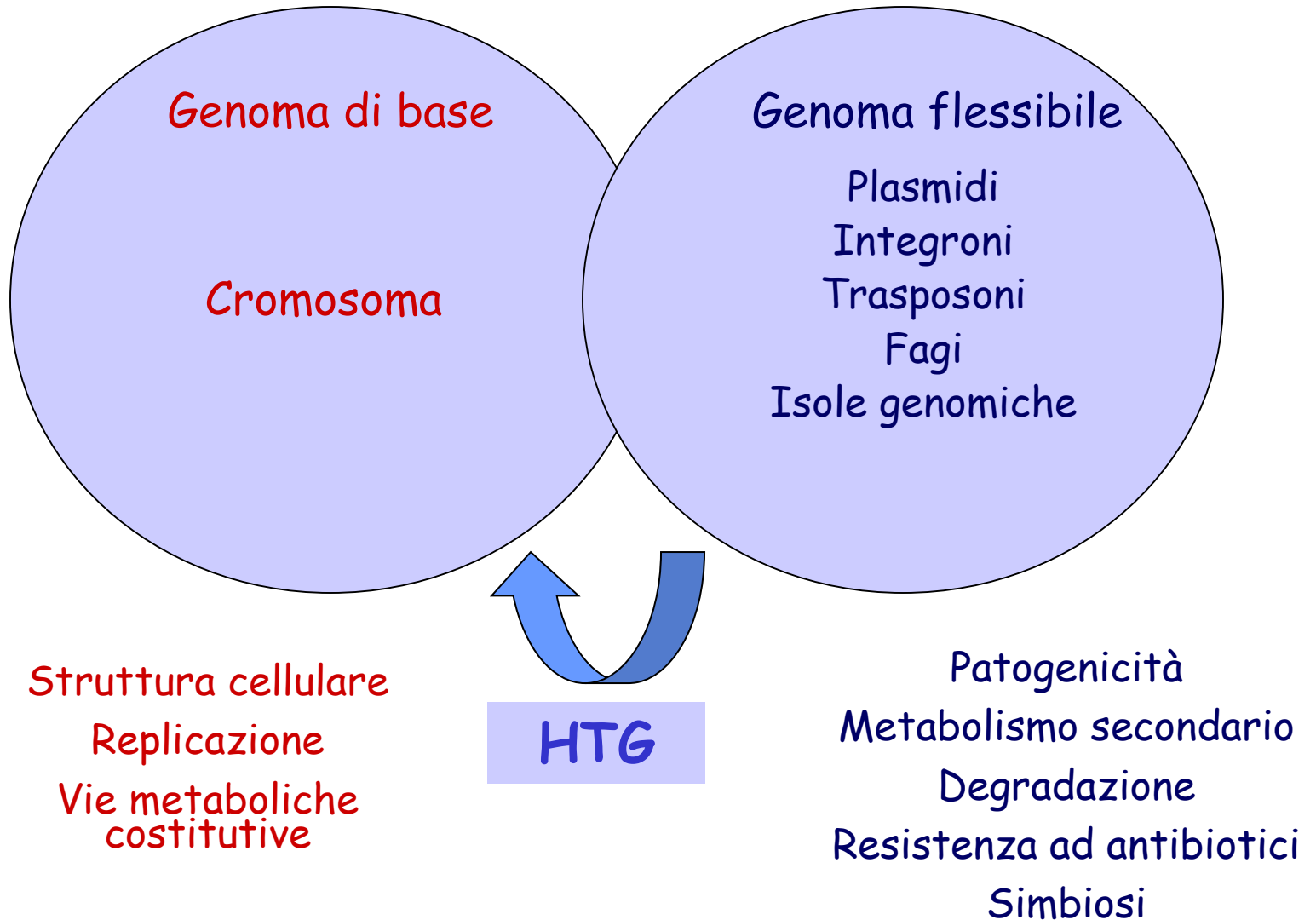
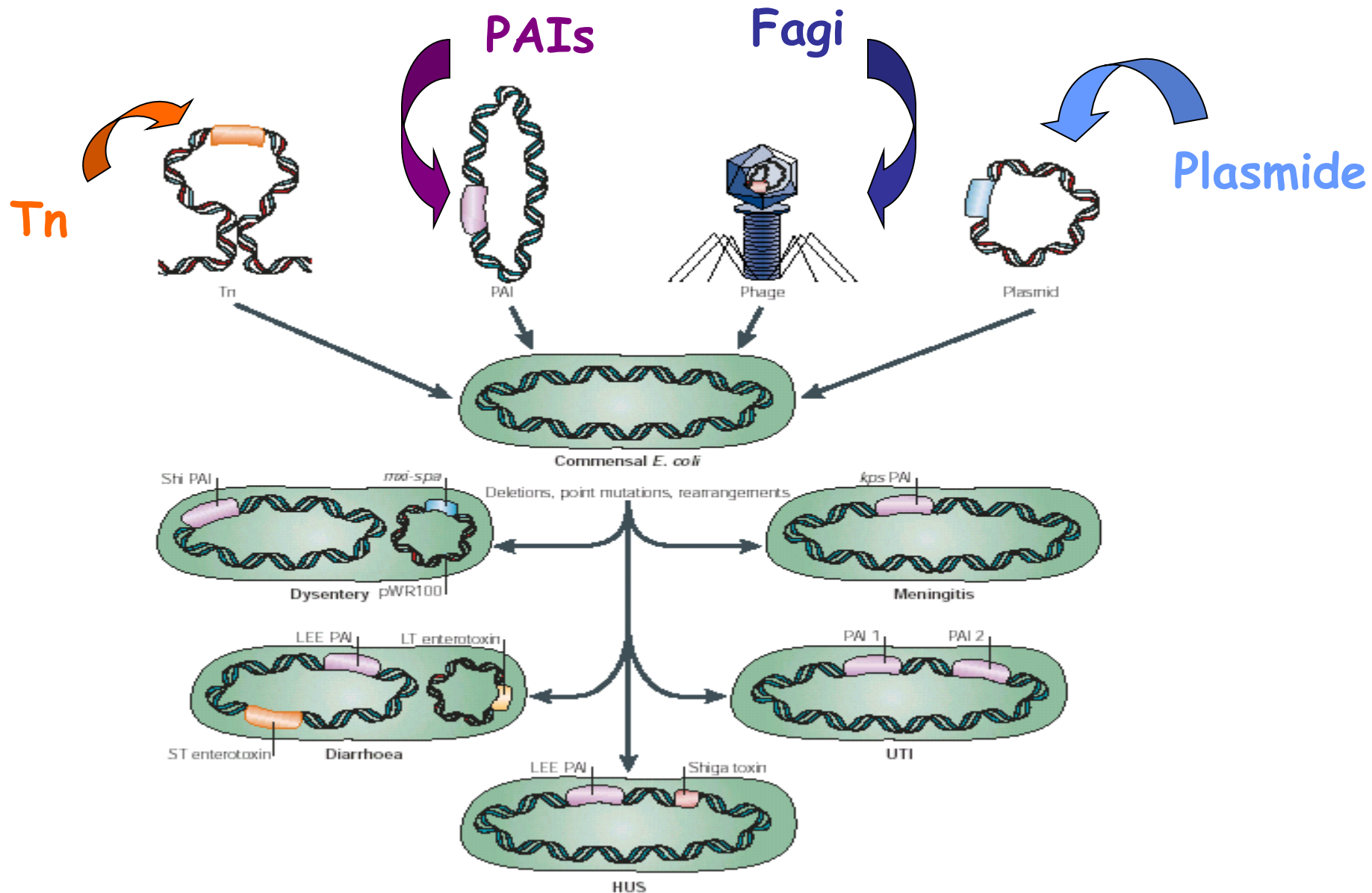


