

# Genetica bacteriană

## GENERALITĂȚI

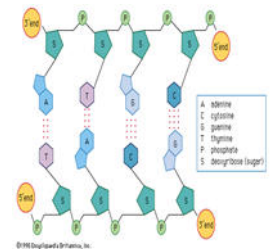
- **Ereditatea**
  - însușirea generală biologică a tuturor viețuitoarelor de a transmite caracterele specifice speciei la urmași
- **Variabilitatea**
  - apariția unor caractere diferite de cele ale genitorilor
  - interesează medicina în mod deosebit
    - dă naștere unor tulpini bacteriene noi:
      - virulente
      - rezistente la chimioterapice
      - se adaptează mai bine condițiilor de mediu
      - înlocuiesc bacteriile mai puțin adaptabile.

## SUPPORTUL EREDITĂȚII

- reprezentat de ADN
- se transmite la descendenți prin replicare și diviziune
- fără modificări genetice – toți descendenții bacteriei vor fi identici între ei și cu bacteria mamă
- modificarea materialului genetic prin
  - încorporarea unui fragment de material genetic exogen (recombinare genetică)
  - mutație spontană sau indusă – adăugarea, pierderea, substituirea sau inversarea ordinii unor baze

## ADN

- macromoleculă formată din 2 catene polinucleotidice antiparalele și complementare, răsucite în dublu helix
- catenele unite prin punți de hidrogen între bazele azotate opuse

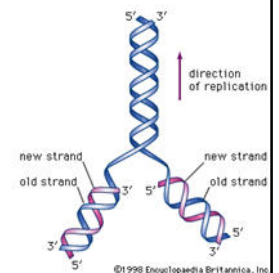


## funcțiile ADN ca material genetic:

- depozitarea informației genetice
- replicarea
- transcrierea și traducerea genetică
- protejarea materialului genetic propriu
- reglarea activității celulare
- controlul activității celulare

## replicarea ADN

- sinteza unor noi molecule, identice
- necesară unitatea de replicare independentă – REPLICON



## REPLICON

- moleculă de ADN bicatenară, circulară caracterizată prin:
  - o secvență nucleotidică specifică marcând începerea replicării
  - gene care codifică sinteza unor proteine specifice
  - o secvență nucleotidică semnal pentru terminarea replicării
  - exemple de repliconi: cromozomul și plasmidele bacteriene, genomul bacteriofagilor etc.

- **GENOM** – suma genelor unui organism
- **GENOTIP** – totalitatea informației genetice a unui organism
- **FENOTIP** – suma caracterelor observabile, specifice unui organism, produse de genotip în interacțiune cu mediul ambiant

## ORGANIZAREA GENOMULUI BACTERIAN

- 2 categorii de determinanți genetici:
  - genele esențiale localizate în structura cromozomului bacterian
  - genele accesorii extracromozomiale prezente în structura
    - plasmidelor
    - elementelor genetice transpozabile

## PLASMIDELE

- elemente genetice extracromozomiale
- capabile de replicare independentă de cromozom (replicon)
- conțin informație genetică neesențială pentru viața bacteriei
- pot exista:
  - indefinit numai în stare autonomă (libere în citoplasmă) – factor R, Col
  - alternativ în stare autonomă sau integrate în cromozomul celulei gazdă

## PLASMIDELE

- clasificare – după caracterele exprimate fenotipic – plasmide care codifică:
  - rezistența la agenți antibacterieni
  - sinteza unor agenți antimicrobieni
  - sinteza de hemolizine, enterotoxine, factori de colonizare etc. (patogenitate)
  - enzime ale unor căi metabolice particulare
  - plasmide criptice – nu se cunosc caracterele somatice exprimate

## *FACTORUL F*

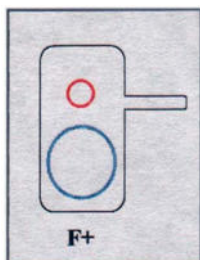
(factorul de sex, factorul de fertilitate)

- controlează capacitatea unor bacterii de a fi donatoare de material genetic
- codifică structurile (pilul „F”) și enzimele necesare transferului de ADN
- au caracter de „mascul” – donatoare de material genetic (factorul F')

