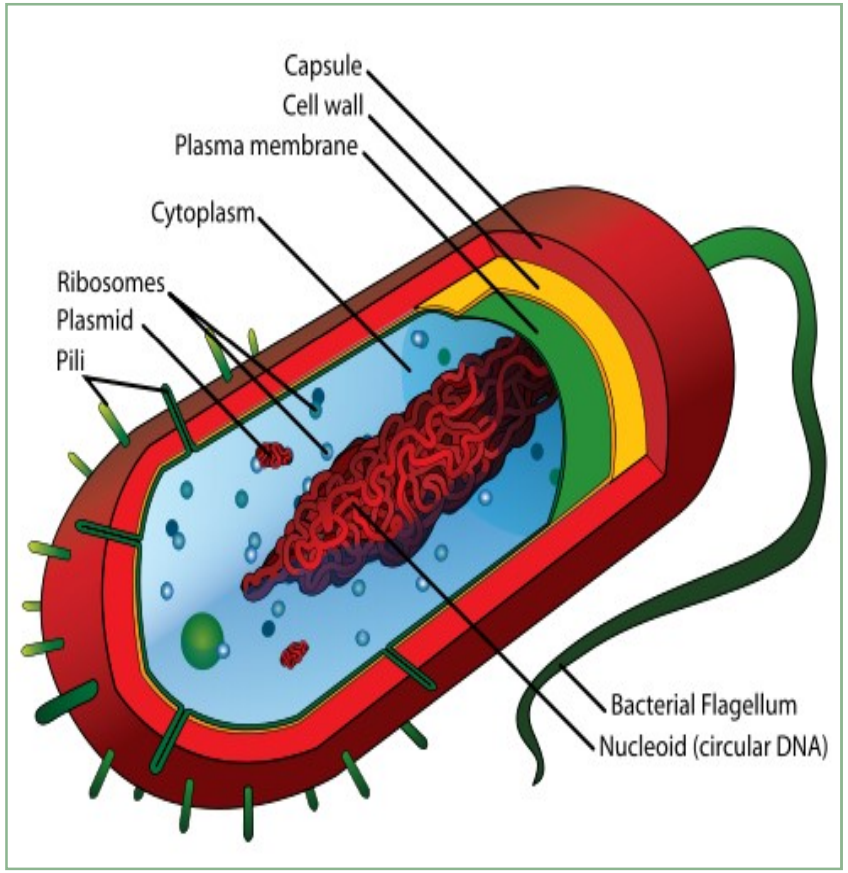
BMM0413 – Aula 3A: Genética Bacteriana

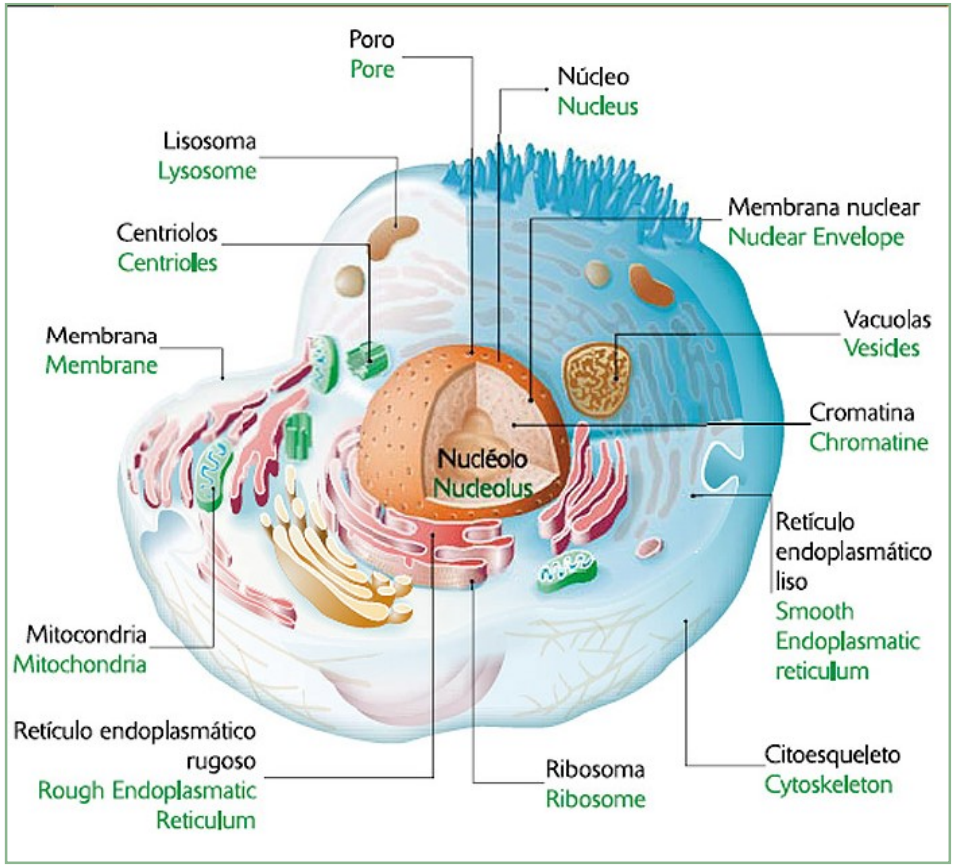
Nilton Lincopan, PhD
lincopan@usp.br
http://www.onehealthbr.com/

Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo, Brasil

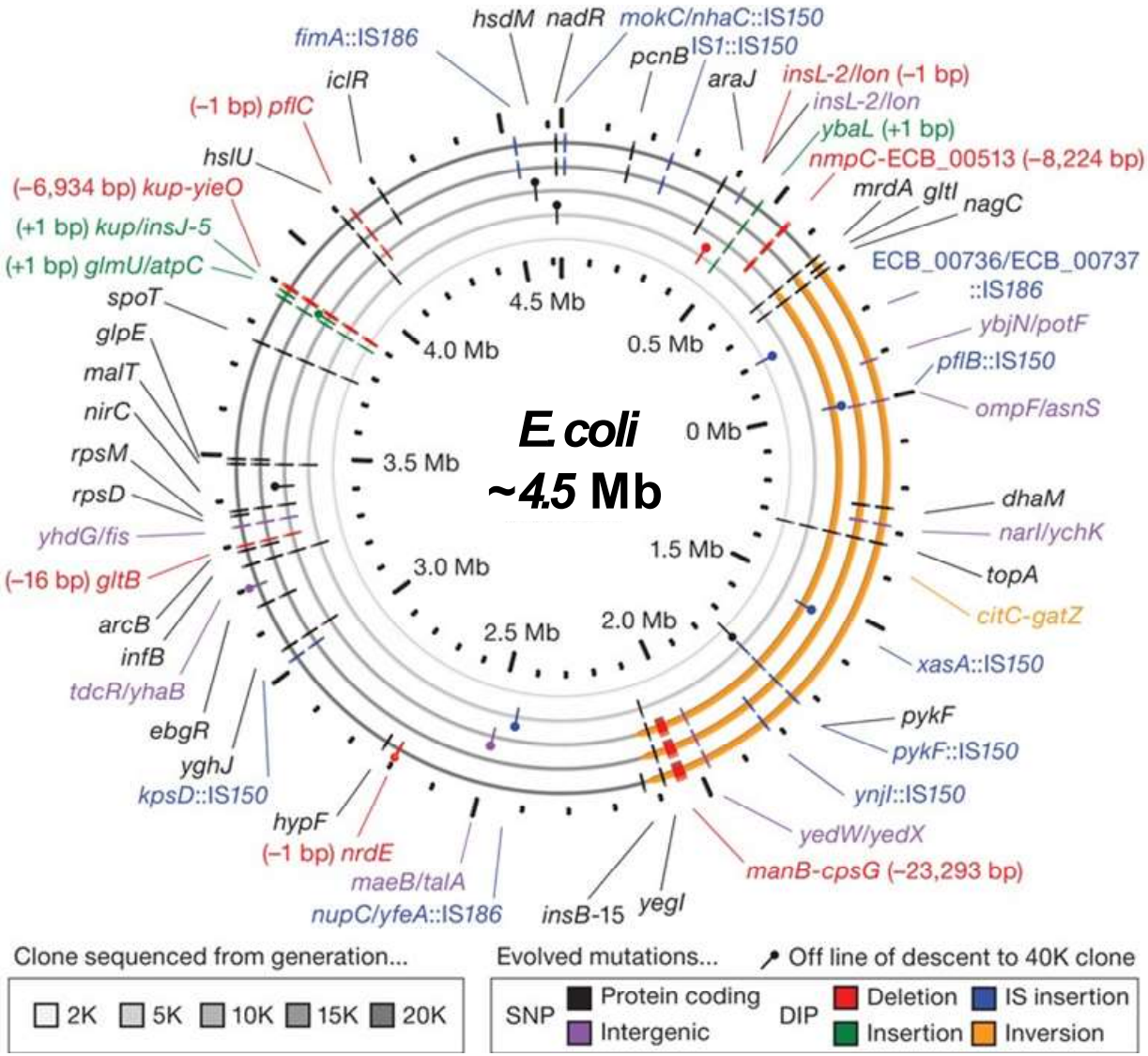
Célula Procariota



Célula Eucariota

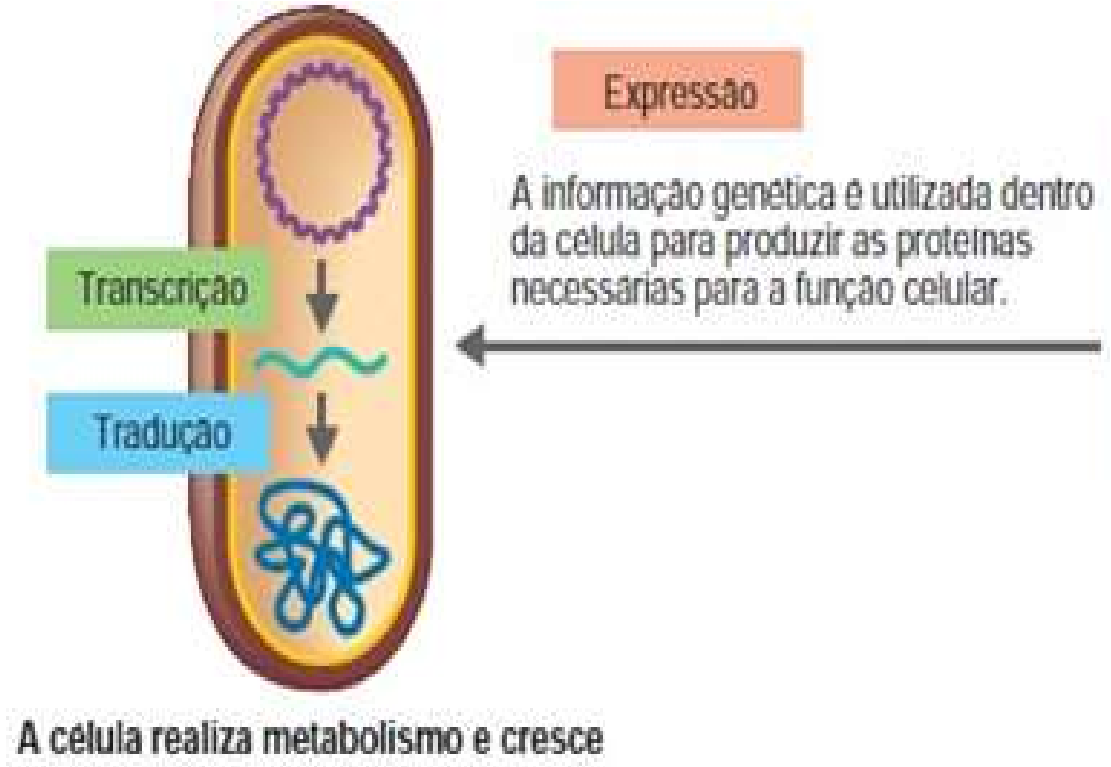


Cromossomo bacteriano



- ✓ O DNA da *E. coli*, tem cerca de 4,5 milhões de pares de bases e possui cerca de 1 mm de comprimento.
- ✓ Uma célula de *E. coli* mede ~ 1 µm
- ✓ O cromossomo ocupa apenas cerca de 10% do volume celular.
- ✓ DNA é *super enovelado = supercoiled.*

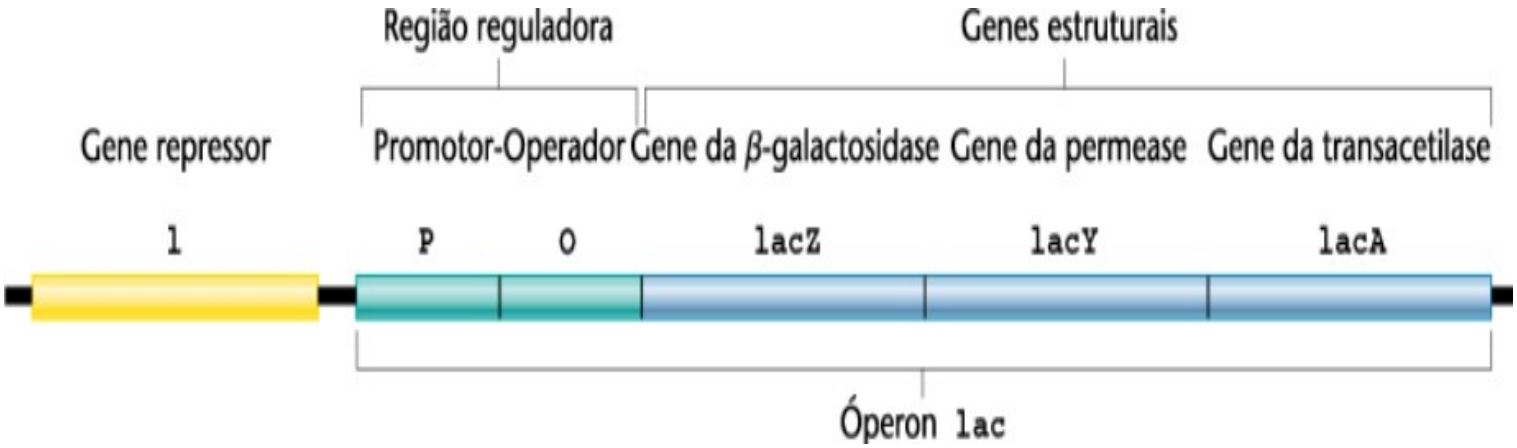
Cromossomo



- ✓ Existem genes conservados para funções essenciais
- ✓ Genes conservados poder ser utilizados para identificação de espécies
- ✓ Existem genes intrínsecos
- ✓ Existem genes adquiridos

