

Genética Bacteriana y Mecanismos de la Transferencia Horizontal Genética

Concepto de especie bacteriana.

La ciencia de clasificación de los seres vivos recibe el nombre de taxonomía y atiende a dos aspectos:

- Identificar y describir de la manera más completa posible, las unidades taxonómicas básicas, las especies.
- Desarrollar un sistema para ordenar y catalogar estas unidades

El concepto de especie actúa, entonces, como unidad de clasificación. Una especie constituye un grupo de individuos (o poblaciones clonales, en el caso de los microorganismos) que presentan un grado elevado de semejanza fenotípica, siendo, al mismo tiempo, claramente diferenciable de los integrantes de otros conjuntos del mismo tipo general. La clasificación de las bacterias constituye una excepción dada su extrema simplicidad estructural, esto hace que se disponga de un rasgo demasiado reducido de caracteres para poder hacer una caracterización adecuada. Por ello, los taxónomos bacterianos se vieron forzados a buscar otros tipos de propiedades, bioquímicas, fisiológicas, ecológicas, para añadir a las propiedades estructurales. Por esta razón, la clasificación de las bacterias se basa en atributos funcionales, la mayor parte de las bacterias sólo pueden identificarse por lo que hacen y no simplemente por su apariencia. El desarrollo actual de la biología molecular abrió posibilidades para la caracterización de los organismos, cosa que tuvo y tiene gran impacto en la taxonomía bacteriana. En particular se utilizan ciertas técnicas que profundizan las propiedades genotípicas completando así las hasta hace poco caracterizaciones exclusivamente fenotípicas de las bacterias. Es por ello que la definición actual de especie bacteriana se considera como una categoría que circunscribe un grupo genéticamente cohesivo (en estrecha relación) de aislamientos individuales que comparten un alto grado de similitud en características independientes. Cabe destacar, que la definición de especie bacteriana está en constante revisión. Actualmente, para definir una especie bacteriana se utiliza un criterio polifásico, que integra 3 tipos de caracteres:

- **Fenotípicos:** -clásicos (morfología, nutrición, etc)
- **Genotípicos:** -clásicos: % G+C
-moleculares: hibridación DNA-DNA
- **Filogenéticos:** -basados en el gen del ARNr 16S

La hibridación ADN-ADN de una cepa conocida, la cual sería la cepa patrón o control, con otra cepa a la cual queremos asignar a cual especie pertenece, es la base para la posterior categorización de especie. Usualmente dos cepas son consideradas de la misma especie si su ADN hibrida por encima de un 70%, de homología. A su vez, para conocer si en una determinada especie hay subespecies, hay que realizar otro tipo de estudios adicionales que incluyen identificación de diferentes antígenos para determinar la serovariedad o serotipo, determinar que bacteriófagos son capaces de reconocer una determinada cepa, lo cual nos dice la fagovariedad de cada cepa, caracterizar las diferencias bioquímicas y fisiológicas, lo cual nos dice la biovariedad, determinar factores de patogenicidad para identificar la patovariedad, entre otro tipo de estudios.

Por otro lado, el estudio de las secuencias del gen que codifica para el ARN16s nos indica las relaciones de parentesco entre las diferentes cepas, pudiendo determinar al hacer árboles

filogenéticos si existe un ancestro en común entre las diferentes cepas y/o especies. Basándose en la secuencia del gen ARN16s se ha construido el árbol filogenético de los seres vivos según Woese, tal como se muestra en la diapo 17 del teórico.

Elementos del genoma bacteriano.

El genoma bacteriano está compuesto por elementos replicativos autónomos, los cuales son el cromosoma, los plásmidos y los bacteriófagos.

Cromosoma bacteriano.

Con el avance de la secuenciación de genomas completos bacterianos se ha visto que muchas especies bacterianas poseen un único cromosoma que se encuentra superenrollado, aunque hay varias que poseen 2 cromosomas, en general uno de mayor tamaño que otro. Se encuentran en el citoplasma, anclados en la membrana citoplasmática, en una zona que se denomina nucleoide. La mayoría de los cromosomas bacterianos son circulares, si bien existen algunos ejemplos de cromosomas lineales, por ejemplo, el de *Borrelia burgdoferi*. Su tamaño puede variar desde sólo 160.000 pares de bases en la bacteria endosimbionte *Carsonella ruddii*, a 12,2 millones de pares de bases en la bacteria que vive en el suelo *Sorangium cellulosum*. El gen es la unidad funcional del cromosoma bacteriano, el cual es una secuencia ordenada de nucleótidos de ADN (o ARN, en el caso de algunos virus) que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica, habitualmente proteínas pero también ARNm, ARNr y ARNt. Río arriba del marco de lectura abierto (con los codones de iniciación de finalización correspondientes) el gen posee la secuencia reguladora, que regula la transcripción del mismo. En particular, en las bacterias varios genes suelen ordenarse en operones, dando lugar a ARN mensajeros policistrónicos.