### FACTORUL F

(factorul de sex, factorul de fertilitate)

- bacterii F<sup>-</sup> - fără factor F – celule „femele” – receptoare de material genetic
- bacterii F<sup>+</sup> - cu factor F autonom în citoplasmă – celule „masculine” – donatoare de material genetic

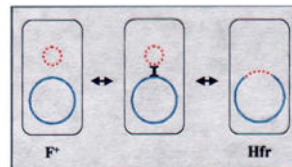


### FACTORUL F

(factorul de sex, factorul de fertilitate)

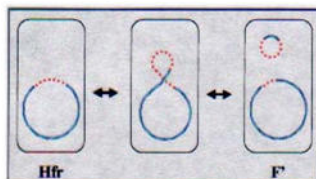
- bacterii Hfr (high frequency of recombination)

- au factor F integrat în cromozomul bacterian
- donatoare de material genetic cu mare frecvență de conjugare și recombinare;
- transferul unui număr variabil de gene cromozomale mai rar chiar transferul factorului F



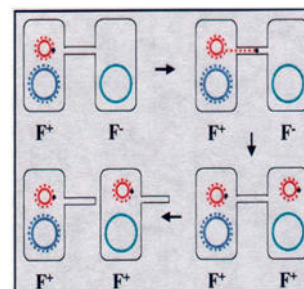
### FACTORUL F (factorul de sex, factorul de fertilitate)

- bacterii F'
- au o structură plasmidică de tip special = **factor de fertilitate recombinant**
- a fost anterior integrat într-un cromozom, s-a desprins încorporând unele gene cromozomale
- caracterul încrucișării F' cu F<sup>-</sup>
  - F<sup>-</sup> devine F'
  - F' rămâne F'



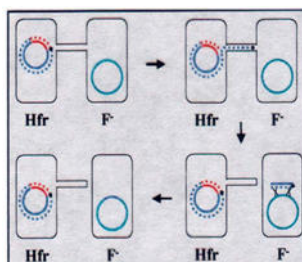
### Mecanism de transfer al materialului genetic între bacterii F<sup>+</sup> și F<sup>-</sup>

- realizarea de punți de conjugare
- transferul ADN
- caracterul încrucișării F<sup>+</sup> cu F<sup>-</sup>
  - F<sup>-</sup> devine F<sup>+</sup>
  - F<sup>+</sup> rămâne F<sup>+</sup>



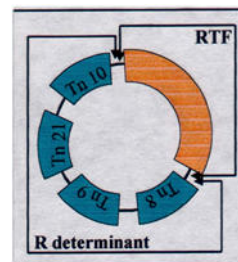
### Mecanismul de transfer al materialului genetic între bacterii Hfr și F<sup>-</sup>

- realizarea de punți de conjugare
- transferul ADN
- recombinare homologă
- caracterul încrucișării Hfr cu F<sup>-</sup>
  - F<sup>-</sup> rar devine Hfr
  - Hfr rămâne Hfr



### PLASMIDELE R (de rezistență la antibiotice)

- conferă rezistență simultan la 1-8 antibiotice
- alcătuite din:
  - gene de rezistență – determinant de rezistență = r
  - gene care formează „factor de transfer al rezistenței” RTF
- RTF – plasmid de conjugare
  - transfer de gene



## PLASMIDELE „Col”

- codifică proprietatea unor bacterii de a sintetiza **bacteriocine**
- sunt transferabile de la tulpinile Col+ la cele Col- prin:
  - transformare genetică
  - transducție fagică
  - conjugare

## ELEMENTE GENETICE TRANSDUZIBILE

- secvență specifică de ADN care își menține integritatea fizică, structurală, genetică, funcțională în cursul translocăției de la o poziție la alta pe același genom sau pe genomuri diferite
- 3 categorii:
  - secvențe de inserție IS
  - transpozoni Tn
  - bacteriofagi

## Secvențele de inserție

- nu au nici o genă și nici o altă funcție în afară de cea de inserție
- după inserția lor pot apare :
  - modificări în expresia unor gene
  - modificări în rata incidenței delețiilor în zonele adiacente situsului lor de inserție



