se va despolimerizando desde su base, lo cual provoca la apariencia de que se va retrayendo. En ese movimiento de retracción, la célula F^- se va acercando a la F^+ .
- 3) Cuando el pelo se termina de desintegrar, las células se ponen en contacto directo pared-pared. Se forma un puente conjugativo que pone en contacto los citoplasmas de ambas células.
- 4) Las parejas o agregados de cruce se estabilizan por la acción de los genes *traN* y *traG* del plásmido F, y de *ompA* de la célula F^- .
- 5) La proteína producida por *traD* (localizada en ambas membranas, citoplásmica y externa) parece que facilita el transporte del ADN a la célula receptora.

- 6) Tras cierto tiempo de conjugación, el agregado se desagrega de forma activa.

TRANSFERENCIA Y PROCESAMIENTO DEL ADN CONJUGATIVO

La transferencia de ADN desde una célula F^+ a una F^- es un proceso especial de **replicación asimétrica por círculo rodante**.

La transferencia de ADN no implica que la doble hélice de F desaparezca del donador para aparecer en el receptor, sino que al final, ambos miembros de la pareja poseen un plásmido F completo.

REGULACION GENÉTICA DE LA CONJUGACION

La mayor parte de los plásmidos conjugativos (pero curiosamente **no el F**) tienen un control negativo de su transferencia, de modo que sólo se transfieren a alta frecuencia durante unas pocas generaciones, al cabo de las cuales se establece una baja frecuencia de conjugación.

SEXDUCCIÓN

La sexducción consiste en el transporte de material genético desde una célula a otra por medio de plásmidos F' . Sus caracteres distintivos respecto de los cruces $F^+ \times F^-$ y de los $Hfr \times F^-$

TIPOS DE PLÁSMIDOS

Existe una amplia variedad de plásmidos. Los plásmidos bacterianos son de muchos tipos distintos, pero a grandes rasgos podemos clasificarlos atendiendo a diversos caracteres:

- Según que sean autotransmisibles por conjugación o no:
 - plásmidos conjugativos
 - plásmidos no-conjugativos. Dentro de esta categoría se incluyen:
- plásmidos no movilizables
 - plásmidos movilizables por otros que sí son conjugativos.

TRANSDUCCION

Es un proceso mediante el cual el ADN es transferido desde una bacteria a otra mediante la acción de un virus. También se utiliza para designar al proceso mediante el cual ADN exógeno es introducido en una célula mediante un vector viral. Esta es una herramienta que usualmente utilizan los biólogos moleculares para introducir en forma controlada un gen extraño en el genoma de una célula receptora.

Cuando los bacteriófagos (virus que infectan bacterias) infectan una célula bacteriana, su modo normal de reproducción consiste en capturar y utilizar la maquinaria de replicación, transcripción, y traducción de la célula de la bacteria receptora para producir gran cantidad de viriones, o producir partículas virales, incluido el ADN o ARN viral y la cubierta de proteína.

Ciclos lítico y lisogénico

El proceso de transducción puede ocurrir tanto durante un ciclo lítico como durante un ciclo lisogénico.

El bacteriófago entra en Ciclo lisogénico cuando su genoma se integra en el cromosoma bacteriano, donde puede permanecer latente durante miles de generaciones. Si el lisógeno es inducido (por exposición a luz UV, por ejemplo) el genoma del fago se escinde del cromosoma bacteriano e inicia un ciclo lítico, que desemboca en la lisis de la célula y la liberación de las nuevas partículas víricas.

El ciclo virulento se denomina así porque la célula infectada por un virus muere por rotura (*lisis* en griego), al liberarse las nuevas copias virales. El ciclo lítico es el método de reproducción viral, este es usualmente el principal método de duplicación viral e involucra la destrucción de células infectadas. El ciclo consta de las siguientes fases:

- 1. Fase de adsorción o fijación: El virus se une a la célula hospedadora de forma estable. La unión es específica, ya que el virus reconoce

complejos moleculares de tipo proteico, proteico o proteico, presentes en las membranas celulares.

