

2. Bakterioen genetika.

Aldakortasun genetikoaren mekanismoak

Bakterioen informazioa, kromosoma eta plasmidoen erreplikazio erdi kontserbakorraren bidez, aldatu gabe belaunaldiz belaunaldi heredatuko balitz, bakterio guztiak berdinak izango lirатеke. Prokarioto aitzindaritik datozen milaka bakterio espezie desberdin egoteak bakterioen informazioan **aldaketak sartzeko mekanismoak** egon behar direlako seinalea da. Gainera, inguru naturaletan gertatzen diren aldaketei moldatzeko bakterio populazio baten gaitasunak eta, ondorioz, bizirik irauteko aukerak, erlazio zuzena du populazioan dagoen aldakortasun genetikoarekin.

Oro har informazio genetikoak aldarazteko bi mekanismo daude, **mutazioak** eta **birkonbinaketak**. Azken honek zelula desberdinen DNAa zitoplasma berean egotea eskatzen du eta bi motatakoa izan daiteke: lehena birkonbinaketa **homologoa** da, hau da, oso antzekoak diren DNA molekulen arteko geneen elkartrukea. Bigarrena **transposizioa** da, DNA molekula baten zatiak beste DNA molekulan puntu edo xede askotan integratzea, DNA sekuentzien arteko homologiarik egon gabe.

Mutazioak

Mutazioak bakterioen fenotipoetan eragina izan dezaketen **DNA molekulen puntu bateko aldaketa heredagarriak** dira. Batzuk baseen **ordezkapenak** dira eta beste batzuk DNA sekuentziako baseen **delekzioak** edo **gehiketak**. Normalean DNAa erreplikatzeko gertatzen diren akatsen ondorioak dira, eta **berez gertatzeko probabilitatea oso txikia** izan arren, bakterioen belaunaldi-denbora laburrak eta populazio handiak kontuan harturik, eragin handia izan dezakete bakterio populazioen aldakortasun genetikoan.

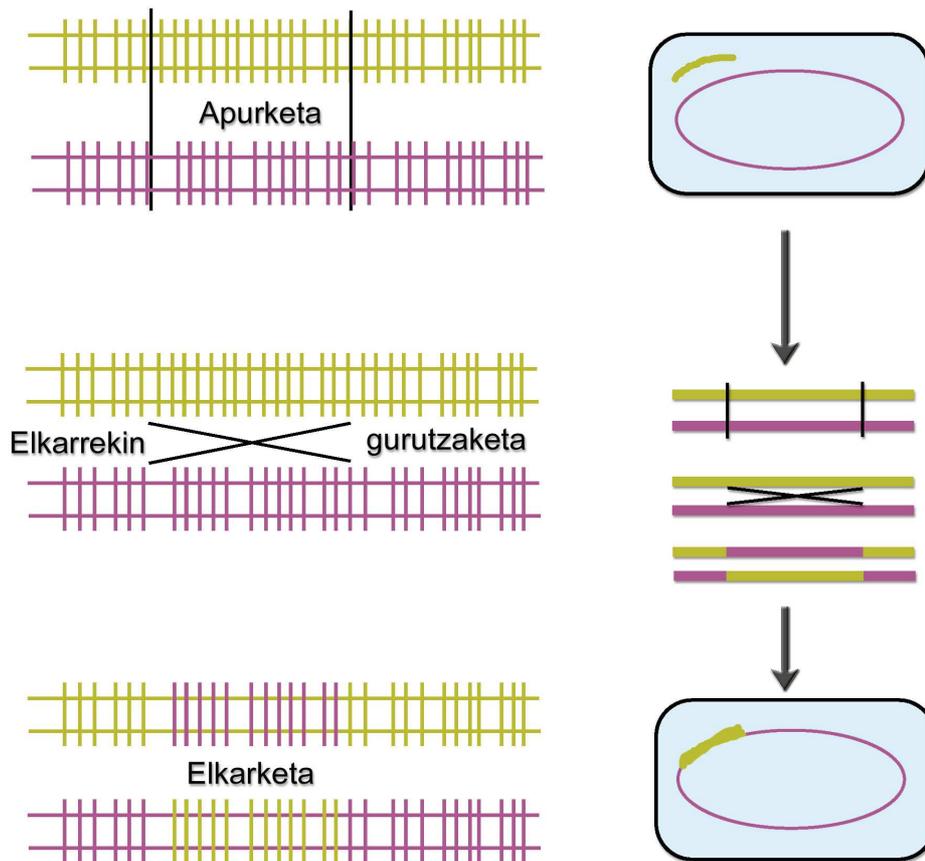
Inguruko faktoreek eta ezaugarri genetiko batzuek berezko mutazio tasa igo dezakete. **Eragile fisiko** (X edo UM izpiak) eta **kimiko** askok (alkilanteak, oxido nitrosoa,..) berezko mutazio tasak handitu ditzakete; **eragile mutagenikoak** deitzen dira. Substantzia horiek guztiak gizakiarentzat kartzinogenikoak dira, eta horregatik, inguruko substantzien ahalmen kartzinogenikoa baloratzeko, bakterioetan mutazioak sortzeko gaitasuna neurtu ohi da. Bestalde, bakterioen gene batzuetan mutazioak egoteak beste gene guztietan mutazioak gertatzeko probabilitatea handitu egiten du. Gene hauek **gene mutatzailleak** deitzen dira eta normalean haien produktuak DNAaren erreplikazio eta konponketarekin erlazionatuta daude.