EVOLUZIONE DEL GENOMA BATTERICO



Le principali strutture coinvolte nel trasferimento genico orizzontale



Altri elementi genetici mobili :

gli integroni

gli ICE

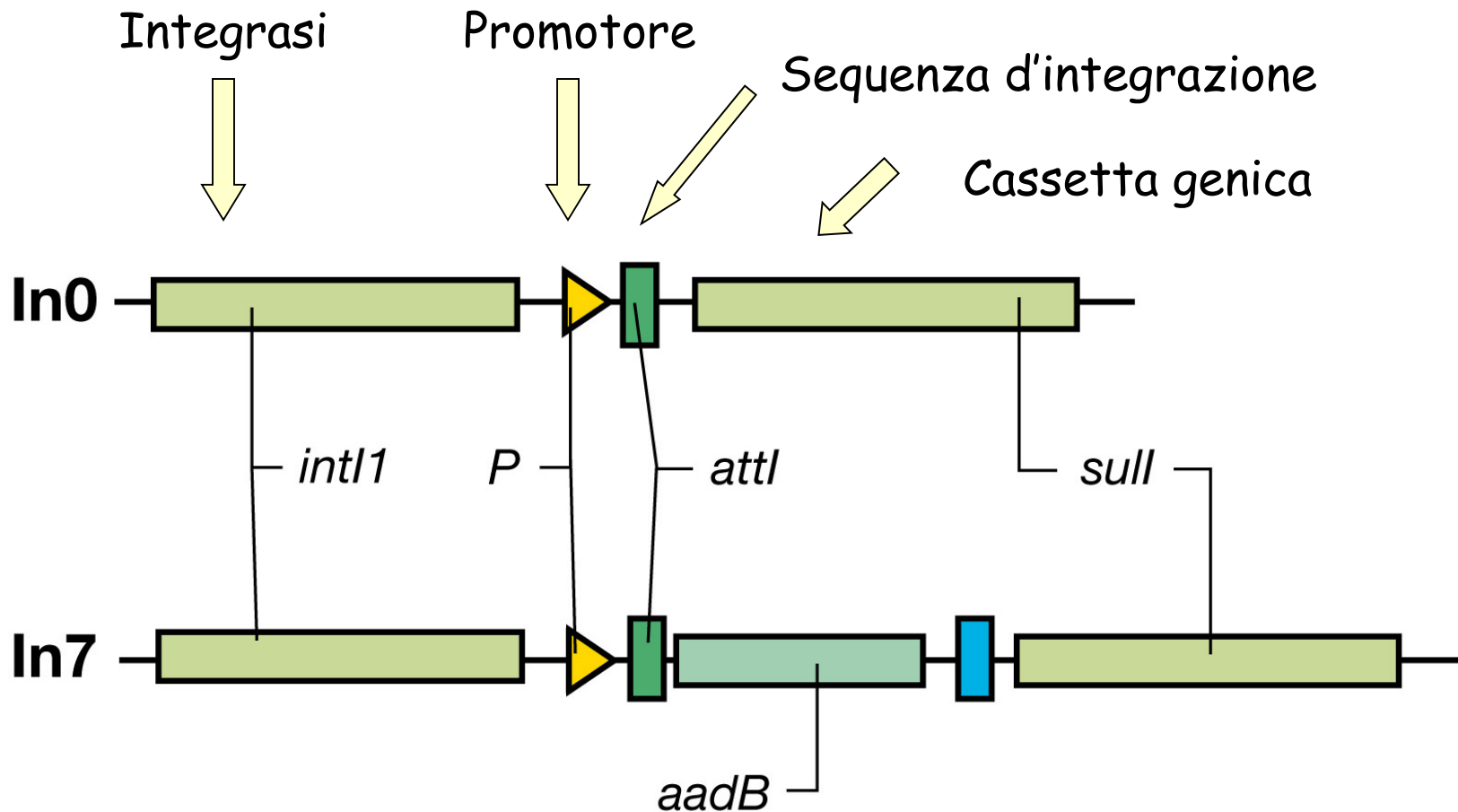
Le PAI (isole di Patogenicità) o GEI (isole Genomiche)

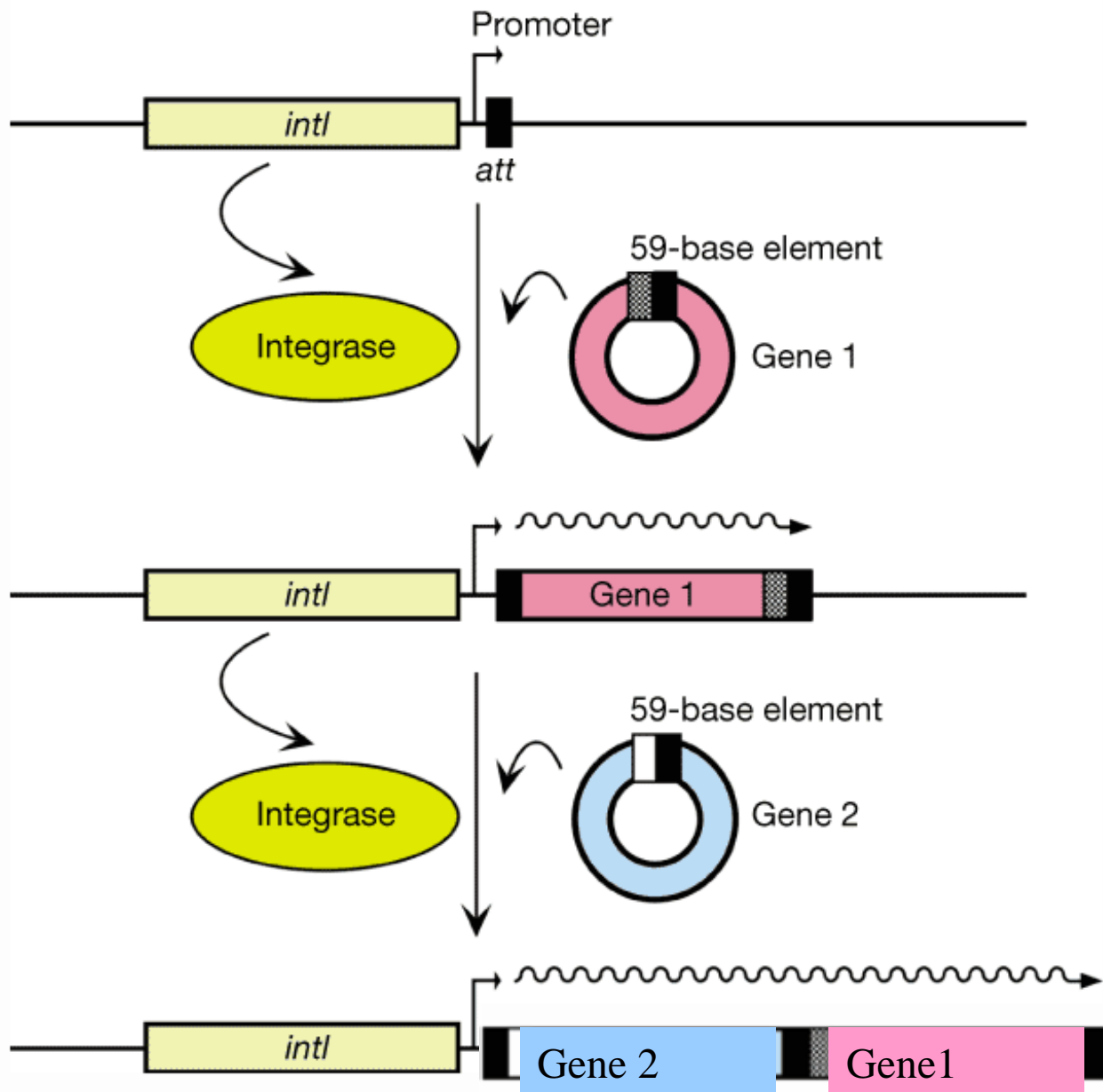
INTEGRONI sono elementi genetici che hanno la capacità di recuperare geni e di farli esprimere