Plásmidos.

Los plásmidos son elementos de ADN doble cadena extracromosomales, circulares o lineales, que se replican independientemente del cromosoma bacteriano. Su tamaño varía desde 1 a 250 kilobases. La cantidad de los plásmidos depende del tipo al que pertenezcan, y pueden haber desde una sola copia hasta algunos cientos por bacteria. En general, no contienen información esencial, sino que confieren ventajas al hospedador en condiciones de crecimiento determinadas. El ejemplo más común es el de los plásmidos que contienen genes de resistencia a un determinado antibiótico, de manera que el plásmido únicamente supondrá una ventaja en presencia de ese antibiótico. También son muy importantes los plásmidos que codifican mecanismos de virulencia, tal como en el caso del ántrax, en el cual todos los determinantes de patogenicidad se encuentran en dos plásmidos en *Bacillus anthracis*. Así es como las cepas de *Bacillus anthracis* que no poseen ambos plásmidos no producen el ántrax y suelen ser parte de la comunidad bacteriana ambiental. Algunos plásmidos tienen la capacidad de insertarse en el cromosoma bacteriano, razón por lo cual pueden transferirse en forma vertical, de célula madre a célula hija cuando ocurre reproducción mediante la fisión binaria. Además, los plásmidos pueden movilizarse de una bacteria a otra por conjugación (que veremos más adelante), lo cual los convierte en integrantes del “moviloma”, o sea de los elementos móviles del genoma bacteriano.

Bacteriófagos.

Los bacteriófagos o fagos son los virus que infectan bacterias, y pueden insertarse tanto en el cromosoma como en los plásmidos de la célula huésped. Se replican de forma autónoma aunque utilizan maquinaria enzimática de la célula huésped en

algunos casos. Los fagos en general son cepa específicos, y se considera que toda cepa bacteriana es susceptible en teoría de ser infectada por los mismos ya que en una misma muestra de agua, por ejemplo, se ha constatado de que hay más fagos que bacterias. Algunos de los fagos que se insertan en el cromosoma pueden aportar entre sus genes, algún factor de virulencia, tal como es el caso del fago T12 que al infectar e insertarse en cepas de *Streptococcus pyogenes* puede dar lugar a la enfermedad llamada escarlatina.

Elementos móviles del genoma bacteriano.

En los años 70 del siglo pasado se descubrieron en bacterias los primeros ejemplos de ADN “saltarín”, elementos que presentaban la por entonces novedosa propiedad de moverse de un lado a otro de los genomas, pasando de plásmidos a cromosomas o viceversa. Estos elementos móviles resultaron ser unidades genéticas con una amplia diversidad tanto en estructura como en los mecanismos de movilización que utilizan. Están compuestos por uno o varios genes que tienen la capacidad de moverse ya sea dentro de una célula bacteriana del cromosoma a un plásmido, o entre diferentes cepas, inclusive cepas de diferente especie y género, dependiendo de las características de cada elemento genético. Actualmente, gracias a todos los avances que hubo de secuencias disponibles en el GenBank, se sabe que los elementos móviles son los elementos genéticos más abundante en todos los dominios de los seres vivos y se considera que representan una fuerza esencial en la modificación de genes y genomas a lo largo de la evolución, probablemente como resultado del desarrollo de una relación simbiótica con su hospedador. En conjunto, este abanico de elementos nos están mostrando que en los genomas bacterianos existe una “pool” amplísimo de ADN disponible, con propiedades especiales de movilización, que confieren a veces notables rasgos fenotípicos a las cepas que los poseen. Además, ya sea por ellos mismos o por el hecho de que a veces se diseminan entre cepas de la misma especie o de diferentes especies mediante plásmidos conjugativos y fagos, se pueden transferir de unas bacterias a otras, constituyendo un “pool” compartido de material genético. Los elementos genéticos móviles acarrear una serie de reorganizaciones en los genomas: inversiones de segmentos genéticos, deleciones, cointegraciones entre dos replicones, duplicaciones, etc. Hay que resaltar que estos elementos no son replicones, es decir, no poseen la capacidad de replicación autónoma característico del cromosoma y de los plásmidos, sino que son partes integrantes de los genomas de muchas bacterias, confiriendo plasticidad genética sobre la que pueden actuar mecanismos evolutivos. Esto hace que los genomas bacterianos, y sobre todo los plásmidos, sean relativamente dinámicos y maleables a escala evolutiva.