Aldaketa batzuek ez dute eragin fenotipikorik, proteina berdinak ematen dituztelako (mutazio isilak), baina beste askok, egiturazko proteina edo entzima baten aldaketak eraginez, andui mutatuaren fenotipoa aldatzen dute. Bakterio patogenoetan gertatzen diren **mutazio batzuk birulentziarekin lotuta** daude. Mutante batzuek kapsulan, flageloetan edo beste azaleko antigenoetan aldaketak dituzte, eta jatorrizko antigenoen kontrako erantzun immuneari ihes egiten diote. Beste mutante garrantzitsuak **antibiotikoekiko erresistentziak** dituztenak dira.

Bakterio populazio batean gertatutako mutazioak jatorrizko fenotipoaren aldean probetxugarriagoak direnean soilik nagusituko dira. Hau da, populazioa dagoen bizilekuan mutanteak **hautatzeko baldintzak** egonez gero mutanteak ordezkatzeko du jatorrizko anduia. Antibiotikoen erabilerak adibidez antibiotikoekiko erresistenteak diren anduiak hautatzen ditu.

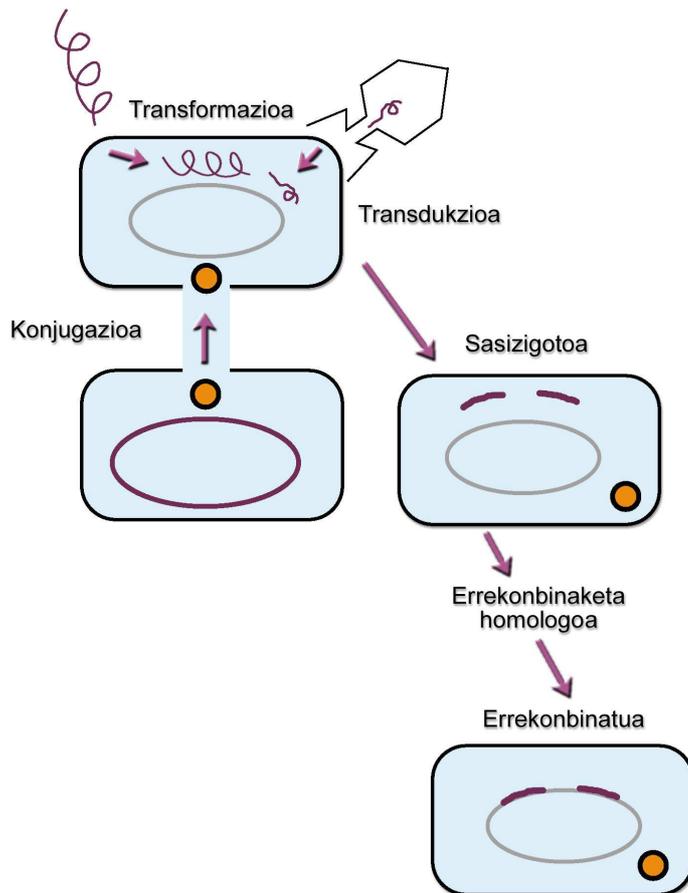
Birkinbinaketa homologoa

Birkinbinaketa homologoa antzeko DNA zatien arteko geneen elkartrukea da, **apurketa eta elkarketa** mekanismoaren bidez (2.1.irudia).