Gli integroni sono caratterizzati da 3 elementi chiave:

- un gene (**intI**) che codifica per l'integrasi, un enzima in grado di indurre ricombinazione sito specifica;
- una sequenza specifica (**attI**) che viene utilizzata per l'integrazione integrasi-mediata;
- un promotore orientato verso l'esterno che permette l'espressione del gene integrato.

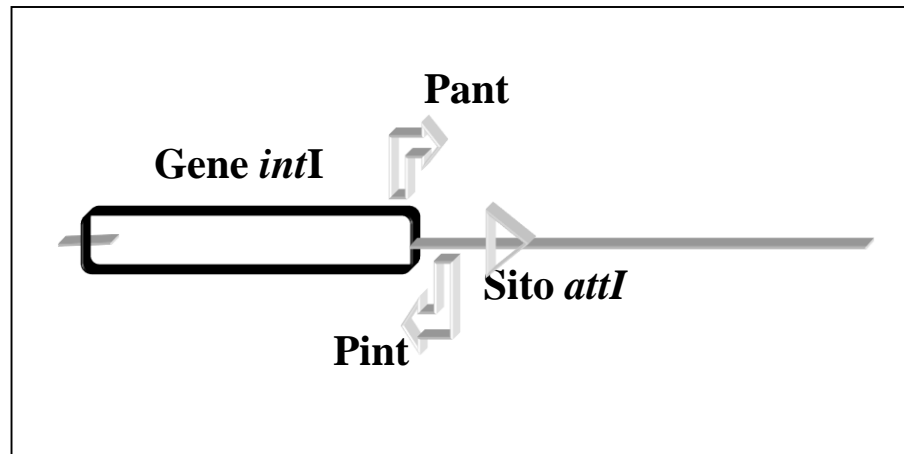
Struttura degli integroni





Promotore ***Pant*** o ***P1***

- Localizzato nella regione conservata al 5'
- Trascrizione dei geni incorporati a valle
-



Gli **INTEGRONI** integrano al loro interno non geni casuali ma specifiche **cassette geniche** caratterizzate:

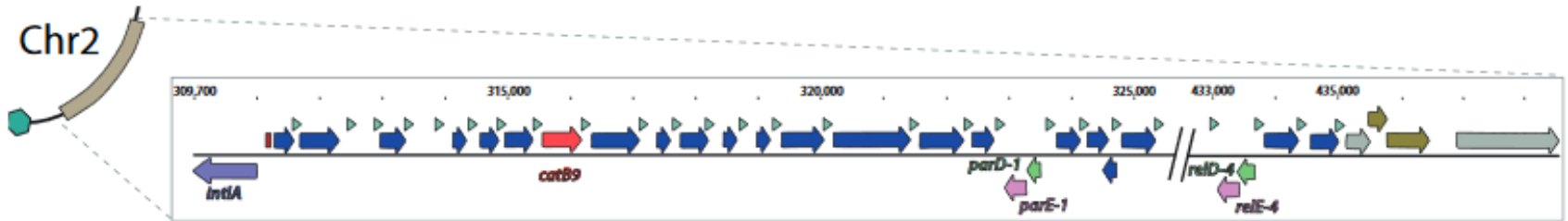
- geni fiancheggiati da sequenze specifiche di DNA riconosciute dall'integrasi;
- geni che non si esprimono finchè non vengono integrati nell'integrone e possono essere trascritti dal promotore dell'integrone

Le cassette geniche

- condividono delle caratteristiche strutturali comuni
- generalmente contengono un singolo gene
- hanno delle sequenze invertite ripetute all'estremità 3' definito sito **attC** o sequenza 59 bp

Gli integroni non sono elementi mobili di per se come le sequenze IS o i Tn ma sono associati ad elementi trasponibili o a plasmidi coniugativi che li possono veicolare all'interno della stessa specie o tra specie diverse.

Struttura della regione VCR sul cromosoma 2



Il Cromosoma 2 contiene un largo gruppo di Intergenic Repeated sequences(VCR) che fiancheggiano gruppi di geni estremamente variabili. Questa struttura viene definita superintegrone perché contiene un integrasi, e la classica struttura di base di un integrone pur avendo dimensioni di oltre 100Kb.

All'interno si trovano geni di antibiotico resistenza, sistemi toxin/antitoxin, regolatori della trascrizione e molti geni a funzione ancora sconosciuta.

Gli integroni sono strutture genetiche mobili costituiti da una regione costante (Promotore, integrasi e sito di integrazione) e da una regione variabile in grado di codificare diverse funzioni tra le quali l'antibiotico-resistenza

Gli integroni mantengono memoria di funzioni adattative e permettono al batterio di adattarsi rapidamente alle variazioni ambientali.

Come?