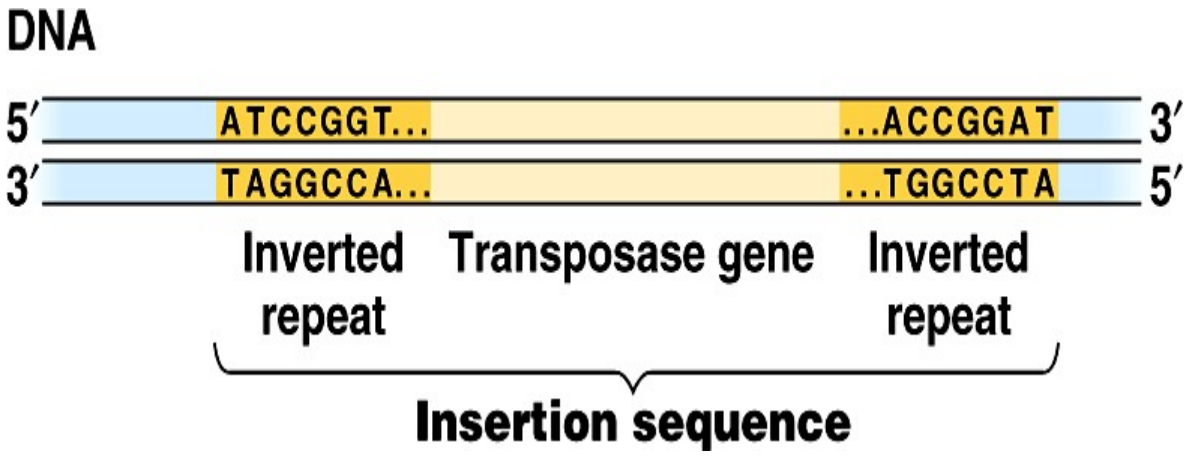
Elementos genéticos: Operons

- Agrupamento de genes estruturais localizados no cromossomo bacteriano e que são regulados em conjunto.
- A região reguladora é composta por um promotor.
- Promotores são sequências de nucleotídeos que controlam a expressão (taxa de transcrição) de um gene.

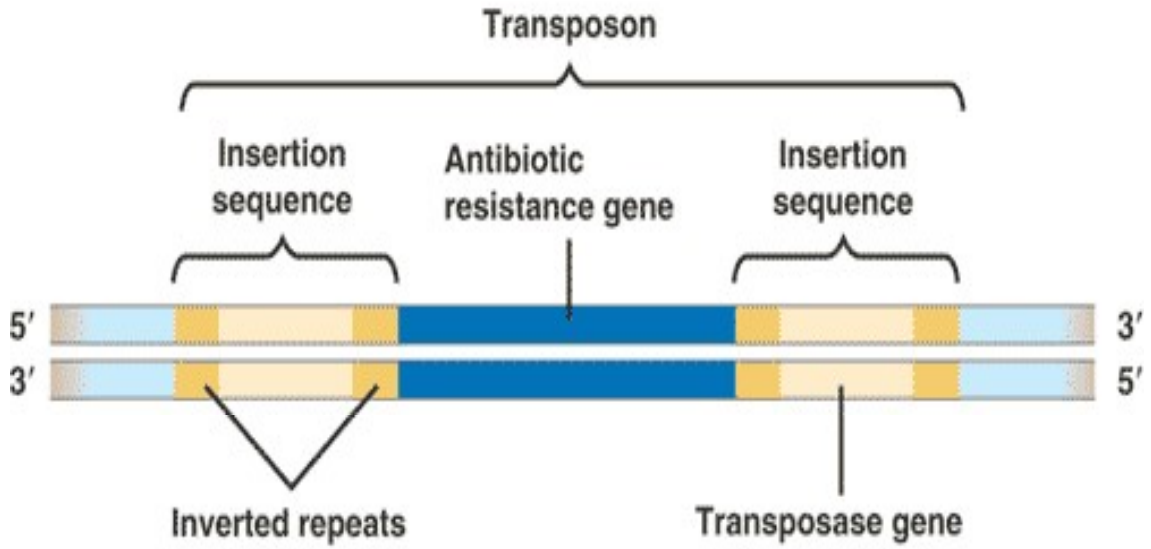


Elementos genéticos: Sequencias de inserção (IS)

- Elementos simples, com aproximadamente 1000pb;
- Repetições invertidas (10-50pb);
- Único gene: transposase (*tnp*).



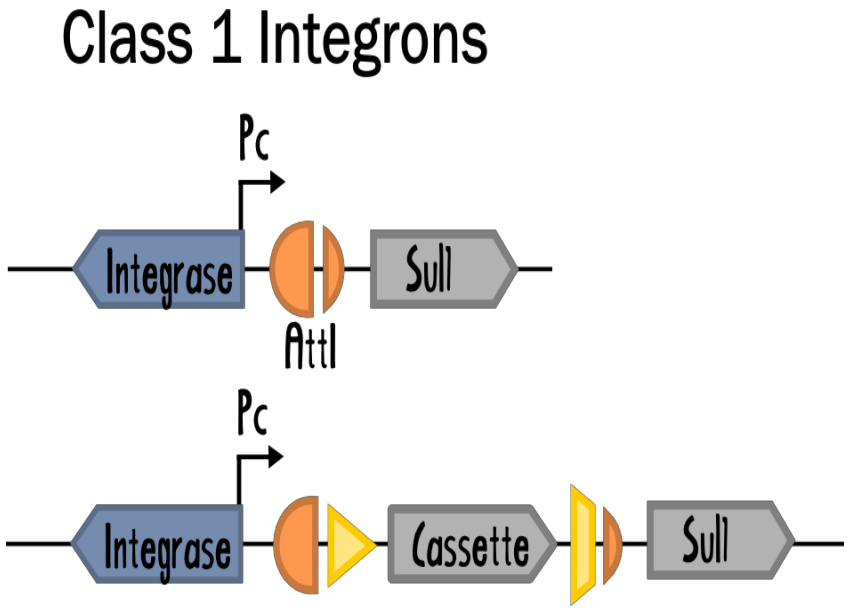
Elementos genéticos: Transposons



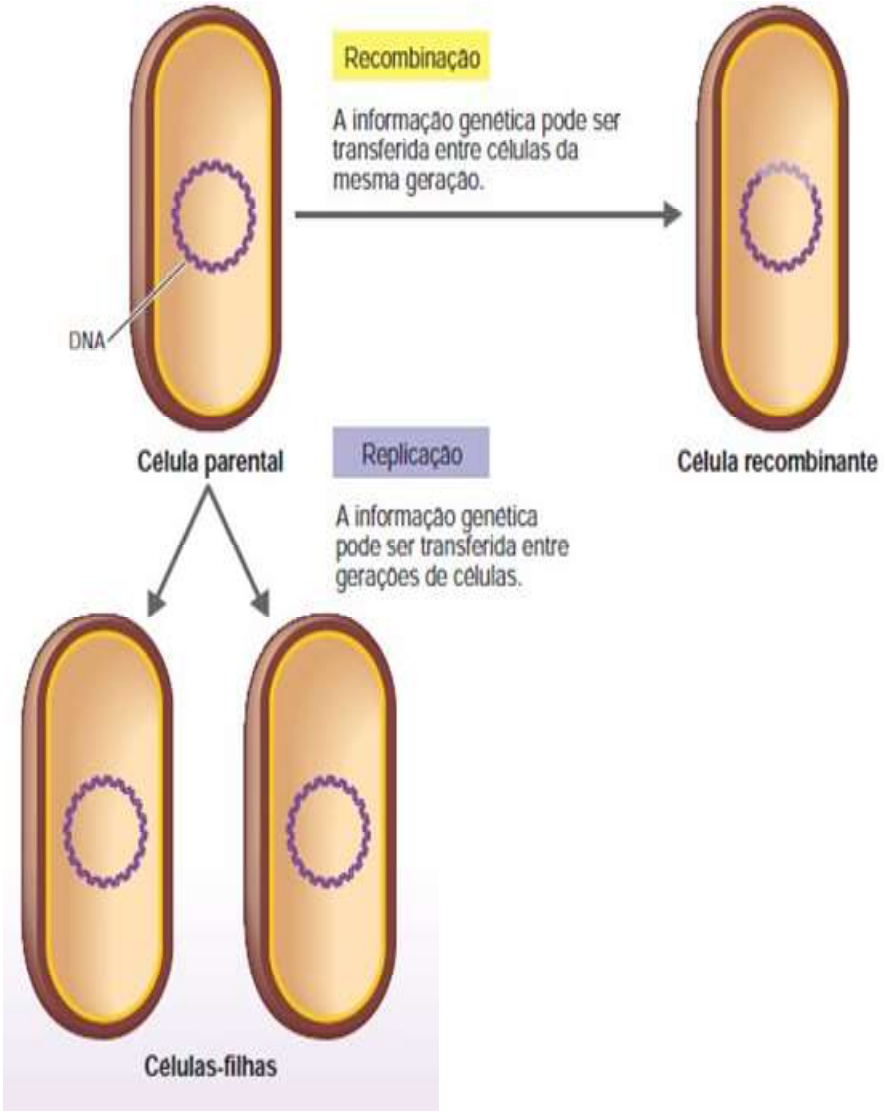
- Estruturas maiores e mais complexas;
- Mesmos componentes essenciais: Repetições invertidas e transposase (*tnp*).
- Codificam genes de resistência, virulência, e enzimas degradativas.

Elementos genéticos: Integrons

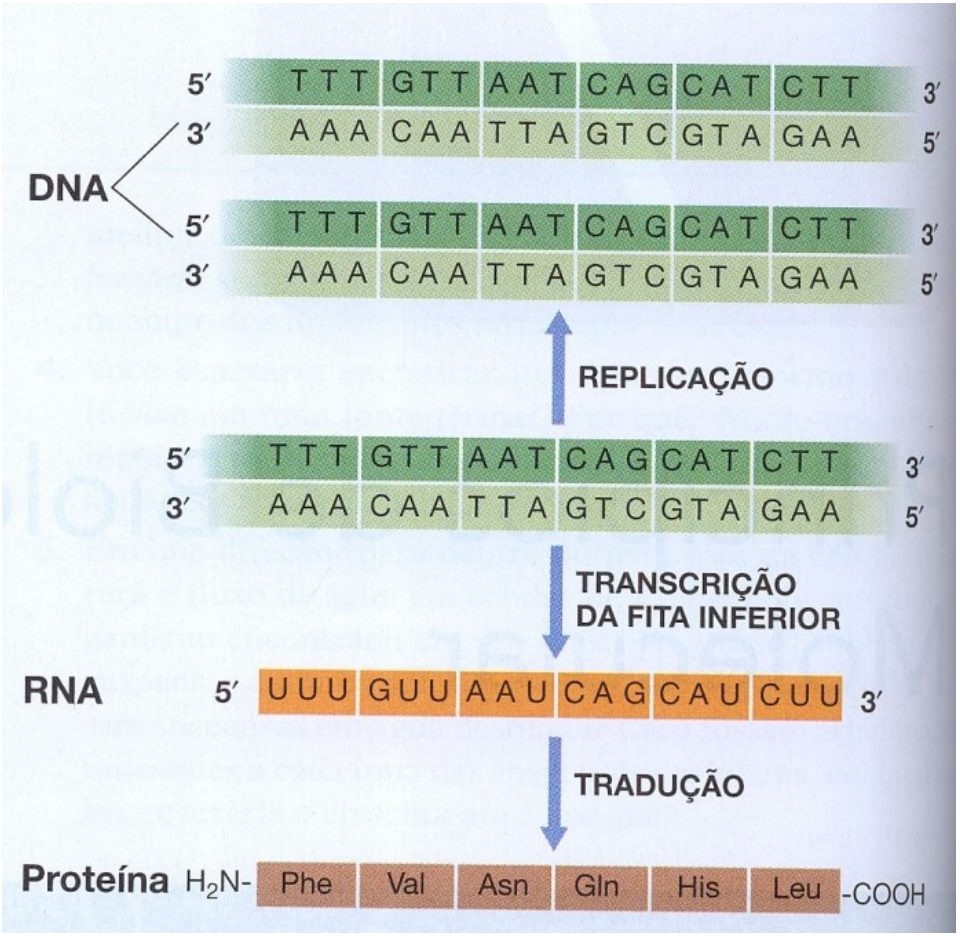
- Sistemas que conseguem capturar genes cassetes.
- Genes cassetes de resistência aos ATM.
- <u>Estrutura:</u>
  - Gene codificador de integrase (intI).
  - Sítio de recombinação (attI).
  - Promotor constitutive (Pc).



