

MÓDULOS TA.

IGEM!!

NUESTRO

PROYECTO.

Junio 07, 2012
Silvia J. Cañas D.



CONTENIDO

Conceptos Básicos

Módulos Toxina-Antitoxina

Persistencia

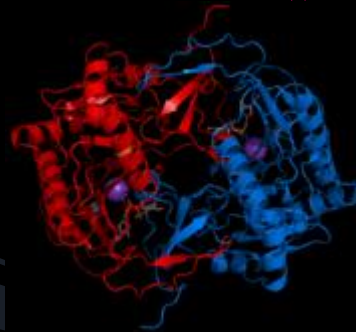
iGEM

Nuestro proyecto



MÓDULOS TÓXINA- ANTITÓXINA (TA)

□ Los módulos TA se caracterizan por presentar, un gen que codifica para una toxina y otro que codifica para su antitoxina. (Gerdes et al, 2005).



□ Elementos estabilizadores en plásmidos. (Aizenman et al, 1996). **Multiples elementos TA en cromosomas bacterianos ???**

HIPÓTESIS

Rol en la activación de mecanismos de respuesta a estrés e interacción con reguladores globales ((p)ppGpp) (Hargreaves, D. et al, 2002)

Inducción de un estado reversible de *stasis*, condiciones extremas. (Pedersen, 2002).

TIPOS DE MÓDULOS TA

- **Tipo I:** Antitoxina es un RNA que promueve la degradación del mRNA de la toxina (RNAsa III) o oculta secuencia SD. Secuencias *sense-antisense*
- **Tipo II:** La antitoxina es una proteína (inestable) que inactiva la toxina (estable) por interacciones proteína-proteína. Operon.
- **Tipo III:** *Erwinia carotovora*
- La antitoxina (RNA) inactiva la toxina por interacción RNA-Proteína.

MÓDULOS TA & PERSISTENCIA

- ❑ Múltiples módulos TA cromosomales son abundantes en microorganismos de vida libre (Gerdes et al, 2005)
- ❑ Activación de diversos módulos Toxina-Antitóxina & sobreexpresión de genes relacionados con los mecanismos de respuesta a estrés (*heat/cold shock*, *stringent response* y SOS) en mutantes de alta persistencia. (Keren et al, 2004)

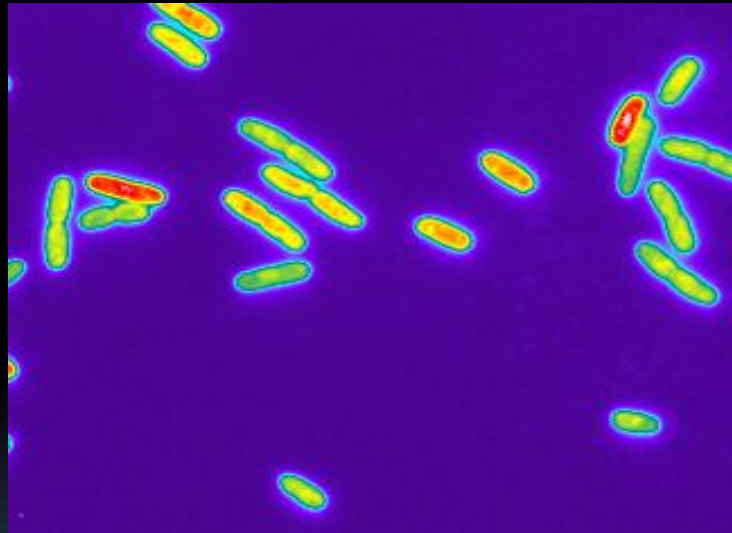
EVIDENCIA (Gerdes et al, 2005 & Shah et al, 2006)

Sobreexpresión de RelB y HipA

E. coli K12 TH1269 (mutación puntual en *hipA*)

PERSISTENCIA

- ❑ Estado fisiológico de multi-tolerancia a diversos antibióticos y otras sustancias tóxicas (Shanh et al, 2006)
- ❑ Fenómeno estocástico --- Estrategia pre-adaptativa (Shanh et al, 2006).



- ❑ Posible importancia médica en la prevención de aparición de mecanismos genéticos de resistencia y en el diseño de nuevos antibióticos (Michel et al, 2008).

PERSISTENCIA EN *Escherichia coli*.

