

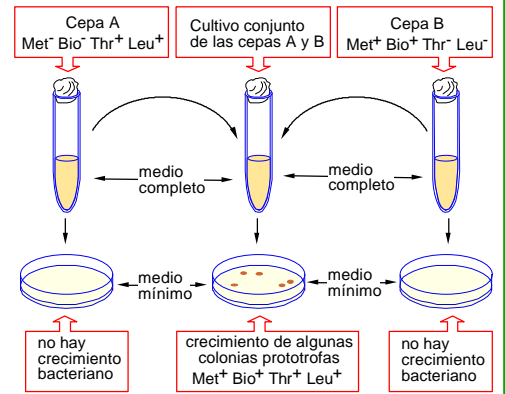
Conjugación bacteriana I.

Descubrimiento de la conjugación

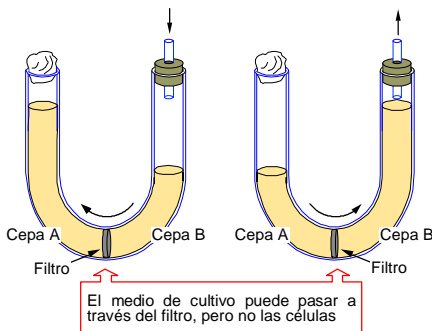
En 1946, Lederberg y Tatum realizaron el experimento con *Escherichia coli* que se esquematiza en la figura de la derecha. Las dos cepas de *E. coli* A y B son incapaces de crecer en medio mínimo. La cepa A ($\text{Met}^- \text{Bio}^- \text{Thr}^+ \text{Leu}^+$) requiere metionina y biotina para crecer, mientras que la cepa B ($\text{Met}^+ \text{Bio}^+ \text{Thr}^- \text{Leu}^-$) requiere treonina y leucina. Tras cultivar juntas las dos cepas durante un tiempo corto y sembrar en medio mínimo las células procedentes de ese cultivo mixto, se observaron colonias prototrofas ($\text{Met}^+ \text{Bio}^+ \text{Thr}^+ \text{Leu}^+$) con una frecuencia muy baja (una colonia de cada 10^7 células sembradas en la placa).

La aparición de estas células sólo puede explicarse por recombinación. La probabilidad de que aparecieran por reversión de dos genes puede excluirse por completo, además de por su probabilidad teórica casi nula, porque no aparecen células prototrofas cuando se cultivan las cepas por separado.

Por otra parte, los resultados de pruebas de transformación resultaron negativos. El DNA aislado de una de las cepas fué incapaz de producir prototrofos en la otra cepa (en aquella época no era posible la transformación en *E. coli*). La ausencia de transformación sugiere la necesidad de contacto entre las células para que aparezcan recombinantes, por lo que se propuso el término conjugación para el fenómeno, cualquiera que fuese, que conducía a la aparición de estas colonias prototrofas.