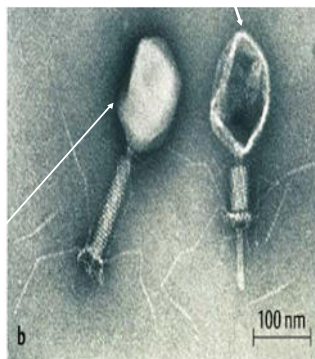
## Transpozoni

- poartă gene care conferă bacteriei funcții noi:
  - rezistența la antibiotice
  - capacitatea de sinteză a unor enzime
  - producere de enterotoxine
  - sinteza antigenelor bacteriene de suprafață etc.



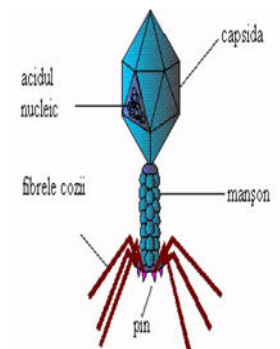
## Bacteriofagi

- virusuri care parazitează bacteriile
- se cunosc 6 grupe morfologice de bacteriofagi
- cei mai bine studiați - bacteriofagii T ai bacilului coli.



## Bacteriofagi

- formați din
  - **cap hexagonal**
  - alcătuit dintr-un înveliș proteic caracteristic virusurilor (*capsida*)
  - adăposteste acidul nucleic
  - **un gât**
  - prelungire numită **picior (coadă)**
    - cilindru rigid învelit într-un manșon proteic asemănător miozinei
    - se termină cu o placă hexagonală ce conține o enzimă de tipul lizozimului.
    - de placa bazală se prind 6 fibre cu rol în fixarea bacteriofagului pe suprafața bacteriei.



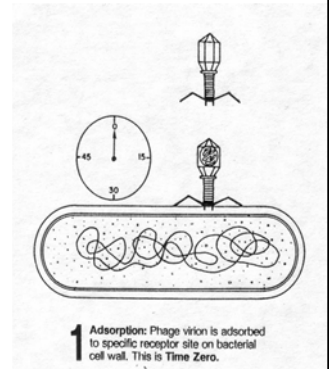
## Replicarea bacteriofagului

– **CICLUL LITIC** al bacteriofagilor → **fagi virulenți**

- atașare
- contracție manșon
- pătrundere acid nucleic în celulă
- sinteza componentei fagici
- asamblare
- ieșire din celulă

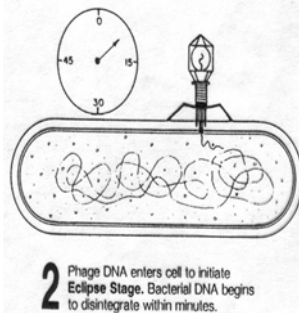
## Ciclul replicativ al bacteriofagului

- **Atașarea** bacteriofagului pe suprafața peretelui bacterian
  - prin receptori de perete, specifici.
  - Această specificitate este de tip enzimatic - stă la baza lizotipiei



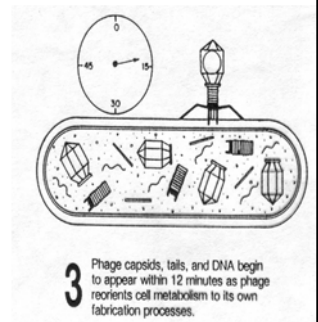
## Ciclul replicativ al bacteriofagului

- **Contractia** manșonului proteic
  - bacteriofagul își injectează numai ADN în celula bacteriană



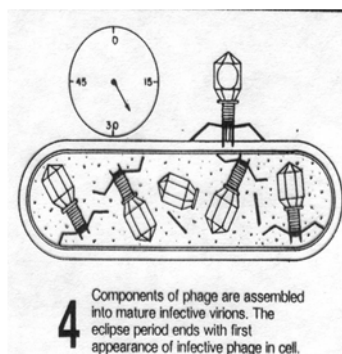
## Ciclul replicativ al bacteriofagului

- genomul fagic va determina **sinteza de noi bacteriofagi** identici cu cel de la care a provenit ADN
  - ADN se replică prin replicare semiconservativă
  - ribozomii bacterieni vor sintetiza proteinele capsidale și ale cozii.