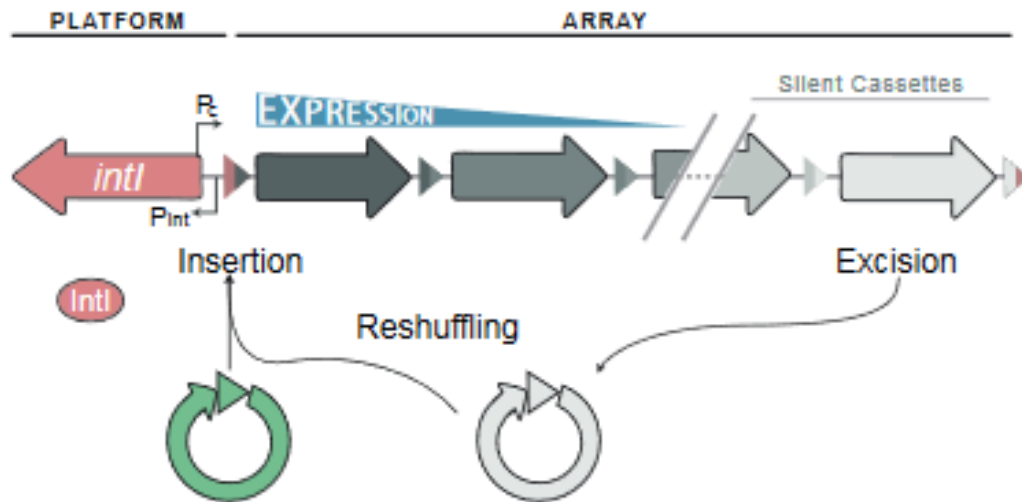
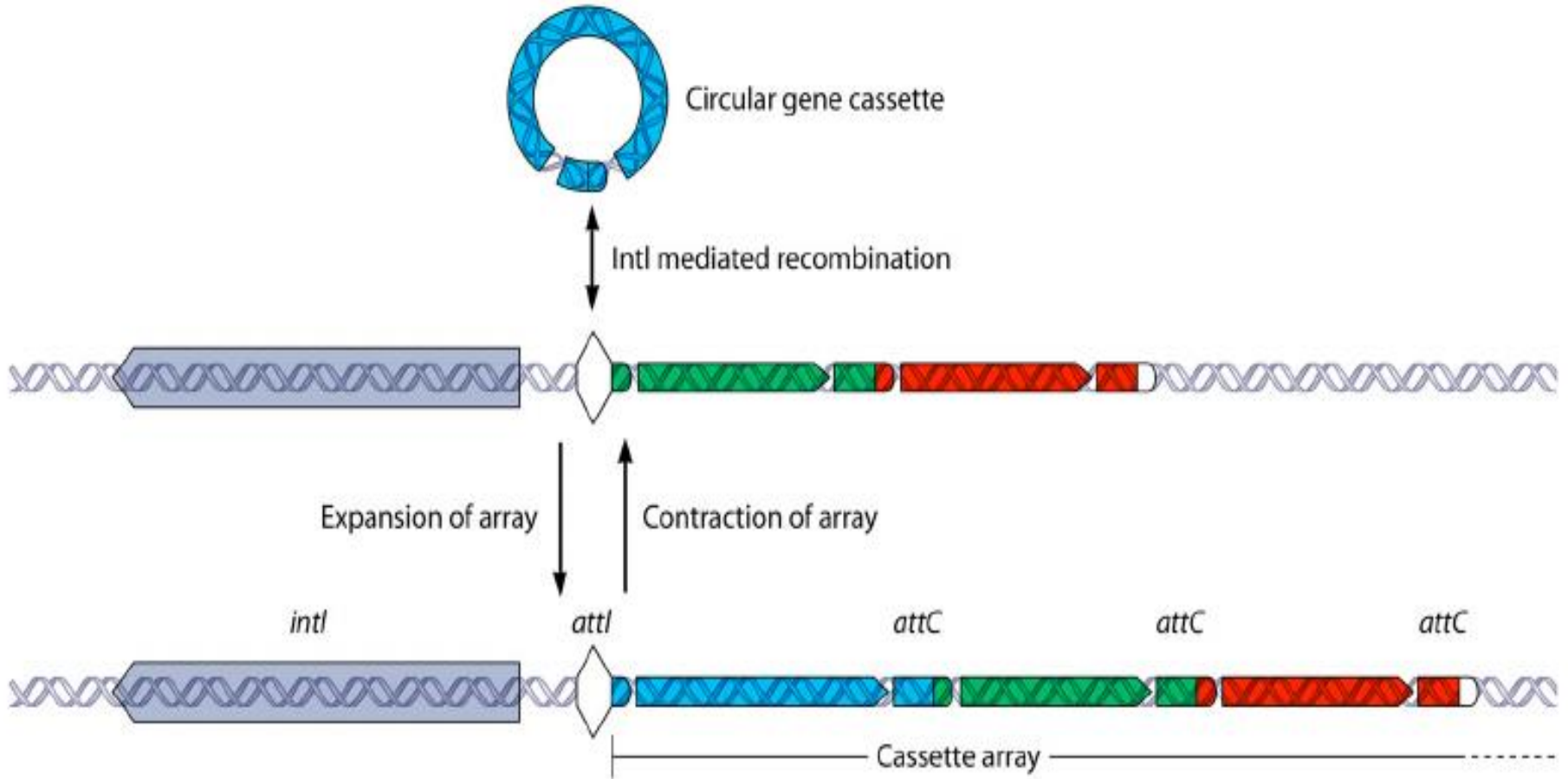