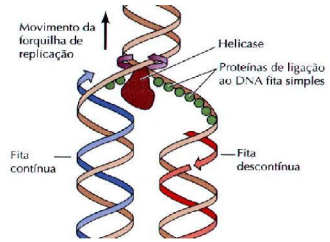
Fluxo da informação genética

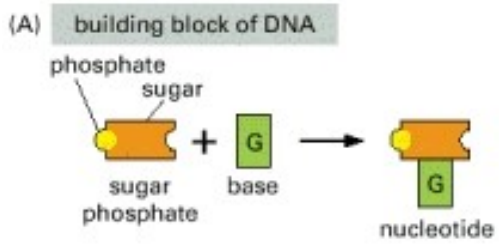


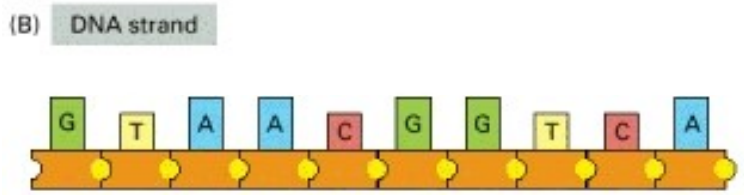
Síntese dos três tipos de macromoléculas

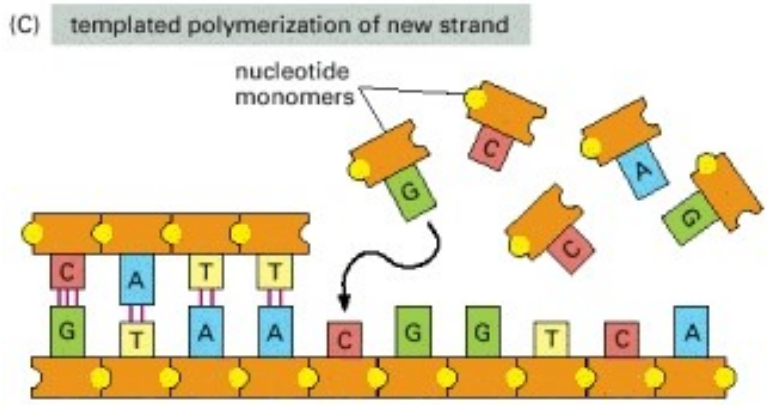


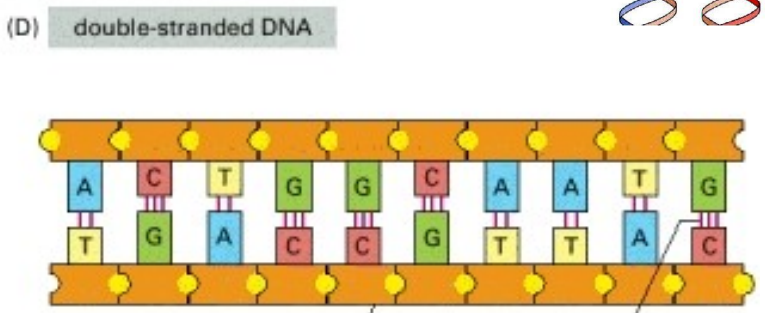
REPLICAÇÃO

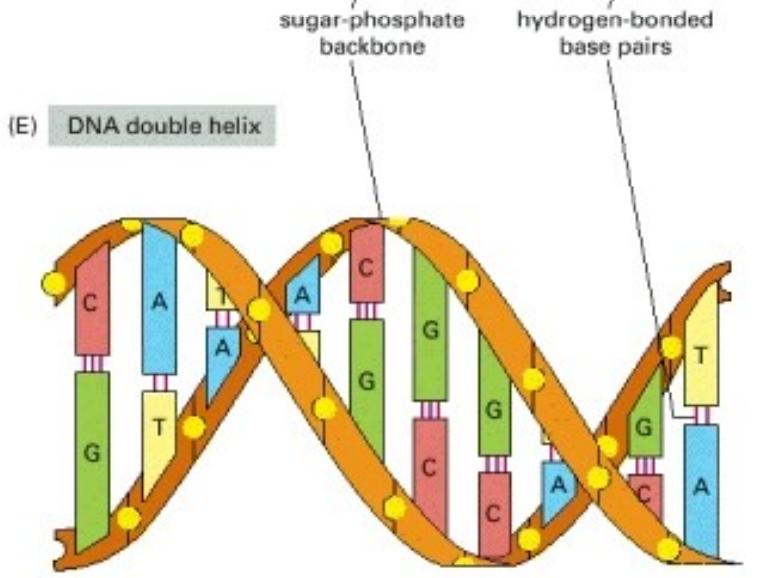

Movimento da forquilha de replicação
Helicase
Proteínas de ligação ao DNA fita simples
Fita contínua
Fita descontínua


(A) building block of DNA
phosphate
sugar
sugar phosphate
base
nucleotide

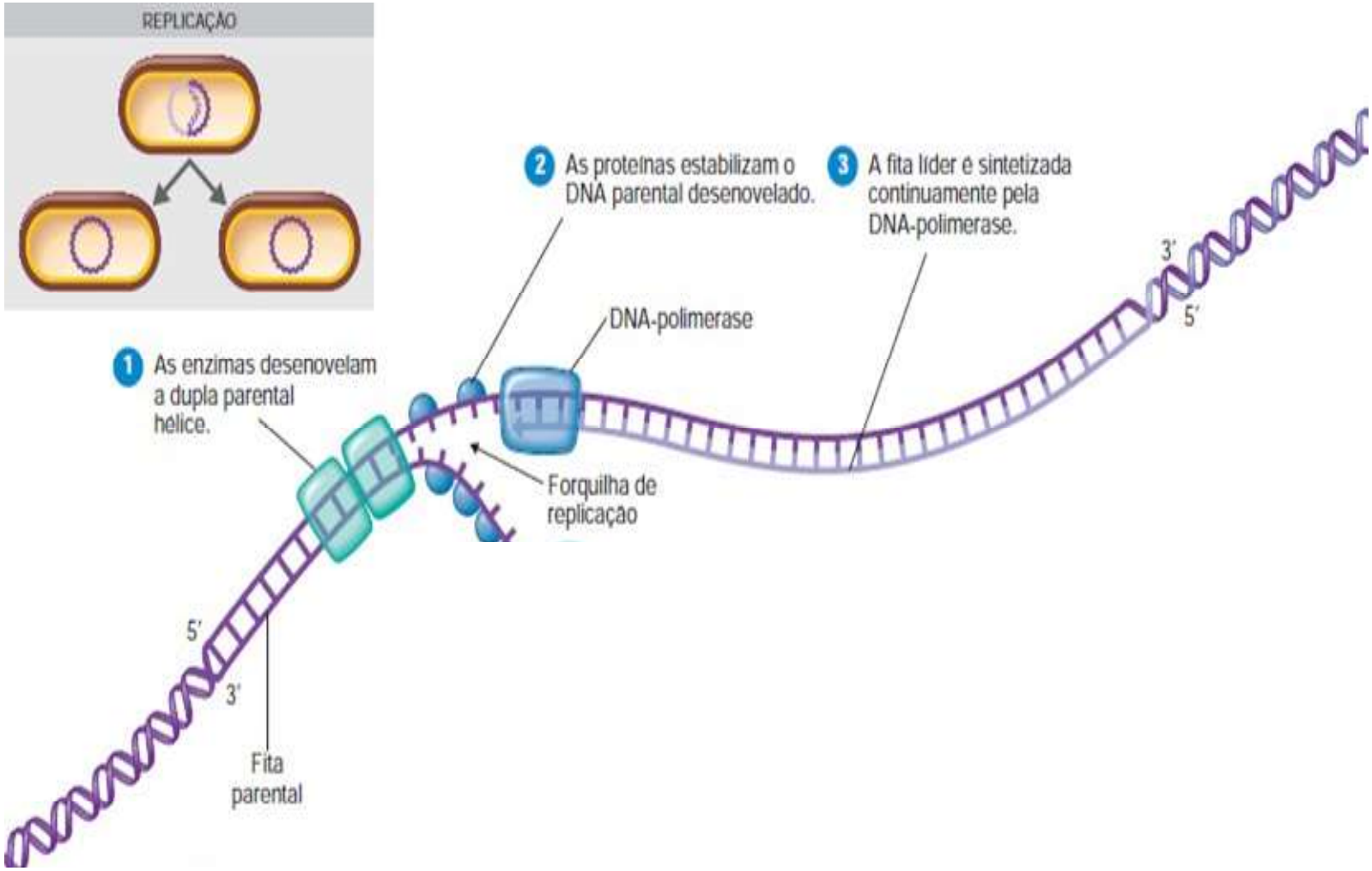

(B) DNA strand


(C) templated polymerization of new strand
nucleotide monomers


(D) double-stranded DNA


sugar-phosphate backbone
hydrogen-bonded base pairs
(E) DNA double helix

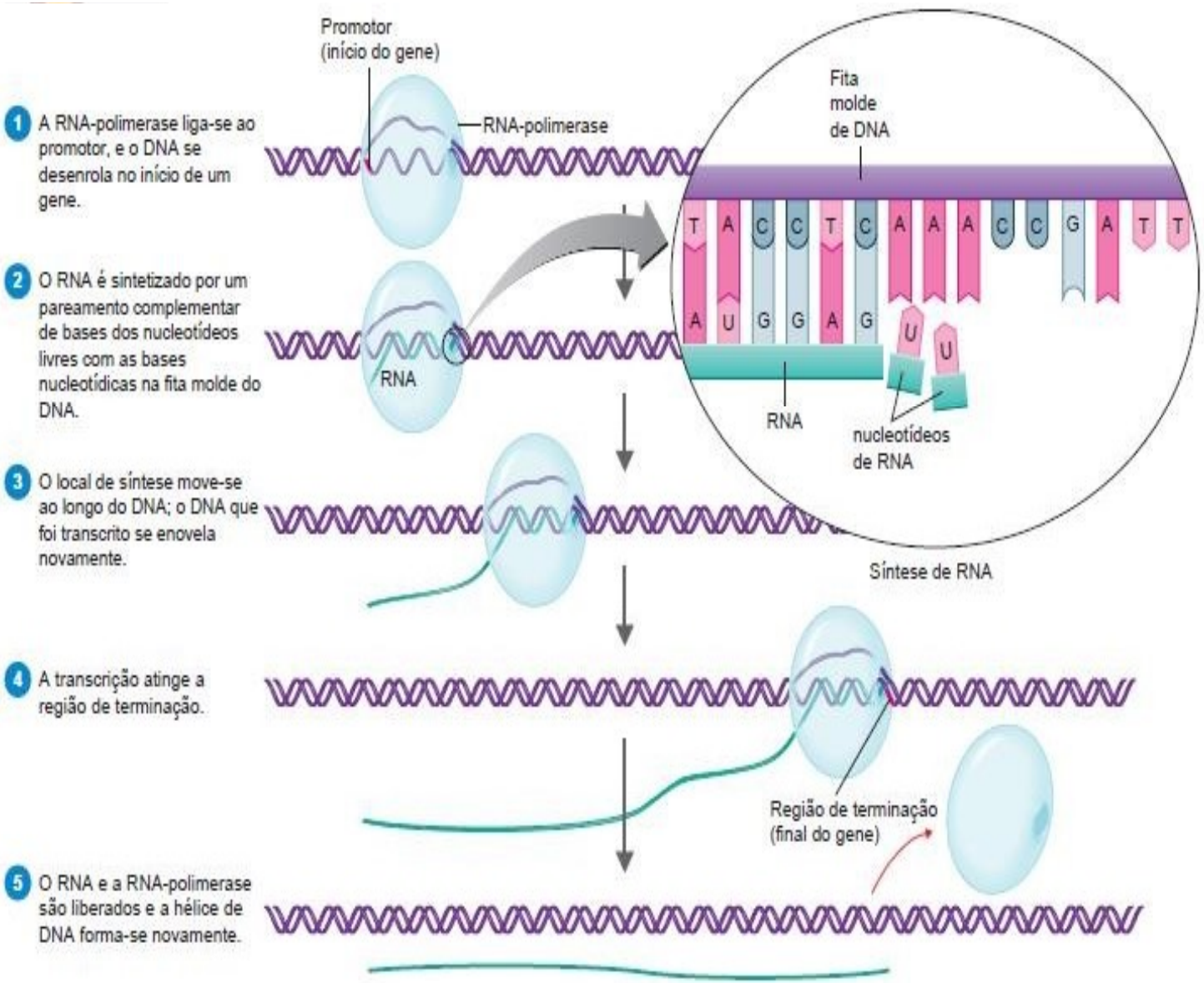
REPLICAÇÃO


REPLICAÇÃO
1 As enzimas desenovelam a dupla parental hélice.
2 As proteínas estabilizam o DNA parental desenovelado.
3 A fita líder é sintetizada continuamente pela DNA-polimerase.
DNA-polimerase
Forquilha de replicação
5'
3'
Fita parental
3'
5'

Elementos da Replicação

- 2 fitas do DNA genômico
- DNA polimerase
- Primase
- Dinucleotídeos (dNTPs)
- Helicase (Topoisomerase)

Transcrição



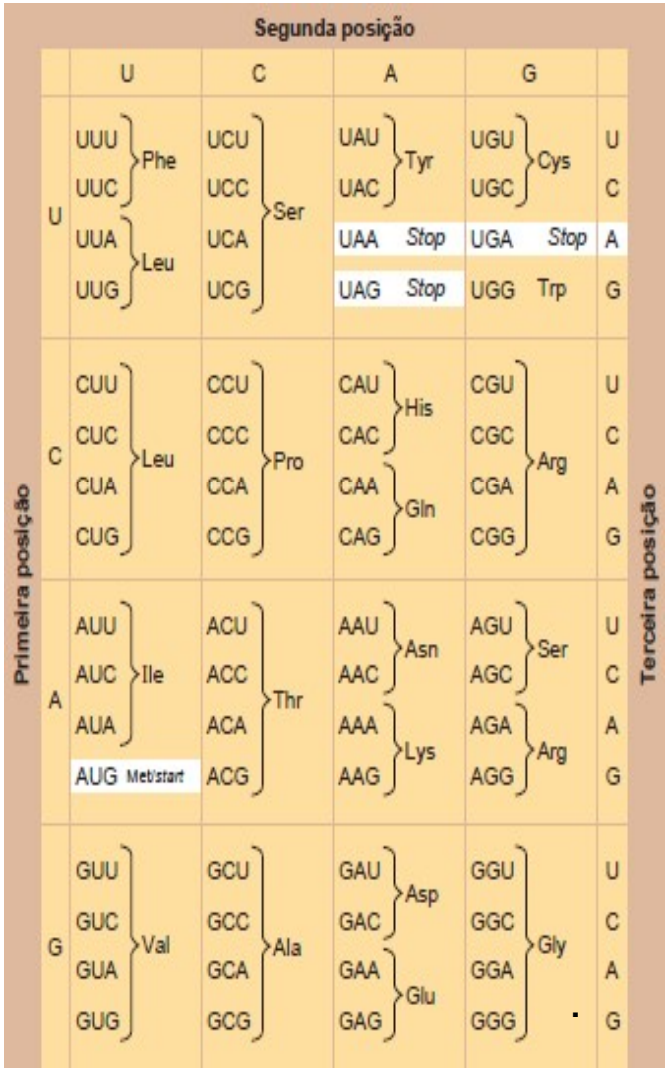
TRANSCRIÇÃO

- 1 fita de DNA (fita molde)
- RNA Polimerase
- Helicase
- Primase
- Ribonucleotídeos

Objetivo: Formação de RNA mensageiro (mRNA)

Tradução

- Conversão para proteínas.
- O mRNA está organizado em forma de **códons.**
  - Grupos de três nucleotídeos, como AUG, GGC ou AAA.
  - A sequência de códons em uma molécula de mRNA determina a sequência de aminoácidos das proteínas.
- Cada códon codifica um aminoácido especifico.