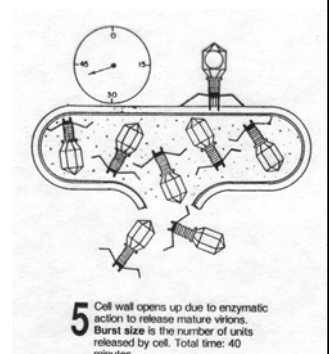
## Ciclul replicativ al bacteriofagului

- **Asamblarea** noilor bacteriofagi



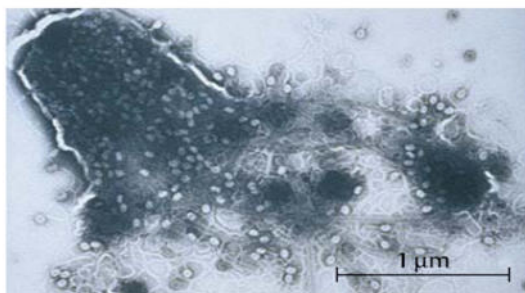
## Ciclul replicativ al bacteriofagului

- **Ieșirea**
  - vor părăsi celula bacteriană care se lizează



## Lizogenie

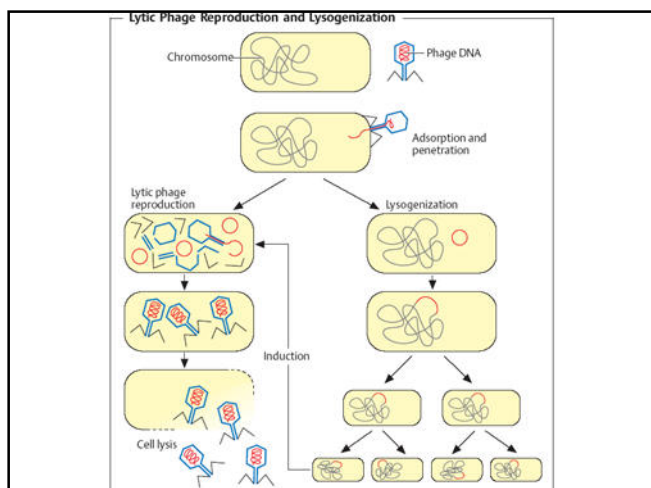
### Release of Phages from the Host Cell



## Replicarea bacteriofagului

– **CICLUL LIZOGEN** al bacteriofagilor → **fagi temperați**

- uneori genomul bacteriofagului se va integra în cromozomul bacterian încadrându-se și funcțional în acesta.
- el nu se mai replică decât în același timp cu cromozomul bacterian, deci în timpul diviziunii bacteriene și se numește **profag**



## consecințele lizogeniei pentru bacterie

- bacteria lizogenizată este imună la infecția cu același bacteriofag, dar nu pentru alți bacteriofagi
- profagul codifică el însuși unele caractere pe care le dobândește astfel bacteria lizogenă.
  - exemplu clasic în acest sens este toxigenza la bacilul difteric care este codificată de un profag ce se află în cromozomul bacterian.
  - Tulpinile de bacili difterici care nu sunt lizogenizate de acest profag, nu sunt capabile să secrete toxina și sunt, deci nepatogene,
- transducția, mecanism de transfer genetic de la o bacterie la alta, mediată de bacteriofagi

## Importanța practică a bacteriofagilor

### • Cercetări biologice

– utilizați ca model în studiul proceselor biologice fundamentale:

- replicarea ADN
- funcțiile genelor
- morfogeneza virală

### • Studii de inginerie genetică

– vectori pentru clonare genetică  
– adjuvanți în procesele de secvențare

## Importanța practică a bacteriofagilor

### • Terapie și prevenție

– administrarea unei mixturi de bacteriofagi pentru tratarea și prevenirea infecțiilor intestinale

- concept vechi, azi studiat cu atenție
- animale – fagi care atacă doar EHEC

## Importanța practică a bacteriofagilor

### • Epidemiologie

- tipizare bacteriană – LIZOTIPIE
  - LIZOTIP = FAGOVAR
- în epidemii – identificarea sursei de infecție, căii de transmitere
- pentru
  - Salmonella Typhi
  - Salmonella Paratyphi
  - Staphylococcus aureus
  - Pseudomonas aeruginosa etc.

