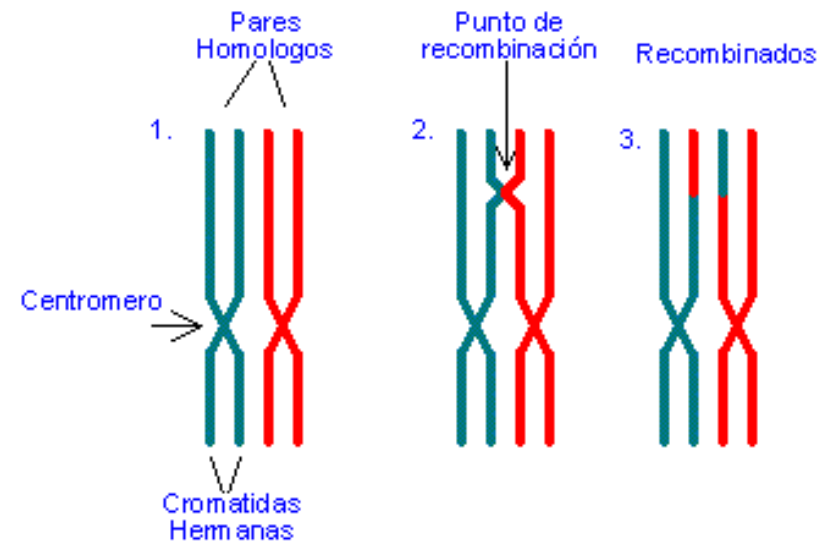


Recombinación del DNA y Transformación horizontal de ADN

Todo el DNA es DNA Recombinante...

Biología Molecular del Gen. Watson et al., 2006



Ziv Arbeli



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá



Mecanismos de cambios del genoma

- Mutaciones puntuales (cambios de unos pocos bases).
- Recombinación de DNA.
- Incorporación de DNA viral
- Transposición (de genes dentro del genoma).
- Transferencia horizontal de genes.

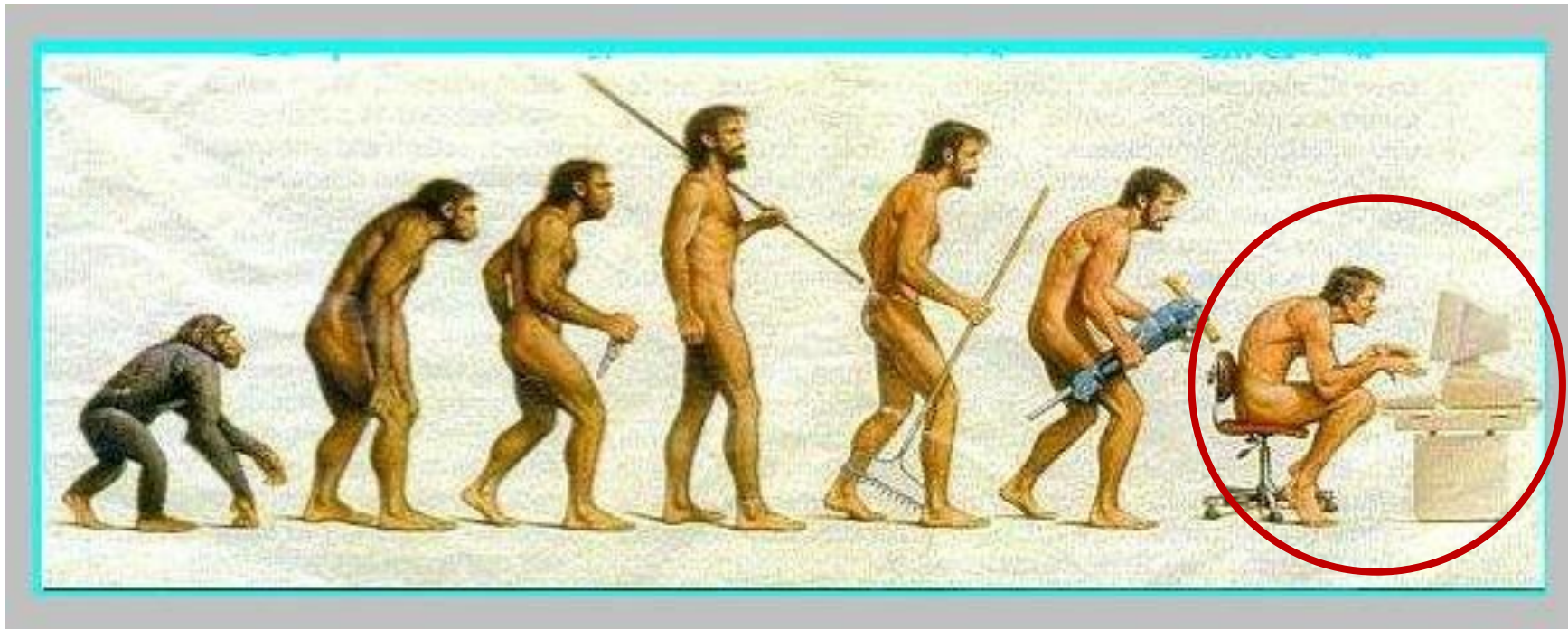


- Modificación de genes
- Cambio en la composición de los genes
- Duplicación de genes
- Inactivación de genes
- Deleción de genes.
- Adquisición de nuevos genes
- Modificación de la expresión de genes.

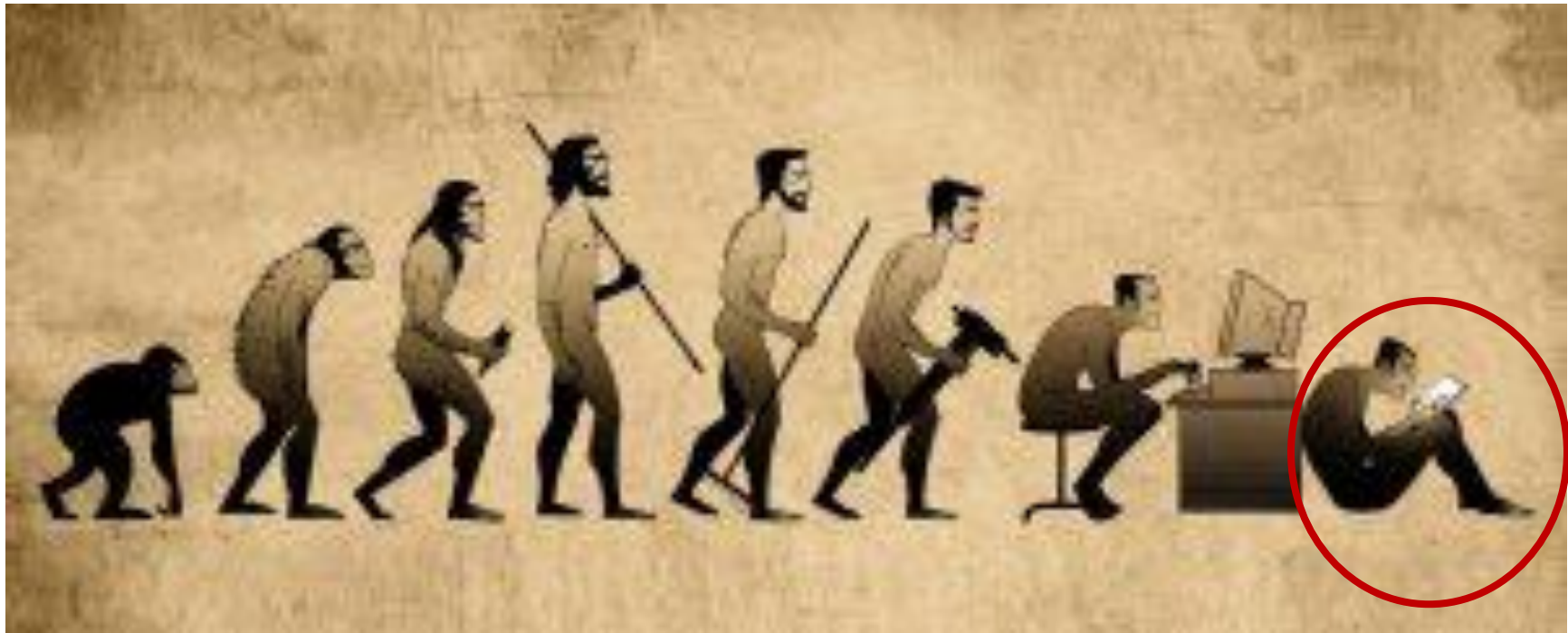
Polimorfismo



Adaptación y Evolución



La Evolución de esta diagrama...






PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

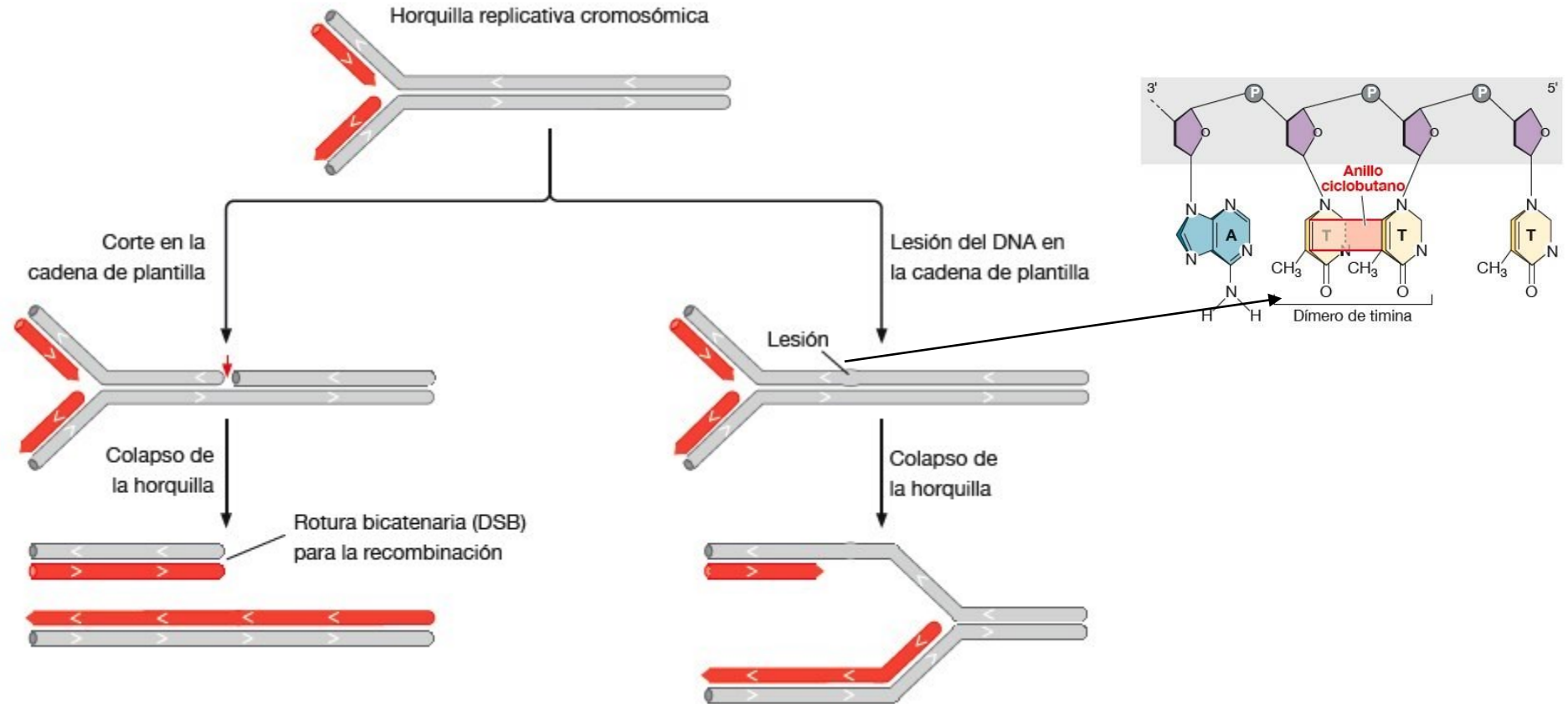
¿Donde ocurre?

- Reparar rupturas en las dos cadenas del DNA. 
- Reiniciar la horquilla de replicación detenidas o dañadas.
- Durante la Meiosis promueve la variación genética (en eucariotas).
- Transferencia Horizontal de genes (en procariotas).