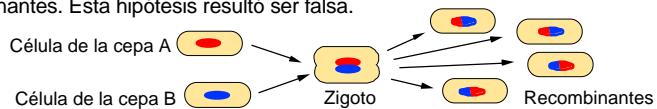


Necesidad de contacto directo entre células para que se produzca conjugación



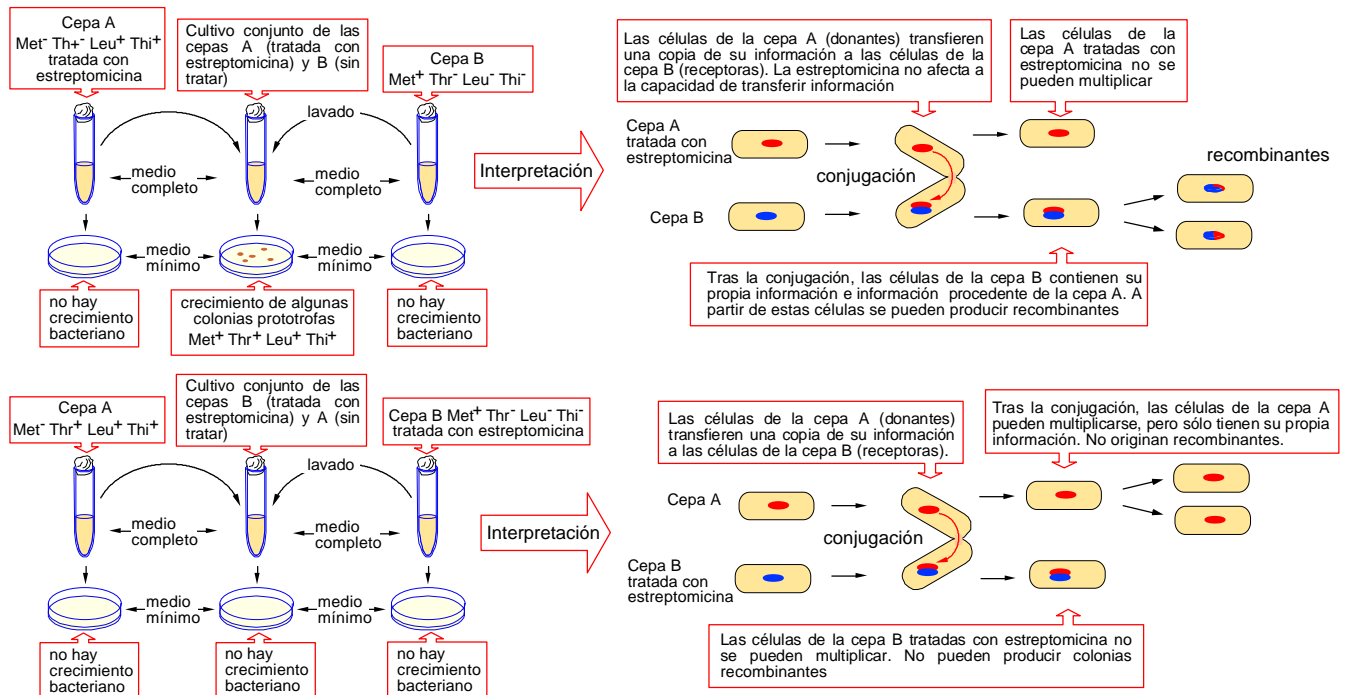
El medio de cultivo puede pasar a través del filtro, pero no las células

En 1950, Davis diseñó un tubo en U con un filtro que impedía el paso de bacterias entre los dos brazos, en los que cultivó las cepas A y B previamente estudiadas por Lederberg. Insuflando y extrayendo aire (véase figura a la izquierda) se puede forzar el paso del medio de cultivo entre los brazos del tubo de tal forma que las células de las dos cepas bacterianas compartan el medio de cultivo pero no estén en contacto. No aparecieron recombinantes, y eso demuestra que es necesario que las células de las dos cepas entren en contacto directo para que se produzca la conjugación. Eso hizo pensar en la posibilidad de que la conjugación consistiera en algo parecido a lo que ocurre en eucariotas: formación de un "zigoto diploide" y segregación de células "haploides" entre los que se encontrarían los recombinantes. Esta hipótesis resultó ser falsa.



Participación desigual de las células conjugantes: donantes y receptoras

En 1952 Hayes realizó una serie de experimentos de conjugación a partir del cruzamiento entre las dos cepas (A) $\text{Met}^- \text{Thr}^+ \text{Leu}^+ \text{Thi}^+$ x (B) $\text{Met}^+ \text{Thr}^- \text{Leu}^- \text{Thi}^-$. En la siguiente figura se indican esquemáticamente estos experimentos: al tratar células de la cepa A con una dosis relativamente fuerte de estreptomina antes de poner en contacto las dos cepas, el número de recombinantes capaces de crecer en medio mínimo era prácticamente el mismo al que se obtenía sin el tratamiento con estreptomina. Sin embargo, cuando eran las células de la cepa B las que se trataban con estreptomina antes de la conjugación, no aparecían recombinantes. Estos resultados pueden interpretarse bajo la hipótesis de una participación desigual de las células conjugantes: las células de la cepa A son *donantes* que transfieren información a las células de la cepa B que son *receptoras*. En las células de la cepa B se produce la recombinación y a partir de esas células se forman los descendientes prototrofos (recombinantes). La estreptomina afecta a funciones celulares importantes para la multiplicación celular por lo que, si las células B se tratan con estreptomina, no tienen descendientes y no pueden aparecer recombinantes derivados de la conjugación. Sin embargo, la estreptomina no afecta a la capacidad de transferir información por parte de las células de la cepa A.



Con anterioridad a estos experimentos se había observado que no todos los "cruzamientos" entre distintas cepas de *E. coli* eran "fértil", es decir, no se producía conjugación (medido como la capacidad de producir recombinantes) entre dos cepas cualesquiera. Algunas cepas, como la cepa A del experimento de Hayes, eran capaces de producir recombinantes mediante conjugación con cualquier otra cepa. Sin embargo, el cruzamiento entre dos cepas del tipo de la cepa B utilizada por Hayes no producía recombinantes. La existencia de cepas donantes y receptoras explica estas observaciones. Dos cepas donantes pueden intercambiar información en los dos sentidos, son donantes y receptoras. Sin embargo, dos cepas que sólo son receptoras no pueden intercambiar información.