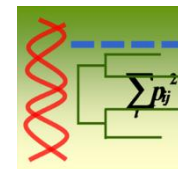


EFFECTE DE LA RECOMBINACIÓ EN LES FILOGÈNIES BACTERIANES

Maribel Farfán Sellarés

Grup de Genètica de Poblacions Bacterianes i Filogènia Molecular



Unitat de Microbiologia

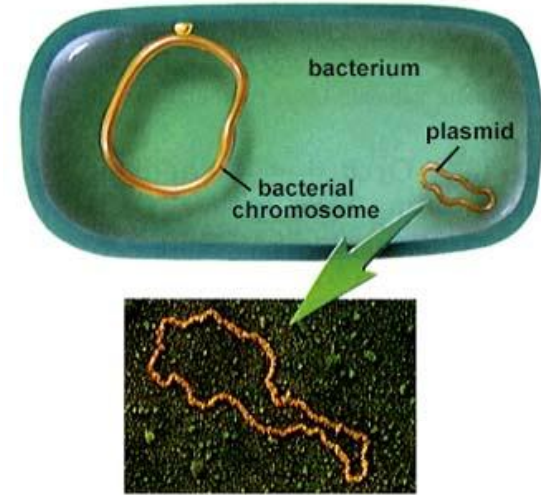
Departament de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries

Facultat de Farmàcia

Material genètic dels bacteris

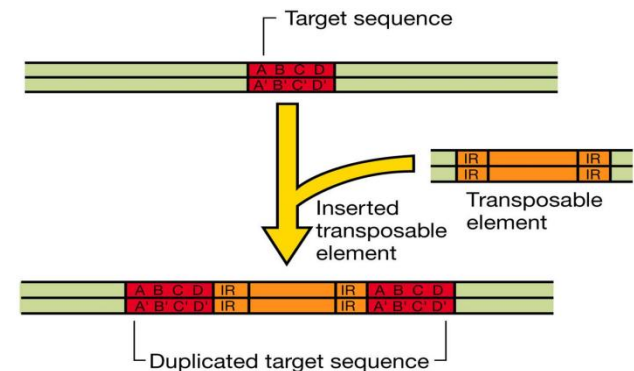
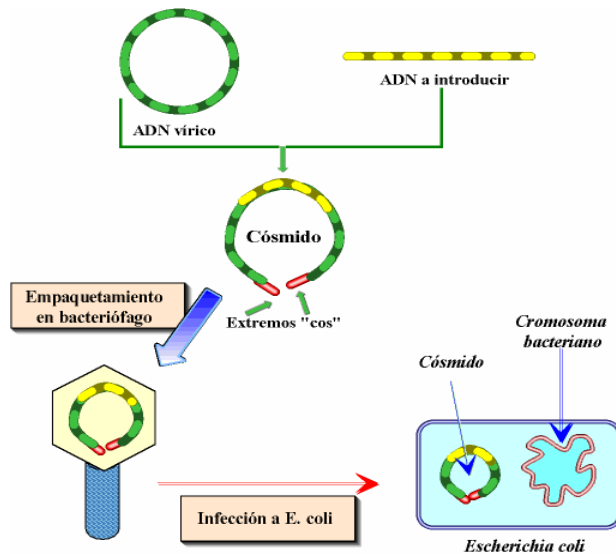
- **Cromosoma**

- ✓ DNA
- ✓ Circular
- ✓ Bicatenari i antiparal·lel
- ✓ Haploide (alguna excepció)



- **Material genètic extracromosòmic**

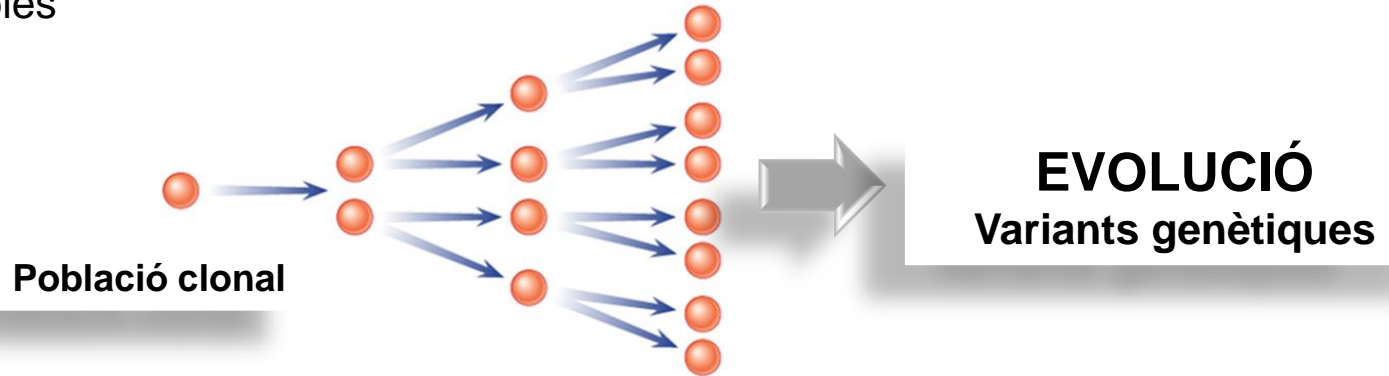
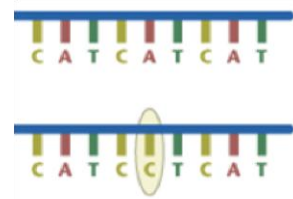
- ✓ Estructures i elements genètics mòbils (ex. plasmidis, còsmids, transposons, etc.)