2.1.irudia: Birkinbinaketa homologoaren mekanismoa: DNA sekuentzia homologoak hurbildu, apurtu, elkarrekin gurutzatu eta elkartu egiten dira.

Birkinbinaketaren bidez bakterioek, ezaugarri bat baino gehiago aldatu ahal dituzte aldi berean, eta honela mutazioaren bidez baino arinago eboluzionatu. **Birkinbinaketa mota hori** ahalbidetzeko **aurretik** bakterio batetik besterako DNA zatien transferentziak egon behar dira, **partzialki diploideak diren bakterioak** agertzeko (sasi zigotoak). Hori hiru prozesuren bidez gerta daiteke: DNA biluzik hartzea (**transformazioa**), bakteriofago batek beste bakterioaren DNAa txertatzea (**transdukzioa**) eta beste bakterioarekin elkartzeko plasmidoak edo plasmidoek ekarritako DNAa eskuratzeko (**konjugazioa**) (2.2.irudia).



2.2.irudia: Partzialki diploideak diren bakterioak (sasi zigotoak) agertzeko hiru mekanismo: transformazioa, transdukzioa eta konjugazioa.

Bakterioek, bakteriofagoen eta plasmidoen inbasioa gerta ez dadin, berezko DNAa aldatzeko (eta aldatuta ez dagoena suntsitzeko) ziurtasun sistemak izan ohi dituzte, **errestrizio entzimak** hain zuzen. Horrek batzuetan **mugatzen du** informazio genetikoaren **elkartrukea** espezie desberdinen artean.

Transformazioa

Transformazioan bakterio hartzaileak kanpoan dagoen **DNA molekula biluziak** hartzen ditu. Bakterio emaleak apurtzen direnean DNA zati txikiak alboan dauden bakterioan sar daitezke, bakterio hartzaileak baimentzen badu (egoera kompetentean dagoela esaten da). Prozesu hori berez gertatzen da *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria* eta *Bacillus* generoetan, baina egoera fisiologikoarekin bakterioen **kompetentzia** (DNAa hartzeko joera) aldatzen da. Laborategian, edozein bakterio espezieetan sorraraz daiteke artifizialki kompetentzia kaltziozko shockaren bidez. Teknika hau DNA errekonbinatzailea **klonatzeko** erabiltzen da.