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

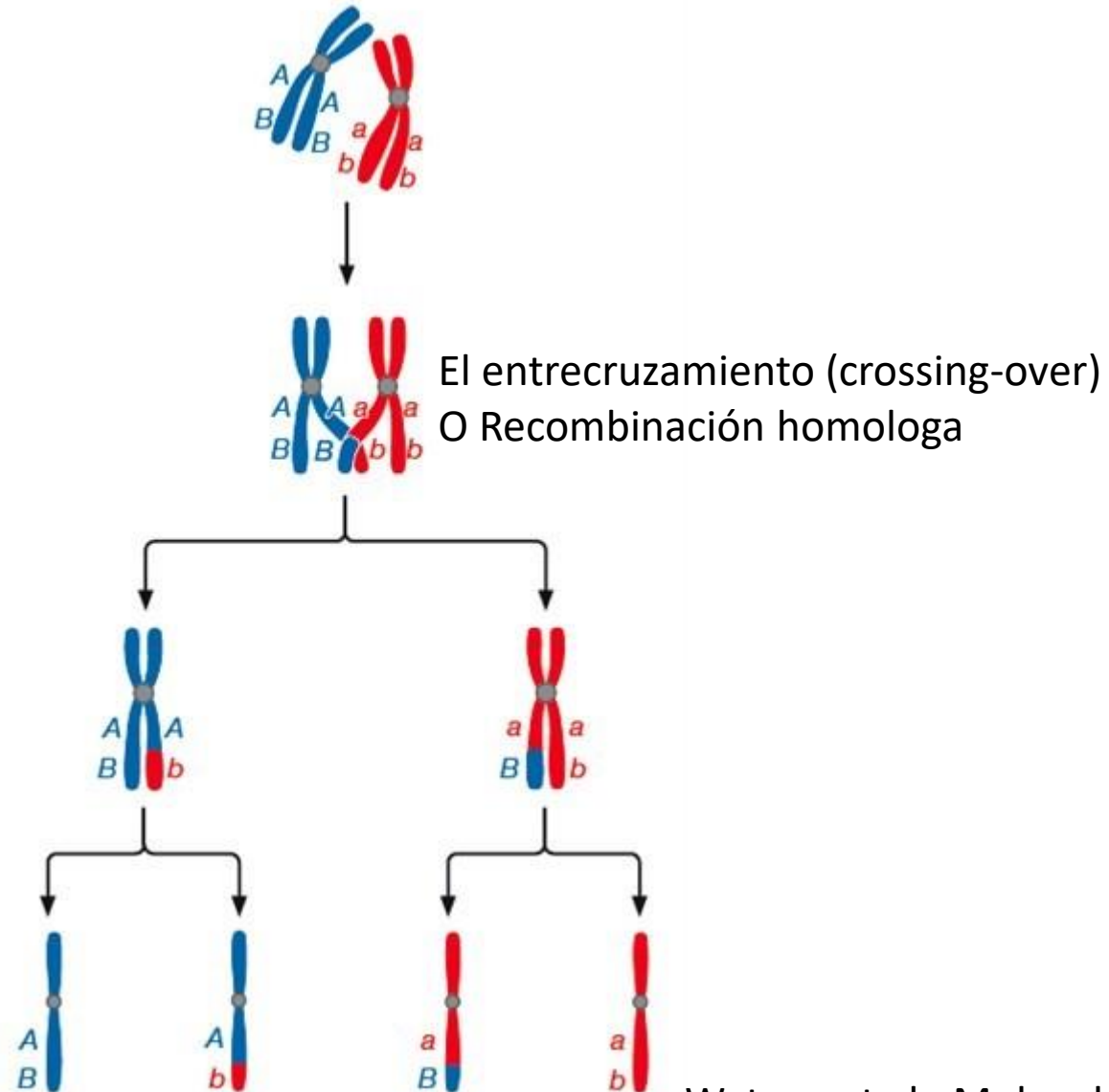
Colapso de la horquilla de replicación





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Meiosis



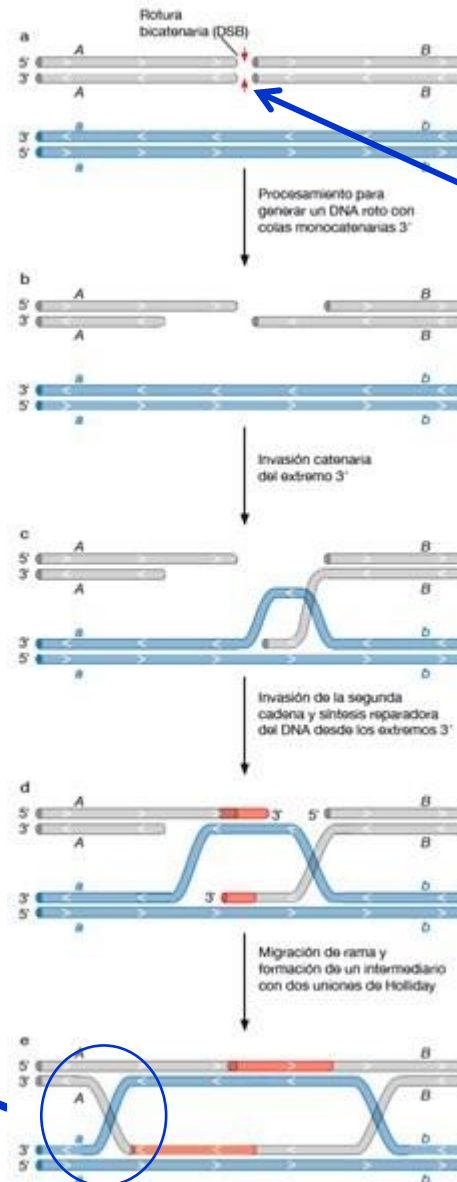
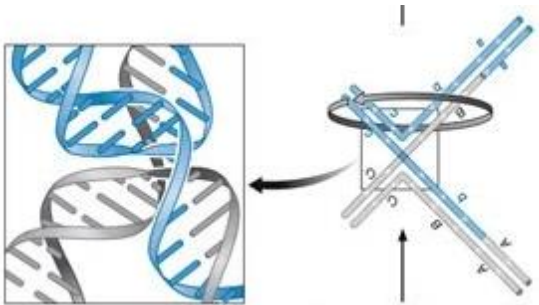
Watson et al., Molecular biology of the gene



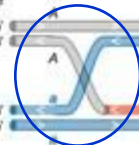
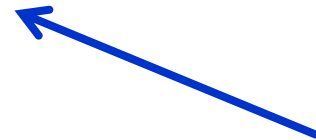
PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

El modelo de recombinación homóloga

La Unión de Holliday



Lesión del ADN
o enzimático (Spo11)

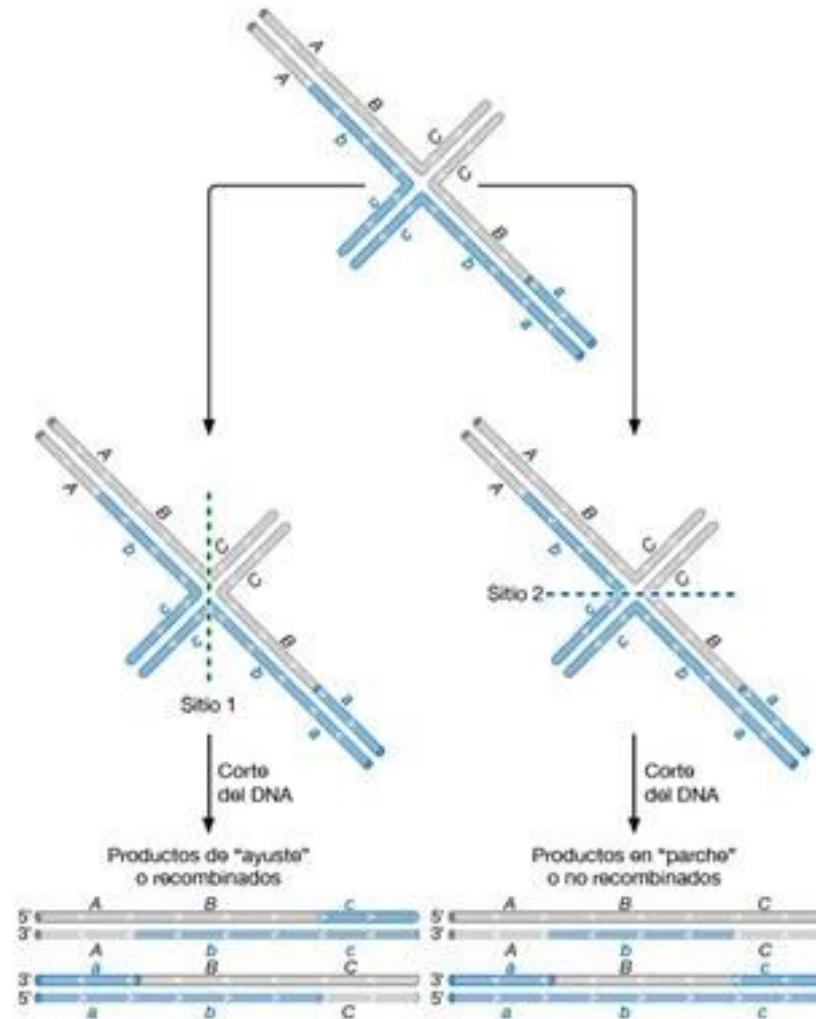


Watson et al., Molecular biology of the gene



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

El final de la recombinación

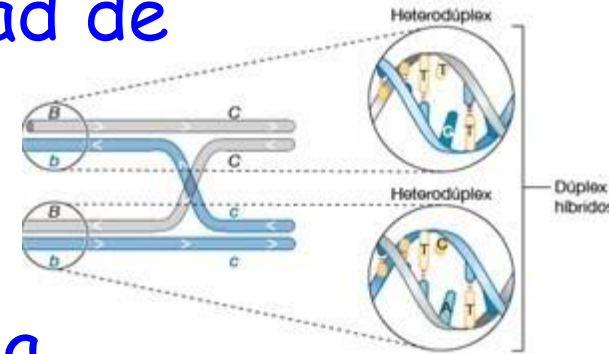




PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Condiciones para la recombinación homologa

- Regiones homologas (~ 100 pb) - Complementariedad de secuencias de DNA.
- Una molécula de DNA de cadena sencilla que tiene la Complementariedad.
- Puede ocurrir en cualquier región del DNA, aunque hay sitios "calientes" de recombinación



El mecanismo enzimático de la recombinación homologa

PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

TABLE 11-1 Prokaryotic and Eukaryotic Factors That Catalyze Recombination Steps

Recombination Step	<i>E. coli</i> Protein Catalyst	Eukaryotic Protein Catalyst
Pairing homologous DNAs and strand invasion	RecA protein	Rad51 Dcm1 (in meiosis)
Introduction of DSB	None	Spo11 (in meiosis) HO (for mating-type switching)
Processing DNA breaks to generate single strands for invasion	RecBCD helicase/nuclease	MRX protein (also called Rad50/58/60 nuclease)
Assembly of strand-exchange proteins	RecBCD and RecFOR	Rad52 and Rad59
Holliday junction recognition and branch migration	RuvAB complex	Not well characterized
Resolution of Holliday junctions	RuvC	Rad51c–XRCC3 complex, WRN, and BLM



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

En resumen: La recombinación homologa

¿En cual región genómica puede ocurrir?

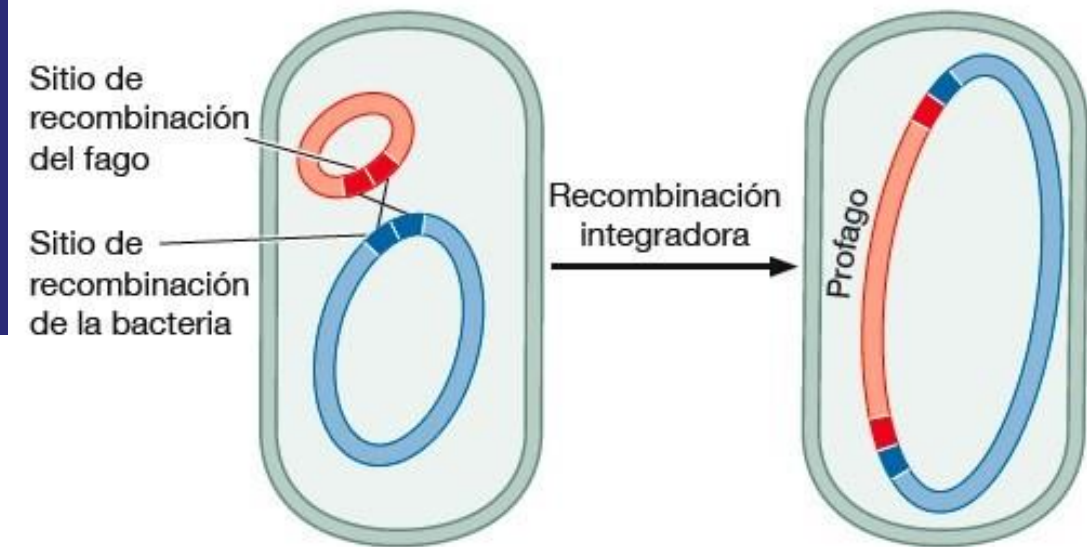
- En cualquier lugar (pero entre secuencias homologas)

¿Para que?

- "Salvar" el DNA cuando hay rupturas de doble cadena
- "Salvar" la replicación (cuando hay problemas)
- Intercambio de alelos en la meiosis
- Fuentes de variabilidad genética en la población



Recombinación en sitios específicos





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

¿Donde ocurre?

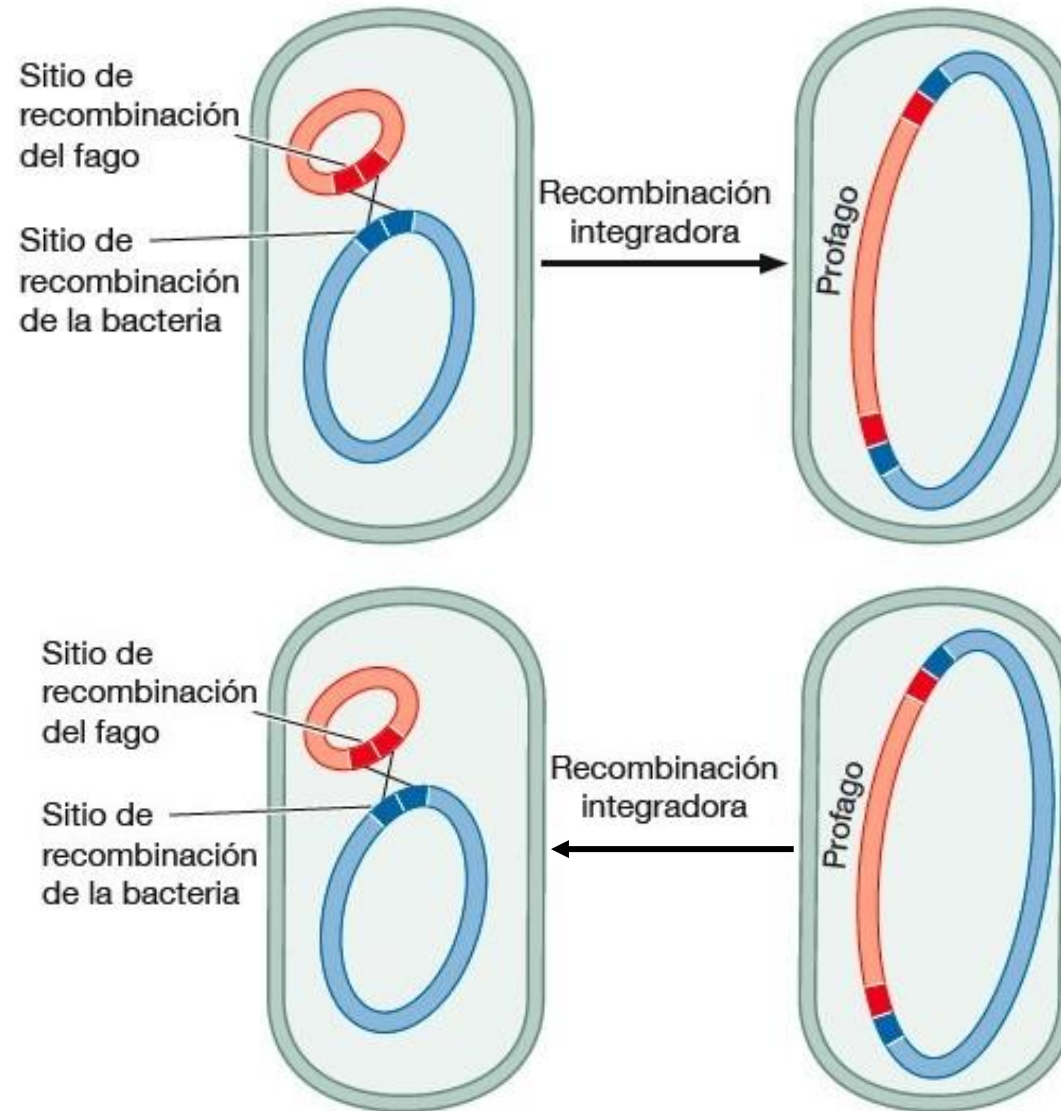
- Ocurre solo en sitios donde existen secuencias conservadas...
(**especificas**)
- Las secuencias conservadas sirven para:
 - El reconocimiento y la unión de las enzimas involucradas
(**recombinasas**) al DNA en el sitio especifico.
 - El reconocimiento del sitio de corte del DNA.
 - **Son los sitios de recombinación**