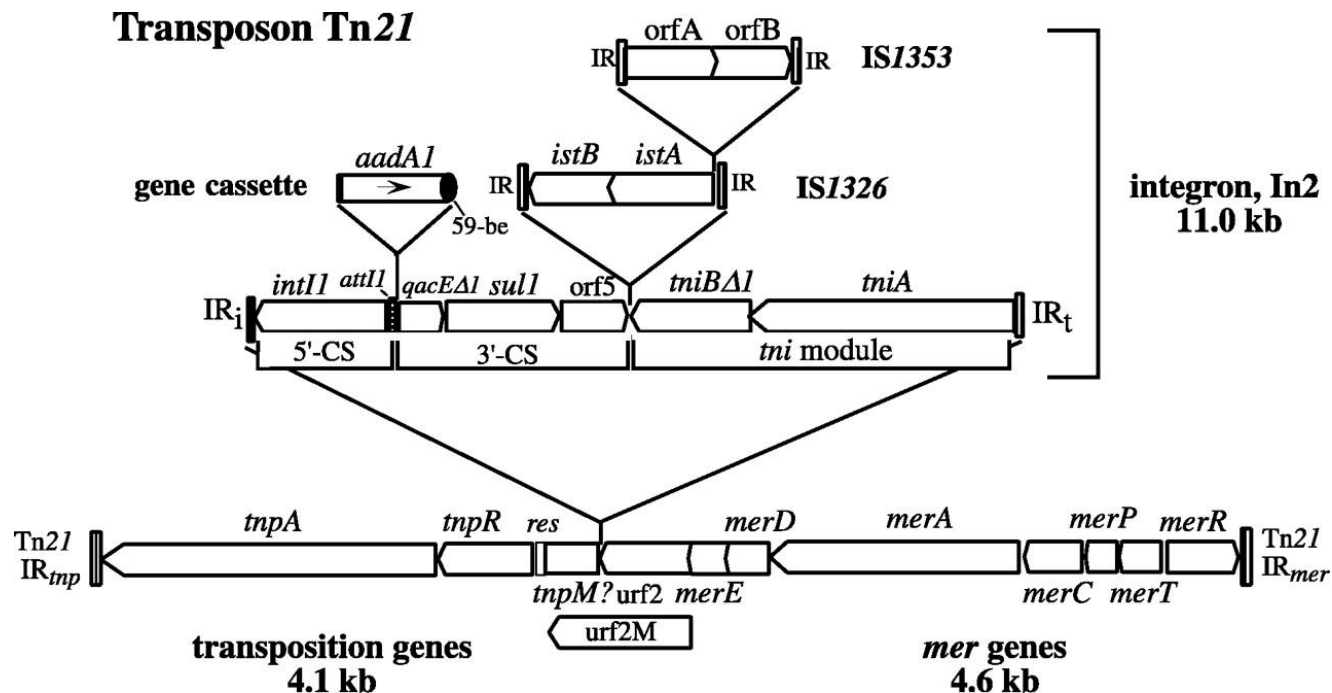
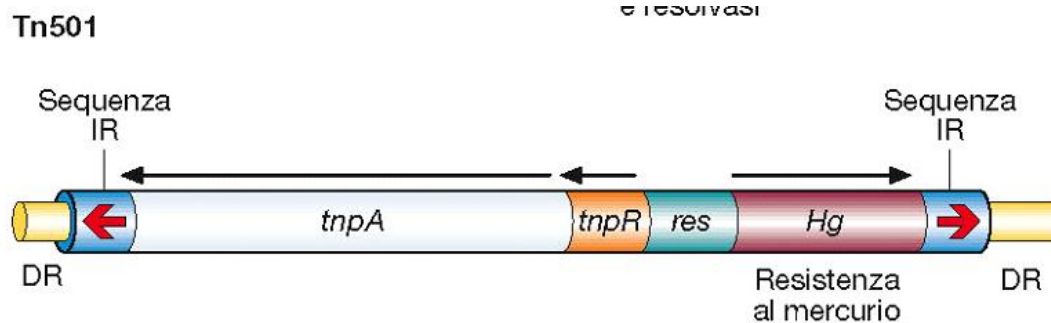
Fig. 3. Diagram of the integron. Genes are represented by arrows and recombination sites as triangles. The *intI* gene encodes the integrase that governs cassette insertion and excision. Coupling of both reactions reshuffles cassette order. Cassettes are expressed from the *P_c* promoter in the integron platform. Multiple insertion events lead to the stockpiling of cassettes, constituting a memory of adaptive functions. Expression of cassettes is weaker when located far from the PC. Integrase is expressed from the *P_{int}* when the SOS response is triggered and can reshuffle cassettes, changing their expression levels.

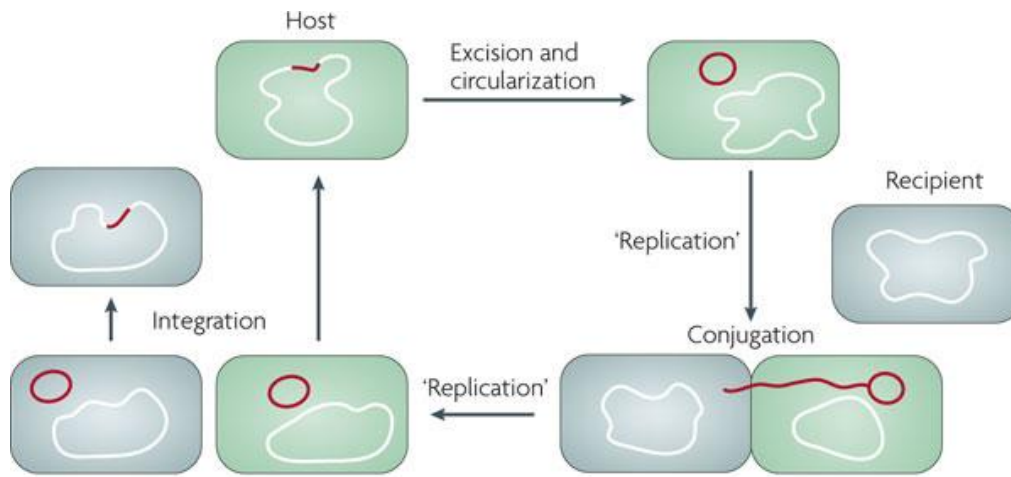
A partire dal *P_c* (promotore) si stabilisce un gradiente di espressione mettendo le funzioni che sono state acquisite inizialmente lontane dal promotore al punto da diventare silenti.

In condizioni di stress le cassette possono excidersi perché il promotore dell'integrasi è sotto controllo del sistema SOS e possono quindi reinserirsi in posizioni promotore prossimali ed essere espresse.