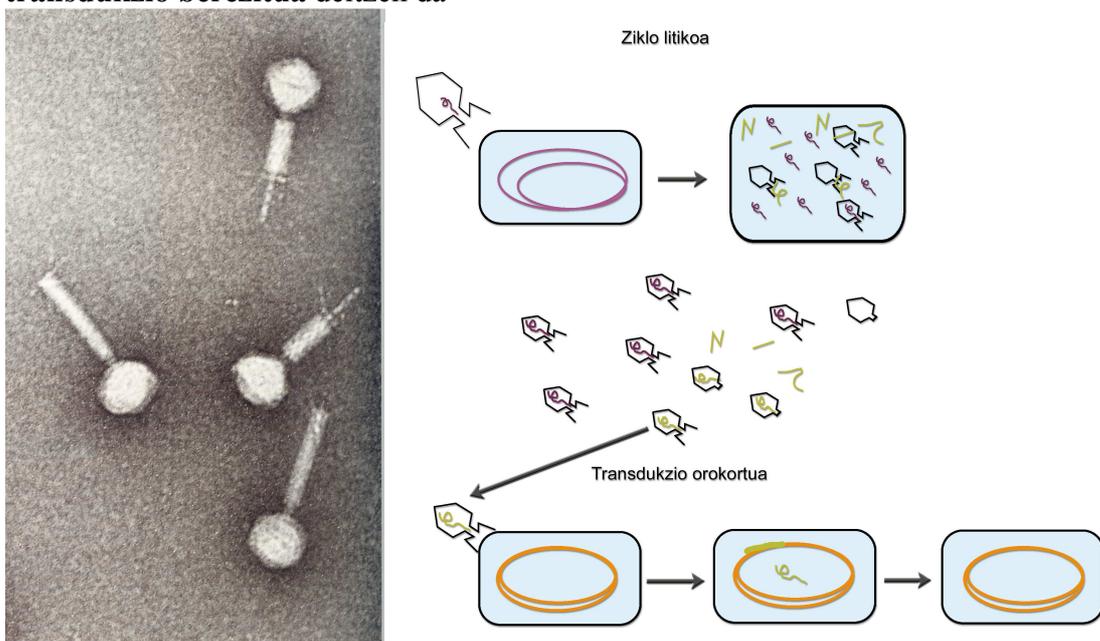
Transdukzioa

Transdukzioan **bakteriofagoek** bakterio emalearen DNA zatiak eramaten dituzte bakterio hartzaileen zitoplasmara. Bakteriofagoak bakterioen barruan ugartzen diren birusak dira. Infekzio prozesuan proteinazko kapsidea kanpoan utziz DNA birikoa txertatzen dute bakterioaren zitoplasman (2.3.irudia). Ondoren fagoaren genoma

erreplikatu eta itzultzen dute proteina birikoak egiteko. Bakteriofago berriak sintetizatuta daudenean bakterioaren lisia gertatzen da.

Infekzio zikloan zehar bakteriofago **kapside batzuetan, birusaren genomaren ordeztatik bakterioaren DNA zatiak sartzen badira**, ez ohiko bakteriofago hauek txerta ditzakete DNA zatiak hartzailearen zitoplasman, ondoren errekonbinatzeko. Bakteriofagoak bere genoma osorik ez duenez infekzioa ez da osatuko, eta bakterio hartzaileak bizirik iraungo du. Prozesu honetan, bakterio emailearen gene guztiak transduzituak eta errekonbinatuak izateko frobabilitate bera dute, eta horregatik prozesu hau **transdukzio orokortua** deitzen da.

Bakteriofago batzuk infektatutako bakterioaren kromosoman integratzeko gai dira, beti puntu berean. Honela kromosomarekin batera erreplikatu egiten dira, baina partikula biriko berriak sortu gabe. Prozesu hau **lisogenia** da eta batzuetan bakterioari patogeniarekin lotutako ezaugarri berriak ematen dizkio. Toxina difterikoa *Corynebacterium diptheria*-ren fago lisogeniko batek sortua da, eta *S.pyogenes*-i beste fago lisogeniko batek toxina eritrogenikoa sintetizatzen gaitasuna ematen dio. Bakteriofago lisogenikoak noizbehinka kromosomatik askatzen dira, berriro ziklo litikoak egiteko. Askapenean akatsak direla medio **bakteriofago lisogeniko batzuek bere integrazio puntuaren ondoan dauden bakterioaren gene batzuk eraman ditzakete** eta ondoren, beste bakterioetan txertatu eta errekonbinatu. Prozesu hau **transdukzio berezitua** deitzen da