Variabilitat genètica en bacteris

☐ Per mutacions

- ✓ Canvis o variacions del material genètic d'un organisme
- ✓ Heretables



- ✓ Causes:
 - Mutacions espontànies (ex. error en la replicació del DNA)
 - Mutacions induïdes per agents mutagènics (ex. àcid nitròs, radiacions ionitzants)
- ✓ Mutacions puntuals: afecten a una parella de bases
 - Sinònimes
 - No sinònimes
- ✓ Mutacions cromosòmiques: duplicacions, insercions, delecions, inversions

Reparació de lesions del DNA

- Correcció directe del DNA danyat
- Eliminació de la regió lesionada i reparació

□ Reparació directe de DNA

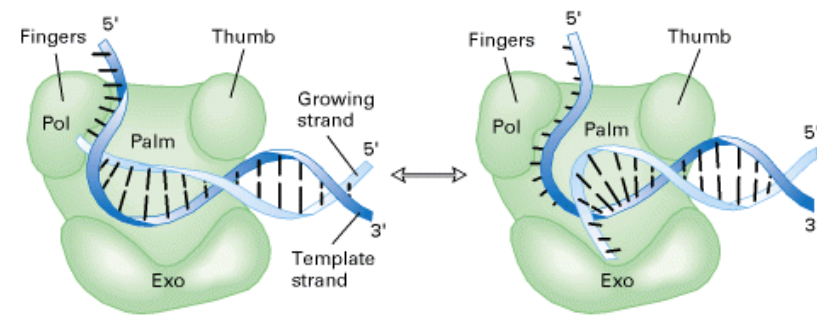
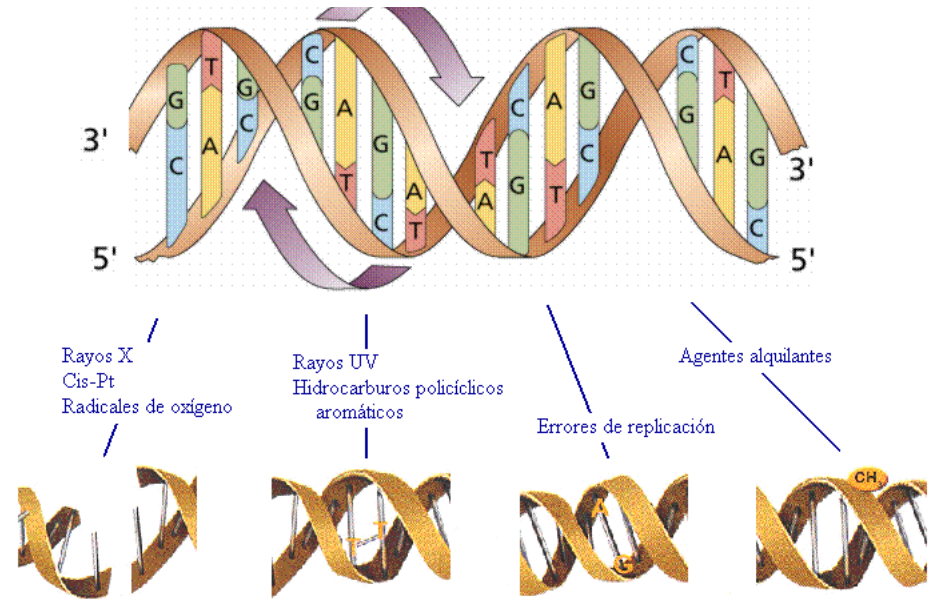
- ✓ Fotoreactivació (fotoliasas)

□ Reparació per escisió de DNA

- ✓ Per escisió de bases (BER)
- ✓ Per escisió de nucleòtids (NER)

□ Mecanismes de reparació post-replicatius

- ✓ Reparació per mal aparellament de bases
- ✓ Reparació per recombinació de trencaments de doble cadena

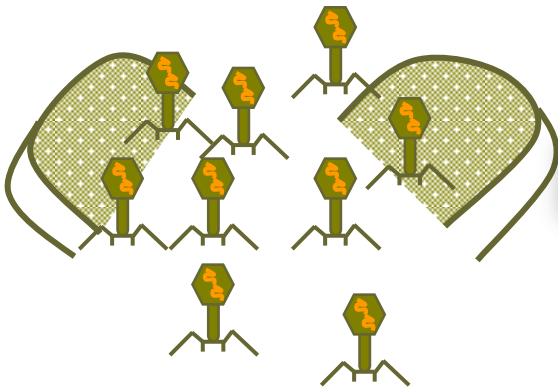


DNA polimerasa III d'*E.coli*

Variabilitat genètica en bacteris

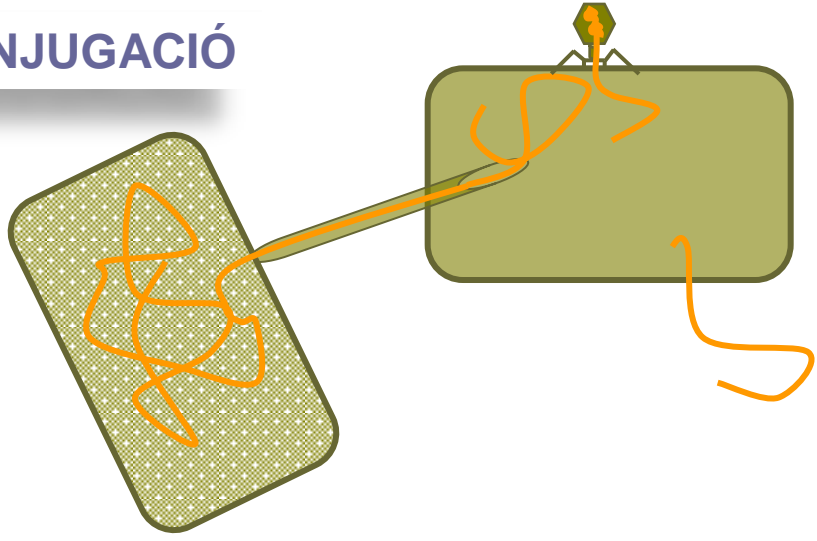
□ Per transferència horitzontal de gens (HGT)

