

Terça-feira, 19 de setembro de 2006.

**Genética Bacteriana – Prof. Moisés. SLIDES foram fornecidos pelo professor.**

### **Importância do estudo da genética bacteriana:**

- Desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de biologia molecular;
- Epidemiologia molecular: associação da epidemiologia clássica e biologia molecular. A biologia molecular permite caracterizar surtos (bacterianos e virais): por exemplo, numa enfermaria pode ter havido um surto e a tipagem molecular permite a identificação da bactéria causadora e a associação a alguém que tenha tido a enfermidade e que seja a possível fonte de contaminação. Caso índice: é o indivíduo que gerou o surto, é a fonte da doença.
- Taxonomia e filogenia bacteriana: bactérias que eram classificadas dentro do mesmo gênero/espécie foram subdivididas graças a estudos de genética bacteriana.
- Estudos sobre virulência bacteriana: a bactéria da difteria destituída da capacidade de produzir toxinas não é patogênica. Acessando a genética microbiana é possível também a identificação do conjunto de genes relacionados com fatores de virulência como a produção de toxinas e os mecanismos de escape. A partir do conhecimento dos mecanismos de ataque é possível a criação de vacinas/drogas para impedir o ataque do microrganismo.

Patogenicidade: capacidade que a bactéria tem de causar doença.

Virulência: o grau que a bactéria tem de causar doença.

- Diagnóstico laboratorial: permite a identificação do agente etiológico.
- Avaliação de genes associados à resistência a antimicrobianos: por mutações bactérias sensíveis a antimicrobianos podem ficar resistentes a essas drogas. Outros fármacos só são ativos após serem modificados por enzimas bacterianas: após desenvolvimento de resistência, a enzima bacteriana modifica-se e não há mais ativação da droga antimicrobiana.

### **Elementos celulares envolvidos na genética bacteriana:**

Constituintes importantes do ponto de vista genético:

- 1 cromossomo circular único altamente compactado;
- Polissomos: organização dos ribossomos. Responsáveis pela tradução dos nucleotídeos em aminoácidos.
- Plasmídeos: presentes somente em algumas bactérias. São cromossomos circulares que são encontrados separados do cromossomo principal. Pode haver de 1 a 20 plasmídeos na célula. Não são presentes na maioria das bactérias. Alguns plasmídeos podem codificar pilus relacionados com o processo de conjugação.
- Mesossomo: invaginação na parede lateral da célula durante a divisão.

**Genoma:** é extremamente simples e funcional (quantidade pequena de DNA, mas extremamente funcional por que a maioria dos genes possui alguma função).

### **Funções:**

- Capacidade de replicação e transmissão das moléculas hereditárias durante a divisão celular.
- Garantir variabilidade genética.
- Ex.:

H. influenzae:

2 milhões de pares de bases.

1.743 genes.

17% - produção de proteínas.

12% - transporte.

10% - produção de energia.

8% - envoltório celular.

40% - irreconhecíveis.

### **Genoma procariotos:**

- Mais simples que genomas eucarióticos;
- Ausência de um complemento diplóide de genes;
- Sequências de DNA redundantes são mínimas ou ausentes;
- Colinearidade dos genes com seus produtos protéicos: genes que codificam a parede celular, por exemplo, estão próximos e vão ser controlados pelo mesmo operon.

- Tendência de apresentar genes codificados em função relacionadas em operons;
- Ocorrência, com frequência, aproximadamente igual de seqüências codificantes em ambas as fitas de DNA;
- Existência de unidades genéticas acessórias (plasmídeos, bacteriófagos - vírus que transferem material genético para a bactéria - e elementos transponíveis).

### **DNA bacteriano:**

- Macromoléculas em forma de uma dupla fita circular com o comprimento de cerca de 1,1 mm, medindo de 1 a 2 um de comprimento.
- DNA superempacotado em torno do eixo central (supercoiled), enrolado em sentido anti-horário.

**Genes:** segmento de DNA que contém seqüência de nucleotídeos para sintetizar uma determinada proteína. Códon é a seqüência de três nucleotídeos associados à codificação de um aminoácido específico.

### **Operons:**

As bactérias possuem capacidade de organizar os genes em operons.

Operon: unidade de expressão gênica, incluindo **genes estruturais** e elementos que contribuem para sua expressão (**1 operador** e **1 promotor**).

Genes estruturais: contêm seqüências de nucleotídeos que vão dar origem aos aminoácidos da proteína.

Promotor: é responsável por dar início ao processo de transcrição do RNA. Local de ligação da RNA polimerase.

Operador: é o elemento do DNA que regula se a polimerase pode ou não transcrever o RNA. Por exemplo, se há muito substrato na célula há bloqueio na síntese desse substrato. Age como um controlador.

**Mapa genômico:** feito de tal forma a reproduzir um relógio.

50 operons na E. coli.

Transcrição:

- 27 no sentido horário;
- 23 no sentido anti-horário.

Essa transcrição ocorre em sentidos opostos para evitar choque.

### **Elementos genéticos móveis (unidade genéticas acessórias):**

Algumas bactérias possuem ou podem estar associadas a elementos genéticos relacionados à recombinação genética.

#### **A) Plasmídeos:**

São dispensáveis à sobrevivência da célula. Mas, podem conter genes que codificam vantagens seletivas à bactéria. Ex. alguns genes podem codificar resistência à ampicilina.

- São elementos extracomossomais com capacidade de multiplicação autônoma, constituídos por uma molécula de DNA fita dupla circular ou lineares.
- Tamanho: 2 a 50 kb.
- Possuem uma origem de replicação análoga a Ori C cromossomal, pode ser uni ou bidirecional.
- Plasmídeos pequenos: presentes em várias cópias por organismo.
- Plasmídeos grandes: geralmente 1 cópia por organismo.