Persistentes (Tipo I)

- ❑ Velocidad de crecimiento (división) = 0.
- ❑ Depende del paso por la fase estacionaria.
- ❑ *Escherichia coli* K12 TH1269 (*hipA7*)

Persistentes (Tipo II)

- ❑ Velocidad de crecimiento (división) = disminuida (1 orden de magnitud).
- ❑ Dependiente del tamaño de la población.
- ❑ Estado fisiológico heredable.
- ❑ *Escherichia coli* K12 DS1 (*hipQ*)

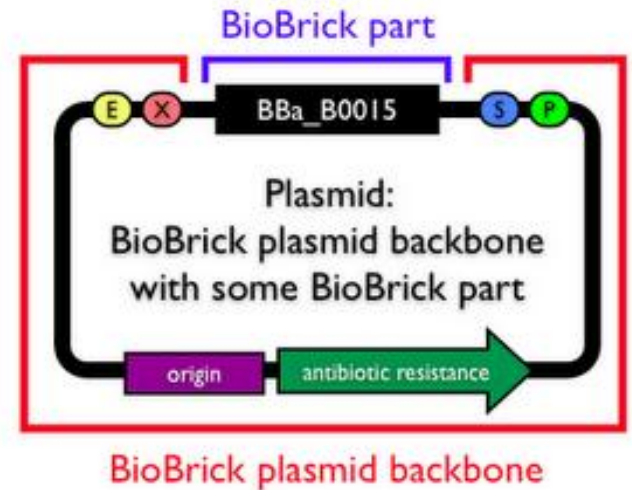
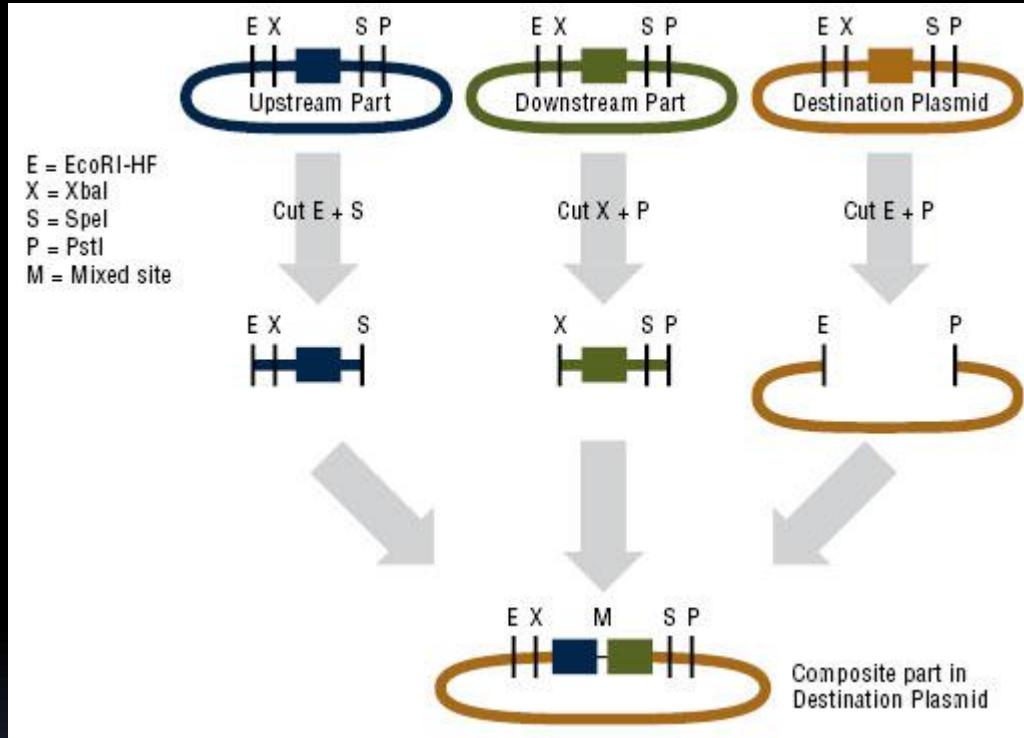
HipBA, TisB/istR & MsqRA

- HipBA (TA tipo II); Relacionada con alta persistencia.
- TisB/istR (TA tipo I); Actividad toxica relacionada con la activación de SOS. TisB *knockout* disminuye persistencia debida a inducción del sistema SOS
- MsqRA (TA tipo II) ; MsqR es una mRNA interferasa; Regulador de motilidad y quorum sensing. MsqR *knockout* disminuye persistencia. MsqR/MsqA (ygiT) reguladores transcripcionales ??