Clasificación de los elementos móviles.

Existen dos grandes grupos de elementos móviles en las bacterias: i) aquellos que en el proceso de transposición requieren de un intermediario de ARN y son llamados generalmente retrotransposones y ii) aquellos que se movilizan directamente como ADN sin intermediario de ARN, entre los que se encuentran los llamados transposones.

Movilización mediante un intermediario de ARN. Estos elementos genéticos utilizan un intermediario de ARN en su movilización intracelular. En las bacterias, se han identificado intrones del grupo I y II que por poseer una transcriptasa reversa y moverse en el genoma, son considerados, además de intrones, retrotransposones. De hecho, los intrones del grupo II bacterianos se consideran los precursores de los pequeños intrones nucleares de células eucariotas, de los non-LTR-retrotransposones y

de la telomerasa. En un principio, los intrones fueron clasificados como elementos no codificantes del genoma, y se consideraba una característica diferencial entre procariontes y eucariontes el hecho de que los primeros no poseían intrones. Gracias a los avances de la ciencia y el continuo cuestionamiento de los dogmas científicos, los intrones fueron descubiertos en las bacterias. Los intrones son secuencias intervinientes que interrumpen la secuencia codificante de un gen, generando los exones. Para lograr la correcta expresión de dicho gen es necesario que los intrones sean removidos del pre-ARN mensajero (pre-ARNm) mediante un proceso llamado de *splicing* o autoescisión, el cual resulta en la maduración del ARNm. Una vez liberado el intrón, su ARNm se plegará en una estructura secundaria altamente conservada. Esta estructura confiere al intrón una actividad enzimática que lo transforma en ribozima. La ribozima se asocia a una proteína codificada por el intrón (IEP), la cual posee actividad de transcriptasa reversa. Esta proteína junto con la ribozima forma un complejo ribonucleoproteico, el cual permite al intrón movilizarse a nuevas regiones del ADN mediante mecanismos específicos que involucran intermediarios de ARN.

Tipo de retrotransposones:

- Intrones del Grupo I
- Intrones del Grupo II

Movilización de ADN a ADN. En estos eventos genéticos, una secuencia de ADN es movilizada y/o copiada de un sitio a otro, ya sea en la misma molécula de ADN o en otra molécula. Hay varios tipos de elementos genéticos que se movilizan en los genomas bacterianos, los cuales se pueden clasificar según su estructura y su mecanismo de movilización:

- Secuencias de Inserción o Elementos IS (IS1, IS2, IS3, etc)
- Transposones compuestos (Tn5, Tn10, etc)
- Transposones simples (familia Tn3)
- Transposones conjugativos (o islas genómicas)
- Bacteriófagos (Mu, lambda, P22, etc)
- Cassettes (de integrones)

La gran variedad de elementos móviles que se han descrito y que actualmente se investigan, ha evidenciado mucha diversidad en cuanto a requerimientos y mecanismos de movilización, razón por la cual es imprescindible el estudio particular de cada elemento. Dentro de todas estas variantes de elementos móviles, a modo general se puede decir que los transposones suelen movilizarse por un evento de recombinación no homóloga en el cual hay ruptura de enlaces y formación de enlaces fosfodiéster. Por otro lado, los bacteriófagos y los *cassettes* se movilizan por mecanismos de recombinación sitio-específicos. Los elementos móviles también difieren en cuanto al tamaño, ya que han sido descritos secuencias de inserción de tamaño menor a 1000 pares de bases e islas genómicas de más de 50 kb.

Secuencias de inserción (IS). Son los elementos transponibles más sencillos y pequeños (0,5-2 kb). Son unidades autónomas que sólo portan el gen que codifica para la transposasa, lo cual posibilita la movilización del mismo ya que es la responsable tanto de reconocer un sitio blanco como de reconocer los extremos del transposón y mediar la movilización sin necesidad de que exista una homología de secuencias. Las ISs están siempre flanqueadas por dos extremos cortos repetidos pero en sentido

inverso de 15 a 25 pares de bases (IR) características también de los transposones. Estas IRs pueden ser reconocidas por la transposasa para luego ser escindidas en el proceso de la transposición. Fueron los primeros elementos transponibles reconocidos en las bacterias, siendo algunos ejemplos de los mismos IS1, IS2 e IS3. Al igual que los transposones, pueden encontrarse integradas en cualquier replicón, tanto en cromosomas como en plásmidos. A veces la transposición es replicativa y entonces una copia de la IS persiste en el sitio original, mientras otra copia se inserta en el nuevo sitio blanco. Otras veces no hay replicación de la IS, sino que directamente se escinden los extremos IR, y se libera de un determinado replicón para luego integrarse en otro.