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

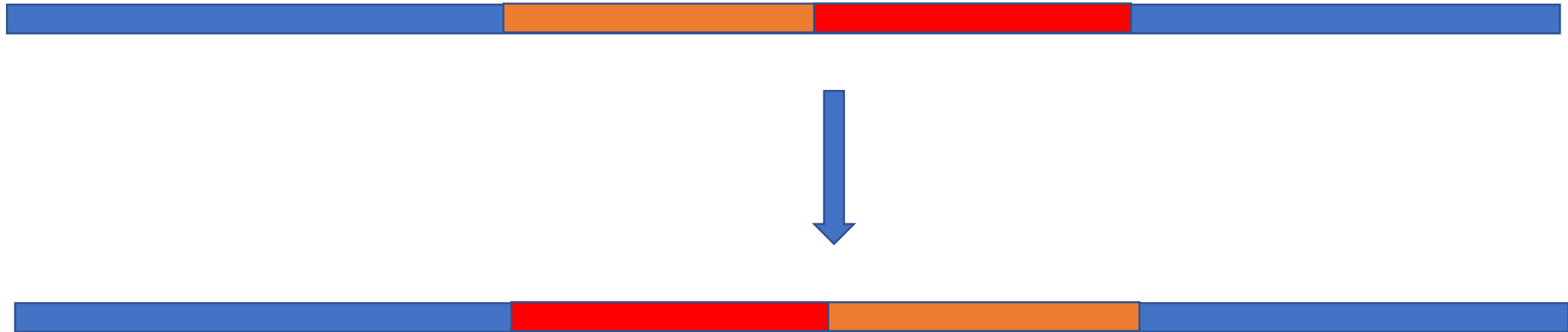
Inserción / Delección (de un virus al genoma)





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Inversión

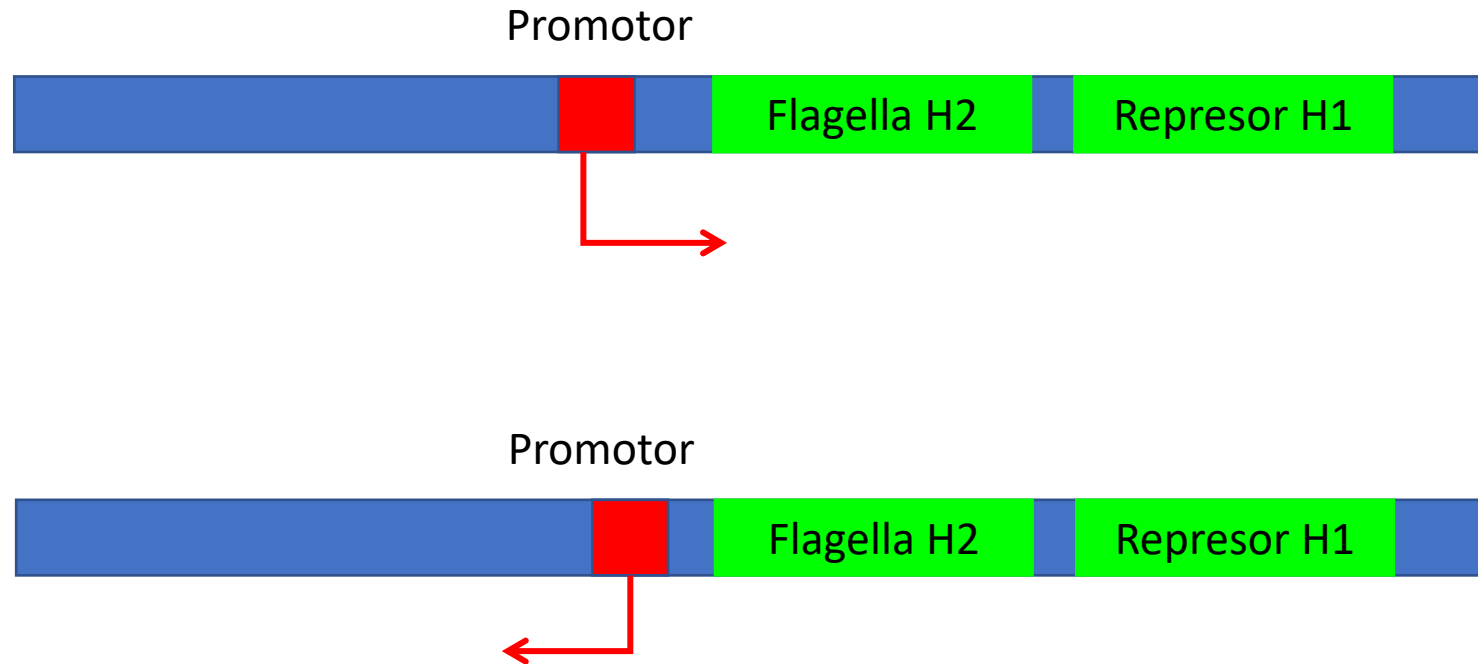




PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Inversión de un segmento de DNA.

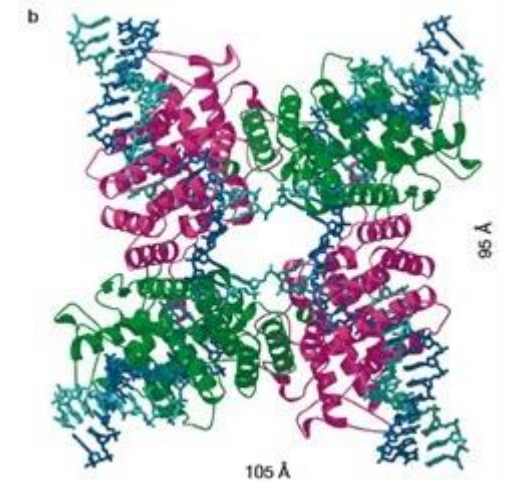
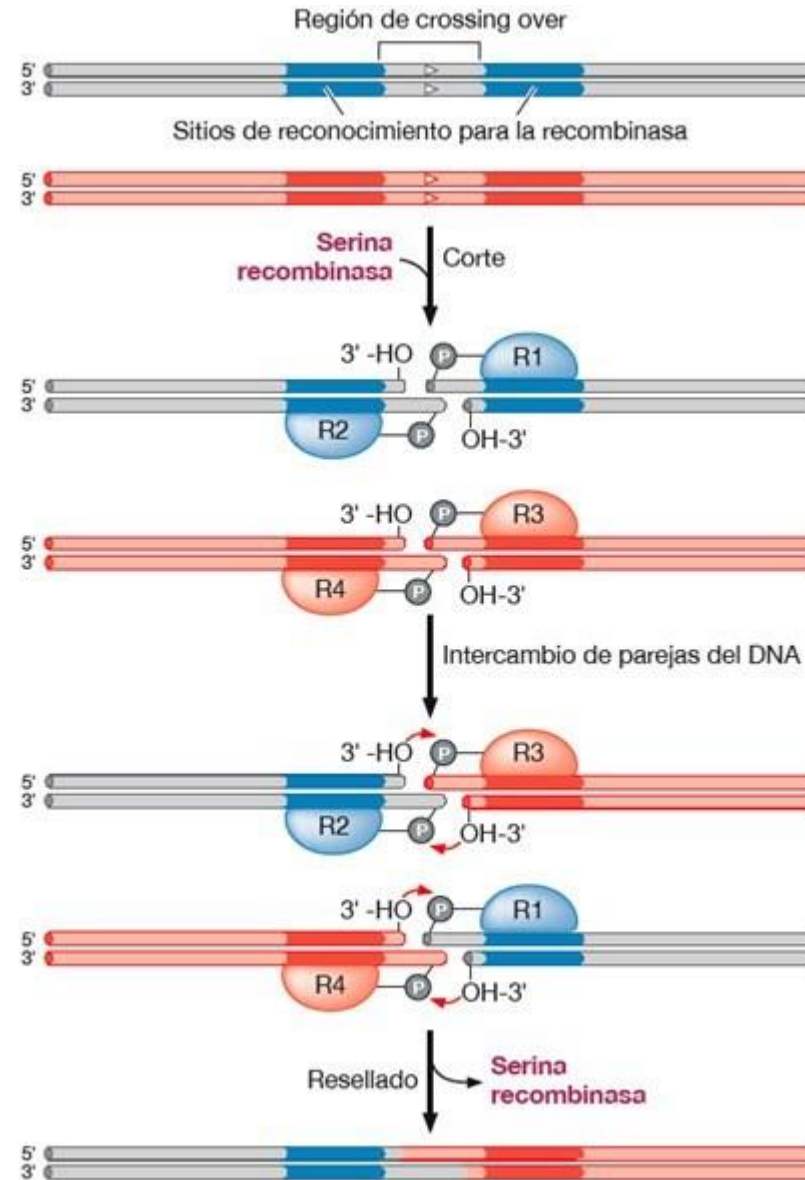
Regulación de expresión de genes que codifican para flagela en *Salmonella*