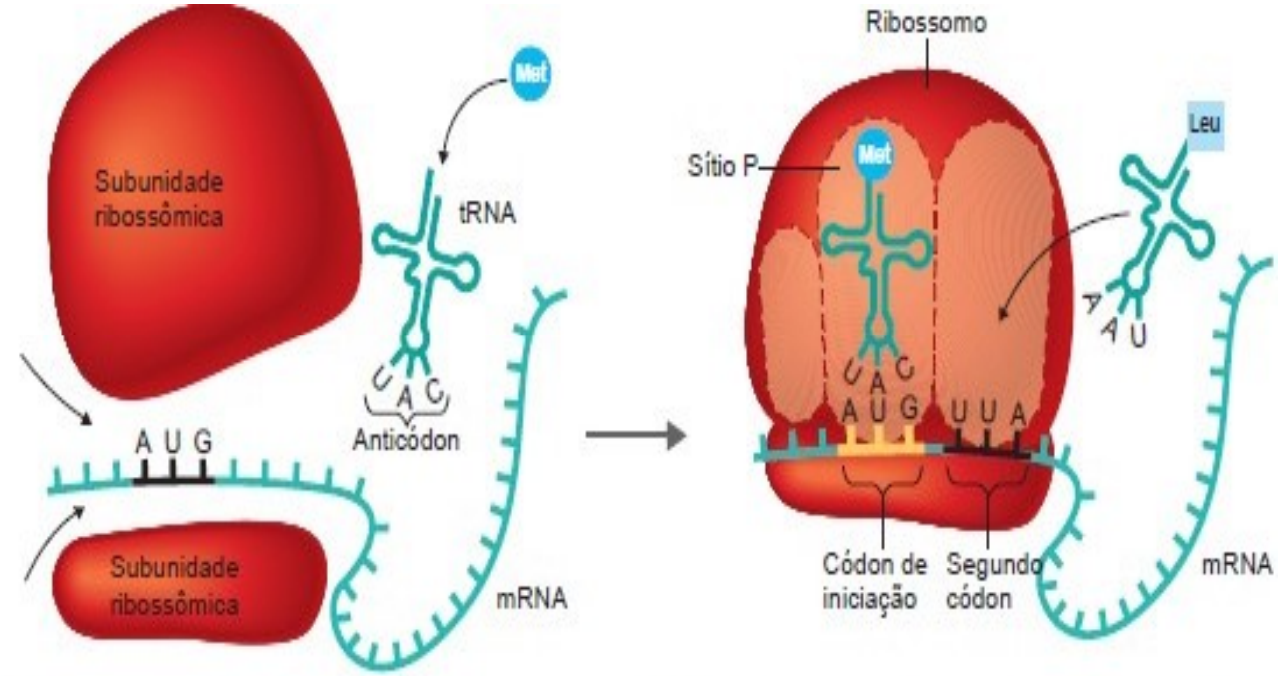


Código genético

GCA GCC GCG GCU	AGA AGG CGA CGC CGG CGU	GAC GAU	AAC AAU	UGC UGU	GAA GAG	CAA CAG	GGA GGC GGG GGU	CAC CAU	AUA AUC AUU	UUA UUG CUA CUC CUG CUU	AAA AAG	AUG	UUC UUU	CCA CCC CCG CCU	AGC AGU UCA UCC UCG UCU	ACA ACC ACG ACU	UGG	UAC UAU	GUA GUC GUG GUU	UAA UAG UGA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

Iniciação

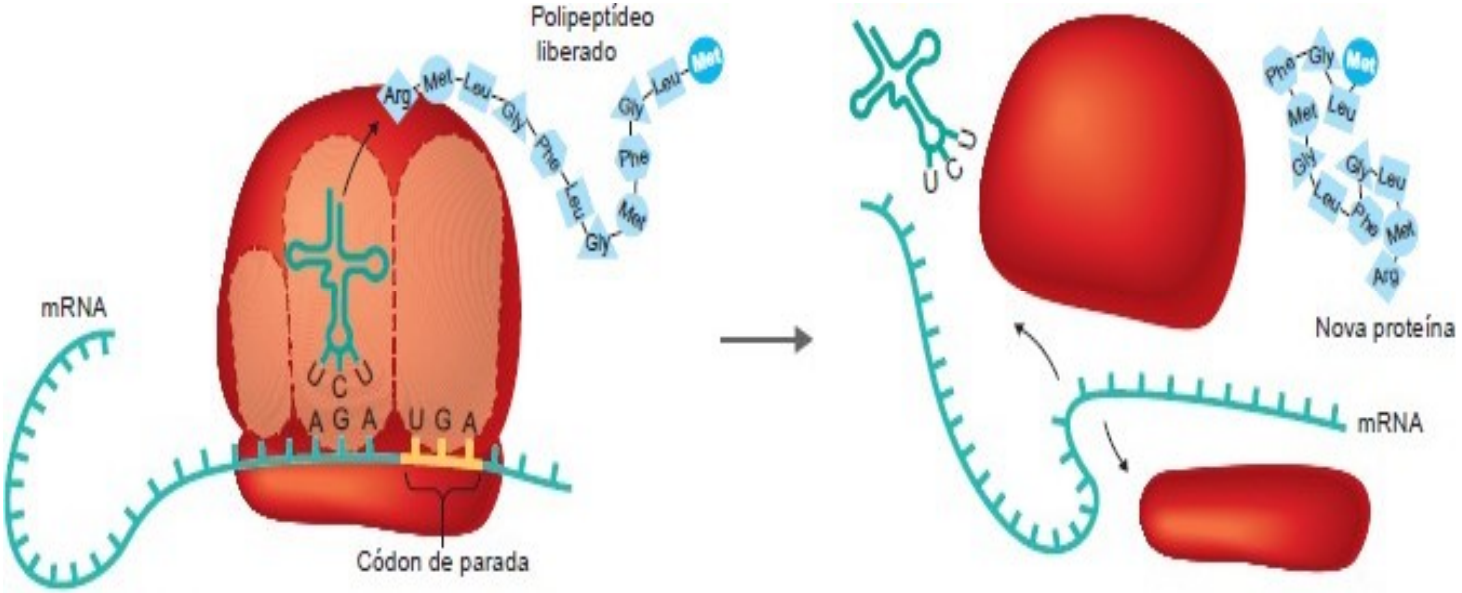
Tradução



1 Os componentes necessários para iniciar a tradução são reunidos.

2 Na montagem do ribossomo, um tRNA carreando o primeiro aminoácido é pareado com o códon de iniciação no mRNA. O lugar onde o primeiro tRNA se estabelece é denominado sítio P. Um tRNA transportando o segundo aminoácido se aproxima.

Tradução



7 Quando o ribossomo alcança um códon de parada, o polipeptídeo é liberado.

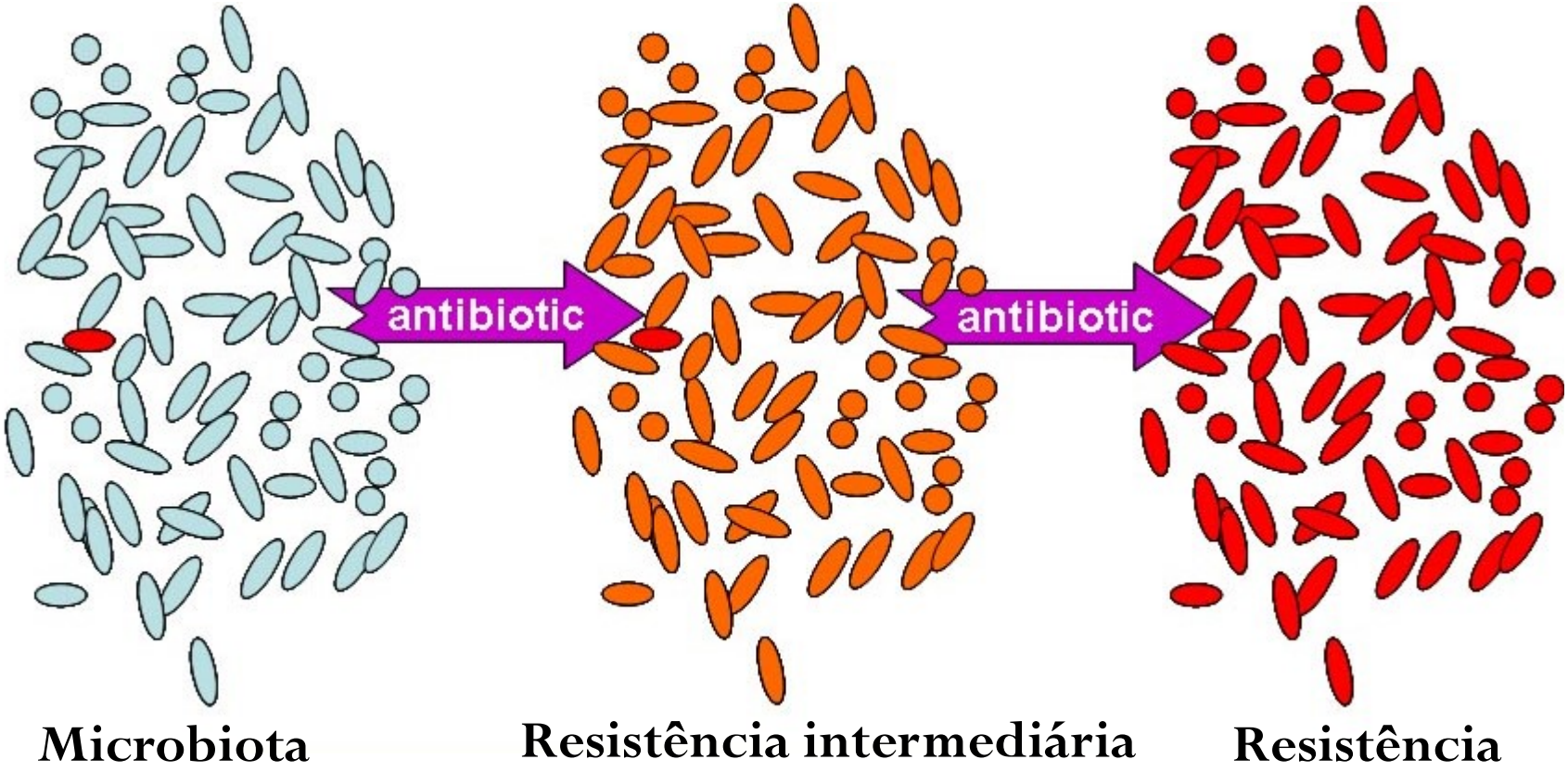
8 Finalmente, o último tRNA é liberado e o ribossomo começa a se desligar. O polipeptídeo liberado forma uma nova proteína.

TRADUÇÃO: SÍNTESE DE PROTEÍNAS

- A partir do mRNA
- Leitura dos códons do mRNA para a tradução em aminoácidos
- Uso de tRNA (anti-códon), aminoacil-tRNA sintetase, Ribossomo.
- Fases: Iniciação, elongação, translocação.
- Formação de ligação peptídica.