Da una a molte antibiotico-resistenze: evoluzione di un trasposone

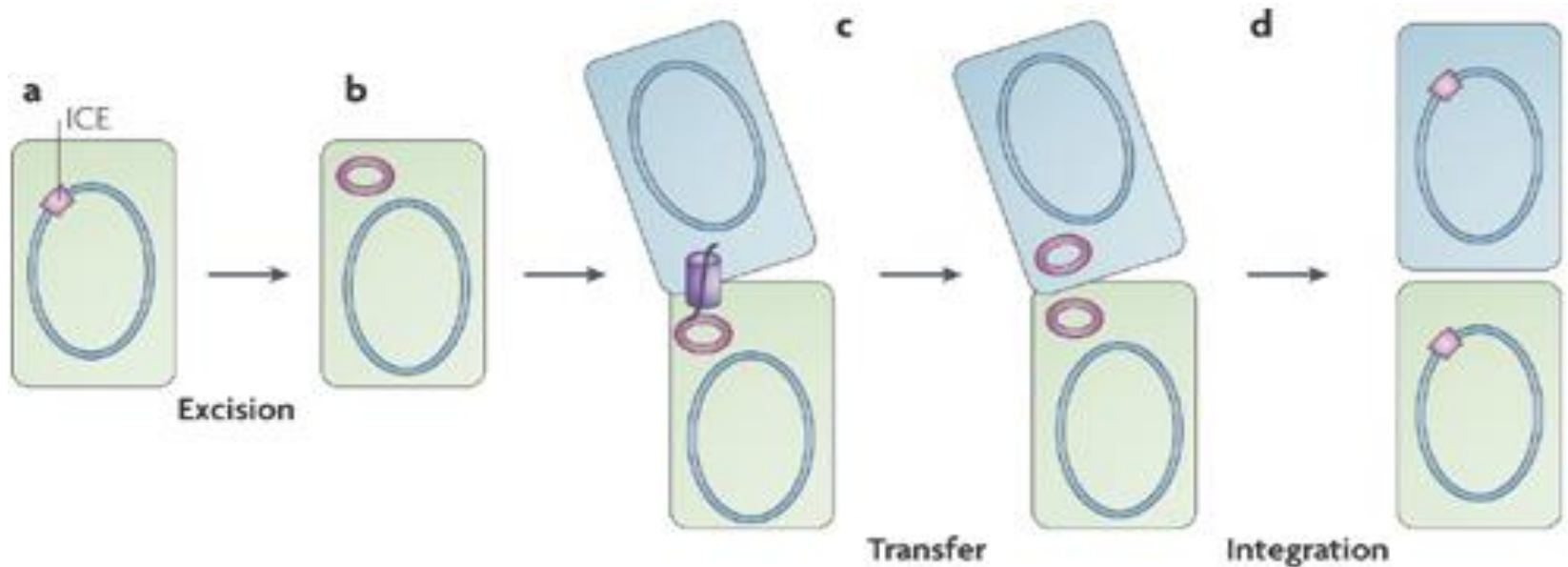




Gli ICE : Integrative conjugative elements

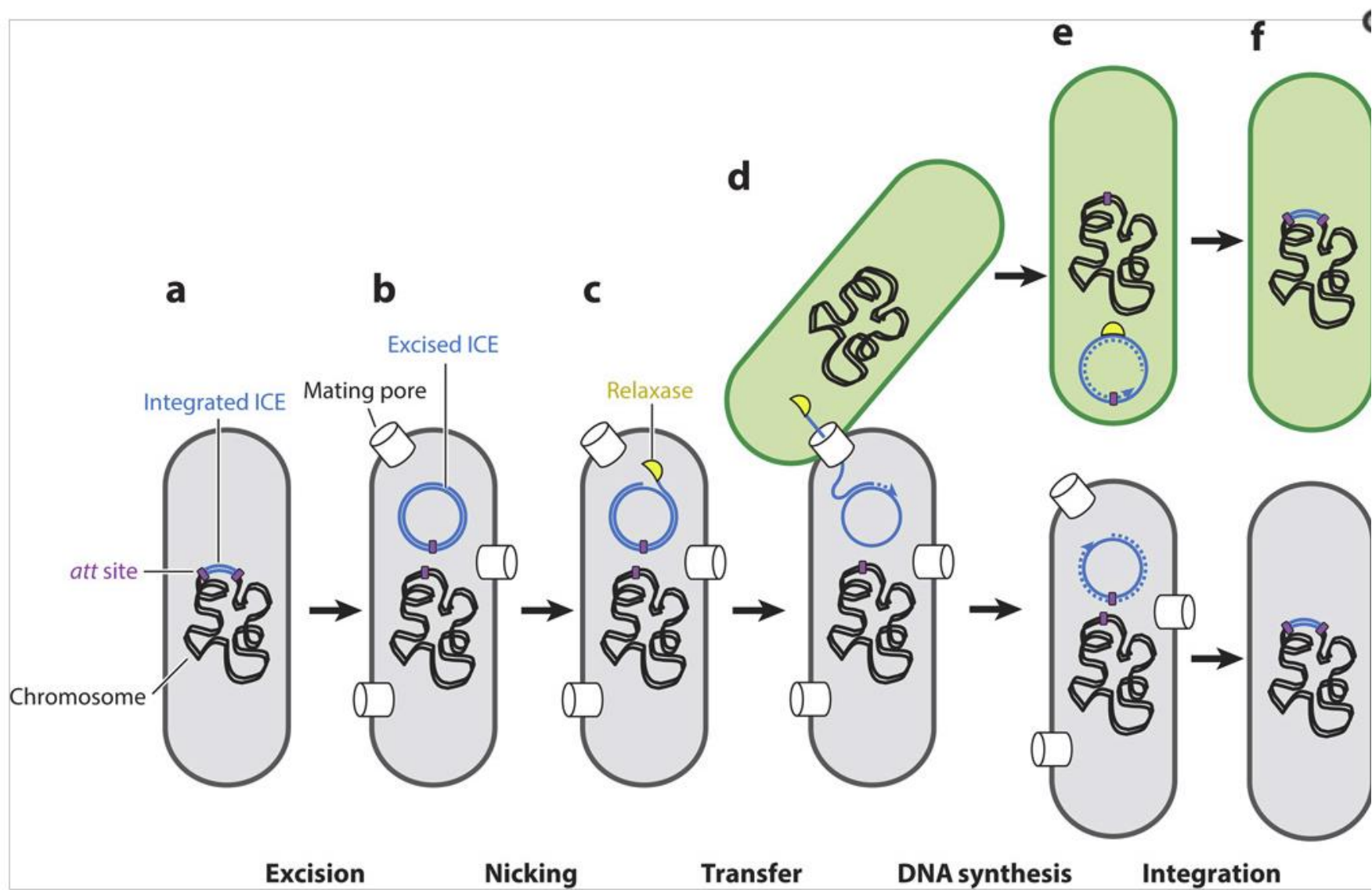
fagi , plasmidi o trasposoni?

Gli ICE si ritrovano integrati nel cromosoma dell'ospite in un sito specifico (attB) e sono fiancheggiati da sequenze specifiche definite attL and attR. In seguito ad excisione precisa tramite ricombinazione sito specifica tra le sequenze attL e attR si ottiene la molecola di ICE circolare che conterà il sito attP mentre sul cromosoma della cellula ospite si troverà il sito att B. Durante il processo di coniugazione con una cellula ICE-free, il donatore ed il recipiente vengono in contatto e una singola elica di ICE viene trasferita tramite il meccanismo a cerchio rotante. Dopo il trasferimento la DNA polimerasi del recipiente riformerà una molecola circolare a doppia elica. Tramite ricombinazione sito specifica tra i siti attP dell'ICE e attB del cromosoma l'ICE si integrerà nel cromosoma del recipiente.