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Mecanismo de recombinación

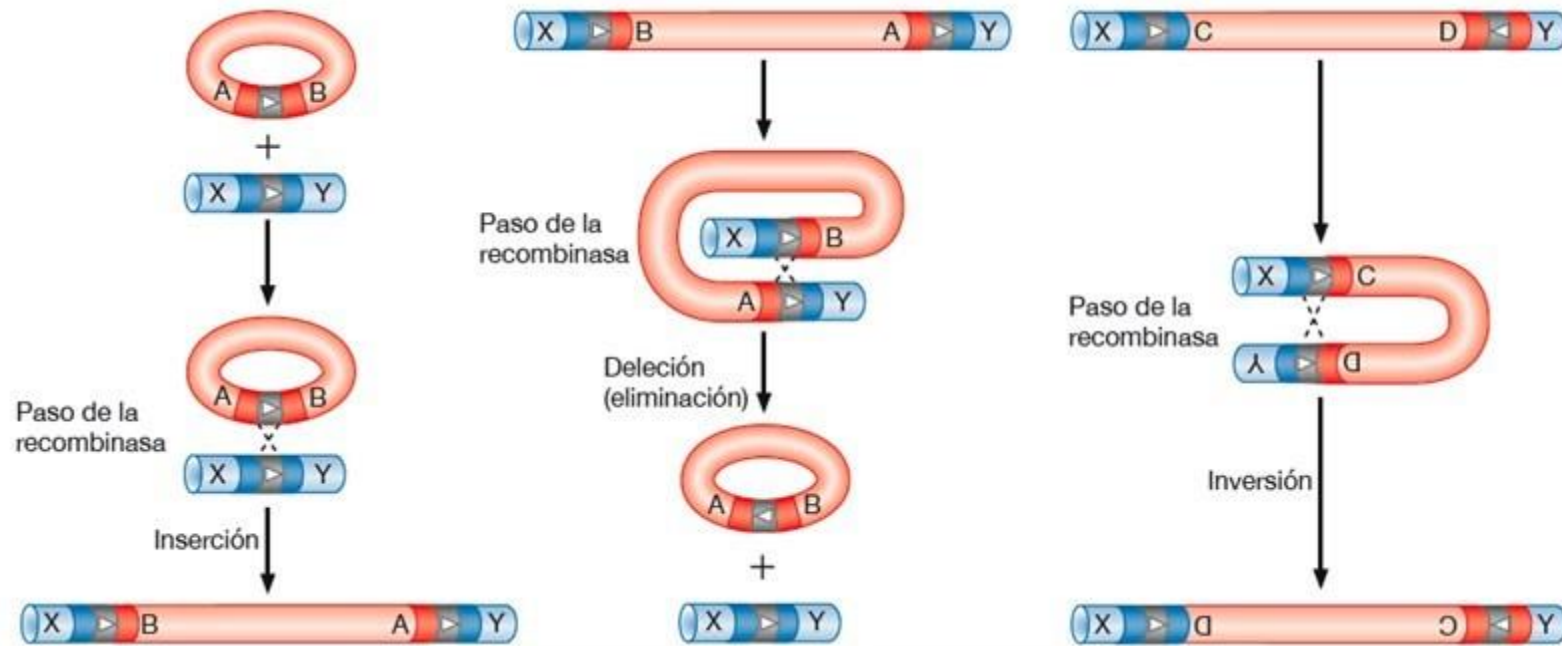


Watson et al., Molecular biology of the gene



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Mecanismo de recombinación





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

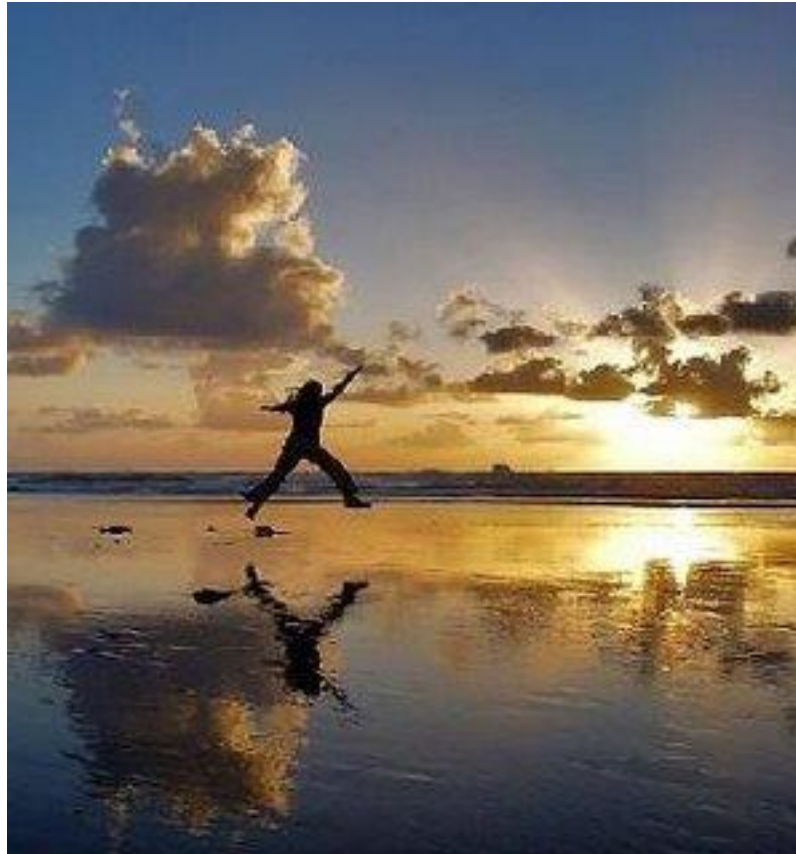
¿Para que?

- Inserción de un segmento de DNA en un sitio específico
Ejemplo: Inserción de genoma viral - paso a ciclo lisogenico.
- Delección de un segmento de DNA.
Ejemplo: Salida de genoma viral - paso a ciclo litico.
- Inversión de un segmento de DNA.
Ejemplo: Regulación de expresión de genes - Cambio fenotípico de flagelas de salmonella para "escapar" de la sistema inmunológica del huésped .



Transposición (“genes saltarines”)

Cambio de posición de elementos genéticos



Elementos transponibles

Descubierto por Barbara McClintock (1948)
Ganadora de premio Nobel de 1983.



Transposición

- Recombinación genética que **mueve** ciertos elementos genéticos de un sitio del DNA a otro.
- Estos elementos se denominan **elementos transponibles** o **transposones**.
- Contienen los genes que codifican a la maquinaria enzimática de la transposición.
- Normalmente pueden integrarse en cualquier sitio del genoma.

Primer tipo



Primer tipo



Segundo tipo

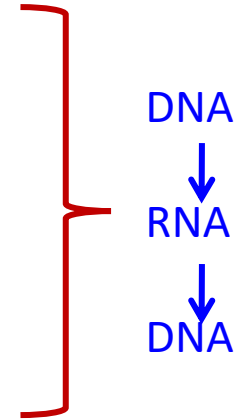


Segundo tipo



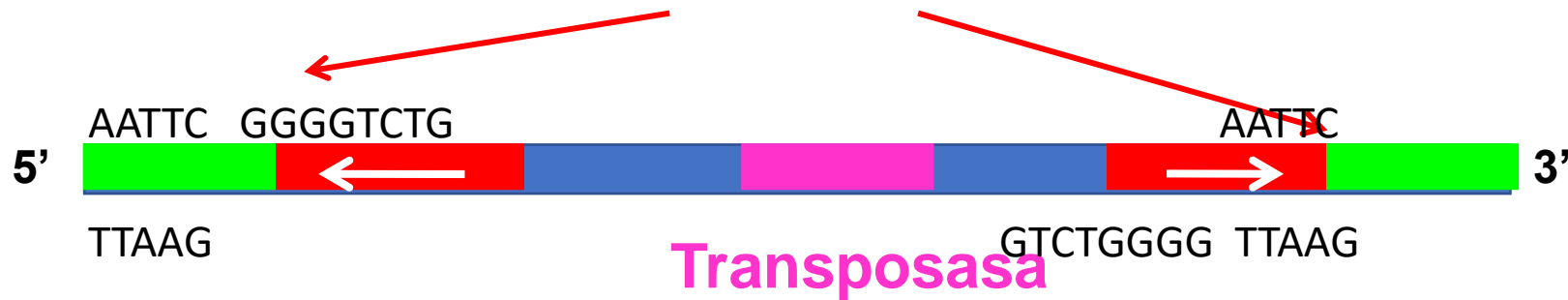
Clases de Transposónes

- Transposones de DNA
- Retrotransposones semejantes a virus.
- Retrotransposones de poli-A.
(semejantes a genes).

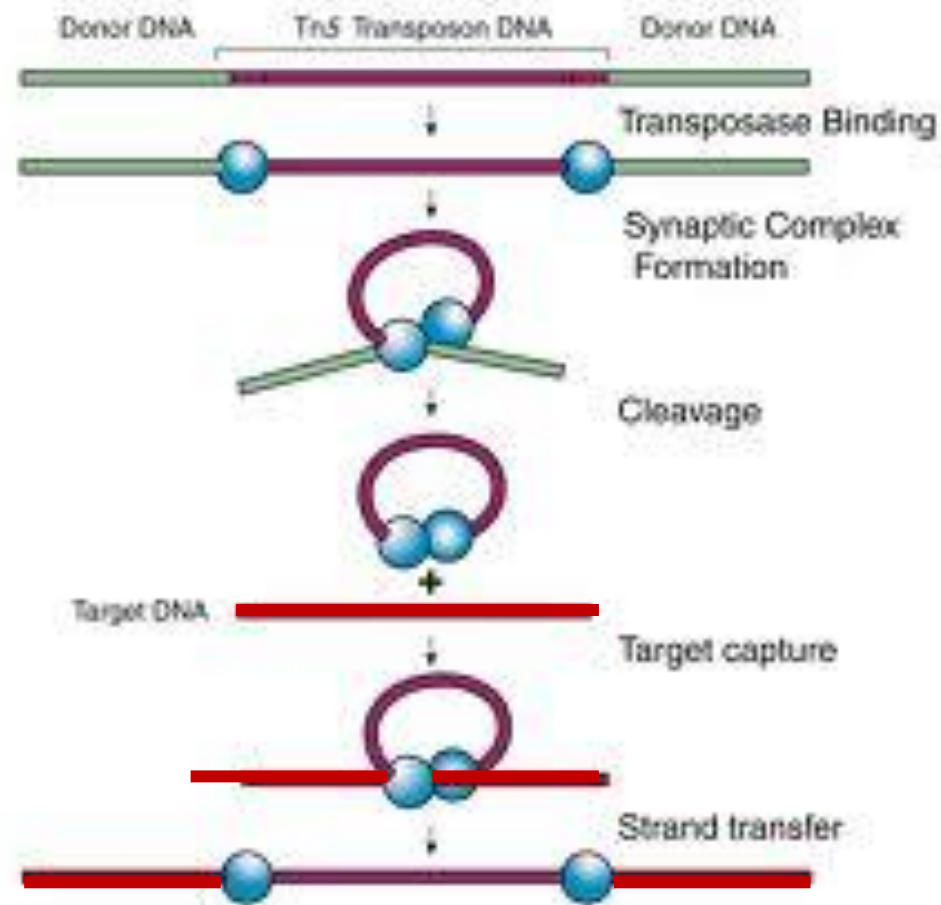


Transposones de DNA

Elementos de reconocimiento
(Repeticiones invertidas Terminales)