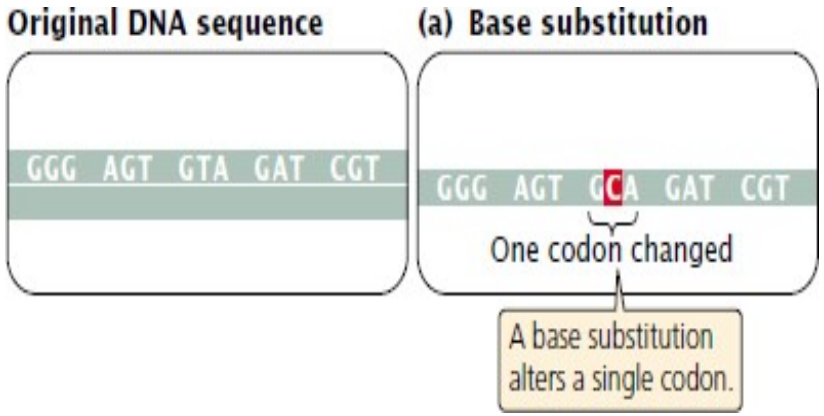
Mutações

Pressão seletiva *in vitro*

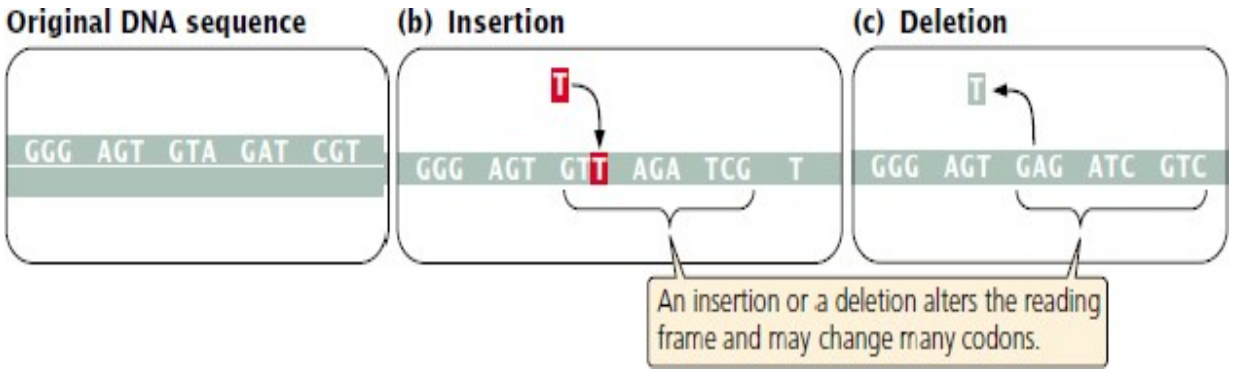


Mutações

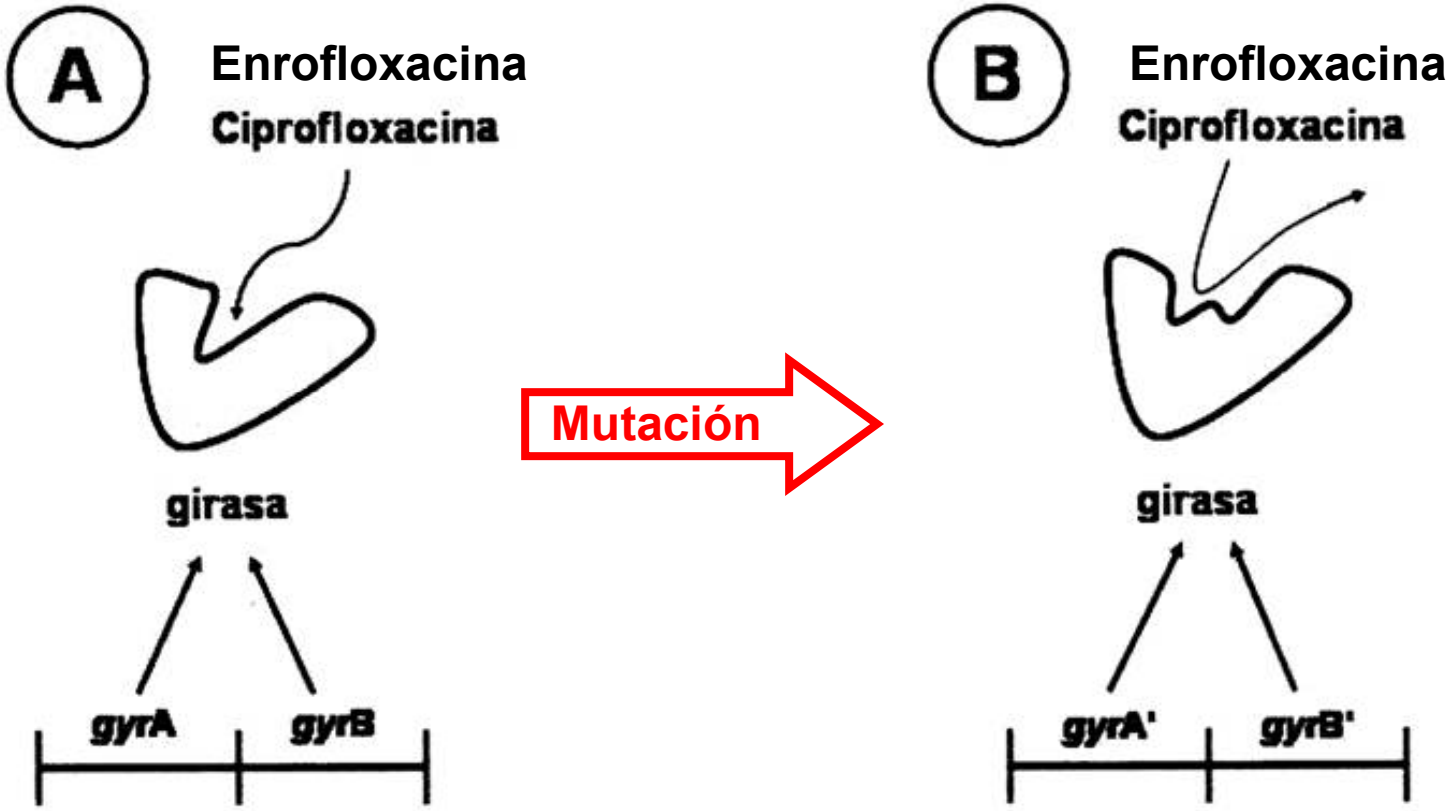
- Substituição:



- Inserções e deleções :



Resistência às fluoroquinolonas

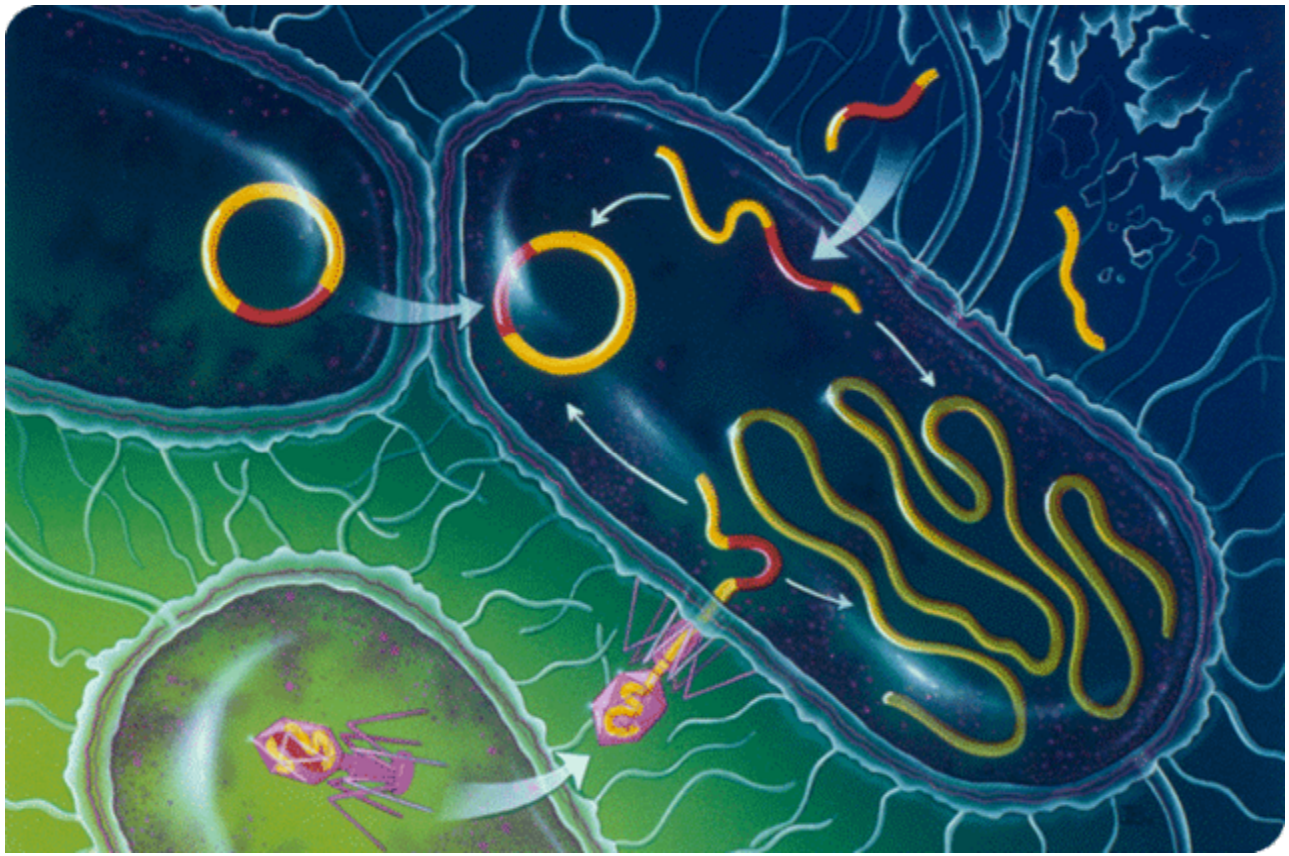


Bactéria Suscetível

Bactéria Resistente

Nature Rev Microbiol 2015, 13:42–51.

Mobilização genética

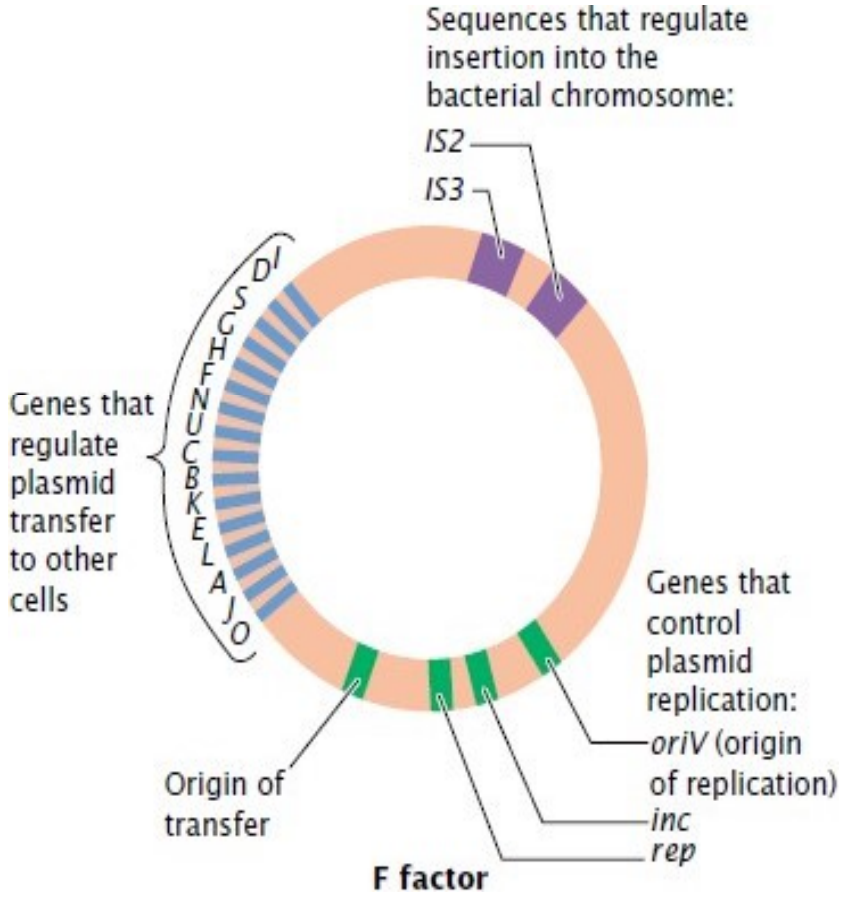


1. Conjugação
2. Transformação
3. Transdução

*Nature Rev Microbiol.*13:42–51. 2015.

Conjugação

- Fator F
  - Plasmídeos conjugativos.
  - Origem de replicação.
  - Genes para conjugação.
    - Pili sexual: finas extensões na membrana celular pela qual ocorre a transferência do material genético.



CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Oct. 2011, p. 718–733 Vol. 24, No. 4
0893-8512/11/$12.00 doi:10.1128/CMR.00002-11

Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health

Bonnie M. Marshall[1,2] and Stuart B. Levy[1,2,3]*

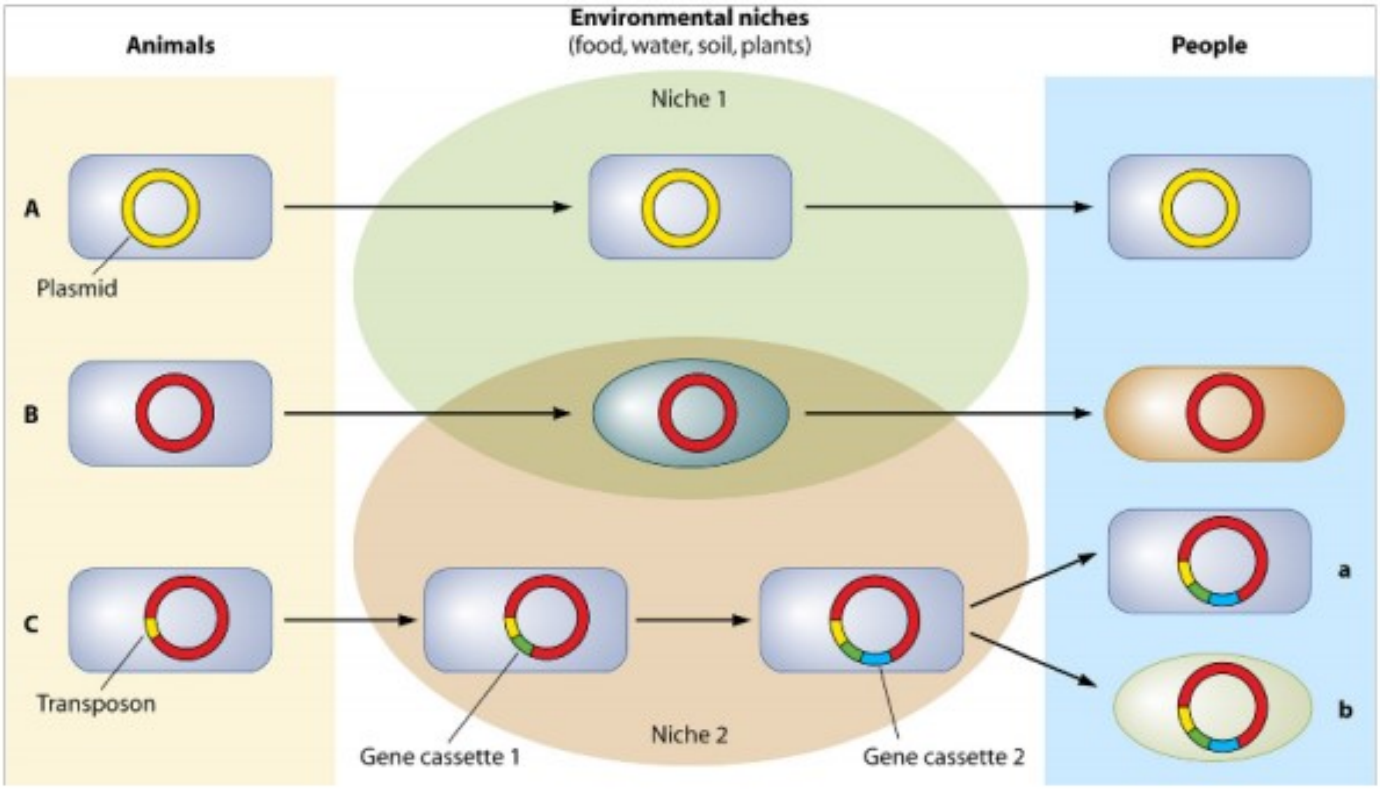
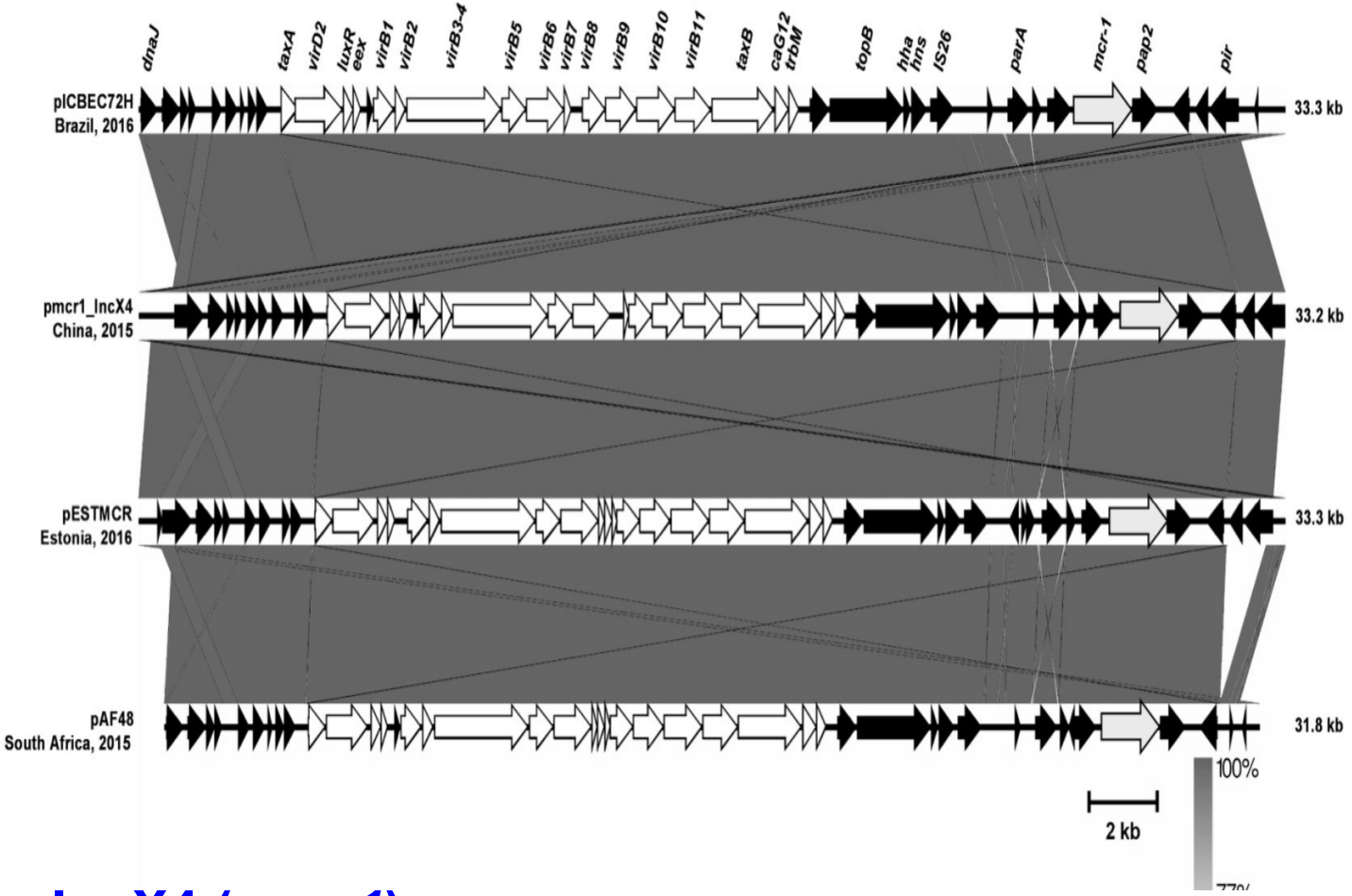


FIG. 1. Several scenarios may present themselves in the genetic transport that occurs as bacteria migrate from animal to human environments. (A) The same host and its indigenous genes in animals are transported unchanged to humans, with a resulting 100% match of the bacterial strain. (B) The genetic structure passes through one or more different hosts, ending in a new host (humans), with a resulting 100% match of DNA. (C) The host and its plasmid-borne genes pass through the environment, picking up gene cassettes en route, with a resulting 100% match for the host only (a) or a low-% match for DNA only (b). In both examples, the plasmid core remains the same.

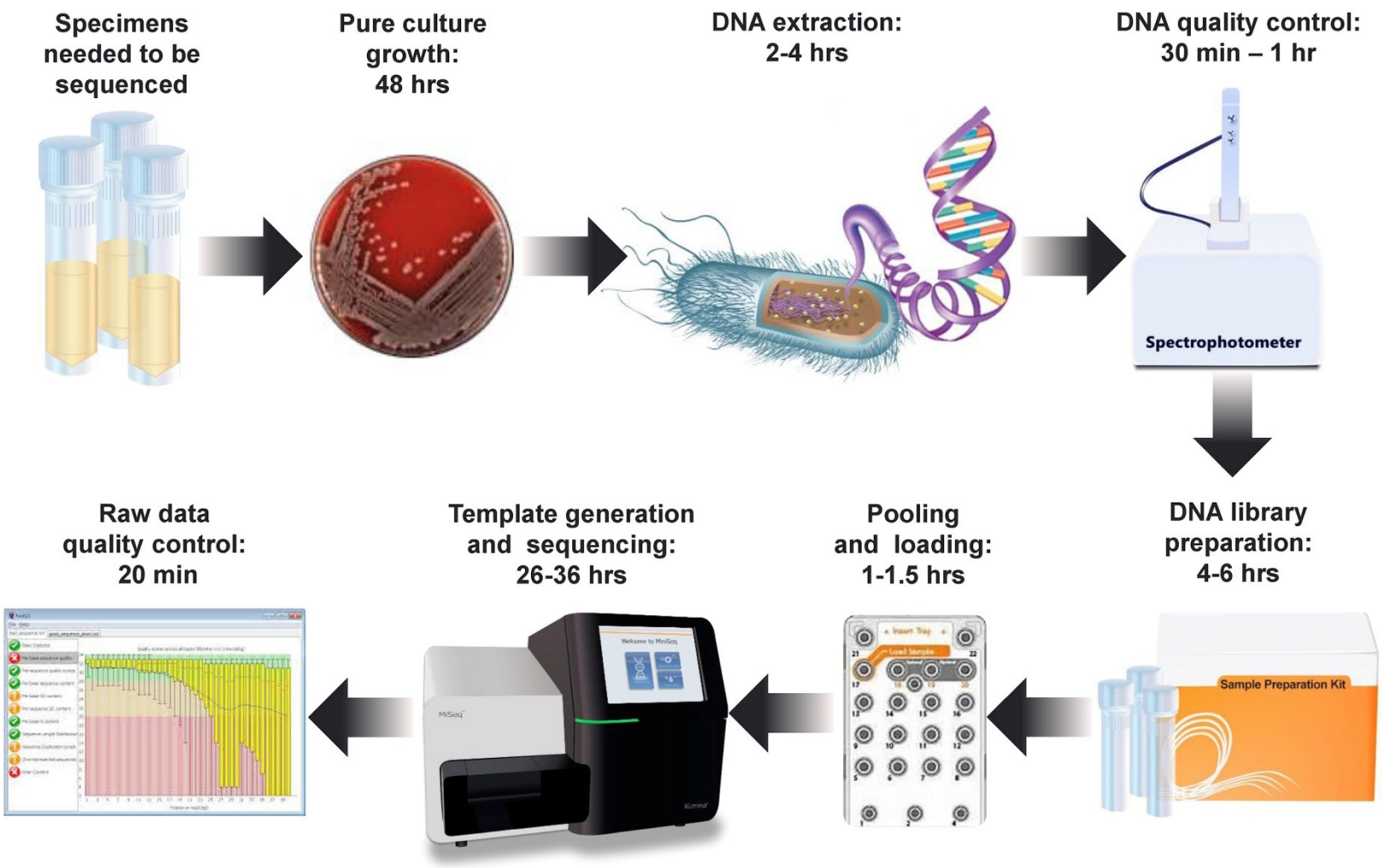
Plásmidos pandémicos



IncX4 (*mcr-1*)
IncI1 (*bla*$_{CTX-M}$)
IncA/C (MDR)
IncN (*bla*$_{KPC}$)

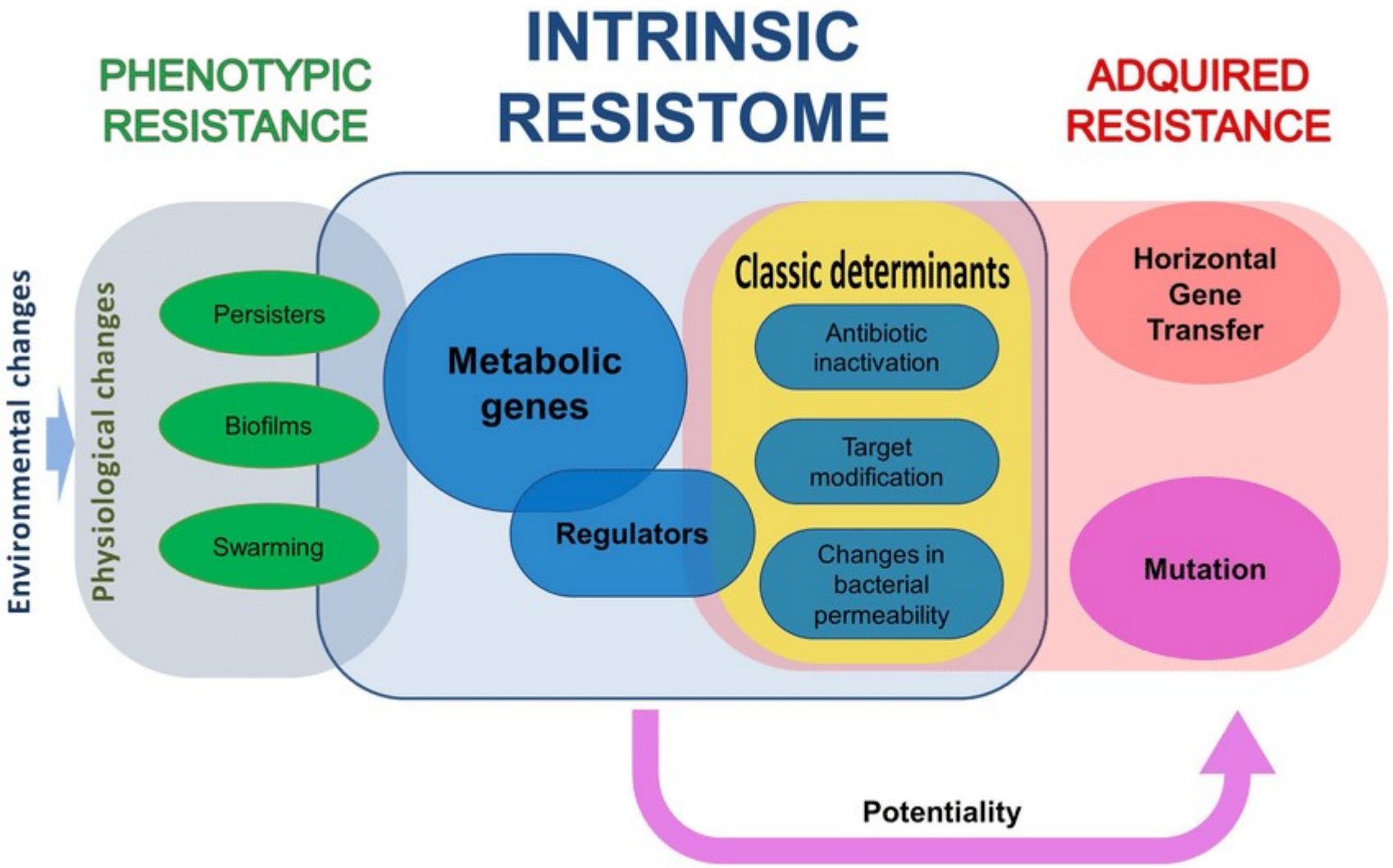
E. coli
***Salmonella* spp.**
K. pneumoniae

Vigilancia genomica/epidemiológica



Besser J., *et al. Clinical Microbiology and Infection* 2018, 24:335-341.

A Origem da RAM



Front Microbiol. 2013 Apr 30;4:103.