Mecanismes de transferència genètica

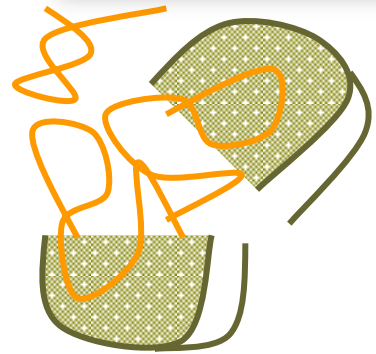


TRANSDUCCIÓ

CONJUGACIÓ

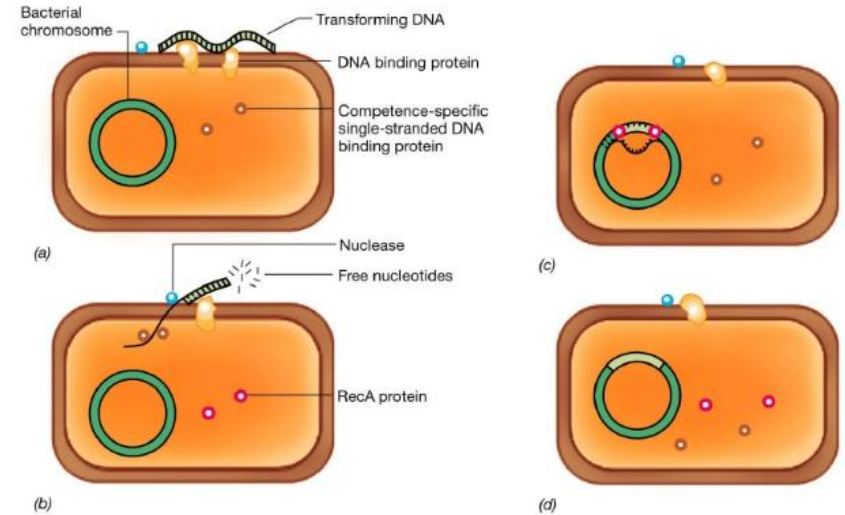
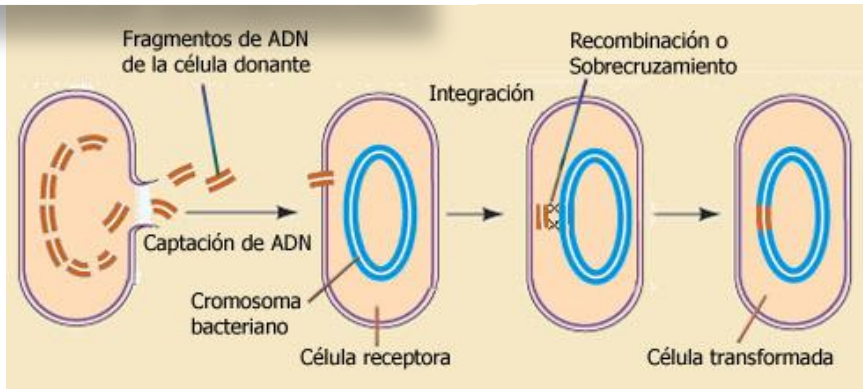


TRANSFORMACIÓ



Mecanismes de transferència genètica

TRANSFORMACIÓ

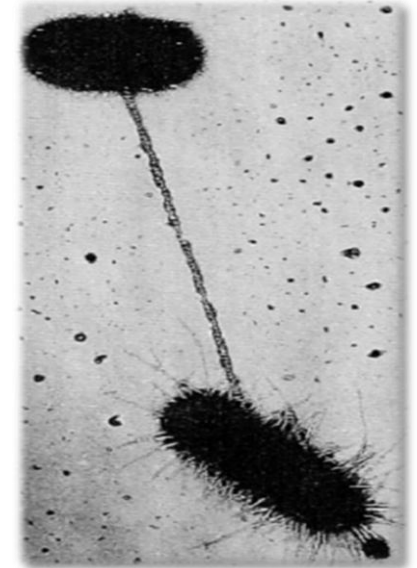
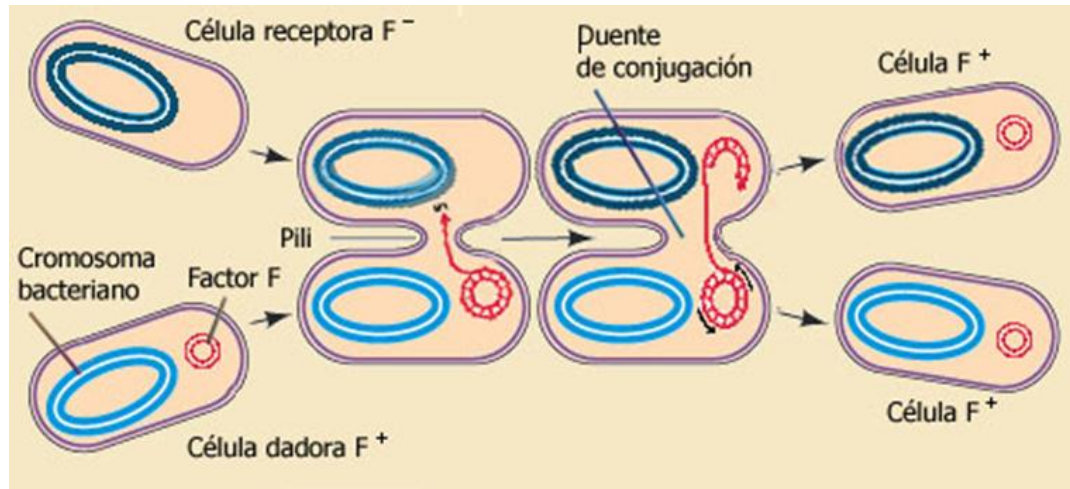


- ✓ Captació i incorporació de **DNA lliure** del medi
- ✓ Depèn de:
 - Tamany, concentració i estat del DNA
 - Competència de la cèl·lula receptora (*Bacillus*, *Haemophilus*, *Streptococcus*)
- ✓ Tipus de gens transferits: antígens de superfície, resistència a antimicrobians

Mecanismes de transferència genètica

CONJUGACIÓ

- ✓ Transferència directa de material genètic per **plasmidis** per contacte íntim entre ambdues cèl·lules (ponts d'unió).

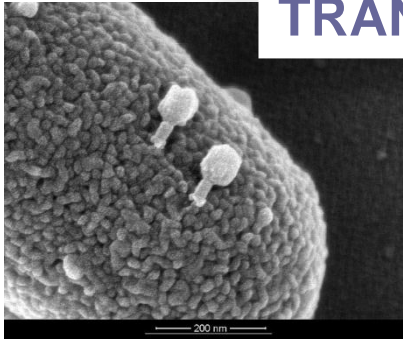


- ✓ Característiques dels **plasmidis**:

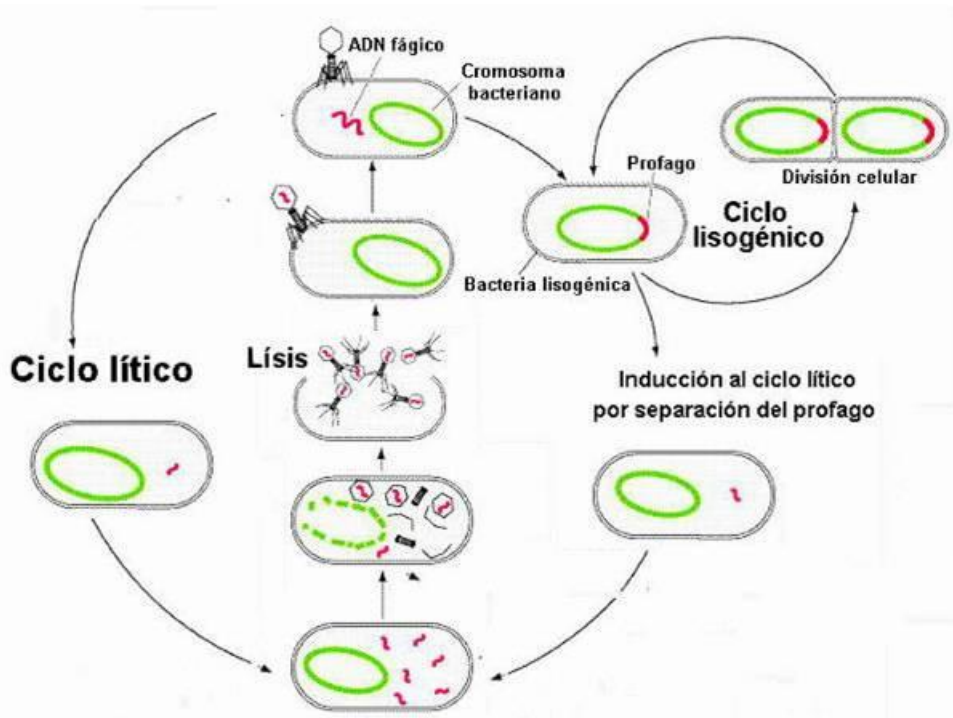
- Replicació autònoma
- Estabilitat
- Compatibilitat
- Transferència: plasmidis conjugatius o plasmidis no conjugatius
- Confereix propietats, com factors d'adherència, disseminació, resistència a antimicrobians

Mecanismes transferència genètica

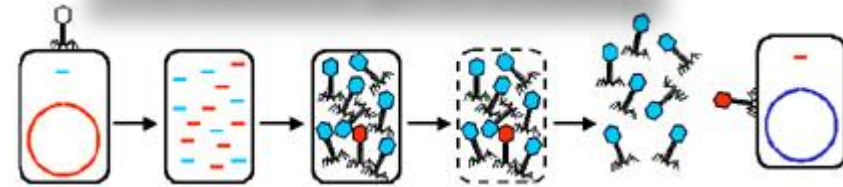
TRANSDUCCIÓ



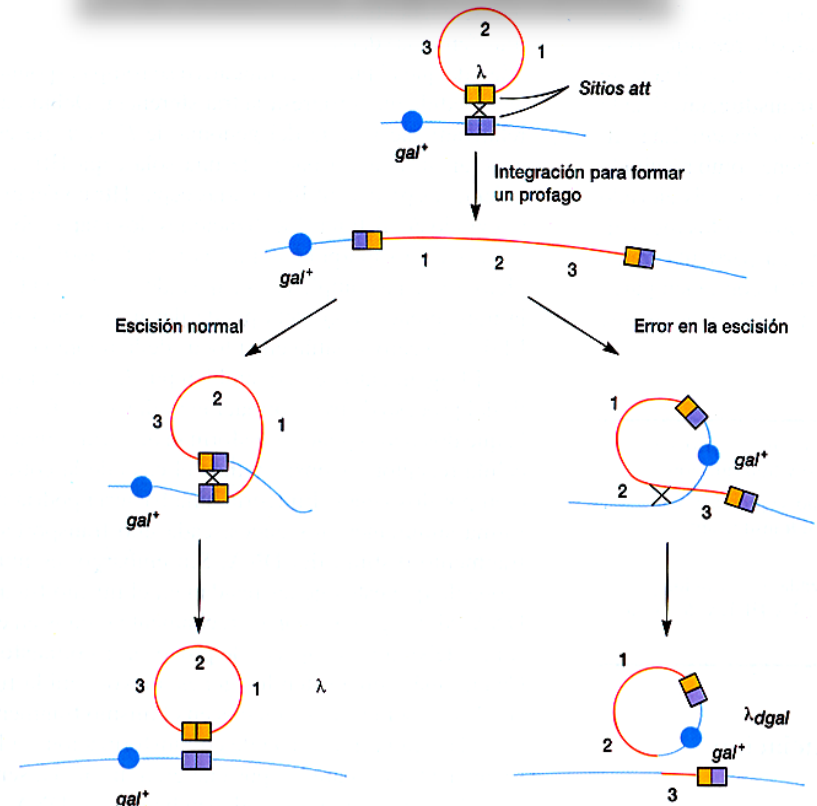
- ✓ Transferència de material genètic a través d'un **virus bacterià** (bacteriòfag).



Transducció generalitzada



Transducció especialitzada



Exemple del fag λ i el gen *gal*

Intercanvi genètic i recombinació

- Per mecanismes de transferència: transducció, conjugació, transformació
- Transferència **unidireccional** de cèl·lula donadora a cèl·lula receptora
- **Intercanvi freqüent** però no sempre s'incorpora
- **Incorporació parcial** del material transferit
- Intercanvi genètic entre soques d'una mateixa espècie o d'espècies diferents

Tipus de recombinació:

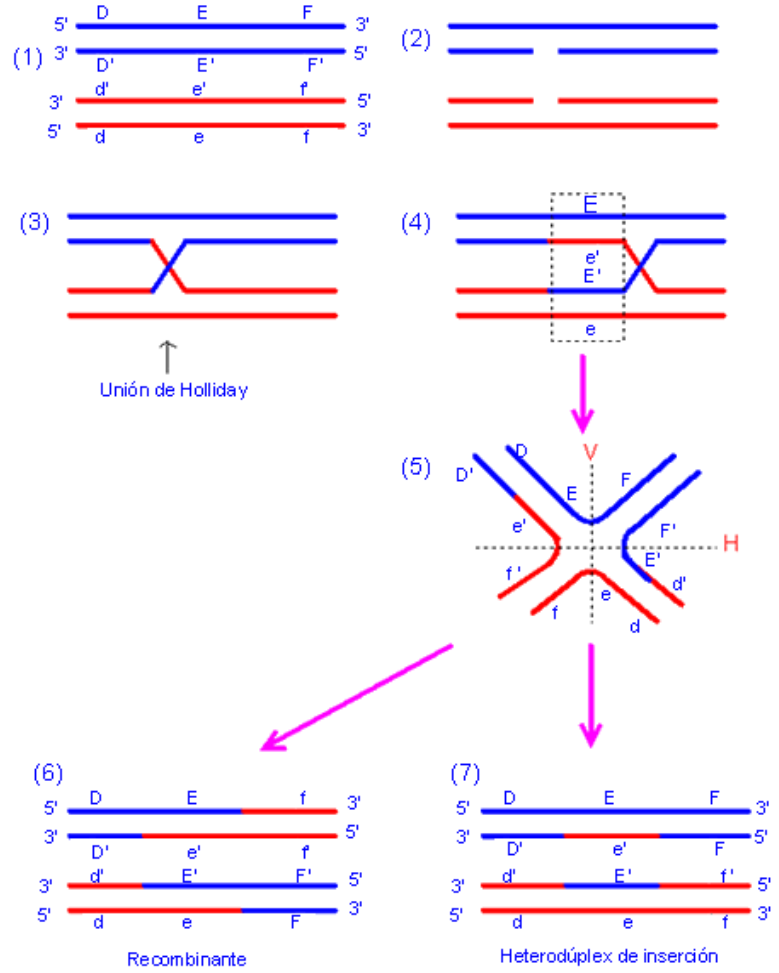
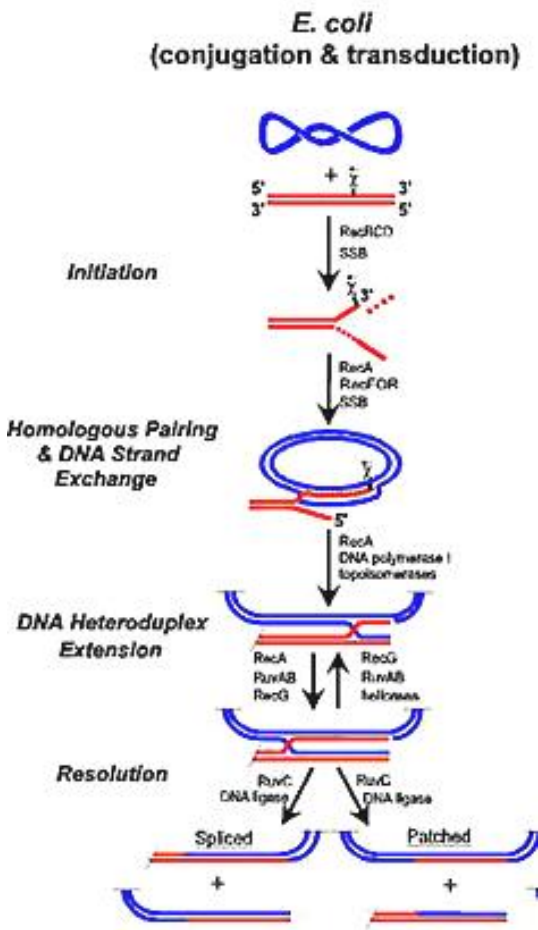
1. Recombinació homòloga
 - Recombinació específica de lloc
2. Recombinació no homòloga



Principals tipus de recombinació genètica

1. Recombinació homòloga

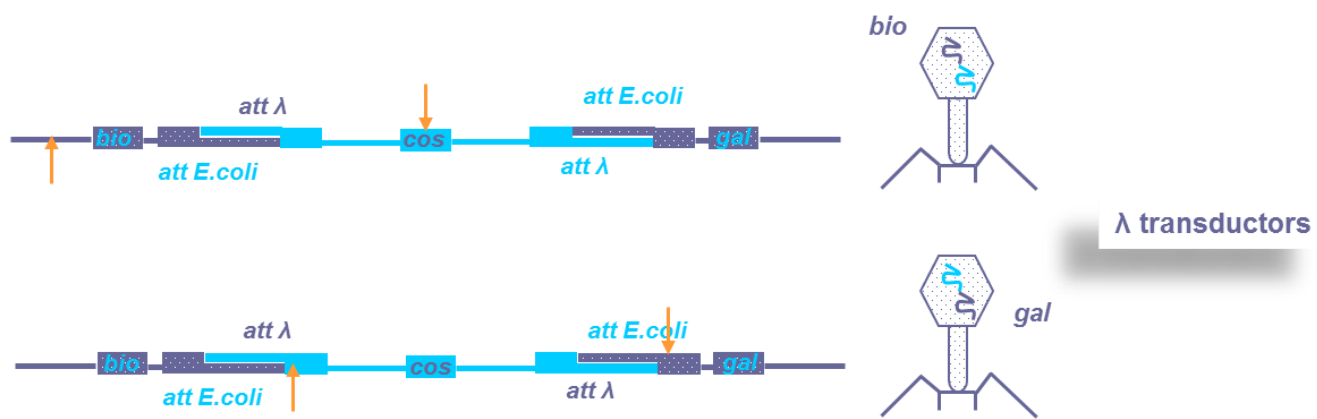
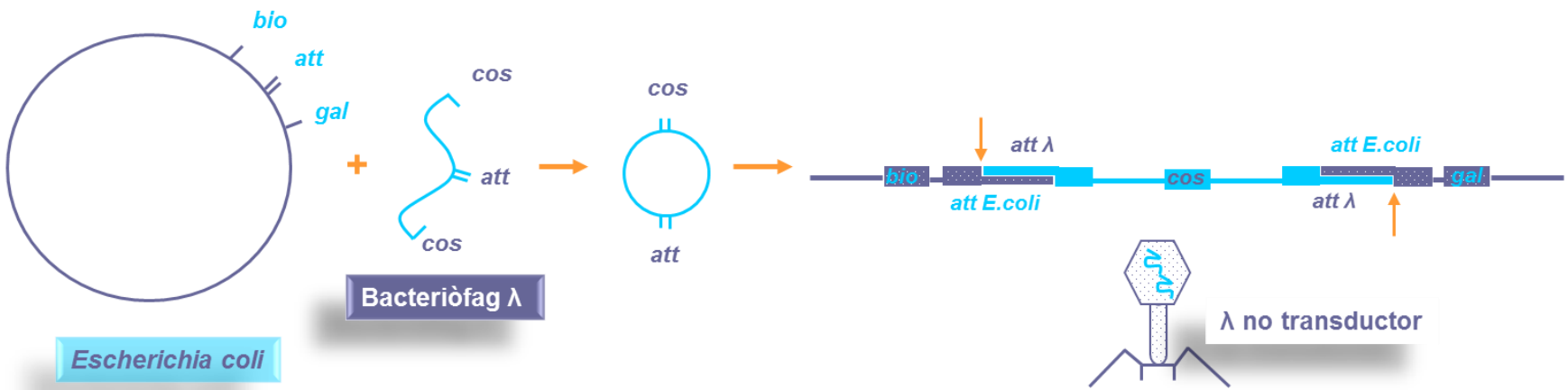
- En qualsevol lloc del genoma
- Dependent de la proteïna RecA