Transposones compuestos o complejos. Son aquellos transposones que portan alguna función adaptativa (generalmente un mecanismo de resistencia antibiótica) y son de mayor tamaño. Se caracterizan por poseer 2 copias de secuencias de inserción que flanquean aquellos genes que codifican para esa función. Las ISs flanqueantes pueden estar en la misma orientación o en orientaciones invertidas. Cada una de estas ISs a su vez posee las repeticiones invertidas cortas a ambos extremos del transposón. Algunos ejemplos de transposones compuestos son el transposón Tn5 (formado por las IS50R, IS50L y el gen que otorga resistencia a kanamicina), Tn10 (constituido por la IS10L, IS10R y gen que codifica para la resistencia a tetraciclinas). Los diferentes transposones difieren en el nivel de selectividad hacia el sitio blanco respectivo. Por ejemplo el transposón Tn5, no posee un sitio determinado de inserción, y por lo tanto invade diferentes lugares, en contraste con el transposón Tn7 el cual es un transposón simple, que posee un mecanismo de inserción sitio específica por el cual se inserta en un sitio único dentro del cromosoma bacteriano, denominado *attTn7*. Este tipo de transposones codifican varias adhesinas, toxinas y resistencias a antibióticos.

Transposones simples o no compuestos. Son aquellos transposones que tienen largas secuencias repetidas en los extremos (35-40 pares de bases) pero sin secuencias de inserción. Un típico ejemplo de este tipo de transposón es el transposón Tn3, el cual posee un gen que codifica para una transposasa (*tnp*), un sitio denominado *res*, sitio involucrado en la resolución del intermediario de transposición llamado cointegrado, y una recombinasa sitio-específica llamada resolvasa (*tnpR*). Asimismo, otro representante de este tipo de transposón, es el transposón Tn7, el cual posee una maquinaria de transposición más compleja y sofisticada que la del transposón Tn3 ya que la misma está constituida por 5 genes (*tnsA*, *tnsB*, *tnsC*, *tnsD* y *tnsE*) involucrados en el proceso de transposición. Algunos transposones de este tipo incluyen genes de resistencia a antibióticos que se movilizan del cromosoma a los plásmidos o de un plásmido a otro lo que favorece enormemente su diseminación entre diversas especies de bacterias patógenas.

Transposones conjugativos. Presentan la propiedad de promover su diseminación de una bacteria a otra por conjugación. No duplican su secuencia diana al integrarse, y se insertan en cualquier lugar o en un sitio específico del cromosoma o plásmido receptor. A este tipo pertenece el Tn917 que codifica resistencia a tetraciclina.

Muchas de las llamadas “islas genómicas” o “islas alienígenas” pertenecen a este tipo de transposones, y su tamaño puede oscilar de entre 10 a 500 kb, las cuales se caracterizan por estar presentes en ciertas cepas de una especie pero ausentes en otras, y suelen conferir notables ventajas adaptativas que les permite ocupar diversos nichos ecológicos. Se insertan preferentemente en o cerca de ciertos genes cromosómicos (como p. ej., genes de ARNt), que están enmarcados por secuencias

cortas repetidas (similares a las que usan ciertos fagos, como el fago λ), y que de hecho codifican una enzima de tipo integrasa como la del propio fago λ . Algunas de estas islas a su vez pueden transferirse activamente a otras células debido a que poseen también genes parecidos a los de los plásmidos conjugativos.

A su vez, las islas genómicas se las clasifica en varios tipos en función de la ventaja adaptativa que confieren a las cepas que las albergan. Las primeras en descubrirse fueron las llamadas “islas de patogenicidad”, las cuales tienen la capacidad de conferir a la cepa notables capacidades patogénicas sobre animales, por ejemplo, debido a que llevan genes de toxinas, adhesinas, o sideróforos, entre otros factores. Un ejemplo es la “sencilla” *Escherichia coli*, que pasa de ser un comensal de la flora intestinal a convertirse en una bacteria uropatógena cuando adquiere una determinada “isla” en el ADN cromosomal. Otro ejemplo de islas de patogenicidad pero localizadas en plásmidos, es el caso del “bioterrorista” bacilo del carbunco (mal llamado ántrax en español) ocasionado por *Bacillus anthracis*, que produce sus tres toxinas debido a genes presentes en una isla genómica plasmídica. Sin estos plásmidos con sus respectivas islas genómicas, *Bacillus anthracis* es una simple bacteria del suelo. Posteriormente se identificaron islas de resistencia a antibióticos, tal como es el caso de la isla AbaR de multiresistencia a antibióticos de *Acinetobacter baumannii*, que posee en algunas cepas hasta más de 40 genes de resistencia a varias familias de antibióticos.