Synthetic Biology

based on standard parts



Importantes.

RBSs

STOP

Promotores

ORFs




Nuestro Proyecto

Detectar la presencia de patógenos de plantas.

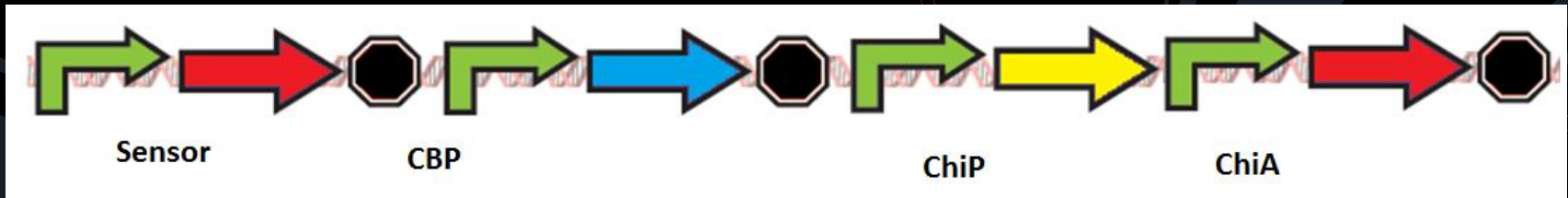
Integrar la señal

Avisarle a la planta que esta siendo atacada,
inducir la activación de mecanismos de defensa.

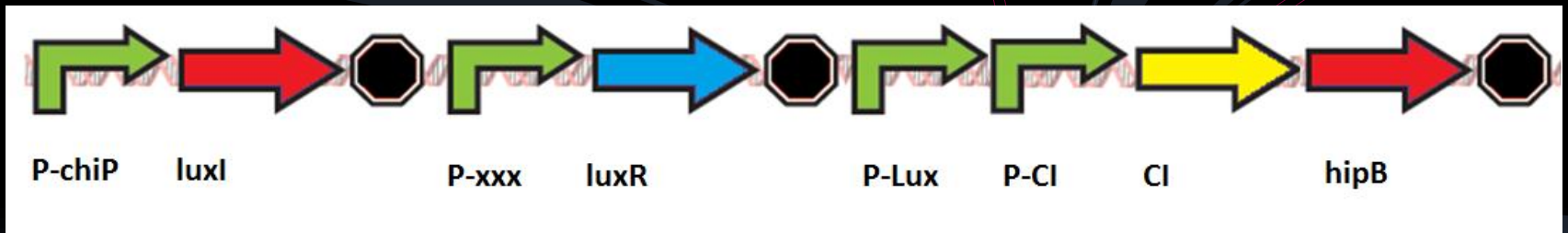


Nuestro Proyecto

Modulo de detección



Modulo de procesamiento de señal



Gracias!!!



BIBLIOGRAFÍA

- B. Bachmann. (1972) Pedigrees of some mutant strains of *Escherichia coli* K-12. *Bacteriol Rev.* 36:525-557.
- D. Hargreaves et al. (2002) Structural and functional analysis of the Kid toxin protein from *E. coli* plasmid R1. *Structure* 10, 1425–1433
- D. Shah *et al.* (2006) Persisters: A distinct physiological state of *E. coli*. *BMC Microbiol.* 6:53
- E. Aizenman et al. (1996) An *Escherichia coli* chromosomal ‘addiction module’ regulated by guanosine 30,50-bispyrophosphate: a model for programmed bacterial cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 6059–6063
- I. Keren et al. (2004) Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 186:8172
- J-B. Michel et al. (2008) Drug interactions modulate the potential for evolution of resistance. *PNAS USA* 105:14918
- K. Gerdes et al. (2005) Prokaryotic toxin–antitoxin stress response loci. *Nature Reviews Microbiology* 3:371.
- K. Lewis (2005) Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob. Agents Chemoter.* 45:999
- K. Pedersen et al. (2002) Rapid induction and reversal of a bacteriostatic condition by controlled expression of toxins and antitoxins. *Mol. Microbiol.* 45, 501–510
- L. U. Magnusson et al. (2005) ppGpp: a global regulator in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol.* 13:236–242.
- N. Q. Balaban, et al. (2004) Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science* 305:1622