Principals tipus de recombinació genètica

→ Recombinació específica de lloc

- Específica de lloc
- Requereix de curtes seqüències d'homologia entre les dues seqüències
- Independent de la proteïna RecA

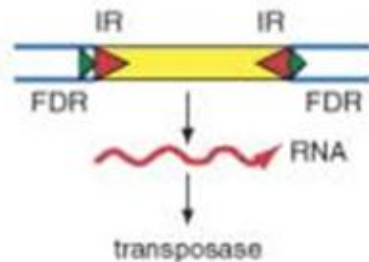


Principals tipus de recombinació genètica

2. Recombinació no homòloga

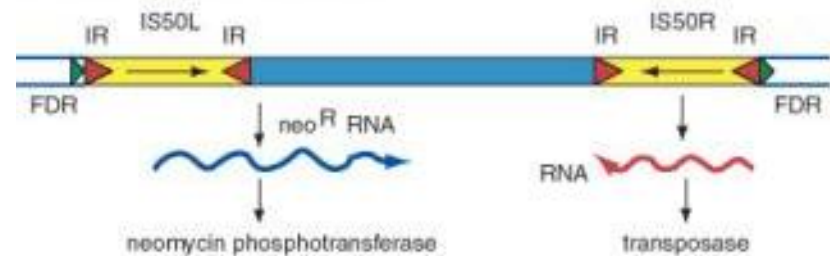
- No depèn de la proteïna RecA
- Elements genètics mòbils: seqüències d'inserció (IS), transposons (Tn), integrons (In)
- Procés de transposició
- Integrat en el cromosoma o en plasmidis

Insertion sequences

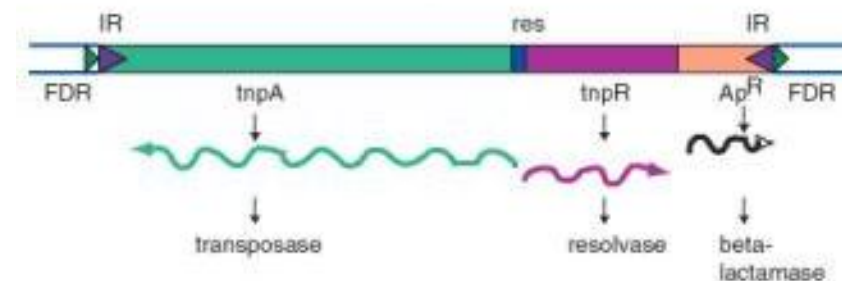


Transposons

Composite transposons, e.g. Tn5



Transposons lacking terminal ISs, e.g. TnA



Efecte de la recombinació bacteriana

- ✓ Nous genotips en la població
- ✓ Estructura mosaic de gens
- ✓ Incongruències en les filogènies

Exemple: Gens en mosaic

Alteracions en les proteïnes d'unió a penicil·lina (PBP) de *Neisseria meningitidis*



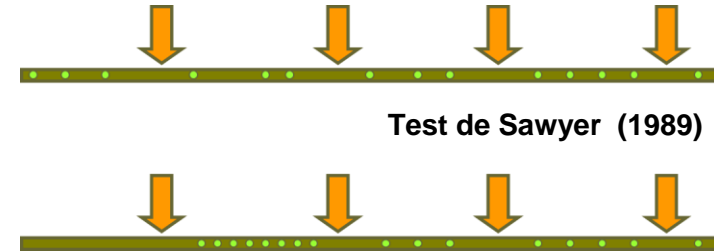
Com es detecta la recombinació bacteriana?

❑ Mètodes tradicionals

- Contingut en guanina i citosina (GC %mol)
- Ús de codons
- Composició en aminoàcids
- Estructures mosaic de gens
- Incongruències en els arbres filogenètics

❑ Mètodes de detecció de recombinació

- **Mètodes de distància:** PRYPHO
- **Mètodes de compatibilitat:** Reticulate
- **Mètodes filogenètics:** RDP, BootScanning, Partial Likelihood, Triple
- **Distribució de substitucions nucleotídiques:** GENECONV, MaxChi, Chimaera



Programa RDP4
14 anàlisis

❑ Anàlisi del desequilibri de lligament (Índex d'associació I_A)

- ✓ Estudis de genètica de poblacions bacterianes de varios gens (loci)
- ✓ Equilibri de lligament ($I_A = 0$) → RECOMBINACIÓ

Recombinació en les poblacions bacterianes



QUINA ÉS LA
FREQUÈNCIA DE
RECOMBINACIÓ?

- ✓ Gens essencials
- ✓ Cromosoma
- ✓ Varien poc, conservats
- ✓ Mutacions puntuals

BAIXA

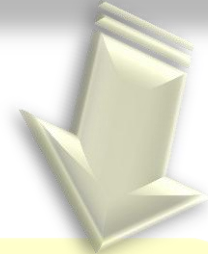


ELEVADA



- ✓ Gens accessoris, prescindibles
- ✓ Illes de patogenicitat, profags, plasmidis, transposons

Estudi filogenètic del complex d'espècies *Aeromonas hydrophila*



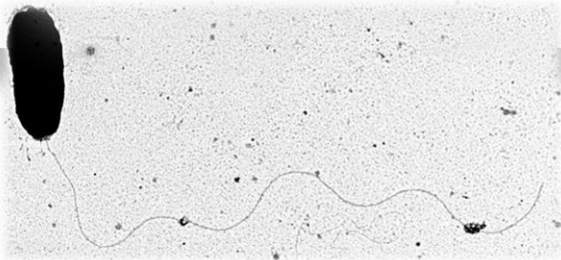
Dos exemples de recombinació:

- ✓ Gen *recA*
- ✓ Gen *dnaJ*

El gènere *Aeromonas*

Característiques generals

- ✓ Classe γ -*Proteobacteria*
- ✓ 25 espècies
- ✓ Bacils gramnegatius
- ✓ Psicròfils o mesòfils (22-37°C)
- ✓ Anaerobis facultatius
- ✓ Quimiorganotrofs
- ✓ Catalasa i oxidasa positius
- ✓ Majoria mòbils per flagel polar



- ✓ Hàbitat: ecosistemes aquàtics naturals (aigua dolça i marina)
- ✓ Patògens primaris de peixos i altres animals
- ✓ Patògens oportunistes de l'home (gastroenteritis, infecció de ferides, bacterièmies)

El complex d'espècies d'*Aeromonas hydrophila*

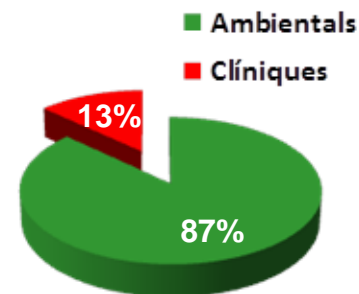
- *Aeromonas hydrophila*
 - A. hydrophila* subsp. *dhakensis*
 - A. hydrophila* subsp. *hydrophila*
 - A. hydrophila* subsp. *ranae*
- *Aeromonas bestiarum*
- *Aeromonas popoffii*
- *Aeromonas salmonicida*
 - A. salmonicida* subsp. *achromogenes*
 - A. salmonicida* subsp. *masoucida*
 - A. salmonicida* subsp. *pectinolytica*
 - A. salmonicida* subsp. *salmonicida*
 - A. salmonicida* subsp. *smithia*
- *Aeromonas aquariorum*
- *Aeromonas piscicola*

Grup d'hibridació DNA-DNA	Espècie	Complex fenotípic
HG1	<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	<i>A. hydrophila</i> (mòbils/ mesòfils)
	<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>ranae</i>	
	<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i>	
HG2	<i>A. bestiarum</i>	
HG3	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>achromogenes</i>	<i>A. salmonicida</i> (immòbils/ psicròfils)
	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>masoucida</i>	
	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>pectinolytica</i>	
	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	
	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>smithia</i>	

Estudi filogenètic

- **90 soques** del complex d'espècies d'*A. hydrophila*

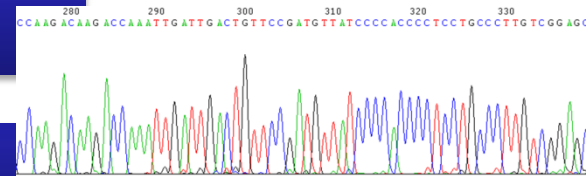
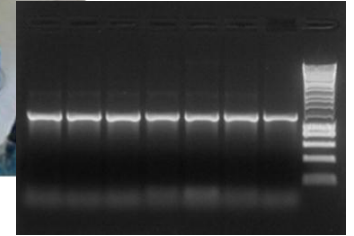
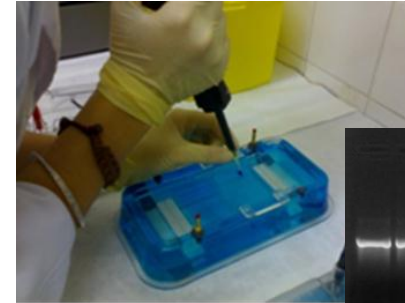
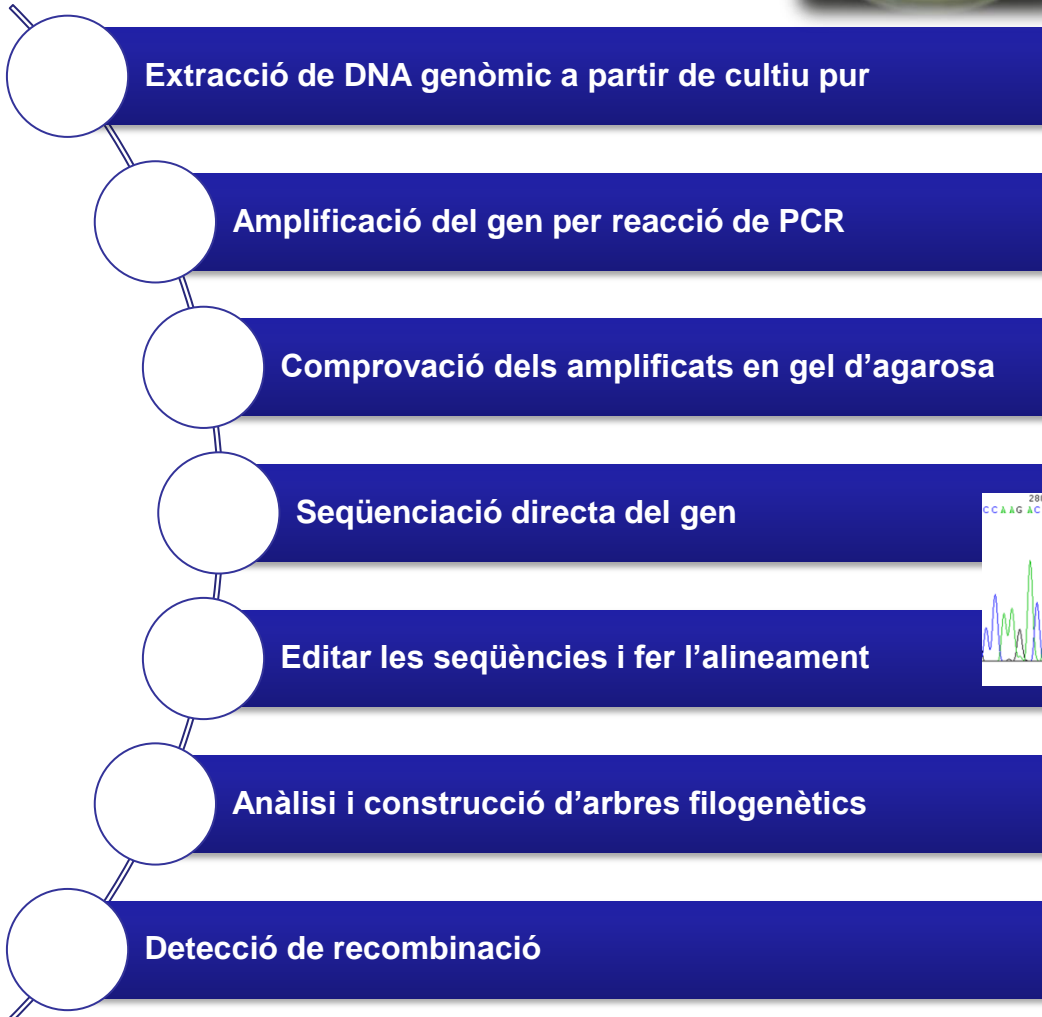
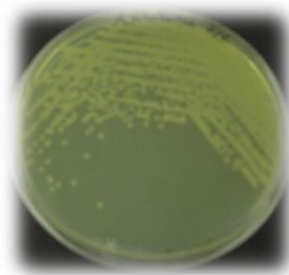
Espècies	Nº soques
<i>A. salmonicida</i> (5 subespècies)	29
<i>A. hydrophila</i> (3 subespècies)	26
<i>A. bestiarum</i>	22
<i>A. popoffii</i>	5
<i>A. aquariorum</i>	4
<i>A. piscicola</i>	4