En resumidas cuentas estos transposones conjugativos permiten que los genomas procarióticos sean considerados “modulares” y “maleables”, y debido a que por sí mismos o por el efecto de plásmidos y fagos se pueden movilizar entre cepas y especies diferentes, suministran mecanismos rápidos de cambio evolutivo. En el caso de la adquisición de islas genómicas, se observa que el fenotipo de la bacteria cambia espectacularmente, por ejemplo pasa de ser no patógena a patógena, de susceptible a antibióticos a resistente, por lo que este fenómeno recibe el nombre de “evolución por saltos cuánticos”.

Bacteriófagos. Son los virus también llamados fagos, que infectan exclusivamente a las bacterias. Al igual que los virus que infectan células eucariontes, los fagos están constituidos por una cubierta proteica llamada cápside en cuyo interior está contenido su material genético, que puede ser ADN o ARN, de simple o doble cadena, circular o lineal, cuyo tamaño oscila de 5.000 a 500.000 pares de bases. Los fagos pueden ser encontrados en cualquier cepa bacteriana, tanto del suelo, como del agua, como de la flora intestinal. Uno de los ambientes más poblados por fagos y otros virus es el agua de mar, donde se estima que puede haber en torno a 10^9 partículas virales por mililitro. Los fagos pueden generar el ciclo lítico o el ciclo lisogénico, aunque muy pocos son capaces de llevar a cabo ambos. En el ciclo lítico, las células hospedadoras del fago son lisadas tras la replicación y encapsidación de las partículas virales, de forma que los nuevos virus quedan libres para llevar a cabo una nueva infección. Por el contrario, en el ciclo lisogénico no se produce la lisis inmediata de la célula. El genoma del fago se integra al ADN usualmente por un mecanismo de recombinación sitio-específica, mediado por enzimas codificadas generalmente por el mismo, llamadas integrasas. Puede insertarse tanto en el ADN cromosómico o plasmídico de la bacteria hospedadora, replicándose a la vez que lo hace la bacteria transmitiéndose así en forma vertical, de célula madre a célula hija. Algunos fagos pueden mantenerse estables en forma de plásmido, replicándose de forma independiente a la replicación

bacteriana. En cualquier caso, el genoma del fago se transmitirá a toda la progenie de la bacteria originalmente infectada, y así sucesivamente. Cuando el fago se encuentra realizando el ciclo lisogénico recibe el nombre de profago. El profago queda así en estado de latencia hasta que las condiciones del medio se vean deterioradas, ya sea por disminución de nutrientes, aumento de agentes mutagénicos, etc. En este momento, los profagos se activan y dan lugar al ciclo lítico que termina con la lisis celular. Algunos fagos otorgan beneficios a la bacteria huésped mientras permanecen como profago, al incorporarle nuevas funciones a su genoma. Uno de los ejemplos más famosos es el de la cepa bacteriana inocua de *Vibrio cholerae*, la cual, por acción de un fago, se transforma en una cepa tremendamente virulenta que es la causante del cólera. Para entrar a la célula bacteriana, los fagos identifican receptores específicos en la superficie de la bacteria, que pueden ser lipopolisacáridos, ácidos teicoicos, proteínas o flagelos, lo cual les da mucha especificidad de infección. Por ello, cada fago solo podrá infectar ciertas bacterias según sus receptores.