Center for Genomic Epidemiology

Home | Organization | Project | Services | Contact

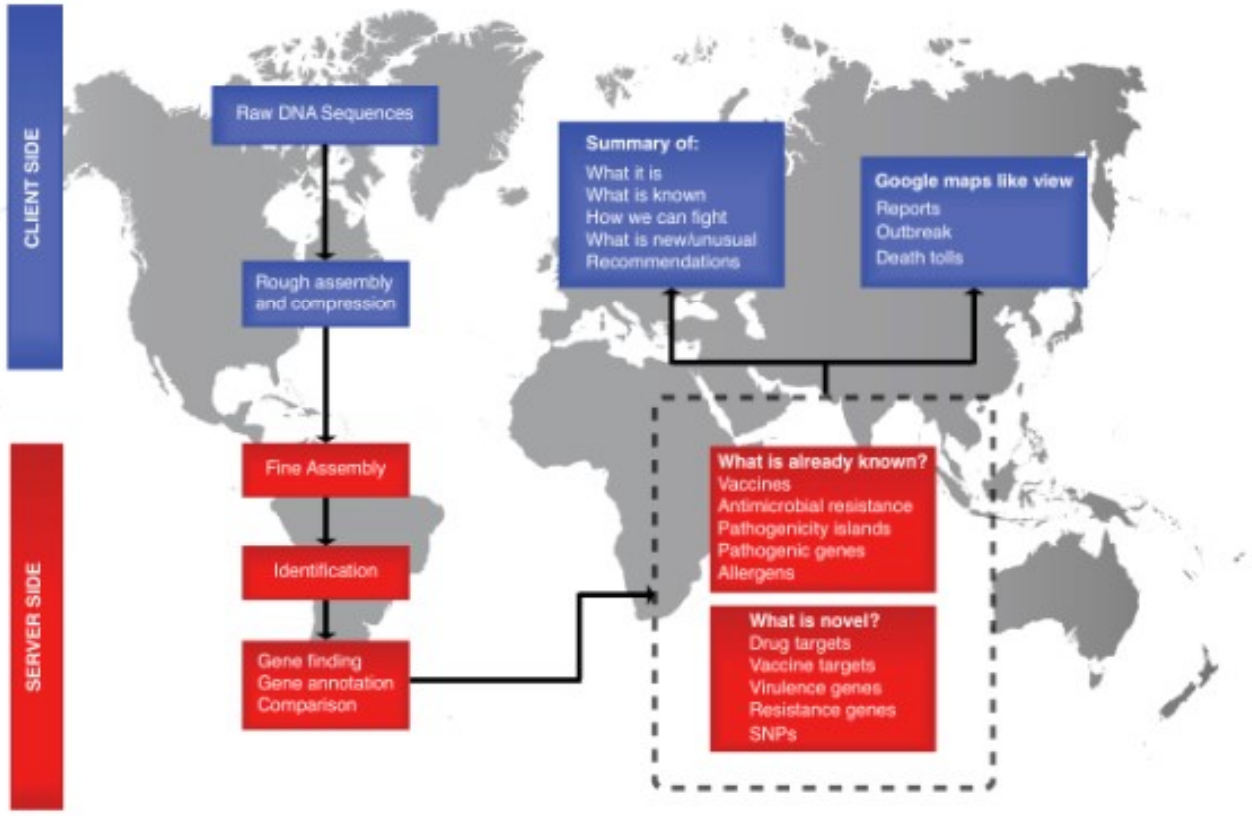
Services

Pipeline:

- Identifcation of acquired antibiotic resistance genes. Bacterial Analysis Pipeline (BAP)

Phenotyping:

- Identifcation of acquired antibiotic resistance genes. ResFinder
- Identifcation of functional metagenomic antibiotic resistance determinants. ResFinderFG
- Identifcation of acquired antibiotic resistance genes using Kmers. KmerResistance
- Prediction of a bacteria's pathogenicity towards human hosts. PathogenFinder
- Identifcation of acquired virulence genes. VirulenceFinder



http://www.genomicepidemiology.org/

ResFinder 4.1

ResFinder identifies acquired genes and/or finds chromosomal mutations mediating antimicrobial resistance in total or partial DNA sequence of bacteria.

Updates

ResFinder and PointFinder software: (2021-05-27)
ResFinder database: (2021-08-04)
PointFinder database: (2021-02-01)

Chromosomal point mutations ☐

Acquired antimicrobial resistance genes ☑

Select Antimicrobial configuration

Select multiple items, with Ctrl-Click (or Cmd-Click on Mac) - as default all databases is selected

- Aminoglycoside
- Beta-lactam
- Colistin
- Disinfectant
- Fluoroquinolone
- Fosfomycin

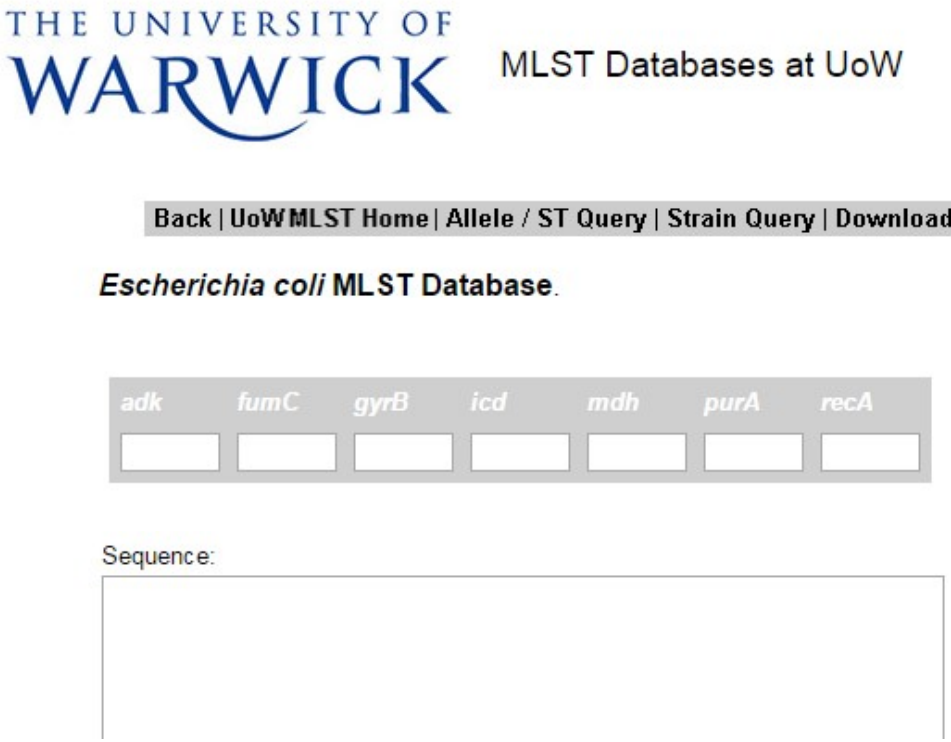
Select threshold for %ID

90 %

Select minimum length

60 %

Multilocus Sequence Typing E. coli

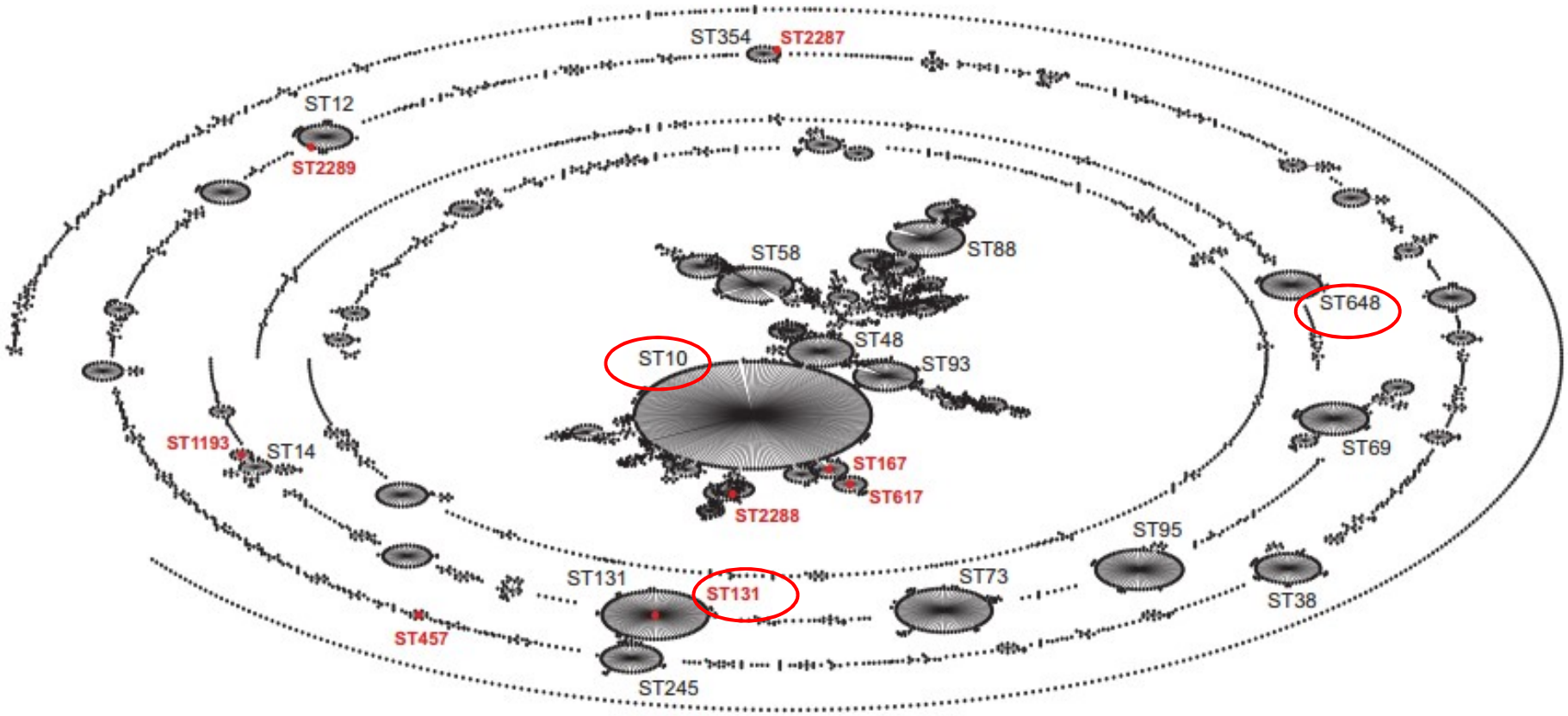


adk (adenylate kinase)
fumC (fumarate hydratase)
gyrB (DNA gyrase)
icd (isocitrate/isopropylmalate dehydrogenase)
mdh (malate dehydrogenase)
purA (adenylosuccinate dehydrogenase)
recA (ATP/GTP binding motif)

MLST permite identificar clones designados como sequencias tipo (ST)

Multilocus Sequence Typing (MLST)

E. coli Complexos Clonales (CC)



Pandémicos: ST131, ST10, ST648, ST224, ST410, ST90, ST155

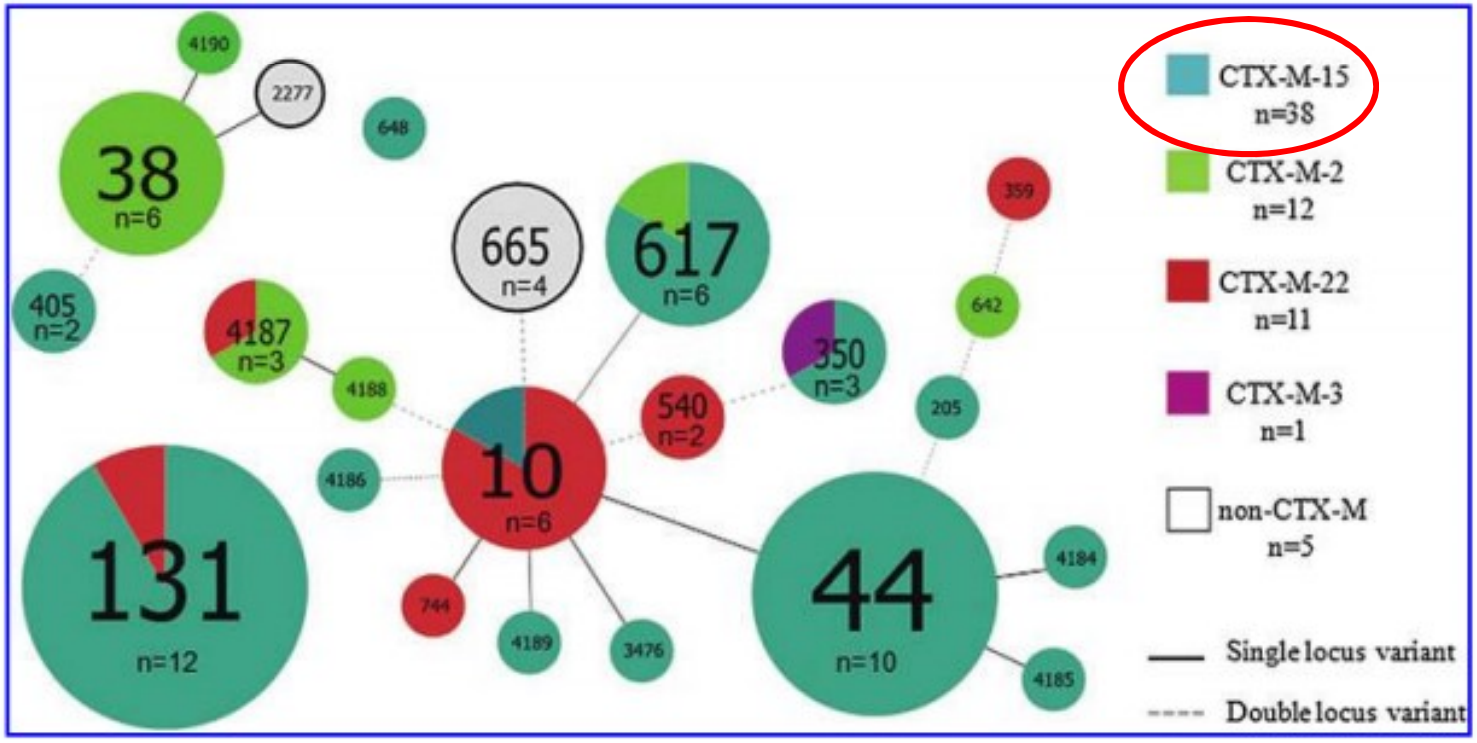
MICROBIAL DRUG RESISTANCE
Volume 00, Number 00, 2014
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/mdr.2014.0158

EPIDEMIOL

Molecular Characterization and Genetic Diversity of ESBL-Producing *Escherichia coli* Colonizing the Migratory Franklin's Gulls (*Leucophaeus pipixcan*) in Antofagasta, North of Chile