## Recombinarea secvențelor de ADN

- Indiferent care este mecanismul prin care are loc transferul sau transpoziția de material genetic inserarea ADN la noul sediu are loc prin recombinare
- recombinare = formarea de noi combinații genetice într-un genom
  - se poate petrece prin
    - schimb de segmente homologe
    - integrare suplimentară de ADN

## Recombinarea secvențelor de ADN

- **Recombinarea legitimă sau homologă**
  - are loc atunci când un fragment de ADN provenit de la celula donoare, sau chiar din altă moleculă de ADN se inseră într-o regiune a ADN receptor ce se aseamănă din punct de vedere chimic cu cea a ADN-ului donor, deci prezintă o homologie de baze
  - este întâlnită în transformare
  - în unele forme de transducție și conjugare
  - implicate mai multe enzime dintre care recA-proteina și recBC nucleaza → recombinarea legitimă se mai numește recA-dependență
- **Recombinarea nelegitimă sau heterologă**
  - constă în integrarea de ADN suplimentar într-un replicon
  - este recA-independentă
  - exemple de recombinare heterologă sunt
    - integrarea plasmidului F
    - integrarea unor profagi în cromozom
    - transpoziția elementelor genetice mobile

## Recombinarea secvențelor de ADN

- formă deosebită de recombinare nelegitimă genetică in vitro → CLONAREA GENELOR
  - plasmidele ușor transmisibile de la o bacterie la alta sunt folosite frecvent ca vectori pentru transferul și clonarea de material genetic
    - de la o bacterie la alta
    - între organisme foarte îndepărtate din punct de vedere filogenetic
  - Prin această tehnică se introduc în genomul bacterian gene care codifică sinteza unor substanțe a căror obținere pe cale chimică ar fi fie imposibilă, fie foarte costisitoare: interferoni, insulină, STH etc.
  - Bacteria preferată a ingineriei genetice - Escherichia coli

## VARIABILITATEA BACTERIANĂ

- modificarea comportamentului celulei bacteriene sau a descendenților ei
- variante:
  - VARIABILITATE FENOTIPICĂ
    - modificări morfologice sau fiziologice de tip adaptativ;
    - nu se transmit ereditar;
    - genomul nu este afectat
  - VARIABILITATE GENOTIPICĂ
    - modificări definitive ale materialului genetic
    - se transmit descendenților

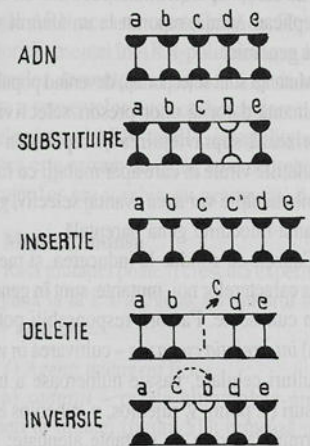
## MECANISMELE VARIAȚIEI GENOTIPICE

- mutație
- transfer genetic + recombinare genetică

## MUTAȚIA

- modificare accidentală în secvența nucleotidică a unei gene → modificări ale mesajului genetic
- apar prin:
  - substituții la nivelul materialului genetic
  - inversii
  - inserții
  - deleții

## MUTAȚIA



## MUTAȚIA

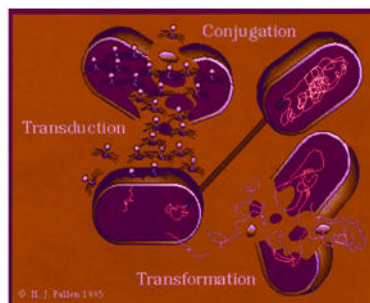
- mutația spontană:
  - apare în condiții de mediu obișnuite, fără intervenția unui factor decelabil
- mutația indusă:
  - se produce sub acțiunea unor factori fizici sau chimici = factori mutageni
- mutația punctiformă:
  - alterarea unui singur nucleotid, a unui singur codon