Cassettes. Los *cassettes* son los elementos móviles del sistema integrón/*cassette*. El *cassette* no se moviliza *per se*, sino que es dependiente por completo de la integrasa del integrón, la cual es la encargada de identificar, escindir e insertar a cada *cassette* en un nuevo sitio. O sea que se trata de un sistema de ingeniería genética de clonado *in vivo*, ancestral en los genomas bacterianos. La estructura básica de un integrón está compuesta por 3 elementos: un gen que codifica para la integrasa (*intI*), un sitio de recombinación (*attI*) y un promotor que es el que permitirá la expresión del o los *cassettes* que sean incorporados en la zona variable de los integrones. Los *cassettes* están compuestos por un marco de lectura abierto que puede codificar para un gen de resistencia a antibióticos o un factor de patogenicidad. Río abajo del gen se encuentra una secuencia de ADN que oscila de los 58 a 141 pares de bases, llamada sitio *attC* la cual es reconocida por la integrasa para mediar la recombinación sitio-específica con el denominado sitio *attI* o en otro sitio *attC*, para así incorporar al *cassette* dentro de la estructura del integrón y permitir la expresión de la función codificada en el *cassette*. Cabe remarcar, que si el *cassette* no está insertado en la zona variable del integrón, éste no se expresa ya que no posee región reguladora. Hasta la fecha hay descriptos más de 130 *cassettes* de resistencia a antibióticos, abarcando casi todas las familias de antibióticos disponibles en la clínica, tales como β -lactámicos, aminoglicósidos, trimetoprima, fluoroquinolonas, cloranfenicol, rifampicina, lincosaminas y macrólidos. También han sido descriptos *cassettes* involucrados en patogenicidad, enzimas metabólicas, enzimas de restricción y de varios de ellos no ha sido aún dilucidada su función. Actualmente, se sabe que se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes géneros bacterianos y nichos ecológicos, y se estima que en $50m^2$. Los integrones no son elementos móviles *per se*, ya que no tienen la capacidad de moverse de una región del genoma bacteriano a otra, o de uay más de 2000 *cassettes* diferentes a nivel de secuencia de ADN. Los integrones que movilizan *cassettes*, a su vez no poseen la maquinaria para moverse a ellos mismos y a los *cassettes* insertados en su zona variable. Para adquirir la movilización y así llevar a cabo su dispersión, se asocian a otras plataformas genéticas, tales como transposones, secuencias de inserción, islas genómicas y/o plásmidos conjugativos, lo cual les permite diseminarse a otras especies bacterianas colocándolos en el escenario de la transferencia horizontal genética, siendo de esta manera, uno de los mayores contribuyentes de la diseminación de la resistencia antibiótica.

Transferencia Horizontal Genética

Concepto de Transferencia horizontal genética.

La Transferencia Horizontal Genética (THG) o Transferencia Lateral de Genes, es el evento por el cual un organismo adquiere material genético de otra célula que no es su progenitor. Por el contrario, la transferencia vertical ocurre cuando un organismo recibe material genético de sus ancestros, como en el caso de las bacterias en las cuales la Transferencia Vertical ocurre por fisión binaria cuando las bacterias se duplican. La THG es común entre las bacterias, incluso entre aquellas que son distantes filogenéticamente. Es por ello que determinar la filogenia de una especie no puede hacerse en todos los casos, sólo determinando los árboles de evolución de cada gen por separado, sino que se utilizan un criterio polifásico que incluye caracteres fenotípicos, genotípicos y filogenéticos. El análisis de secuencias de ADN sugiere que la THG también ha ocurrido entre los eucariontes, desde el ADN de los cloroplastos y las mitocondrias hacia el genoma nuclear.

Dinamismo de los genomas bacterianos.

Aunque las bacterias se reproducen por fisión binaria, el cual es un proceso asexual que no deja descendencia diferente a la célula madre más allá de las mutaciones puntuales que pudieran ocurrir durante la replicación del ADN, éstas poseen mecanismos para lograr la variabilidad genética que necesitan tanto para adaptarse a un entorno cambiante como para lograr diversidad genética en el proceso de especiación bacteriana. Existen varios mecanismos que determinan la adquisición de nuevos genes en los genomas bacterianos, entre ellos las mutaciones, la duplicación de genes, la recombinación homóloga, la recombinación no homóloga y la recombinación sitio-específica. La THG comprende varios mecanismos que permiten la captación de “nuevos” genes, dando lugar a la formación de genomas extraordinariamente heterogéneos y dinámicos. Para que el “nuevo” gen pueda ser adquirido es necesario que se inserte en el genoma bacteriano y se exprese. En realidad, la gran mayoría de las bacterias están modificando sus genomas constantemente, a través de estos procesos descritos anteriormente, pero no todo el ADN “nuevo” puede ser adquirido y mantenido. La gran mayoría de los genes que se adquieren son eliminados, o deletados, o digeridos por enzimas de restricción y utilizados muchas veces como nutriente por la célula receptora. En los últimos años, se han acumulado evidencias de que este proceso puede ser mucho más generalizado de lo que se pensaba en un principio, no estando reducido a ciertos tipos de bacterias. La THG parece haber tenido una gran importancia en todos los grupos de seres vivos, incluyendo plantas superiores y animales, al menos en las primeras etapas de su evolución. Por ejemplo, hoy día se sabe que gran parte del genoma humano está constituido por ADN de origen viral, aunque el rol a nivel funcional y metabólico de estos elementos aún se desconoce.