Transposones de DNA



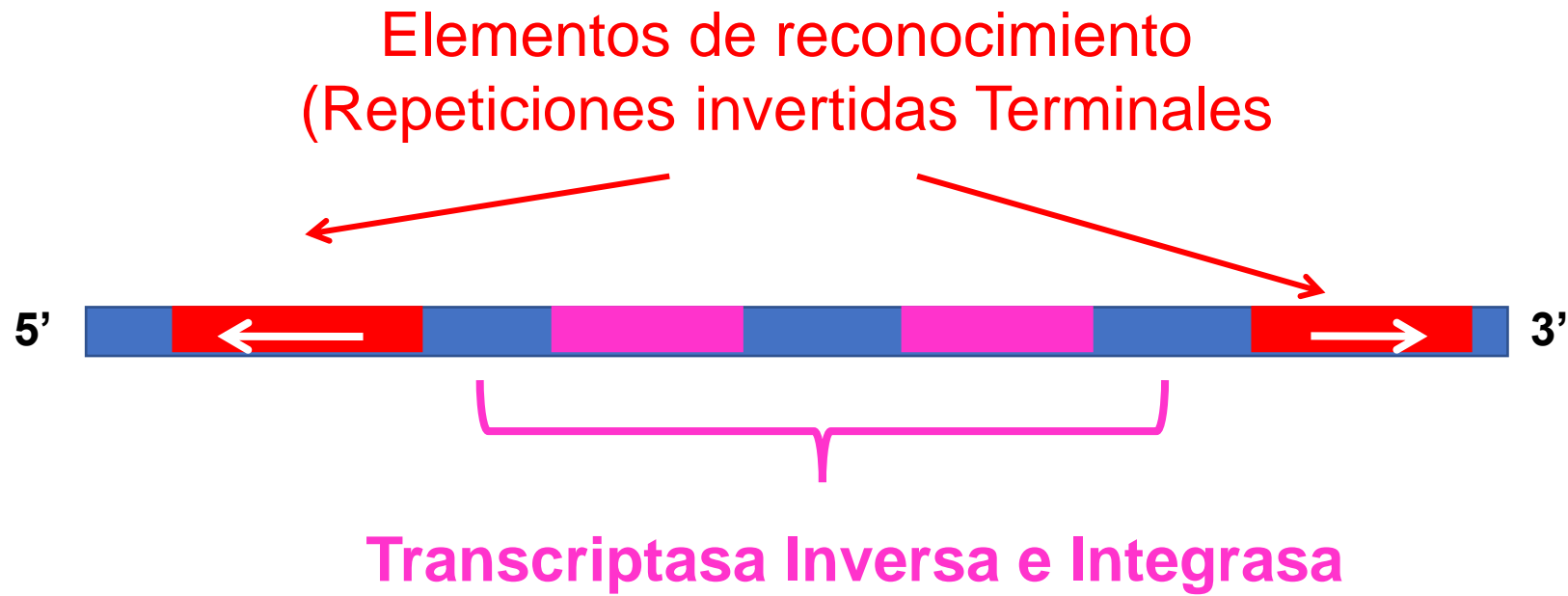
Primer tipo



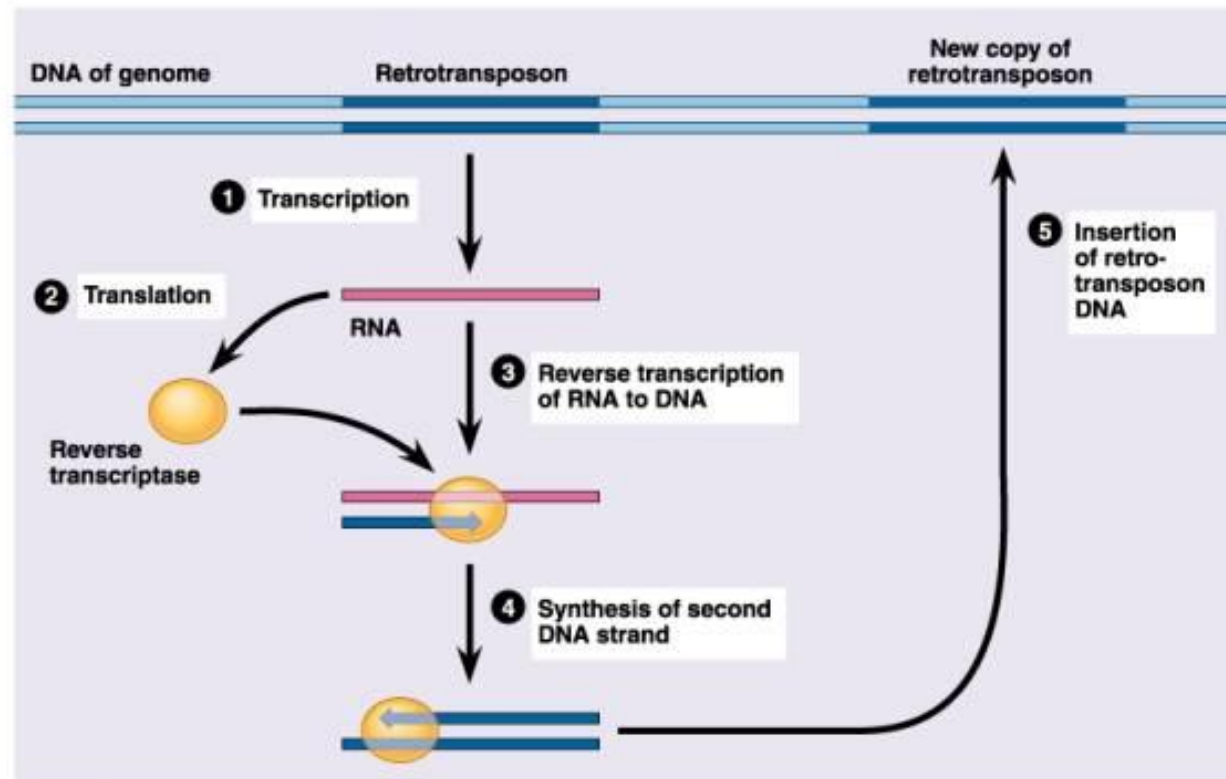
Primer tipo



Retrotransposones



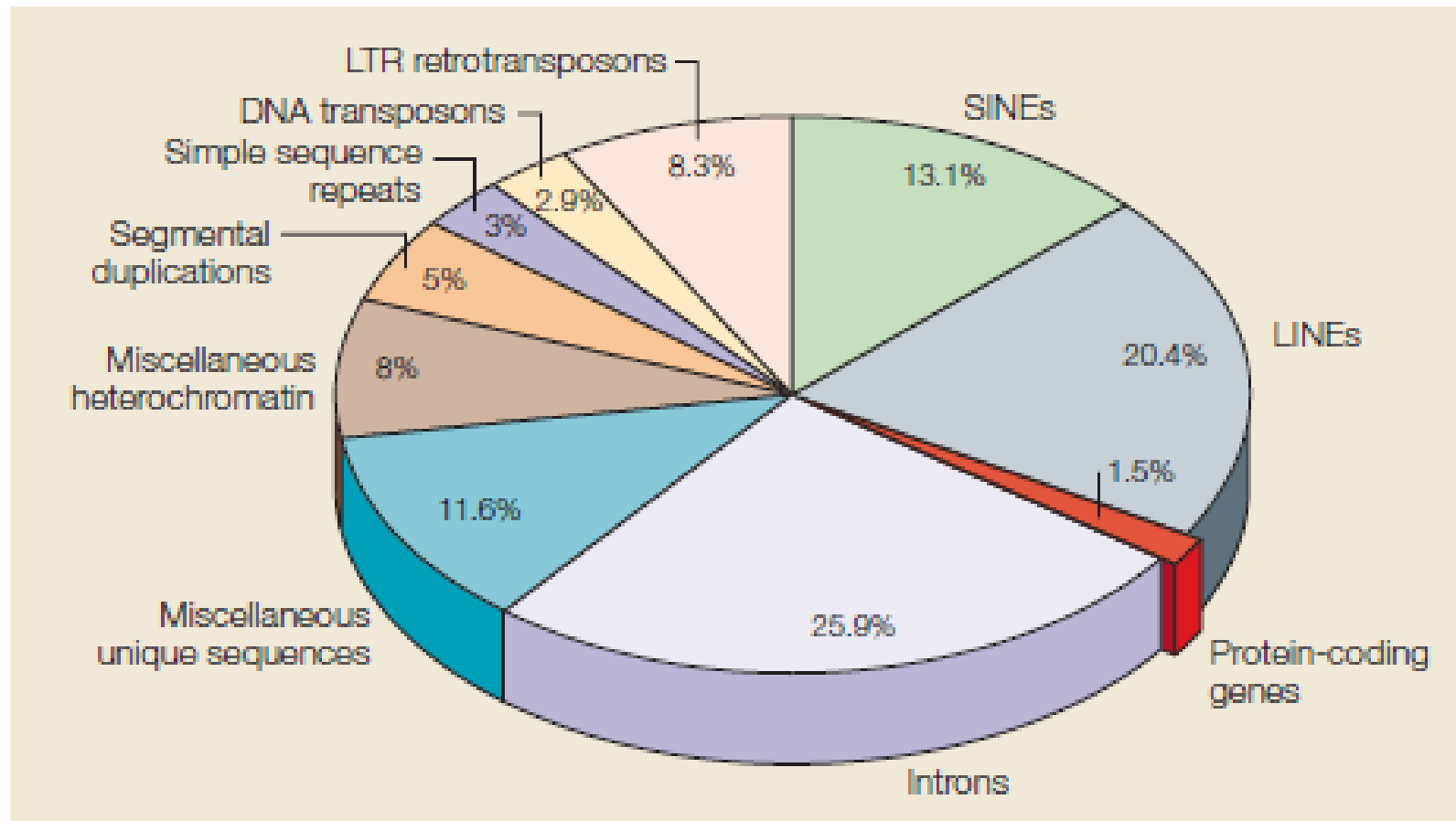
Retrotransposones



Importancia de transposones:

- La cantidad de transposones varia de un organismo a otro.
- Aproximadamente, 50% del genoma humana esta compuesto por secuencias relacionadas con transposones.
- En muchos organismos es la fuente más común de mutaciones
- Es un fuente importante para innovación genética.
- Una herramienta importante en Biología Molecular.

El genoma Humana



Transferencia de material Genético en Procariontas

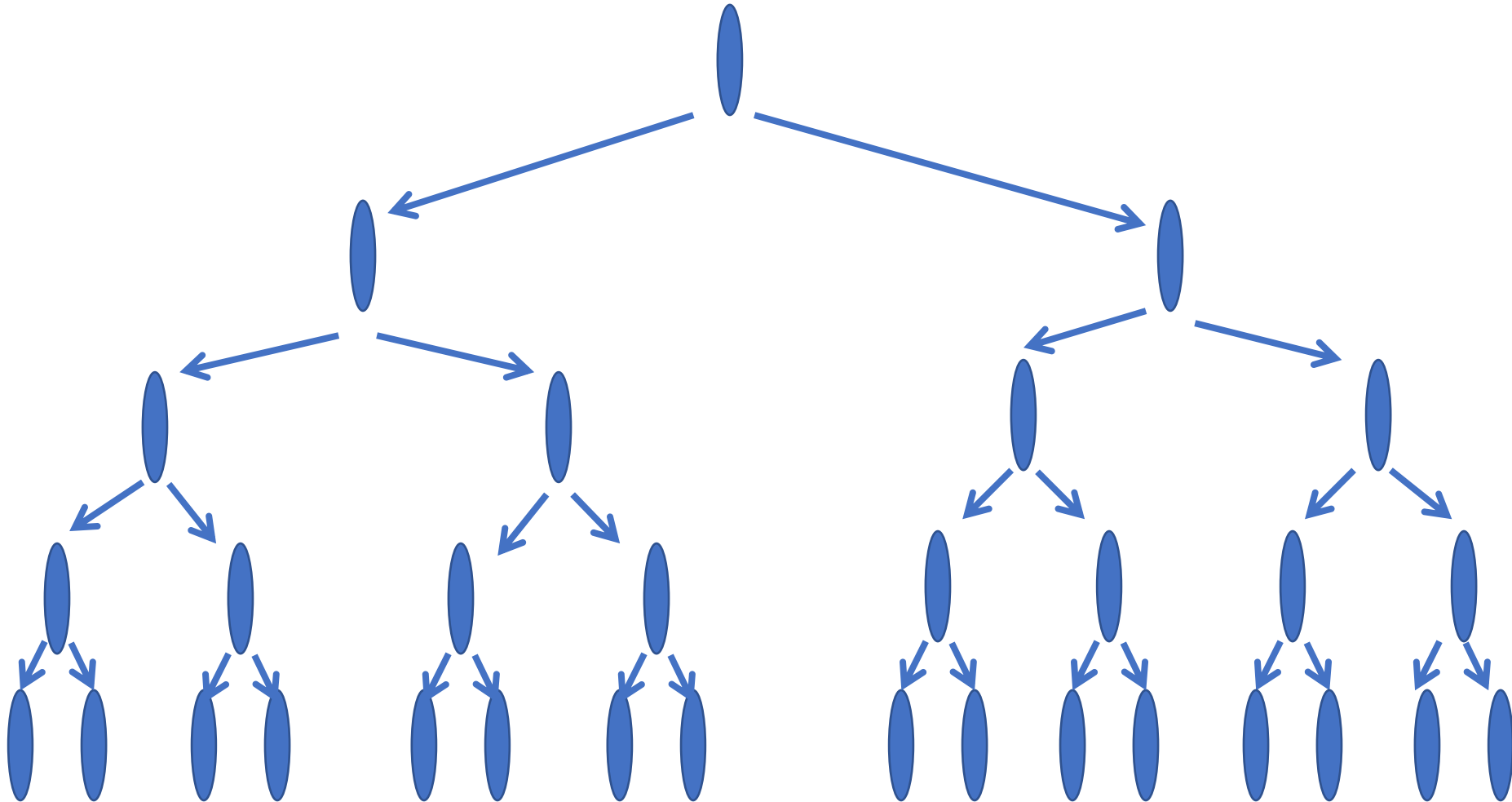
Ziv Arbeli



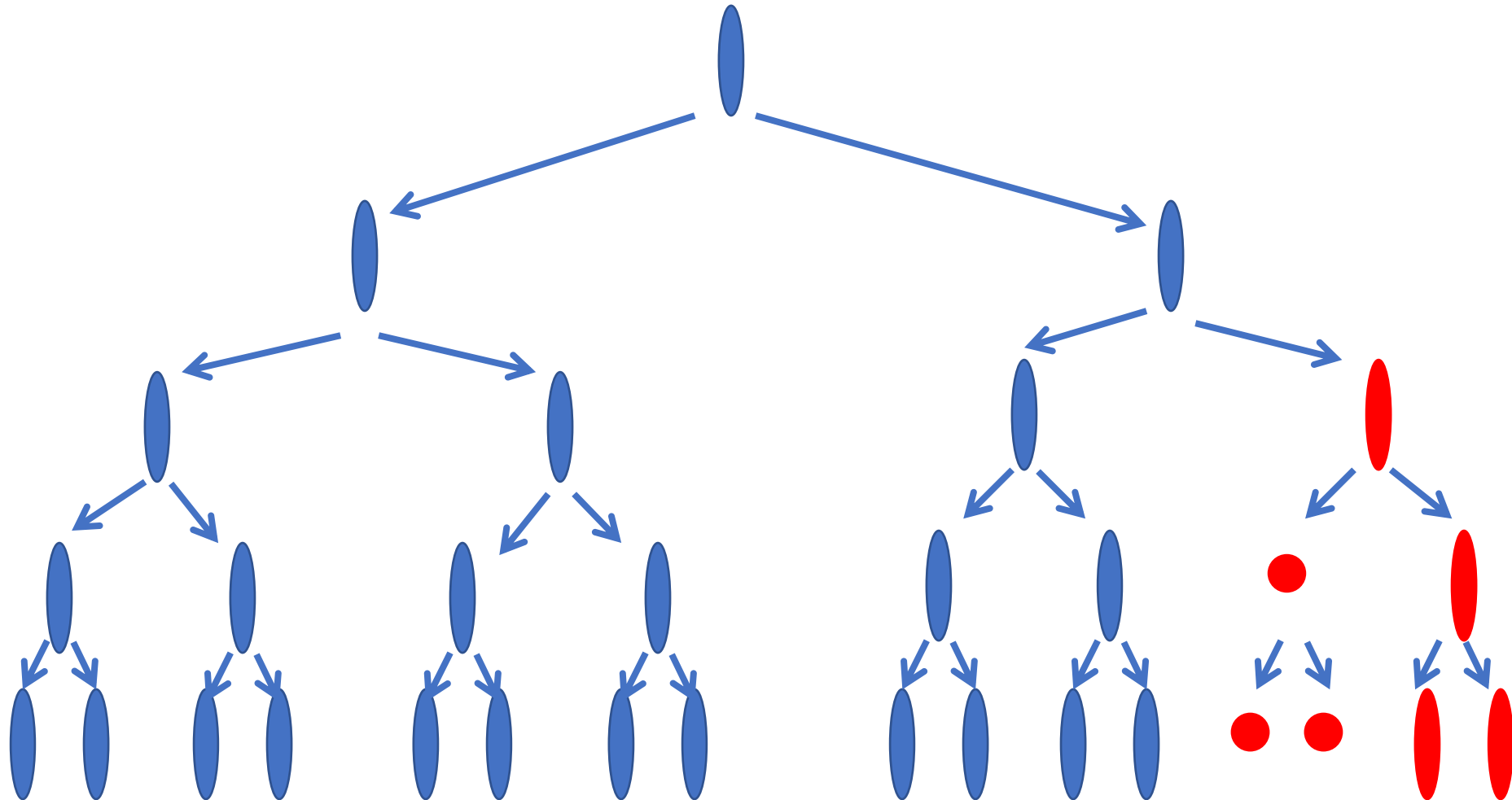
Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá



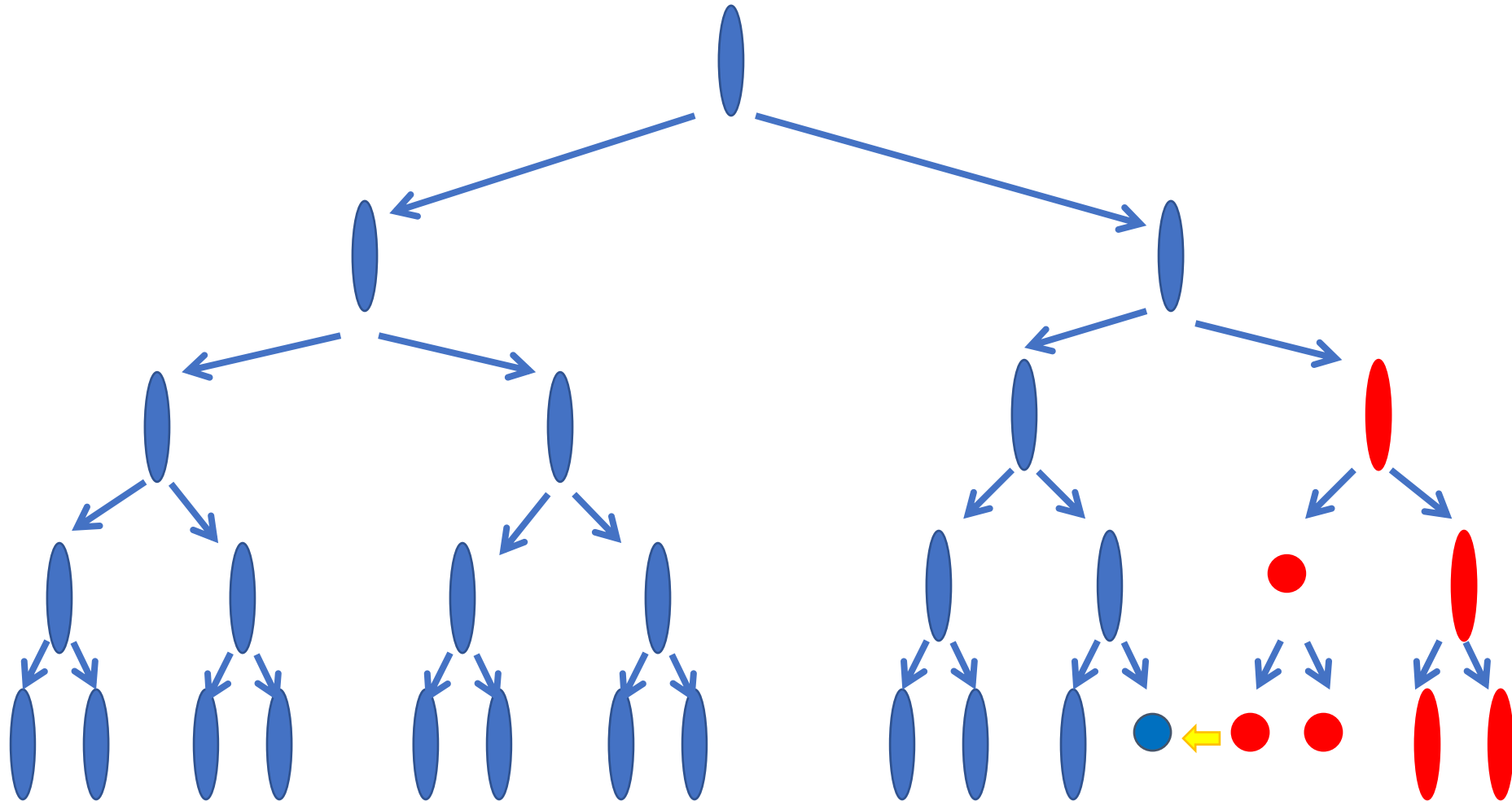
Población Clonal



Población Clonal



Transferencia Horizontal

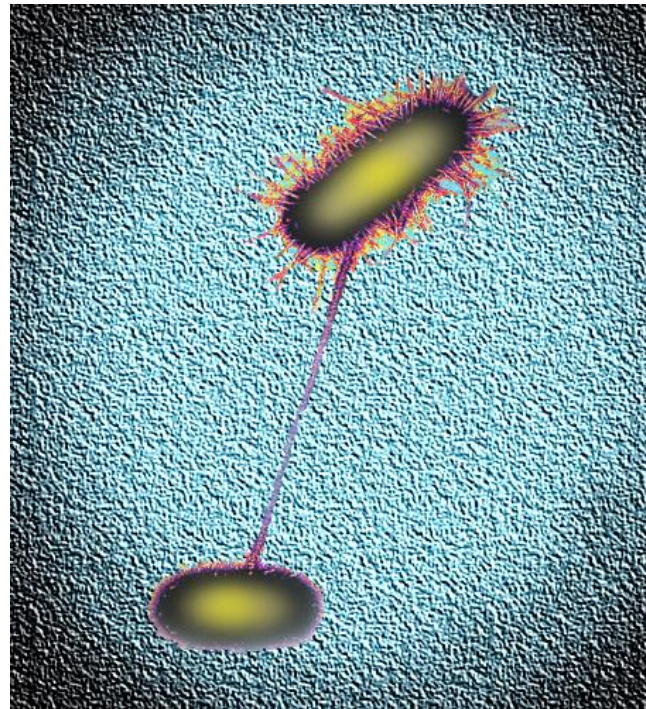


OPINION

Do bacteria have sex?

Rosemary J. Redfield

NATURE REVIEWS | **GENETICS**
634 | AUGUST 2001 | VOLUME 2



nature
REVIEWS

GENETICS



NEUROGENETICS
Progress in understanding the
pathogenesis of major neurodegenerative

Boys and girls
Development and resolution of
sex-specific traits

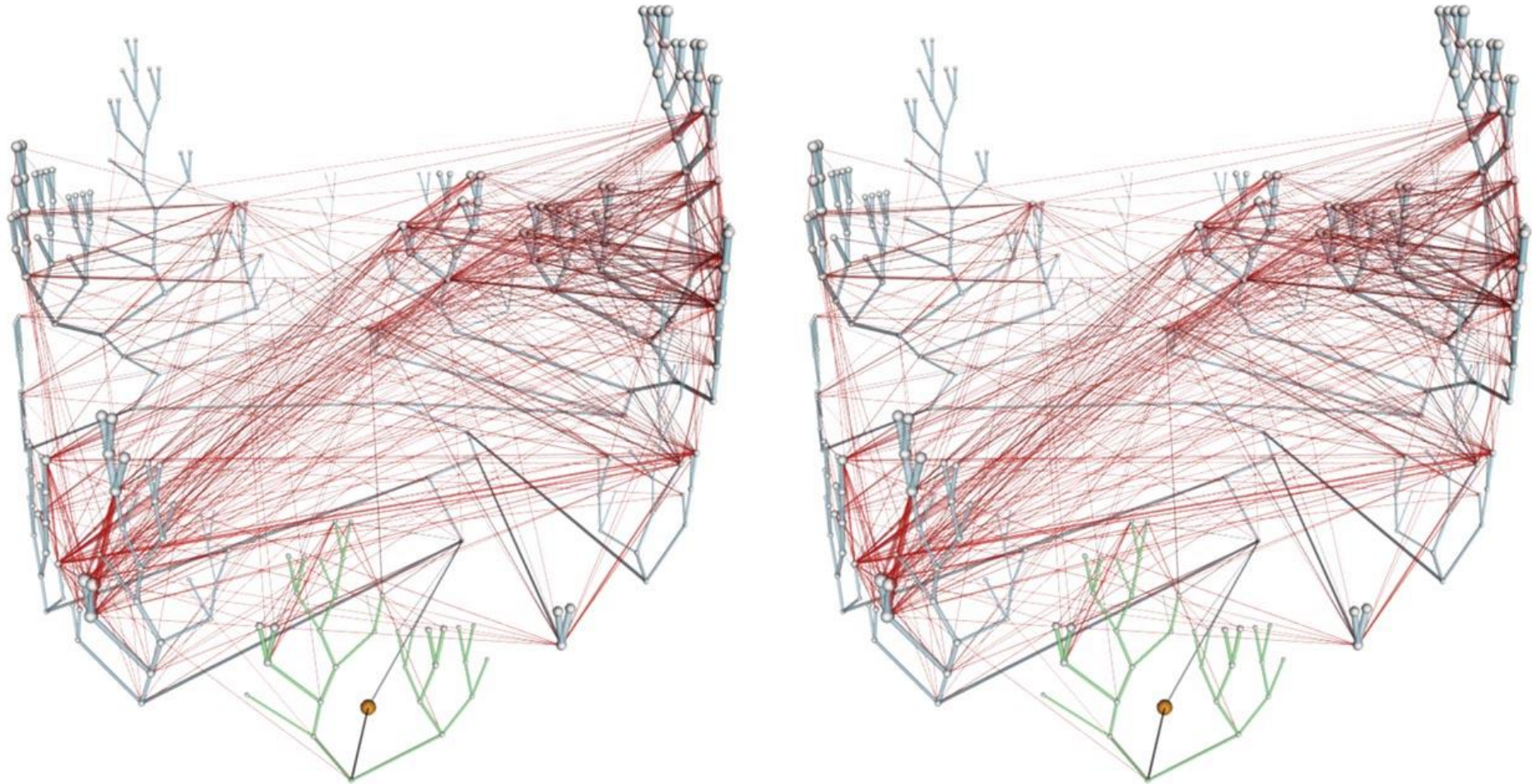
How clonal are bacteria?

(recombination/linkage disequilibrium/population structure/genetic transformation/parasite evolution)

JOHN MAYNARD SMITH, NOEL H. SMITH, MARIA O'ROURKE, AND BRIAN G. SPRATT

1. Poblaciones totalmente sexual (*Neisseria gonorrhoeae*)
2. Poblaciones sexual pero a veces temporalmente pueden ser clonal (*Neisseria meningitidis*)
3. Poblaciones sexuales a nivel cercano sin recombinación entre poblaciones lejanos (*Rhizobium*)
4. Poblaciones clónales en todos los niveles (*Salmonella*)

Grupos filogenéticos que intercambian genes por Recombinación homóloga



Inserción de nuevos genes (y funciones)



Insertión de
nuevos genes (y
funciones)

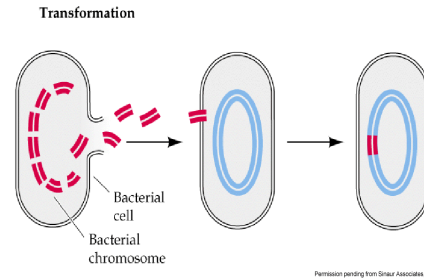


Nueva característica en bacterias

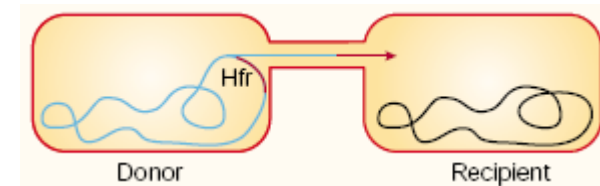
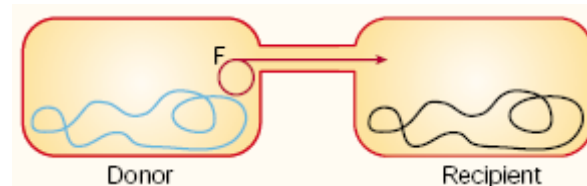


Mecanismo de Transferencia de Material Genético (los clásicos)

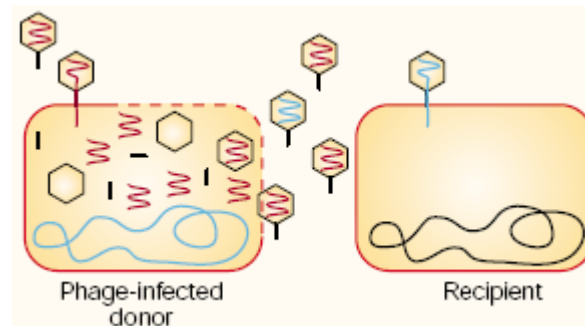
- Transformación.



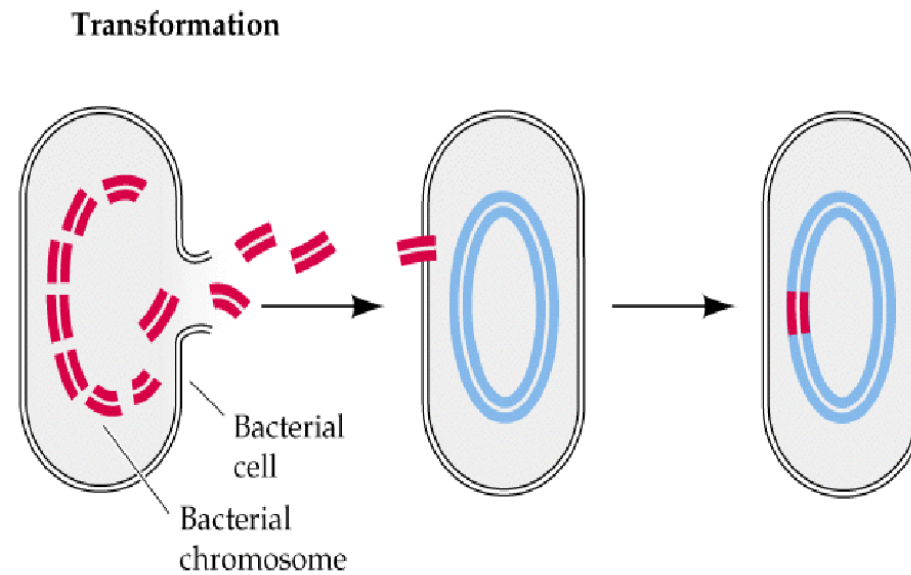
- Conjugación.



- Transducción.



Transformación:

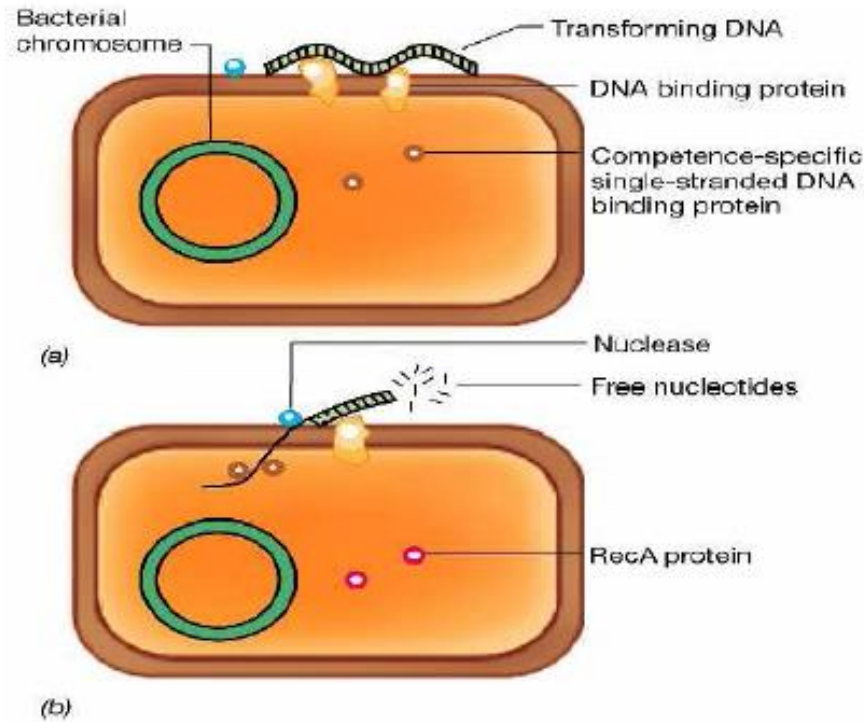


Permission pending from Sinaur Associates, Inc.