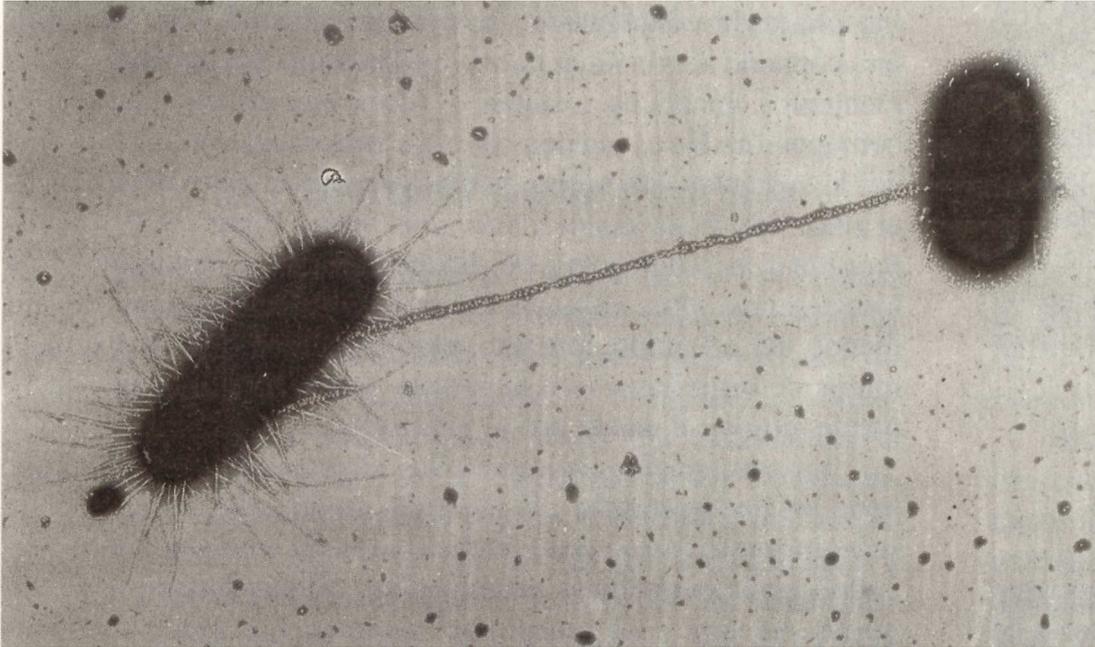


2.3.irudia: Bakteriofago batek bere DNAa bakterioaren zitoplasman sartuz (ezkerrean) eta transdukzio orokortuaren bilakaera (eskuinean).

Transdukzioa bakterio patogeno askotan, batez ere gram-positiboetan, gertatzen da eta antibiotikoekiko erresistentziak transferitzeko garrantzia du.

Konjugazioa

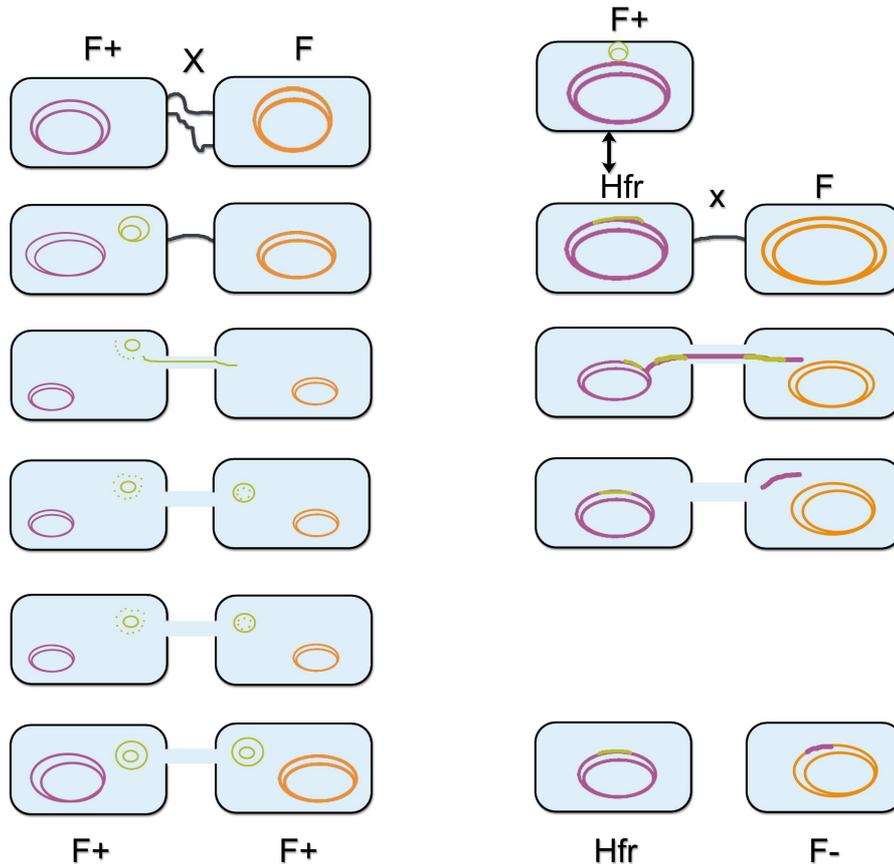
Konjugazioak bakterio emaileen eta hartzaileen arteko kontaktu fisikoa eskatzen du, DNA zatiak zubi zitoplasmatiko batetik transferitzeko. Emaile izateko gaitasuna **plasmido konjugatiboek** ematen dute, eta horregatik emankortasuneko plasmidoak edo plasmido sexualak deitzen dira.



2.4.irudia: Gram-negatiboen arteko konjugazioa pili sexualen bidez.