Cómo se identifica un evento de Transferencia Horizontal Genética.

Existen varios métodos para saber si un gen es producto de la THG, siendo el más usado la construcción de dos árboles filogenéticos, uno realizado con el gen del ARN16s, y el segundo filogenético árbol se construye con el gen incógnita. Si hay un corrimiento en la rama del segundo árbol, eso nos indica que el gen en cuestión proviene de otra especie.

Genoma core y genoma flexible o accesorio.

A partir de la observación de una inconmensurable diversidad ya abundancia en el repertorio génico en los genomas secuenciados, inclusive al considerar bacterias de

una misma especie, se ha desarrollado el concepto de pangenoma, el cual corresponde al total de elementos genéticos que componen el genoma de una especie. El pangenoma se considera que consta de 2 partes: el genoma *core*, constituido por los genes presentes en todos los individuos de la especie (o al menos de la cepa analizada) y el genoma flexible o accesorio, el cual puede estar presentes en un sólo organismo de una especie. Mientras que el genoma *core* puede ser base de una taxonomía, el genoma flexible le otorga a la bacteria características adaptativas excepcionales.

Un ejemplo muy interesante es el caso de *Escherichia coli*, una bacteria que pasa de ser comensal de la flora intestinal a uropatógena o causante de infecciones entéricas. El genoma *core* de esta especie, que en base a la secuencia de 4 genomas en el año 2006 se consideraba que era cercano al 40%, se vio que al aumentar el número de secuencias, en el año 2010 con 20 genomas secuenciados se observó de que el genoma *core* era tan solo del 11%. Es decir, los 20 genomas de esta especie sólo comparten u 11% de los genes, mientras que el 89% restante corresponde al genoma flexible.

Mecanismos de la Transferencia Horizontal Genética.

Se reconocen 5 eventos involucrados en la THG: la teoría endosimbiótica, la fusión de células, la transformación, la conjugación y la transducción. Estos 3 últimas son eventos característicos de las bacterias.

Teoría Endosimbiótica.

En 1883, el biólogo alemán Andreas Schimper propuso que la capacidad fotosintética de las células vegetales podía proceder de cianobacterias aún presentes en la naturaleza y con iguales capacidades. A principios del siglo XX, en 1909, el ruso Kostantin S. Mereschovsky presentó la hipótesis según la cual el origen de los cloroplastos tendría su origen en procesos simbióticos. Más recientemente, fue Lynn Margulis quien propuso la endosimbiosis seriada como mecanismo de evolución en los seres vivos.

La teoría endosimbiótica describe una serie de pasos en los cuales unas células procariotas, ya sean eubacterias o arqueas se convierten en células nucleadas constituyentes de todos los pluricelulares mediante incorporaciones simbiogénicas.

Según la estimación más aceptada, hace 2.000 millones de la vida la componían multitud de bacterias diferentes, adaptadas a los diferentes medios. Hoy se conocen más de veinte metabolismos diferentes usados por las bacterias frente a los dos utilizados por los pluricelulares: el aeróbico, que usa el oxígeno como fuente de energía -único metabolismo utilizado por los animales- y la fotosíntesis -presente en las plantas. Tal variedad de mecanismos revela los cambios drásticos a los que las bacterias se tuvieron que enfrentar y su capacidad para aportar soluciones a esas dificultades. Según esta teoría, la primer célula eucariota de la Tierra, aquella de la que provenimos los animales, las plantas y los hongos, se formó mediante la fusión seriada de tres procariotas preexistentes. Una de estas procariotas aportó la base de los microtúbulos, otra ciertas capacidades metabólicas peculiares, y la tercera que se sumó más tarde a las otras dos, se convirtió en las actuales mitocondrias. Esa célula eucariota primigena empezó a proliferar hasta que sufrió un evento endosimbiótico más, al incorporar una cianobacteria, la cual la proveyó de los futuros cloroplastos.

La disponibilidad actual de secuencias, ha corroborado esta teoría, ya que se ha identificado el pasaje de genes de bacterias, posiblemente de las protobacterias que dieron lugar a las mitocondrias, y de las cianobacterias que dieron lugar a los cloroplastos, al genoma de la célula eucarionte actual.

Fusión celular.

Este mecanismo es propuesto entre las arqueas, y entre arqueas y bacterias, dando lugar al pasaje de ADN de una célula a otra. Actualmente hay evidencia del intercambio de información entre estos dos dominios, en particular entre organismos que comparten el mismo nicho ecológico.

Transformación.