- **6 gens conservats** ('housekeeping')

Gen	Seqüència	Longitud (pb)	Proteïna
<i>cpn60</i>	parcial	555	Chaperona Cpn60 – Plegament de proteïnes
<i>dnaJ</i>	parcial	891	Chaperona DnaJ – Plegament de proteïnes
<i>gyrB</i>	parcial	1.086 – 1.089	Subunitat B de l'enzim DNA girasa – Replicació DNA
<i>mdh</i>	completa	936	Malat deshidrogenasa (MDH) – Cicle de Krebs
<i>recA</i>	completa	1.059 – 1.065	RecA – Reparació DNA, recombinació
<i>rpoD</i>	parcial	831 – 843	Subunitat D de l'enzim RNA polimerasa – Transcripció

Metodologia



Programes bioinformàtics



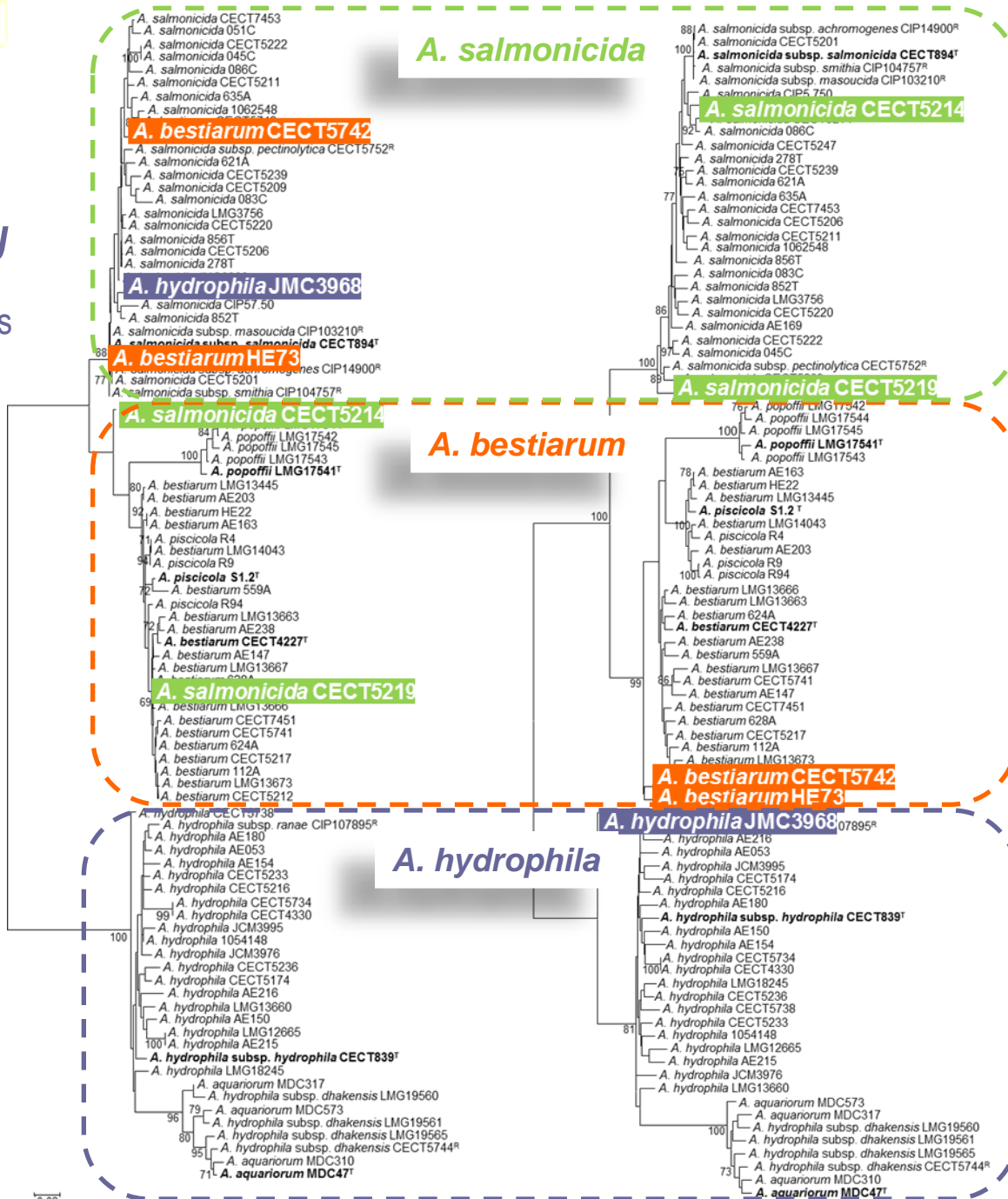
Exemple 1

Gen recA: Anàlisi de recombinació (RDP4)



Exemple 2

Arbre
Gen *dnaJ*
891 posicions



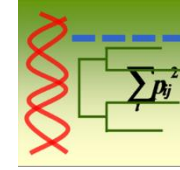
Arbre
Concatenat 6 gens

cpn60
dnaJ
gyrB
mdh
recA
rpoD

5.379 posicions

Agraïments

- **Grup de Genètica de Poblacions Bacterianes i Filogènia Molecular**



M^a Carme Fusté
José Gaspar Lorén
Maribel Farfán
Vicenta Albarral
Ariadna Sanglas



- Servei de Genòmica, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona
- Treball finançat per projectes del Ministerio de Educación y Ciencia (CGL2008-03281/BOS) i de la Universitat de Barcelona (ARZ00F01).