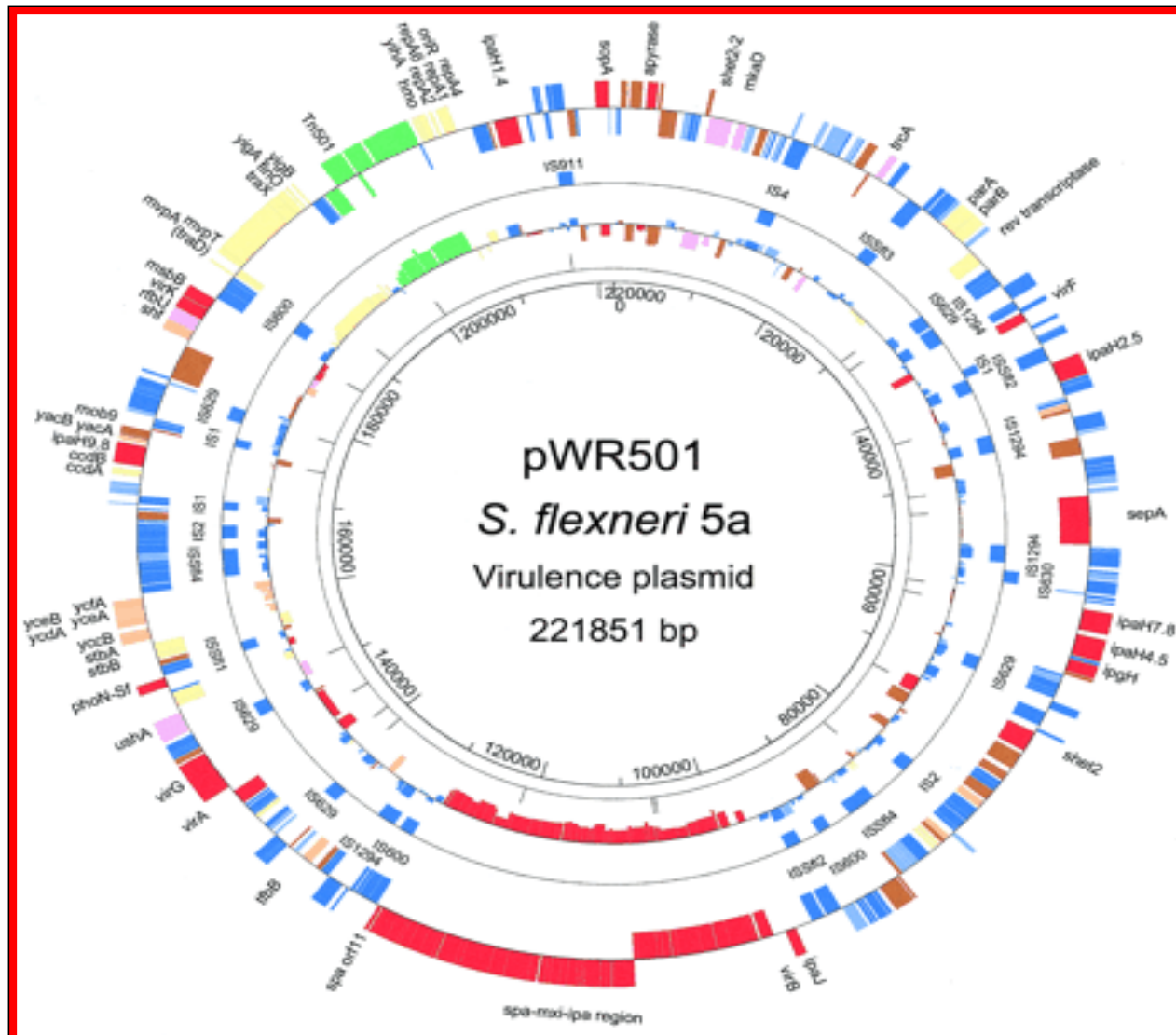
Gli ICE sono normalmente integrati nel cromosoma della cellula ospite e sono replicati e trasmessi alle cellule figlie allo stato integrato come fossero regioni del cromosoma del batterico.

In alcune condizioni gli ICE si possono excidere dal cromosoma batterico, formando un intermedio circolare. L'intermedio circolare si replica ed un filamento viene trasferito alla cellula ricevente tramite un poro di coniugazione. I componenti del sistema di trasferimento sono codificati dall'ICE.



The ICE (integrative and conjugative element) life cycle. A model of ICE conjugation is shown. The bacterium bearing the ICE (the donor) is shown in gray, and the bacterium acquiring the ICE (the recipient) is shown in green. The ICE DNA is shown in blue. (a) The ICE is found integrated into the host chromosome. Most ICE genes are not expressed, because of either repression or lack of activation. (b) When ICE gene expression is induced, the ICE excises from the host chromosome and forms a dsDNA circular plasmid. ICE-encoded proteins are produced, some of which assemble into the mating pore (cylinders spanning the donor cell envelope). (c) The ICE-encoded relaxase nicks one strand of the ICE dsDNA and covalently attaches to the 5' end of the nicked DNA, forming the transfer DNA (T-DNA). (d) If an appropriate recipient is available, the conjugation machinery transports the T-DNA into the recipient cell. (e) In the recipient cell, the relaxase ligates the 5' and 3' ends of the DNA to form a covalently closed ssDNA circle. The complementary DNA strand is synthesized to generate a dsDNA circle that is the substrate for integration into the host chromosome. In the donor, the remaining DNA strand likely serves as the template for rolling-circle replication, generating a dsDNA circle that can then reintegrate into the host chromosome. Without this synthesis and reintegration, the ICE would be lost from cells in which it had excised. (f) In both the donor and recipient, the circular dsDNA ICE integrates into the host chromosome.

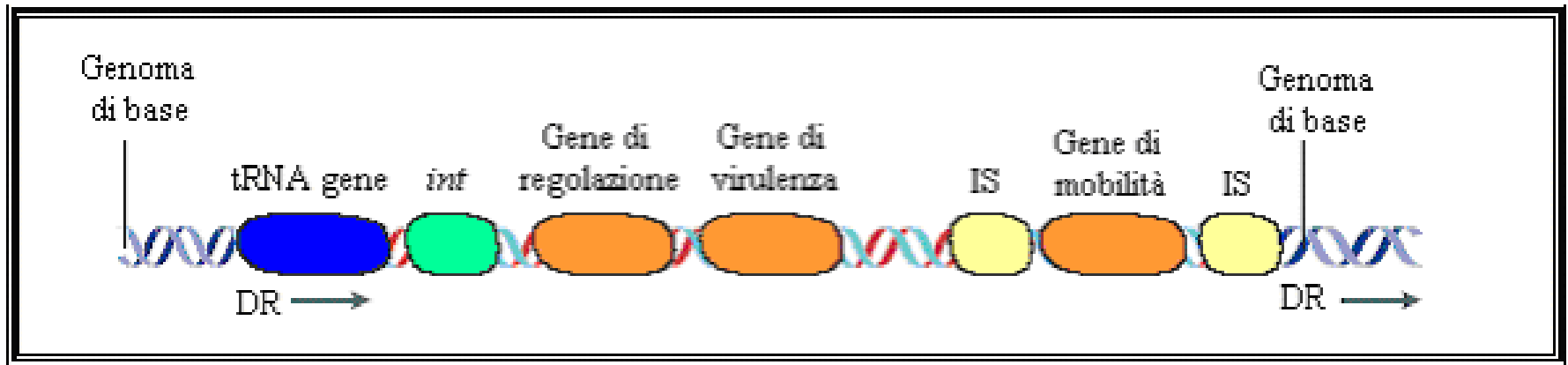
Plasmide di virulenza di *Shigella* contiene numerose IS



rosso → geni di virulenza

blu → IS

ISOLE DI PATOGENICITA'

