

27/09/2021

Millora per a l'estudi genètic dels micobacteris



La transformació genètica de micobacteris mitjançant la introducció d'ADN exogen entra en dificultats que els investigadors intenten superar estudiant nous abordatges que millorin l'eficiència del procés i permetin avançar en l'estudi genètic d'aquests microorganismes en els camps biomèdic i ambiental. Víctor Campo i Esther Julián, investigadors del Departament de Genètica i Microbiologia de la UAB, en col·laboració amb el grup de recerca d'Eduard Torrents, de l'Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC) i la Universitat de Barcelona (UB), han aconseguit obtenir una millora significativa, aplicant un nou procediment que integra tres estratègies diferents.

istockphoto/Dr_Microbe

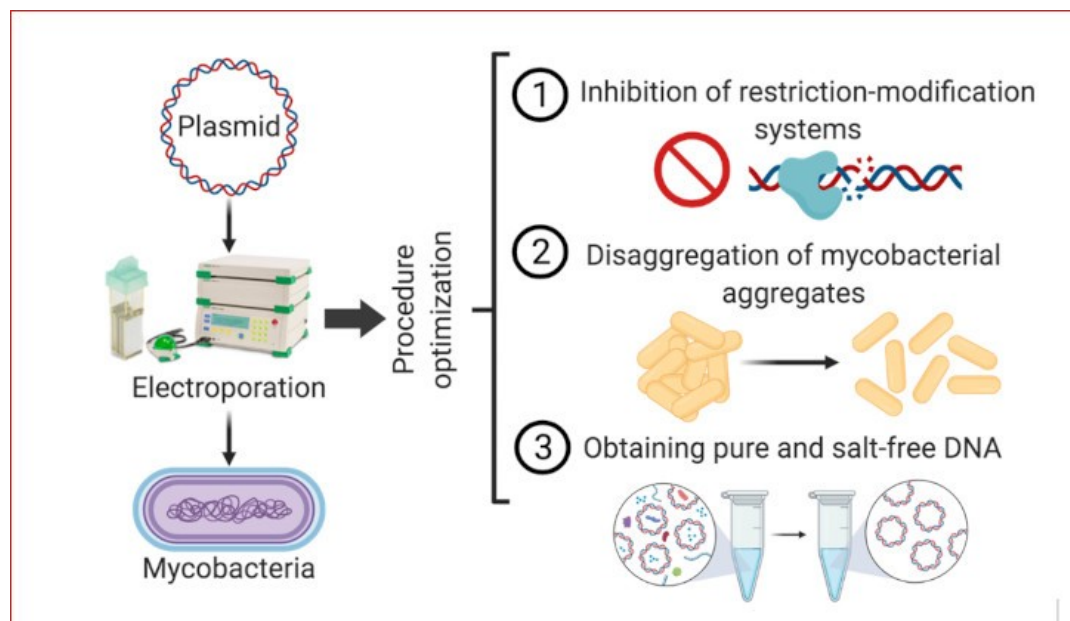
La transformació és un dels processos essencials en biotecnologia o biologia molecular per transferir material genètic exogen que ha de travessar la paret i membranes cel·lulars. La transformació genètica de micobacteris introduint ADN exogen entra en dificultats en comparació amb altres espècies bacterianes, sent en algunes ocasions impossible.

L'estratègia de transformació més empleada i funcional en micobacteris és l'electroporació. Aquesta tècnica consisteix a generar un camp elèctric sobre les cèl·lules, que incrementa la permeabilitat de la paret cel·lular bacteriana mitjançant la formació de porus, a través dels quals l'ADN plasmídic pot introduir-se a l'interior del bacteri. L'obtenció de procediments que incrementin les eficiències de transformació genètica en micobacteris facilitaria la recerca

d'aquests microorganismes a nivell de biologia molecular, sent rellevant en l'estudi de patògens com *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacteroides abscessus*, però també de micobacteris ambientals d'interès biotecnològic.

Les complicacions per transformar micobacteris estan relacionades amb diferents factors. En primer lloc, la complexitat i gruix de la seva paret cel·lular micobacteriana actua com una barrera difícil de penetrar per a l'ADN. A més, la seva alta riquesa lipídica converteix la seva superfície en un entorn altament hidrofòbic, que en una suspensió aquosa tendeix a agregar formant acumulacions amb desenes de bacils, cosa que redueix les possibilitats d'interacció del plasmidi amb el bacteri. Els bacteris presenten, a més, sistemes de restricció-modificació, que degraden qualsevol seqüència genètica que no reconguin com a pròpia. Finalment, les condicions d'electroporació útils en micobacteris consten de valors de voltatge i resistència elèctrica alts, la qual cosa incrementa les probabilitats de descàrrega elèctrica durant el procés si la suspensió de plasmidi conté elevades concentracions de sals.

En aquest estudi, partint de procediments ja descrits per a la transformació de micobacteries, s'han considerat noves estratègies metodològiques centrades en reduir l'impacte de les limitacions prèviament indicades, amb l'objectiu d'augmentar significativament l'eficiència de transformació.



Els resultats del treball demostren que l'exposició dels micobacteris a una temperatura de 42 °C és capaç d'inhibir en un cert grau els seus sistemes de restricció-modificació, tot permetent que l'ADN no sigui degradat després de la seva incorporació. També s'ha observat que la utilització de petites esferes de vidre és eficaç per desfer els agregats de micobacteris sense afectar la viabilitat cel·lular, augmentant dràsticament l'eficiència de transformació. Finalment, es va verificar que l'ús d'una columna de dessalació de fàcil preparació permet l'obtenció d'una suspensió d'ADN lliure de sals, que evita potencials descàrregues elèctriques durant l'electroporació. L'ocupació conjunta d'aquestes estratègies millora les eficiències de transformació, assolint valors superiors als obtinguts amb els procediments prèviament descrits en la bibliografia. L'estudi detalla un nou procediment de transformació de micobacteris que suposa una millora significativa per a futurs estudis a nivell genètic d'aquests microorganismes.

Víctor Campo, Esther Julián

Departament de Genètica i de Microbiologia

Universitat Autònoma de Barcelona

victor.campo@uab.cat, esther.julian@uab.cat

Referències

Campo-Pérez V (a,b), Cendra MM (a), Julián E (b), Torrents E (a,c). **Easily applicable modifications to electroporation conditions improve the transformation efficiency rates for rough morphotypes of fast-growing mycobacteria.** *N Biotechnol.* 2021 Jul 25;63:10-18. doi: 10.1016/j.nbt.2021.02.003. Epub 2021 Feb 23. PMID: 33636348

(a) Bacterial Infections and Antimicrobial Therapies Group, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Baldori Reixac 15-21, Barcelona, 08028, Spain

(b) Department of Genetics and Microbiology, Faculty of Biosciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 08193, Spain

(c) Microbiology Section, Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, University of Barcelona, 643 Diagonal Ave., Barcelona, 08028, Spain

[View low-bandwidth version](#)