Células competentes

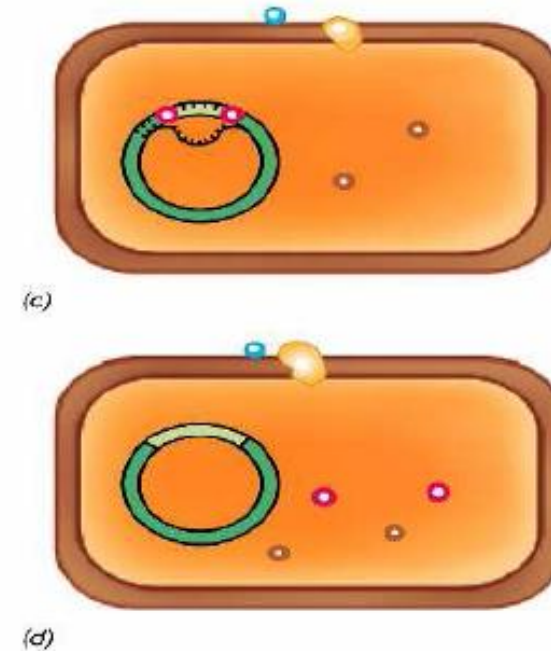
- Células que tienen la capacidad de adquirir DNA del ambiente.
- Solo una pequeña fracción de la población están competentes.
- Expresan proteínas que activamente promueven la transformación.
 - p.e proteínas membranales que retienen DNA en la membrana.
- Pueden retener 1000 veces más DNA en su membrana que células no competentes.

Transformación



Entrada de DNA de cadena sencilla

Recombinación homóloga
Proteína Rec A



Se produjo un intercambio del gen

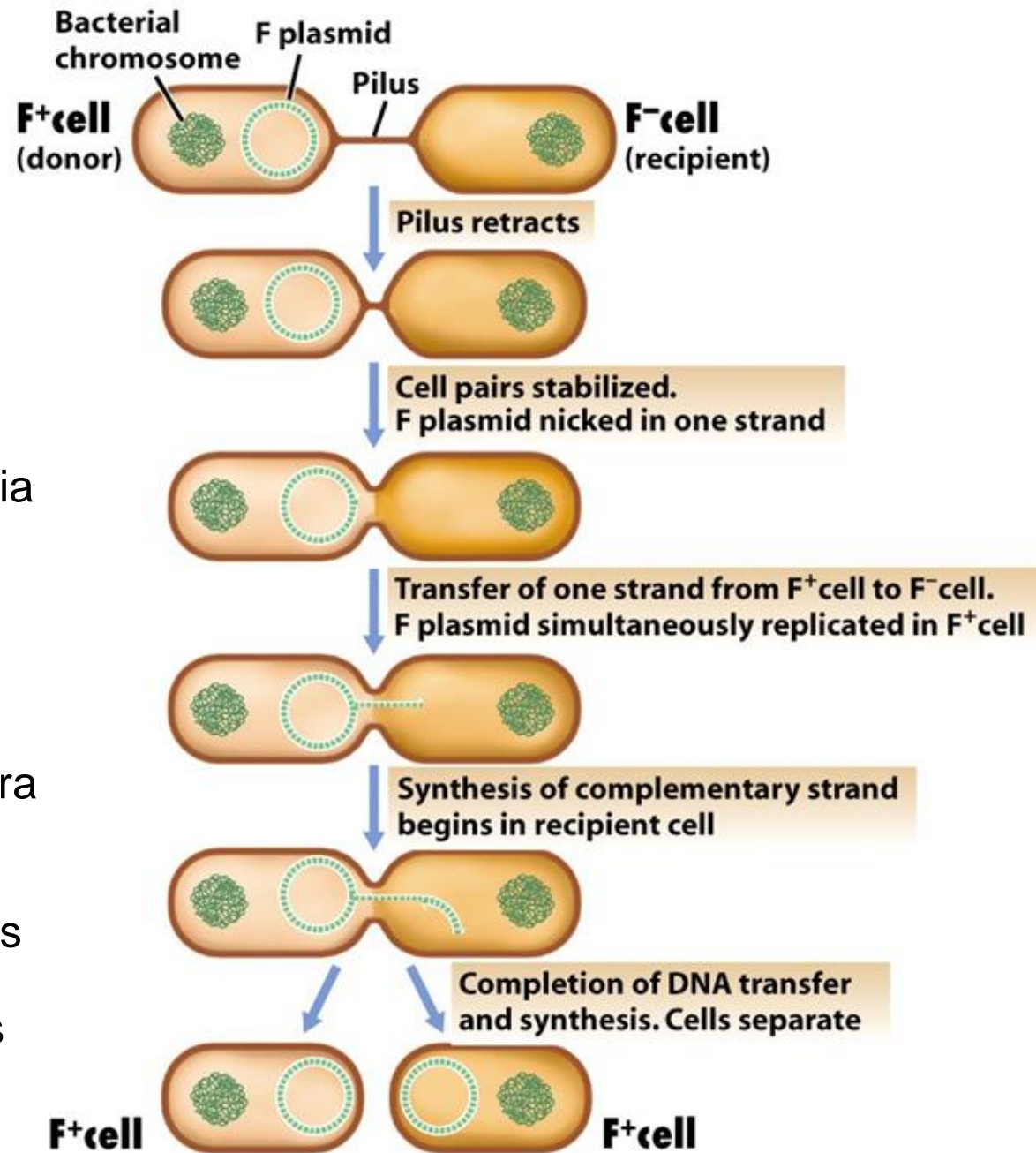
Conjugación (Lederberg y Tatum 1946)

- Depende en contacto físico entre 2 células.
- Ocurre por la existencia de genes específicos que están en plásmidos u otros elementos genéticos móviles (transposomas conjugativos).

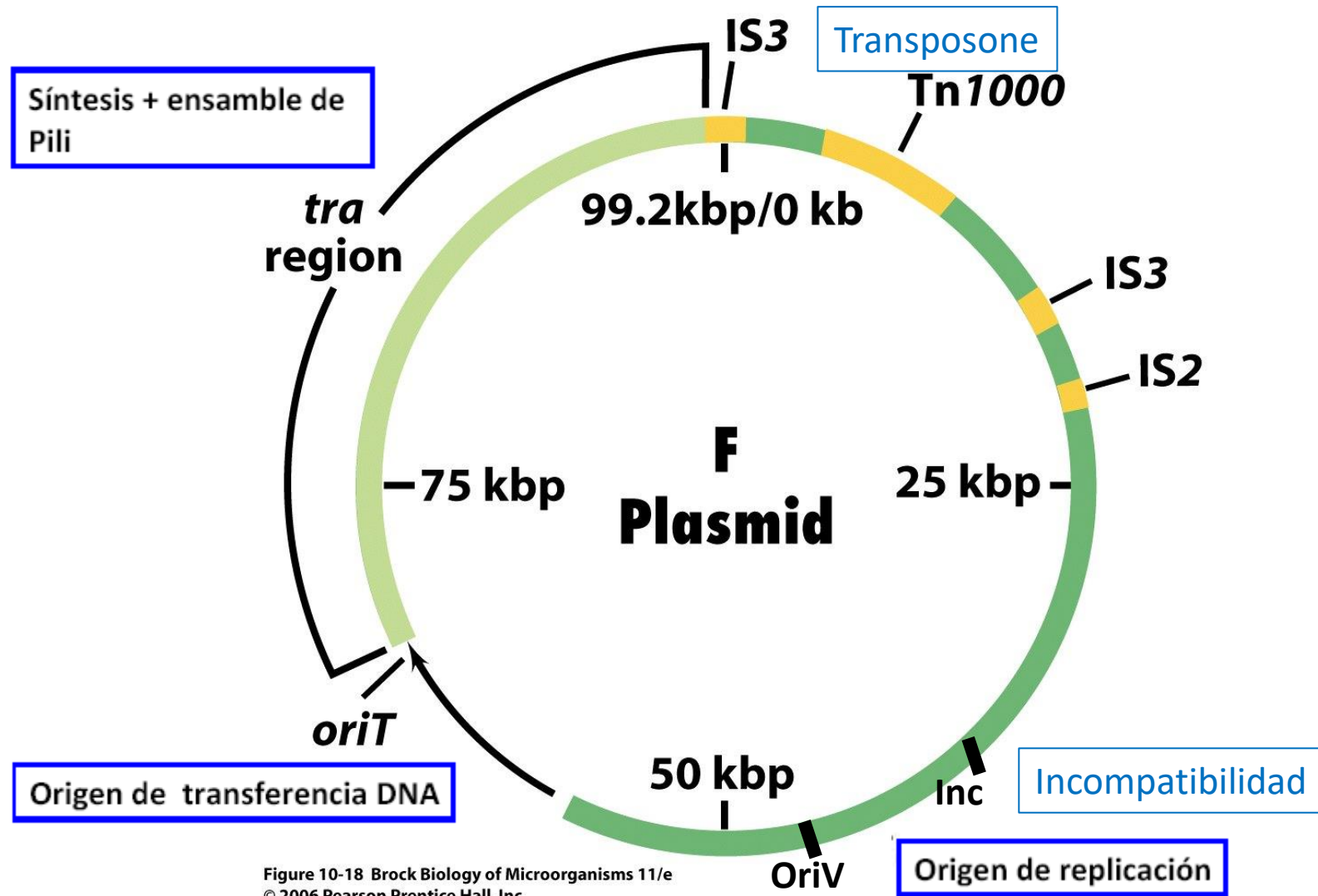


Conjugación

1. Detectar otra bacteria
2. Formación del Pili
3. Contacto con otra bacteria
4. Formación de un puente entre las citoplasmas.
5. Corte del plásmido y transferencia de una hebra de DNA a la célula F-
6. Replicación de las hebras complementarias y separación de las células



Plásmido F (Autotransferible)