Bakterio gram-negatiboen artean konjugazioa **pili sexualen bitartez** izaten da (2.4.irudia). *E.coli*-ren **F plasmidoa** da gehien ezagutzen dena, eta plasmido sexualen eredu bihurtu da. F+ bakterioek 2 edo 3 pili sexual sintetizatzen dituzte eta hauen bidez F- bakterioak elkartu eta hurbiltzen dituzte.

F plasmidoa transferentzia-jatorrian apurtzen da, eta kate bat piliaren barruko zubi zitoplasmatikotik F- bakterioaren zitoplasmara doa. Bitartean erreplikatu egiten da, transferitzen ari den katea hartzailearen zitoplasman kate osagarria sintetizatuz eta emailearen zitoplasman geratu den katea erreplikaturaz. Beraz F+ eta F- bakterioen arteko konjugazioa gertatu ondoren bakterio bietan F plasmidoa egongo da, eta biak F+ izango dira, konjugazio ziklo berriak eragiteko gai (2.5.irudia). Gainera, plasmidoen transferentzia espezie bereko edo desberdinetako bakterioen artean gerta daiteke. Beraz, plasmido konjugatiboetan dauden geneak, askotan antibiotikoekiko erresistentziakoak, berehala hedatzen dira bakterio populazioetan zehar.



2.5.irudia: Konjugazioa: F plasmidoaren transferentzia (ezkerrean), eta F plasmidoaren integrazioa eta ondorengo Hfr episomaren transferentzia (eskuinean).

F plasmidoa kromosoman integra daiteke **episoma Hfr** (high frequency of recombination) bihurtzeko. Honela konjugazioa hastekotan **plasmidoak berarekin eramaten ditu kromosomako geneak** bakterio hartzailerantz. Erreplikoi osoa transferitzeko kontaktuak 100 minutukoa izan beharko du eta normalean zubi zitoplasmatikoak hori baino lehenago apurtzen dira. Horregatik, bakterioen geneek plasmidoaren integrazio puntutik zenbat eta hurbilago egon, hainbat eta transferitzeko eta, beraz, errekonbinatzeko probabilitate handiagoa edukiko dute. Konjugazio saioak denbora desberdinetan nahita apurtuz bakterioaren kromosoman geneen kokapena aurkitu da **mapa genetikokoak** egiteko. Hfr eta F- bakterioen arteko konjugazioetan F plasmidoa gutxitan transferitzen da osorik, integrazio-putua eta transferentzia-jatorria desberdinak direlako, eta ondorioz, transferitzen diren azken geneak F plasmidoa osatzen direnak izango dira.

Hfr+ bakterio bat F+ bihurtzeko episoma askatu eta biribiltzen bada. Prozesu honetan zehaztasun falta dela medio askatzen diren F plasmido batzuek, **F' deitutakoak**, integrazio puntuaren alboan zeuden bakterioaren gene gutxi batzuk dauzkate, eta konjugazioa eragiten dutenean, F plasmidoa transferitzeaz gain transferitu eta errekonbinatzen dituzte, bakterio emailearen gene hauek.

Bakterio gram-positiboen kasuan emaeleak hormako adhesinak sintetizatzen ditu, bakterio hartzaileekin eransteke eta plasmidoak pasartzeko.