En la transformación la bacteria receptora acepta moléculas desnudas de ADN que penetran por su pared desde el medio externo. El ADN que se incorpora puede ser simple o doble cadena, incluyendo plásmidos completos que pueden ser captados e introducidos a la célula receptora por un sistema de secreción de tipo IV (SSTIV). Estos eventos ocurren de forma natural cuando las bacterias receptoras comparten su ecosistema con una población de bacterias donadoras que muere y cuyos cromosomas y/o plásmidos se fragmentan. El ADN desnudo es destruido rápidamente por DNAsas que son enzimas muy frecuentes en muchos medios, por lo que la probabilidad de que ocurran transformaciones naturales es pequeña. Además la pared de la célula receptora debe estar relativamente permeable para dejar pasar fragmentos de ADN, lo cual recibe el nombre de competencia natural. Algunas especies suelen tener esta característica, es decir, capaces de sufrir transformación, tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Bacillus subtilis* entre otras. También en el laboratorio puede forzarse la competencia mediante cambios en la concentración de calcio del medio. Esta técnica suele emplearse para introducir en una bacteria receptora plásmidos, y es la base de las técnicas utilizadas en ingeniería genética.

Transducción.

En la transducción son los bacteriófagos los que llevan un fragmento de ADN de una bacteria donadora hasta el citoplasma de la receptora. Para infectarlas inyectan su ADN en el citoplasma dejando fuera la cápside del fago. Para producir su progenie, los fagos detienen la replicación de la bacteria, cuyo ADN comienza a degradarse, replican el ADN del virus y traducen la información precisa para sintetizar nuevas cápsides que se ensamblan rodeando a las copias de ADN fágico. Para liberar los nuevos bacteriófagos lisan la bacteria infectada. A veces, durante estos ciclos líticos se introduce por error en una cápside de bacteriofago ADN de la bacteria infectada. Estas partículas pueden iniciar la infección de otra bacteria y le inyectan de forma automática el ADN que portan. Como en estos casos no es inyectado el genoma completo del virus, la bacteria no muere y puede recombinar el fragmento adquirido. Cualquier gen de la bacteria donadora tiene igual probabilidad de ser transducido y posteriormente recombinado a través de este proceso que se denomina transducción generalizada. Los bacteriófagos que son capaces de circularizar e integrar su ADN en el cromosoma de la bacteria infectada iniciando así un ciclo lisogénico, en el que no hay lisis ni se producen nuevas partículas víricas, pero el genoma del virus se reproduce junto al de la bacteria a la que puede proporcionar nuevos factores de virulencia. Por ejemplo la capacidad de sintetizar las exotoxinas de *Corynebacterium diphtheriae* y de *Streptococcus pyogenes* depende de que las cepas estén infectadas por fagos lisogénicos. El proceso en todo caso es reversible y de tiempo en tiempo el virus se libera del cromosoma e inicia un ciclo lítico. En este proceso también hay errores y a veces el genoma del fago lisogénico arrastra consigo alguno de los genes bacterianos adyacentes a su punto de integración que siempre es el mismo. Por eso los fagos así

generados transducen con alta probabilidad estos genes adyacentes y no otros a través de lo que se denomina transducción especializada.

Conjugación.

Para que dos bacterias puedan conjugarse, tiene que existir contacto físico entre la bacteria donadora de ADN y la receptora. La capacidad de donar la proporciona el poseer un plásmido conjugativo que también se denomina factor de fertilidad o plásmido sexual. El acercamiento entre dos bacterias se da a través de pili sexuales codificados por el plásmido conjugativo. Las bacterias que lo poseen sintetizan 2 o 3 pili, que son adhesinas fímbricas, con los que contactan con bacterias receptoras y se acercan a ellas. Entonces el plásmido conjugativo se rompe por un lugar fijo, que es el llamado origen de transferencia u *oriT*, y una de sus cadenas pasa a través del puente citoplásmico creado por el SSTIV, también codificado por el plásmido conjugativo, hasta el citoplasma de la célula receptora. Entonces, en forma simultánea, en ambos citoplasmas se van sintetizando las cadenas complementarias de forma que al final del proceso ambas bacterias poseen un plásmido conjugativo completo. Como vemos, los plásmidos conjugativos codifican genes que los proveen de toda la maquinaria para realizar la conjugación. De esta manera, la conjugación convierte a la bacteria receptora a su vez en donadora, lo que incrementa la diseminación del plásmido, y puede ocurrir entre bacterias de la misma o de diferentes especies relacionadas. Por eso cuando los genes que proporcionan resistencia a los antibióticos están en plásmidos conjugativos se extienden muy rápidamente a través de diversas especies patógenas.