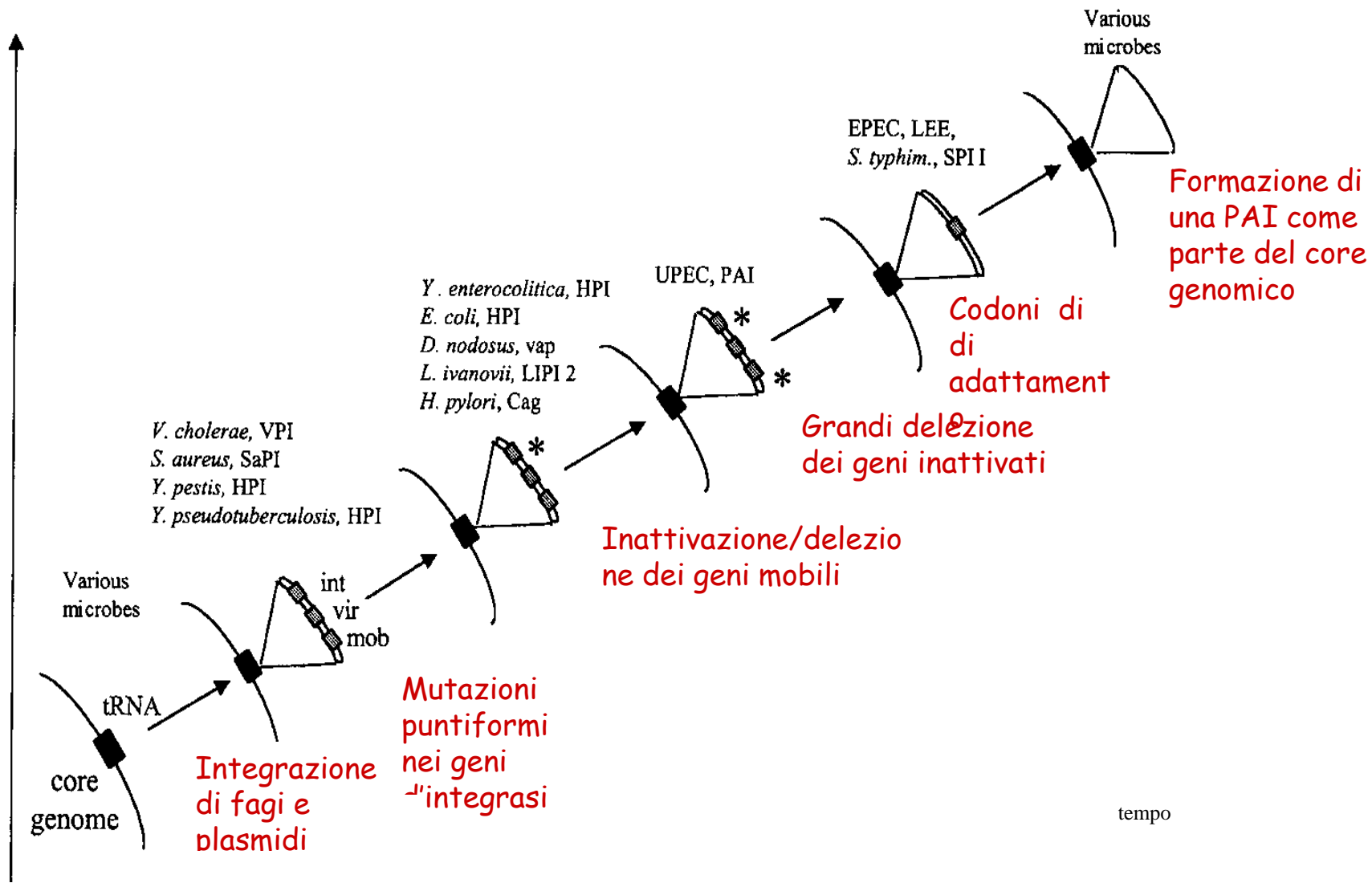


- Contengono uno o più geni di virulenza
- Sono presenti solo nei ceppi patogeni
- Sono di grandi dimensioni 10-200 kb
- Hanno un diverso contenuto in G+C (recente HTG)
- Sono spesso inserite in geni per tRNA
- Sono fiancheggiate da sequenze di DNA direttamente ripetute (DR)
- Sono associate a elementi genetici mobili
- Sono instabili
- Rappresentano strutture a mosaico

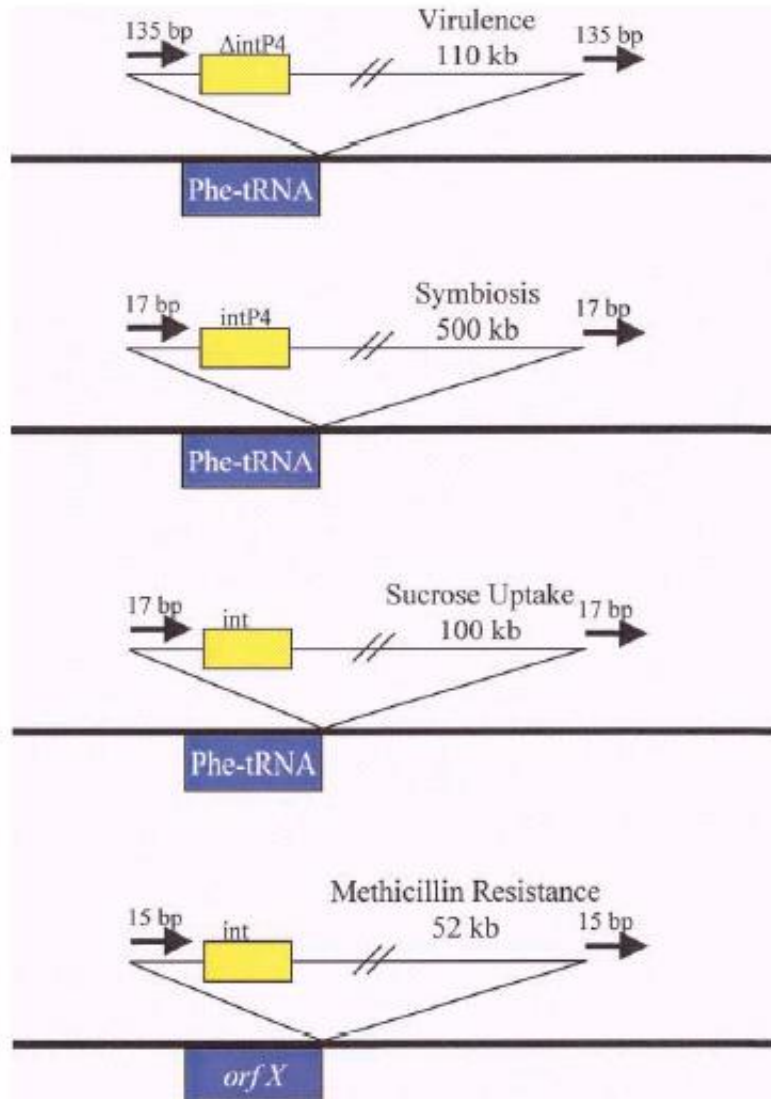
Caratteristiche generali delle Isole genomiche

- Sono regioni di DNA acquisite tramite HGT inserite nelle vicinanze dei **tRNA**.
- Sono fiancheggiate da **DR**
- Contengono diversi geni coinvolti nel processo di adattamento
- Contengono elementi IS funzionali o difettivi
- contiene geni legati alla motilità
- Ruolo fondamentale svolto dal gene **INT** che codifica per l'**INTEGRASI** coinvolta nell'inserzione e delezione di regioni di DNA fiancheggiate da DR

Stadi evolutivi della formazione dell'isola di patogenicità



Non soltanto Pathogenicity Island : il fenomeno coinvolge altri gruppi di geni → Genomic Island



Geni di virulenza

Pathogenicity island
Uropathogenic E.coli

Geni per la simbiosi

Symbiosis Island
Mesorhizobium loti

Geni per l'utilizzazione di zuccheri

Metabolic Island
Salmonella senftenberg

Geni per la resistenza ad uno o più antibiotici

Resistance Island
Staphylococcus aureus