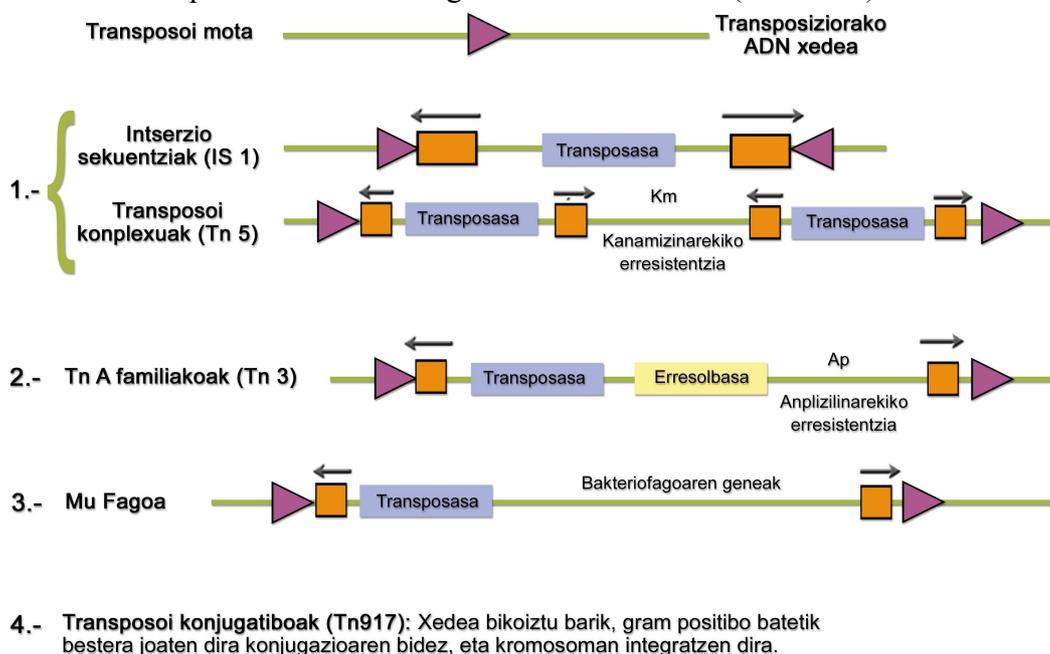
Birkonbinaketa ez homologoa edo transposizioa

Transposoiak DNA molekula batetik beste DNA molekula batean dagoen xede batera **mugi daitezkeen DNA zatiak** dira. Transposoiaren birkonbinaketa gertatzeko bi DNA molekulen artean ez da homologiarik egon behar; beraz, **birkonbinaketa ez homologoa** da.

Transposoiak **ezin dira berez erreplikatu**, eta beti beste erreplikoietan sartuta (kromosoman edo plasmidoetan) egon behar dute erreplikatzeko, baina eragin handia dute bakterioen informazio genetikoan. Beste geneen barruan integratzean **mutazio asko** sortzen dituzte (delekzioak, bikoizketak eta abar) eta DNA zatien **berrantolaketak** eragiten dituzte. Transposoi batzuek gene batzuk eramaten dituzte haiekin, erresistentzia geneak besteak beste, eta kromosomako leku batetik bestera edo plasmidoetara, eta baita plasmido batetik bestera ere joan daitezke, bakterio espezie berdinen edo desberdinen artean eramaten dituzten geneak hedatzeko.

Transposoi guztiek gutxienez bere transposizioa eragiteko geneak kodetzen dituzte, besteak beste **transposasa** entzimarena. Transposizioan DNA sekuentzia **xedea bikoiztu** egiten da eta transposoia xedean artean integratzen da. Transposoi batzuek ia edozein sekuentzia erabil dezakete eta beste batzuek xede oso espezifikoak dituzte. Bi transposizio mota daude: erreplikatzailea eta ez erreplikatzailea. Lehenengoan transposoi osoa erreplikatu egiten da eta kopia bat xedean integratzen da. Bigarrenean transposoia dagoen erreplikoitik askatu eta xedean integratzen da erreplikatu gabe.

Bakterioen transposoiak lau talde nagusitan bereizten dira (2.6.irudia):



2.6.irudia: Transposoiaren sailkapena eta adibideak.

1. Lehenengo motakoak **intserzio sekuentziak** eta haiekin erlazioatutako transposoi konplexuak dira. Intserzio sekuentzia asko daude, tamaina desberdinetakoak (780-1500

base pare), eta beti dituzte muturretan alderantziz errepikatzen diren sekuentzia laburrak (15-25 base pare). Errepikazen diren sekuentzien arteko informazioak transposasa kodetzen du. **Transposoi konplexuek**, kanamizinarekiko erresistentzia kodetzen duen Tn5 bezalakoak, transposizioarekin zerikusia ez duten beste funtzio askotarako informazioa dute bi intserzio sekuentzien artean. Bakterio patogenoetan adhesinak, toxinak edo antibiotikoekiko erresistentziak kodetzen dituzten geneak askotan daude transposoietan.