- 2. Fase de penetración o inyección: el ácido nucleico viral entra en la célula mediante una perforación que el virus realiza en la pared bacteriana.
- 3. Fase de eclipse: en esta fase no se observan copias del virus en la célula, pero se está produciendo la síntesis de ARN, es decir la duplicación y transcripción de ARN, necesario para generar las copias de proteínas de la cápsida. También se produce la continua formación de ácidos nucleicos virales y enzimas destructoras del ADN bacteriano.
- 4. Fase de ensamblaje: en esta fase se produce la unión de los capsómeros para formar la cápsida y el empaquetamiento del ácido nucleico viral dentro de ella.
- 5. Fase de lisis o ruptura: conlleva la muerte celular. Los viriones salen de la célula, mediante la rotura enzimática de la pared bacteriana. Estos nuevos virus se encuentran en situación de infectar una nueva célula.

El ciclo lisogénico se caracteriza por presentar dos fases iguales al del ciclo lítico, la fase de anclaje y la fase de penetración (el virus se pega a la pared de la bacteria o célula a partir de una serie de mecanismos de anclaje y penetra o introduce su ácido nucleico en el interior de dicha bacteria o célula). En la fase de eclipse, el ácido nucleico vírico (ADN bicatenario), se recombina con el ADN bacteriano y permanece inactivo. Esta forma viral se denomina prófago y la célula infectada se denomina célula lisogénica.¹

Esta célula se puede mantener así indefinidamente e incluso puede llegar a reproducirse. Un cambio en el medio celular, va a llevar consigo un cambio celular y con él, la liberación del prófago, convirtiéndose en un virus activo que continuará con el ciclo infeccioso o ciclo lítico (La fase de ensamblaje, en la que el virus se forma en su interior uniéndose la cápsula y el ácido nucleico, y la fase de liberación o lisis, en la que se libera el virus llevando consigo la destrucción celular).

El proceso de empaquetamiento del genoma del fago puede ser poco fiel y pequeños fragmentos del ADN bacteriano pueden ser empaquetados de forma accidental junto al genoma del bacteriófago. Al mismo tiempo, genes del fago pueden quedar en el cromosoma bacteriano; produciéndose una transferencia genética horizontal.

Transferencia genética

es el movimiento de material genético entre organismos unicelulares y/o pluricelulares, que no es a través de la transmisión vertical (la transmisión del ADN de padres a su descendencia

La TGH es sinónimo de transferencia genética lateral (TGL) y ambos términos son intercambiables. Este movimiento ha demostrado ser un factor importante en la evolución de muchos organismos.

a transferencia genética horizontal es la razón principal de que se propague en las bacterias la resistencia a los antibióticos y juega un papel importante en la evolución de bacterias que pueden degradar compuestos nuevos como los pesticidas creados por los humanos, y en la evolución, el mantenimiento y la transmisión de virulencia.

Esta transferencia genética horizontal normalmente involucra el uso de virus, plásmidos y transposones.

A su vez, los virus pueden recibir genes especiales de otros agentes más pequeños conocidos como virus satélite.

Los plásmidos y transposones pueden recibir genes especiales de los integrones que son casetes de genes con movilidad. Esto demuestra que hay movimiento masivo de genes inclusive entre las partículas vectoras.

Los genes que son responsables de la resistencia a antibióticos en una especie de bacteria pueden ser transferidos a otra especie a través de varios mecanismos (e.g. via F-pilus), subsecuentemente armando al recipiente de genes contra antibióticos, lo que se está convirtiendo en un reto médico.

Bibliografía

Bioquímica, las bases moleculares de la estructura y función celular, segunda edición, Albert L. Lehninger ediciones omega Barcelona

KLUG W.S., CUMMINGS M.R., SPENCER C.A., PALLADINO M.A. (2013)
Conceptos de genética. Pearson Education S.A

GENETICA HUMANA. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES EN MEDICINA 3a
Edición (2005). Solari A.J. Editorial: Panamericana