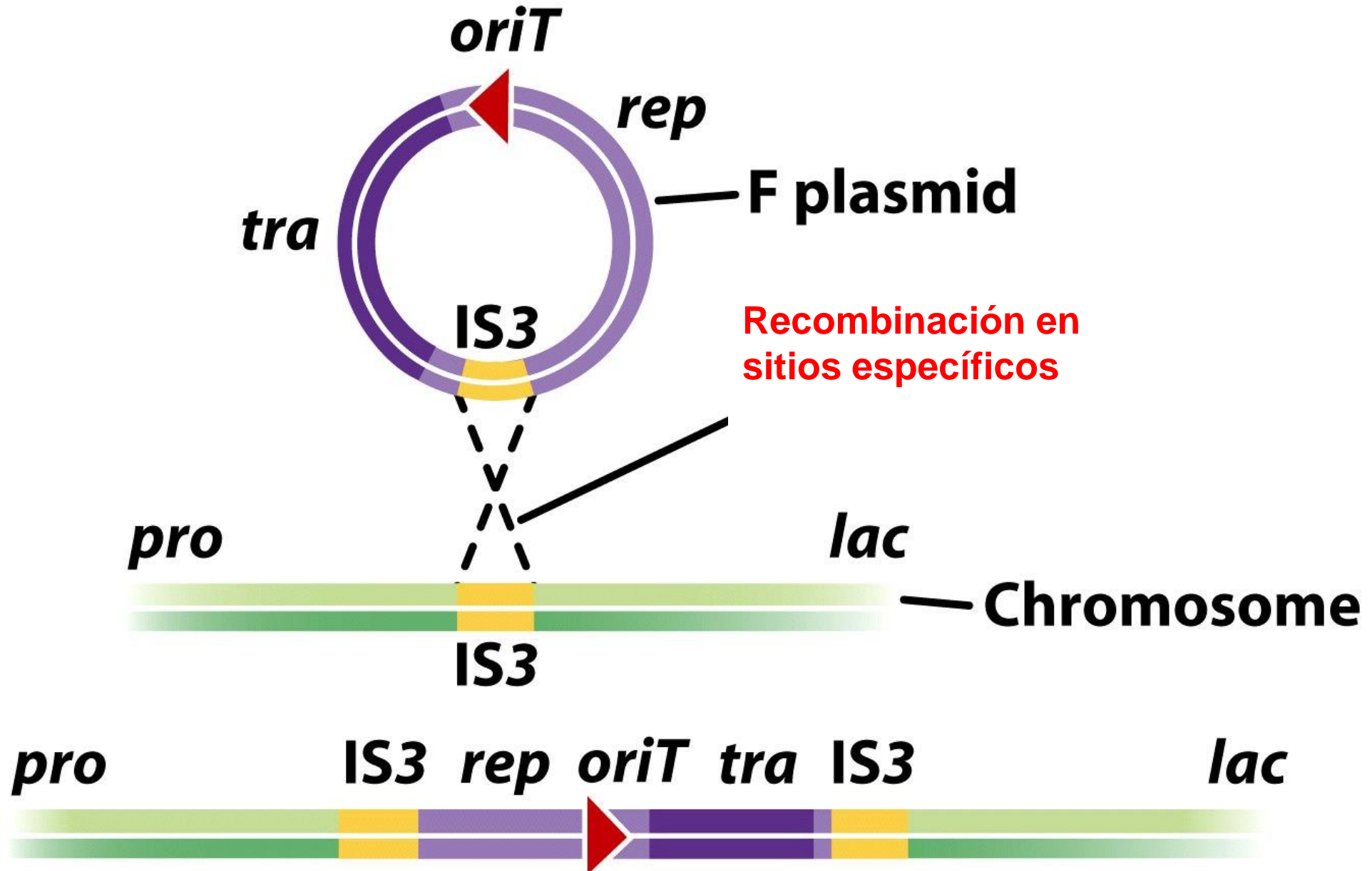


El Operon Tra

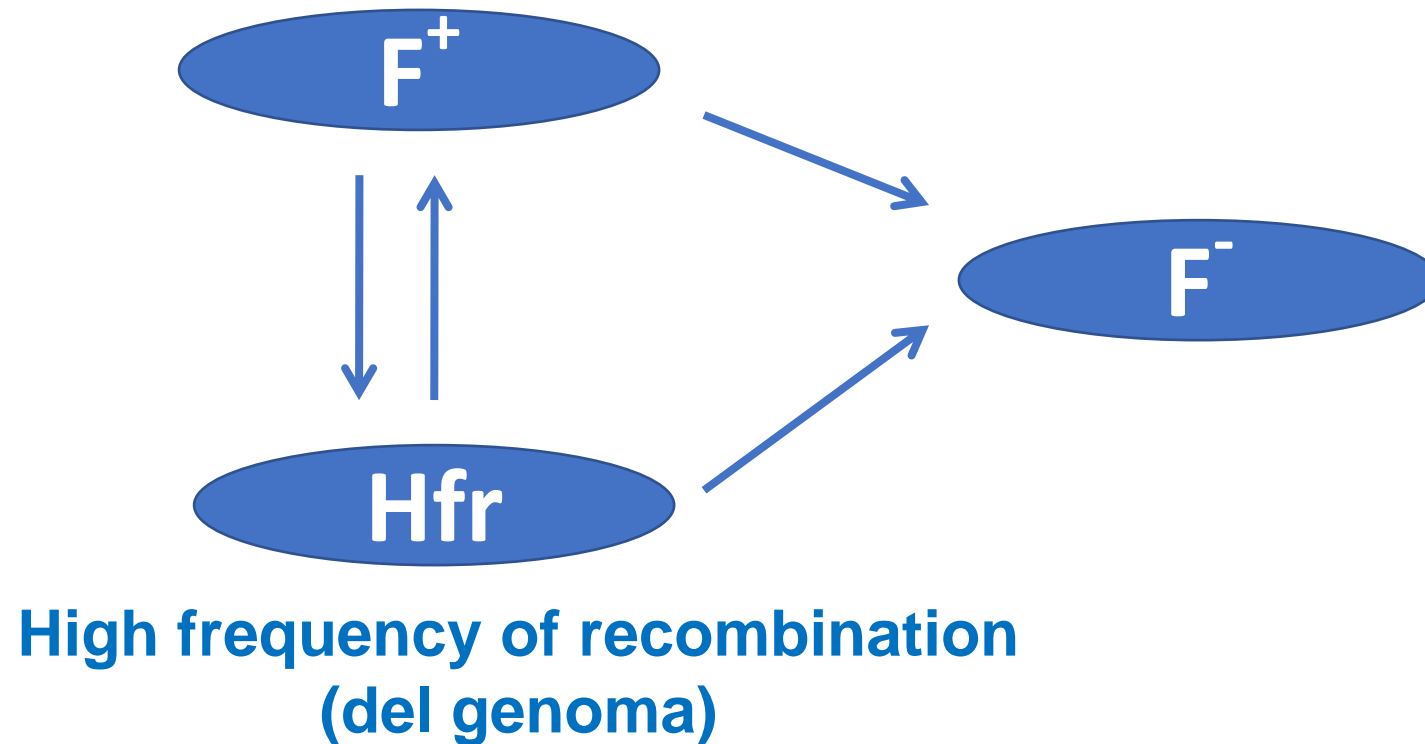
Distintos genes en la operon

Ensamblaje del Pili	<i>traA, traB, traE, traC,</i> <i>traF, traG, traH, traK,</i> <i>traL, traQ, traU, traV, traW,</i>
Proteínas de la membrana interna	<i>traB, traE, traG,</i> <i>traL, traP</i>
Proteínas Periplasmáticos	<i>traC, traF, traH</i> <i>traK, traU, traW</i>
Transferencia de DNA	<i>traC, traD, traI,</i> <i>traM, traY</i>
Surface Exclusion Proteins	<i>traS, traT</i>
Mating Pair Stabilization	<i>traN, traG</i>

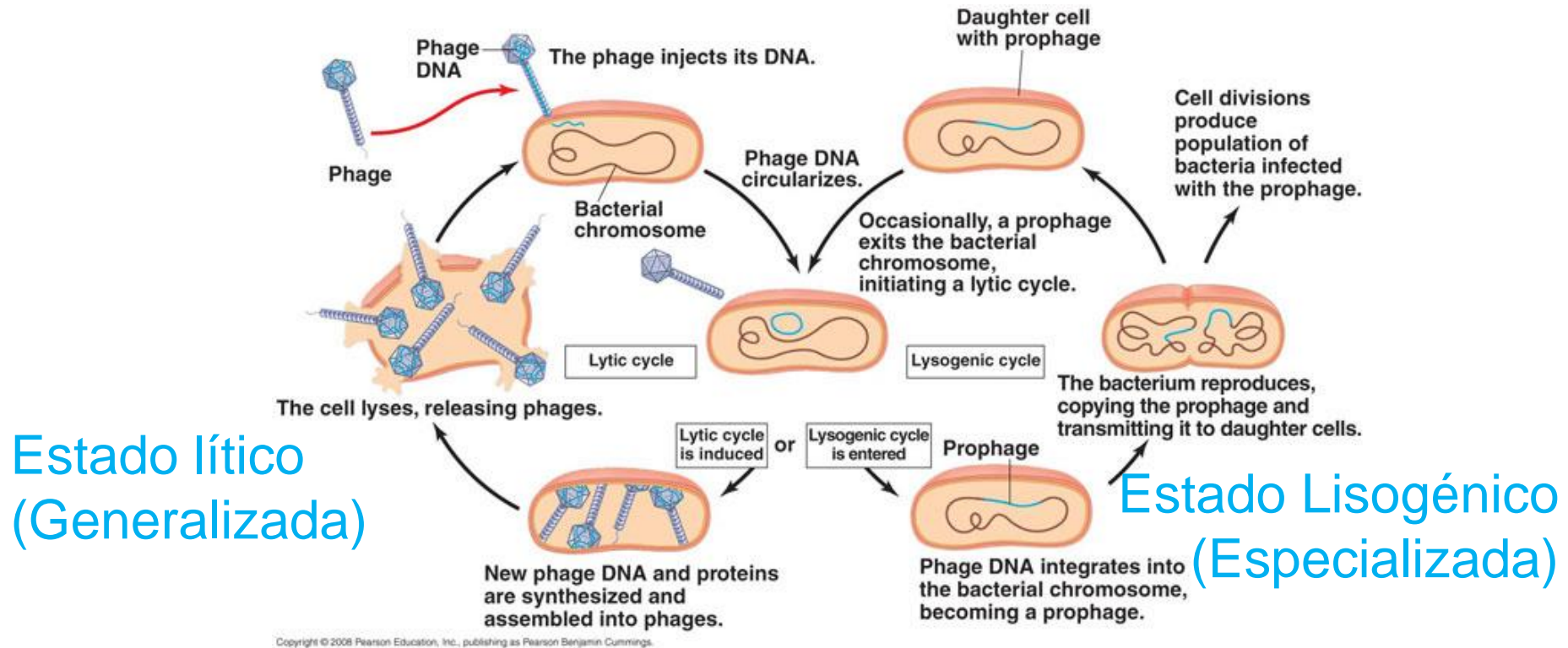
Integración del plásmido en la cromosoma



Tipos de células



Transducción: Transferencia de material genético mediado por virus



<https://www.youtube.com/watch?v=Jg3yYpzXzrQ>

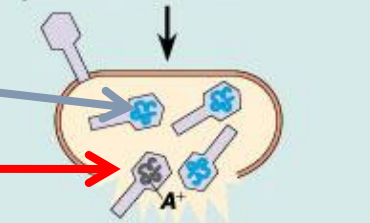
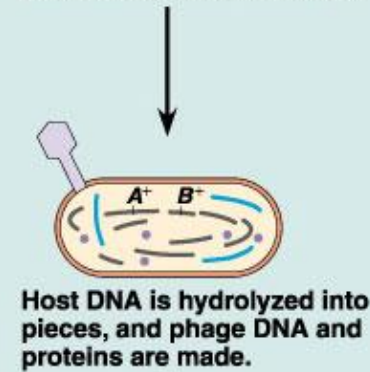
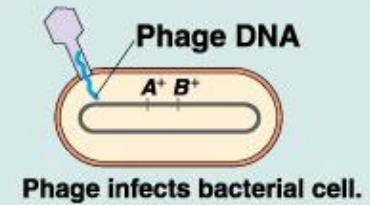
Transducción especializada y generalizada

Fago con DNA de fago

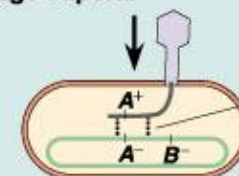
Fago con DNA bacteriano

Fago con parte de DNA bacteriano

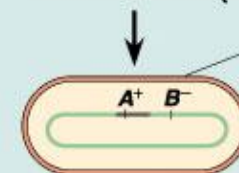
(a) Generalized transduction



Occasionally a bacterial DNA fragment is packaged in a phage capsid.

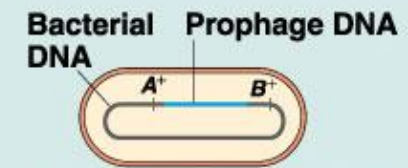


Transducing phages infect new host cells, where recombination (crossing over) can occur.

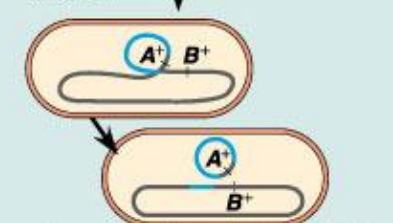


The recombinants have genotypes ($A^+ B^-$) different from either the donor ($A^+ B^+$) or recipient ($A^- B^-$).

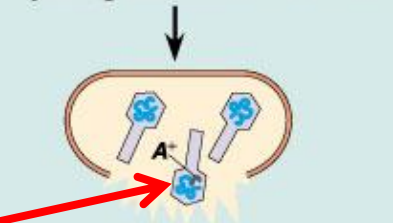
(b) Specialized transduction



Bacterial cell has prophage integrated between genes A and B.

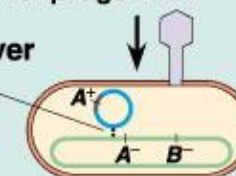


Occasionally, prophage DNA exits incorrectly, taking adjoining bacterial DNA with it.

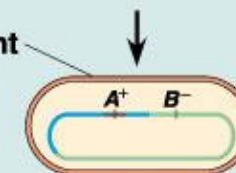


Phage particles carry bacterial DNA (here, gene A) along with phage DNA.

Crossing over



Recombinant bacteria



Transducción especializada y generalizada

- Generalizada

Ocurre en el **ciclo lítico**, a veces el fago puede llevar (por error) **cualquier** fragmento de DNA de la célula infectada.

- Especializada

Ocurre después del **ciclo lisogénico**: DNA vírico insertado se escinde incorrectamente llevándose secuencias del DNA bacteriano **cercanas al sitio de inserción**

Eukaryote-to-eukaryote gene transfer events revealed by the genome sequence of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* EC1118

Maite Novo^{a,1}, Frédéric Bigey^{a,1}, Emmanuelle Beyne^a, Virginie Galeote^a, Frédéric Gavory^b, Sandrine Mallet^c, Brigitte Cambon^a, Jean-Luc Legras^d, Patrick Wincker^b, Serge Casaregola^c, and Sylvie Dequin^{a,2}

^aInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1083 Sciences Pour l'Oenologie, F-34060 Montpellier, France; ^bCommissariat à l'Energie Atomique, Genoscope, F-91057 Evry, France; ^cInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1238 Microbiologie et Génétique Moléculaire, Centre National de la Recherche Scientifique, AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon, France; and ^dInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, F-68021 Colmar, France

PNAS | September 22, 2009 | vol. 106 | no. 38 | 16333–16338

Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution


Patrick J. Keeling and Jeffrey D. Palmer†*

NATURE REVIEWS | GENETICS

VOLUME 9 | AUGUST 2008 | 605

Spotlight

Plant to Insect Horizontal Gene Transfer: Empowering Whiteflies

Louis-Valentin Méteignier,¹
Nicolas Papon,² and
Vincent Courdavault ^{1,*}



Horizontal gene transfer (HGT) is a well-documented evolutionary driving phenomenon in prokaryotes and eukaryotes, but its impact on

for horizontal transfer of functional plant-derived genes to insects has been hitherto missing. In a groundbreaking study published in *Cell*, the first ever gene transfer from plant to insect has been very recently described [6]. Xia, Guo, Yang and colleagues indeed disclosed a functional HGT from an unknown donor plant, conferring the capacity of an arthropod herbivore to feed on toxin-synthesizing plants.

As part of their arsenal, plants synthesize sophisticated **specialized metabolites**

Glossary

Dietary interference RNA: allows for the specific knockdown of a gene by adding an *in vitro* synthesized double-stranded RNA to the regular laboratory diet (glucose and yeast extract) of whiteflies.

Honeydew: a number of sap-feeding arthropods excrete this carbohydrate-rich secretion that has a number of physio-ecological impacts.

Horizontal gene transfer (HGT): the movement of genetic material across the tree of life by other means than those used in the case of parent to offspring genetic inheritance.

Specialized metabolites (toxins): besides the core energy-producing metabolism, plants synthesize a number of compounds, called specialized metabolites, that regulate their interaction with the

Mecanismos de cambios en la genoma

- Mutaciones puntuales (cambios de unos pocos bases).
- Recombinación de DNA.
- Transposición (de genes dentro de la genoma).
- Transferencia horizontal de genes.



- Modificación de genes
- Duplicación de genes
- Inactivación de genes
- Delección de genes.
- Adquisición de nuevos genes
- Modificación de la expresión de genes.

¿Preguntas?

Para llevar a la casa...

Recombinación Homologa	Recombinación en sitios específicos
Intercambio de alelos en la meiosis	Insertión / Delección (normalmente de genomas virales o de plásmidos)
En cualquier lugar (pero entre secuencias homologas)	En sitios (secuencias) específicos.
“Salvar” la replicación (cuando hay problemas)	
“Salvar” el DNA cuando hay rupturas de doble cadena	

Fuentes de variabilidad genética en la población