#### **Funções:**

- Produção de toxinas;
- Produção de pilinas e outras adesinas;
- Resistência a agentes antimicrobianos;
- Produção de bacteriocinas;
- Resistência a metais pesados;
- Fatores de virulência.

#### **São de dois tipos:**

- Conjugativos: apresentam propriedade de fertilidade.
- Não-conjugativos: não conseguem efetuar a própria transferência.

As bactérias podem conter tipos de plasmídeos diferentes.

Ex. E. coli – 1 ou 2 plasmídeos conjugativos/ cromossomo e 10 a 15 plasmídeos não conjugativos.

**Plasmídeo R:**

- Plasmídeo que informa para síntese de enzima que inativa antibiótico. Garante resistência a antimicrobianos.
- Os plasmídeos R tem 2 componentes:
  - + Determinante de resistência;
  - + Fator de transferência de resistência (RTF) que contém informação para formação do pílus.

**Plasmídeo Col:**

- Relacionado a produção de colicinas pelas E. coli: produção de toxinas que impedem a proliferação de outras bactérias que não possuem o Plasmídeo Col., no intestino.

**B) Bacteriófagos:****C) Elementos genéticos transponíveis ou transposons:**

- Segmentos móveis de DNA em bactérias que são movimentados (transpostos) em baixa frequência no cromossomo (10 a menos 7 por geração).
- Transposição de elementos móveis, permite o processo de intercâmbio de DNA, um tipo de recombinação (uma espécie de crossing over bacteriano).
- Transposons de bactérias possuem genes facilmente identificáveis.
- Genes de resistência a antibióticos são comuns:
  - + São designados TN além da marca, ex. Tn1 amp.
  - + Quando não é reconhecida a marca são designadas seqüências de inserção (IS).
- Muitos são flanqueados por seqüências de inserção (IS) – 800 a 1400 pb.
- O extremo das IS possuem características comuns a todos: seqüências curtas invertidas

**Funções: LIVRO E SLIDE DO PROFESSOR.****Dois tipos de transposons: LIVRO E SLIDE DO PROFESSOR.**

- Classe I: tem um marcador genético não para transposição flanquado por duas cópias de IS.
- Classe I:

**D) Mutação:** associada a modificações fenotípicas.

- Alterações na estrutura química ou física do DNA. Podem ser ocasionadas por agentes químicos ou físicos chamados mutágenos ou agentes genotóxicos.
  - De acordo com o agente as mutações podem ser espontâneas ou induzidas:
    - + Induzidas: são produtos de uma ação deliberada na qual o organismo é exposto à ação de um agente genotóxico.
    - + Espontâneas: podem ser causadas por erros durante a replicação do DNA ou pela exposição do organismo a influências extracelulares do meio ambiente. São raras –  $1 \times 10^{-9}$  a  $1 \times 10^{-12}$  por geração para cada gene particular.
  - Hot spots: regiões do DNA mais sensíveis à aparição de um evento mutacional.
- Existem poucas drogas para tratamento da tuberculose (5 aproximadamente). A principal é a Isoniazida e mutações pontuais nessa micobactéria são capazes de garantir resistência ao antimicrobicida.

**E) Recombinação:**

- Processos que produzem rearranjos entre os genes ou parte deles, mediados por genes recombinantes.
  - Enquanto a mutação garante a variabilidade genética, a recombinação assegura que diferentes combinações de genes sejam possíveis.
- Podem ser de 2 tipos:
- Homóloga: ocorre entre moléculas homólogas (entre centenas de pares de base de uma região do DNA) e depende da proteína RecA e ATP.
  - Sítio específica: é independente da proteína RecA e requer somente homologia entre as moléculas participantes do DNA (10 a 40 PB).

**Mecanismos que permitem a recombinação:**

- Transformação:

Existem 2 tipos de *Streptococcus* em relação à constituição externa de parede:

- Cepa rugosa: quando observadas ao microscópio não apresentam envoltório. Não virulenta.
- Cepa lisa: quando observadas ao microscópio apresentam envoltório. É virulenta e causa pneumonia.

Mistura de bactérias lisas mortas (virulentas) com bactérias rugosas vivas produzem morte no animal ao serem nele inoculadas.

Explicação: a bactéria lisa sofreu lise e seu DNA foi degradado indo para o meio externo. Com auxílio de uma série de endonucleases esse DNA se integrou ao DNA da célula receptora e no caso do exemplo permitiu que a bactéria rugosa produzisse cápsula e se tornasse virulenta.

#### - **Transdução:**

Processo de transferência de DNA bacteriano por meio de um fago.

2 tipos de transdução:

- Ciclo lítico:

- + Aderência do fago à parede bacteriana;
- + Injeção do DNA no citoplasma bacteriano;
- + Transcrição dos genes virais;
- + Tradução destas mensagens;
- + Replicação do DNA do fago;
- + Montagem dos capsídeos;
- + Lise da célula hospedeira;
- + Liberação de partículas virais;

- Ciclo lisogênico:

- + Aderência/injeção do DNA/transcrição dos genes/tradução de mensagens;
- + Integração do fago ao cromossomo hospedeiro;
- + Fago integrado não tem replicação autônoma;
- + Não produz lise de bactérias e nem liberação de partículas virais;
- + O genoma viral integrado e inativo é denominado profago;
- + Células hospedeiras são chamadas lisogênicas.

#### - **Conjugação:**

O plasmídeo sintetiza o pilus F (de fertilidade) ou pilus sexual que estabelece contato com a célula receptora. Há então transferência do plasmídeo de uma célula para outra. A célula que contém o plasmídeo é chamada de célula macho e a que não o contém é chamada de célula fêmea.