2. Bigarren motako transposoiak **Tn A familiakoak** dira. Hauek, muturrean alderantziz errepikatzen diren sekuentzia luzeak dituzte (35-40 base pare) , baina ez dute intserzio sekuentziarik. Bestalde, barruko informazioak transposasa eta erresolbasa entzima kodetzen ditu. Familia honetakoak da anpizilinarekiko erresistentzia kodetzen duen Tn3 adibidez. Familia honetako transposoien hedapenagatik *Haemophilus* eta *Neisseria gonorrhoeae* andui asko anpizilinarekiko erresistente bihurtu dira azken urteotan.

3. Hirugarren transposoi motakoak Mu bakteriofago eta bera bezalako beste **fago lisogenikoak** dira. Kasu honetan bakteriofago osoa transposoi bakar bat da eta fagoa transposizio erreplikatioaren bidez erreplikatu egiten da ziklo lisogenikoetan.

4. Bakterio gram-positiboetan beste motako transposoiak aurkitu dira, **konjugatiboak** direnak. Hauek ez dituzte xedeak bikoizten integratzeko. Bakterio emailearen kromosomatik askatu eta beste bakterioaren zitoplasmara joaten dira konjugazioaren bidez, hartzailearen kromosoman edozein lekutan integratzeko. Talde honetako Tn917 transposoiak, adibidez, tetraziklinarekiko erresistentzia kodetzen du. Beste transposoi handi batzuk daude, erresistentzia batzuk eraman eta gram-positibo espezieen artean zabaltzen dituztenak.

Informazio genetikoaren adierazpena: erregulazioa.

Kromosomako edo plasmidoetako gene bakoitzeko, edo erlazionatutako gene-talde bateko informazioa, **ARN mezularitan transkribatzen** da; ondoren, bakterioaren fenotipoan adierazteko, **proteinetan itzultzen** da kode genetiko jarraituz.

Bakterioen geneen adierazpena ondo **erregulatuta** dago soilik beharrezkoa denean adierazteko. Adibidez, bide kataboliko bakoitzaren entzimen geneak bata bestearen atzetik kokatuta daude genomaren operoi bat osatuz, eta honela guztien adierazpenaren inhibizio edo aktibazioa koordinatuta dago. Normalean bide horretatik katabolizatzen den substratu bera operoiaren transkripzioaren eragilea da. Bide biosintetikoaren entzimen adierazpena, bestalde, bide horretan sortzen diren produktuek inhibitzen dute.

Batzuetan erregulazioa orokorragoa da, eta operoi batzuk transkribatu edo inhibit egiten dira aldi berean; orduan, **erreguloi** bat osatzen dutela esan ohi da. Honela, bakterioek inguruko baldintzen aldaketetara berehala moldatzen dira, **estimulu bakar batek operoi batzuk** erregula ditzakeelako. Estimulua kanpoko faktore bat (elikagai baten urritasuna edo estresa osmotikoa) edo barrukoa (ioien edo proteinen kontzentrazioak) izan daiteke. Kanpoko denean, bakterioaren mintza zeharkatzen duen proteina baten kanpoaldeak inguruko estimulua nabaritu eta barruko aldeak erregulazio seinalea zitoplasmara transmititzen du. *Shigella*-k, adibidez, ostalariaren zelulak inbaditzeko birulentzia faktoreak sintetizatu edo erreprimatu egiten ditu kanpoko tenperaturaren arabera. Animalien ehunetan burdina urria izan ohi da, eta patogeno batzuek erregulatzen dute birulentzia burdinaren kontzentrazioaren arabera.

Pseudomonas-ek alegia, barruko burdin kontzentrazioa txikia denean A exotoxinaren sintesia aktibatzen du.

Askotan bakterioek beraien populazio kopurua nabaritzeko gai dira **zelulen arteko seinale sistemen** bidez eta gene batzuk, besteak beste birulentziarekin zerikusia duten geneak, populazio tamainaren arabera espresatu ala isiltzen dira. Sistema hauen erregulatzailerak bi proteina txiki izan ohi dira: bata induktorea eta bestea transkripzioaren errepresorea dira. Proteina induktoreak ingurura kanporatzen dira eta ingurutik populazio bereko beste bakterioen zitoplasmara sar daitezke. Bakterio populazioa txikia denean, gene talde baten transkripzioa inhibituta dago errepresorearekin. Populazioa ugartu ahala, proteina **induktoreak kontzentrazio kritikoa** lortzen du aldi berean bakterioen zitoplasma guztietan eta, errepresorearekin elkartuz, geneen transkripzioa askatzen du.