## MUTAȚIA

- mutația extinsă:
  - afectează secvențe mai mari ale uneia sau mai multor gene, alterările depășind limitele unui codon
- mutația regresivă (retromutație):
  - afectează celule mutante; determină revenirea acestora la tipul inițial restabilind secvența nucleotidică originară
- mutații supresoare:
  - permit exprimarea funcției anterioare a genei deși persistă o modificare a secvenței bazelor nucleotidice

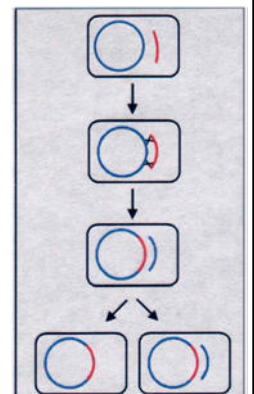
## MECANISME DE TRANSFER ALE MATERIALULUI GENETIC

- transformare
- transfer mediat de bacteriofagi (transducția, conversia lizogenică)
- conjugare



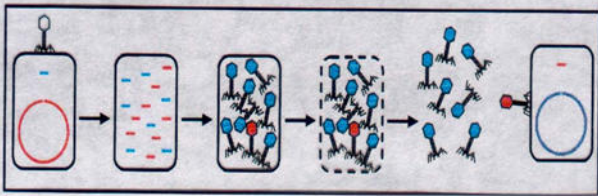
## TRANSFORMAREA

- bacteria acceptă ADN liber de la o altă bacterie donor sau din alte surse
- 1928 – Griffith – experiențe referitoare la virulența pneumococilor față de șoarecele alb
- ADN – pătrunde în celulă
- Recombinare genetică – înlocuirea unei secvențe nucleotidice omologe
- Dobândirea unui caracter genetic nou



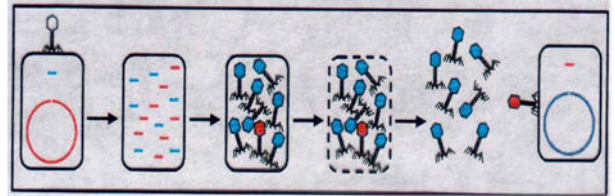
## TRANSDUCȚIA

- transferul unui fragment genetic cromozomal sau extracromozomal prin intermediul unui bacteriofag
  - bacteriofagul = transductor
  - bacteria receptoare = transductant

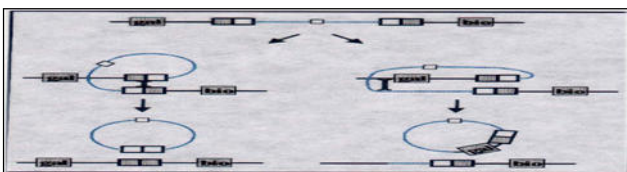


## TRANSDUCȚIA

- infecția donorului
- replicarea fagului și degradarea ADN-ului celulei gazdă
- asamblarea particulelor fagice
- eliberarea fagilor
- infecția receptorului
- recombinare



## TRANSDUCȚIA



## Conjugarea

- transferul de material genetic de la o bacterie donoare la una receptoare printr-un proces de împerechere, ce se realizează prin contactul direct dintre cele două celule.
- se pot transmite
  - plasmide
  - gene cromozomiale (prin intermediul factorului F<sup>+</sup>)

## CONJUGAREA

- **legarea** a 2 celule prin pili de sex
- **conjugare efectivă:**
  - punte specifică de conjugare donor - acceptor
- **transfer:**
  - endonucleaza clivează o catenă a ADN circular d.c. într-un punct specific
  - transferul catenei în celula receptor
- **sinteza:**
  - pe ambele catene de ADN (rămasă și transferată) se sintetizează prin complementaritate structura dublu-catenară
- celula receptor = **transconjugant**