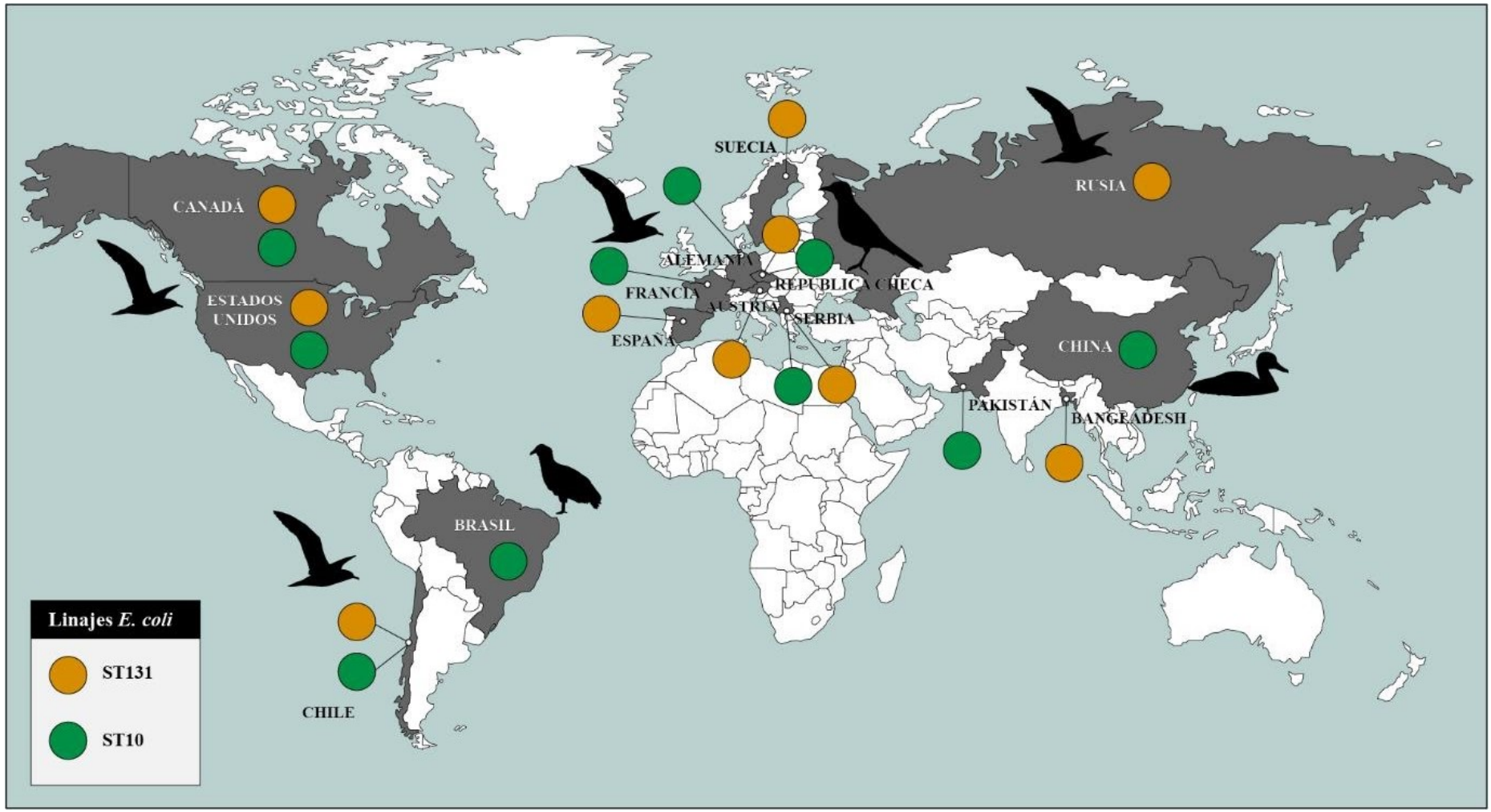
US/Canada para Chile?

John Báez,[1,*] Marta Hernández-García,[2,*] Constanza Guamparito,[1] Sofía Díaz,[1] Abdon Olave,[1] Katherine Guerrero,[1] Rafael Cantón,[2,3] Fernando Baquero,[3,4] Joselyne Gahona,[1] Nicomedes Valenzuela,[1] Rosa del Campo,[2,3] and Juan Silva[1]

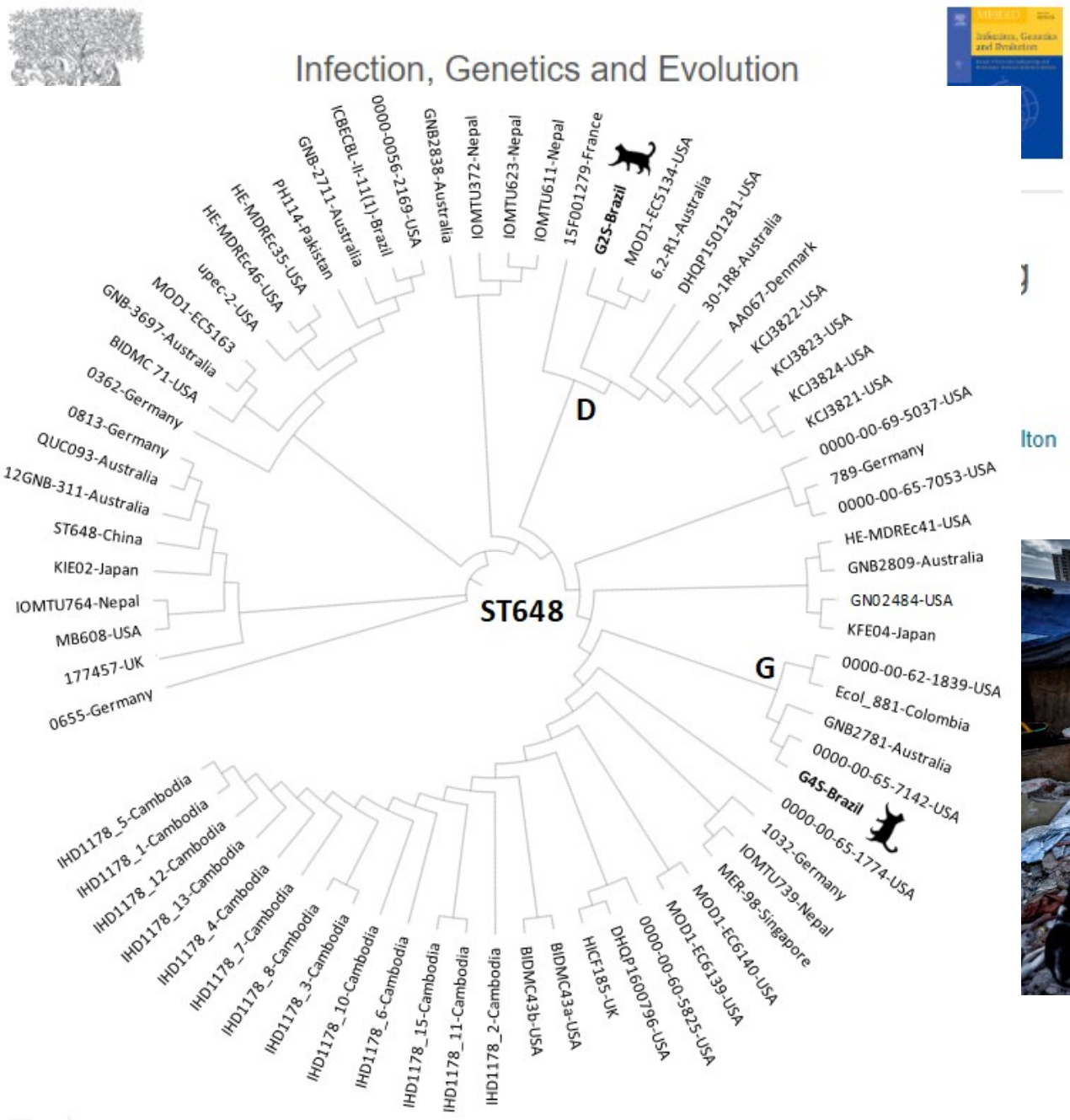


Clones internacionales em aves migratórias

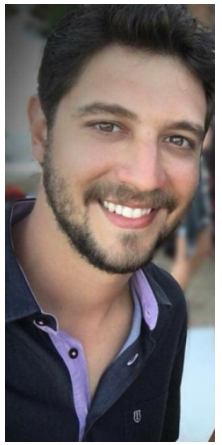
E. coli ST131 y ST10



Fuentes-Castillo. *et al., 2020 (In preparation)*


Infection, Genetics and Evolution
ST648
D
G
G2S-Brazil
G4S-Brazil
15F001279-France
IOMTU611-Nepal
IOMTU623-Nepal
IOMTU372-Nepal
GNB2838-Australia
0000-0056-2169-USA
ICBECBL-II-11(1)-Brazil
GNB-2711-Australia
PH114-Pakistan
HE-MDREc35-USA
HE-MDREc46-USA
upec-2-USA
MOD1-EC5163
GNB-3697-Australia
BIDMC 71-USA
0362-Germany
0813-Germany
QUC093-Australia
12GNB-311-Australia
ST648-China
KIE02-Japan
IOMTU764-Nepal
MB608-USA
177457-UK
0655-Germany
MOD1-EC5134-USA
6.2-R1-Australia
DHQP1501281-USA
30-1R8-Australia
AA067-Denmark
KCJ3822-USA
KCJ3823-USA
KCJ3824-USA
KCJ3821-USA
0000-00-69-5037-USA
789-Germany
0000-00-65-7053-USA
HE-MDREc41-USA
GNB2809-Australia
GN02484-USA
KFE04-Japan
0000-00-62-1839-USA
Ecol_881-Colombia
GNB2781-Australia
0000-00-65-7142-USA
0000-00-65-1774-USA
1032-Germany
IOMTU739-Nepal
MER-98-Singapore
MOD1-EC6140-USA
MOD1-EC6139-USA
0000-00-60-5825-USA
DHQP1600796-USA
HICF185-UK
BIDMC43a-USA
BIDMC43b-USA
IHD1178_2-Cambodia
IHD1178_11-Cambodia
IHD1178_15-Cambodia
IHD1178_6-Cambodia
IHD1178_10-Cambodia
IHD1178_3-Cambodia
IHD1178_8-Cambodia
IHD1178_7-Cambodia
IHD1178_4-Cambodia
IHD1178_13-Cambodia
IHD1178_12-Cambodia
IHD1178_1-Cambodia
IHD1178_5-Cambodia

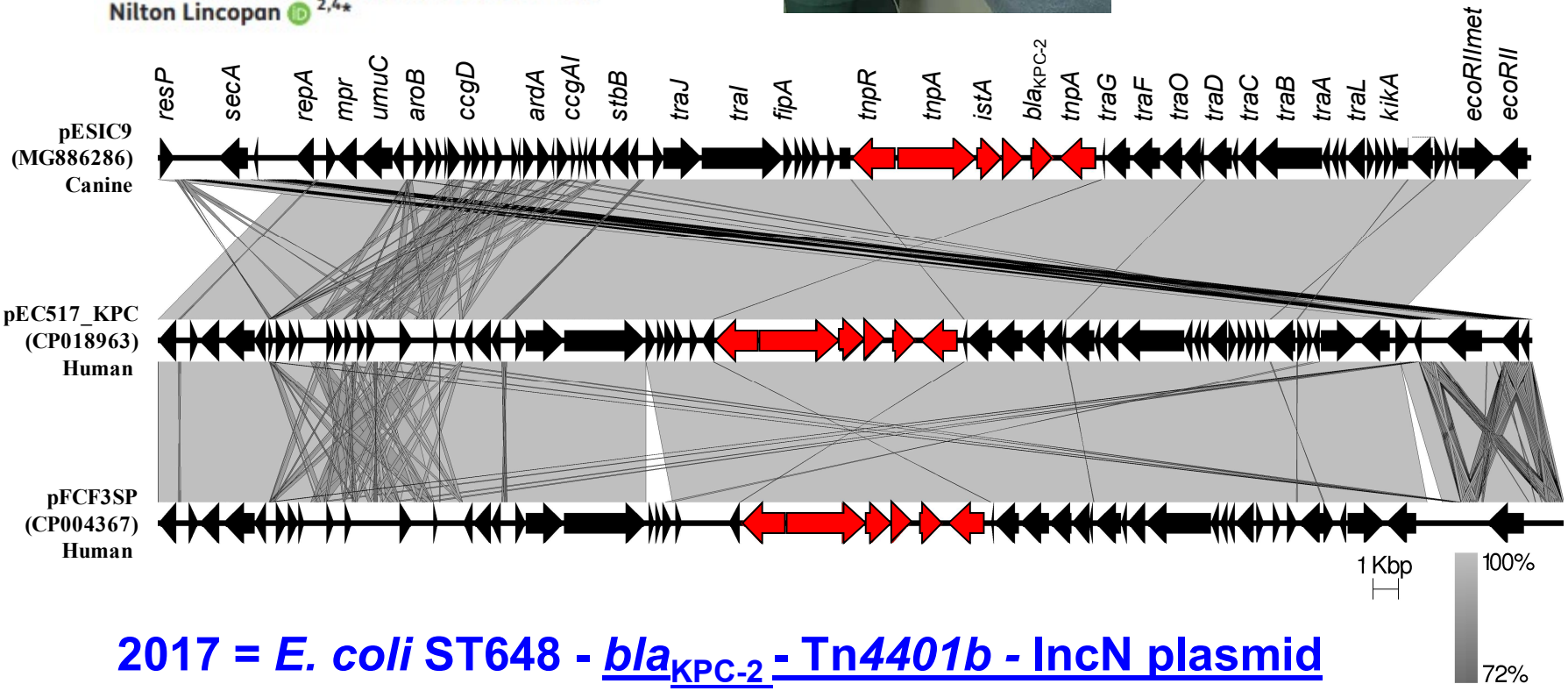
Journal of Antimicrobial Chemotherapy



J Antimicrob Chemother
doi:10.1093/jac/dky173

Identification of KPC-2-producing *Escherichia coli* in a companion animal: a new challenge for veterinary clinicians

Fábio P. Sellera[1]†, Miriam R. Fernandes [2]†, Regina Ruiz[3], Ana C. M. Falleiros[3], Fernanda P. Rodrigues[3], Louise Cerdeira[2] and Nilton Lincopan [2,4]*



2017 = *E. coli* ST648 - bla_{KPC-2} - Tn*4401b* - IncN plasmid