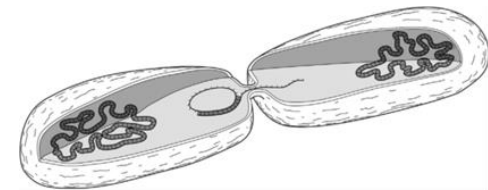


ΔΙΑΛΕΞΗ 2

Πλασμίδια και οριζόντια γονιδιακή μεταφορά



Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΩΝ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ

Μεταθετά στοιχεία

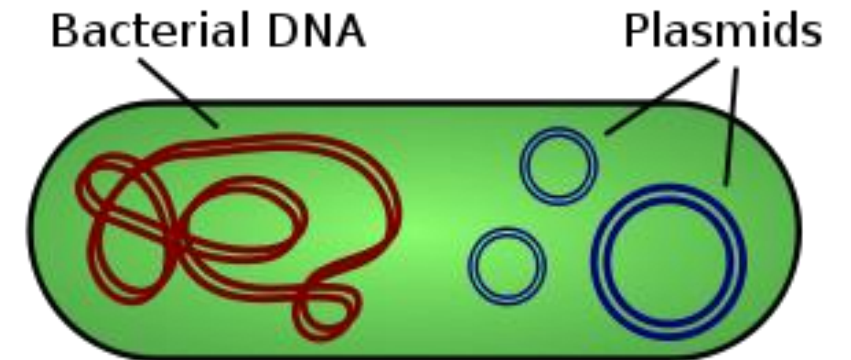
- ❑ **Μεταθετά στοιχεία:** ακολουθίες DNA, οι οποίες μπορούν να μετακινηθούν από μία θέση σε άλλη ή από ένα μόριο DNA σε άλλο (“jumping genes”)
- ❑ Τα κύρια κινητά γενετικά στοιχεία είναι:
 - Τα πλασμίδια (plasmids)
 - Τα μεταθετόνια ή τρανσποζόνια (transposons)
 - Τα ενσωματόνια ή ιντεγκρόνια (integrons) που φέρουν γονιδιακές κασέτες (gene cassettes)
- ❑ Αυτοί οι τύποι στοιχείων αποτελούνται από **δίκλωνο DNA**, αλλά **διαφέρουν** ευδιάκριτα στο μέγεθος, τη δομή, τις βιολογικές ιδιότητες καθώς επίσης και στους τρόπους μεταφοράς

Πλασμίδια

❑ Τα πλασμίδια είναι κυκλικά μόρια (υπάρχουν και αρκετά γραμμικά) δίκλωνου DNA μεγέθους 1-300 Kb που απαντούν στη φύση ως επιπλέον εξωχρωμοσωματικό γενετικό υλικό διαφόρων προκαρυωτικών αλλά και κατώτερων ευκαρυωτικών κυττάρων

❑ Αποτελούν το 1 -2% του βακτηριακού DNA

❑ Ένα βακτήριο μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα πλασμίδια

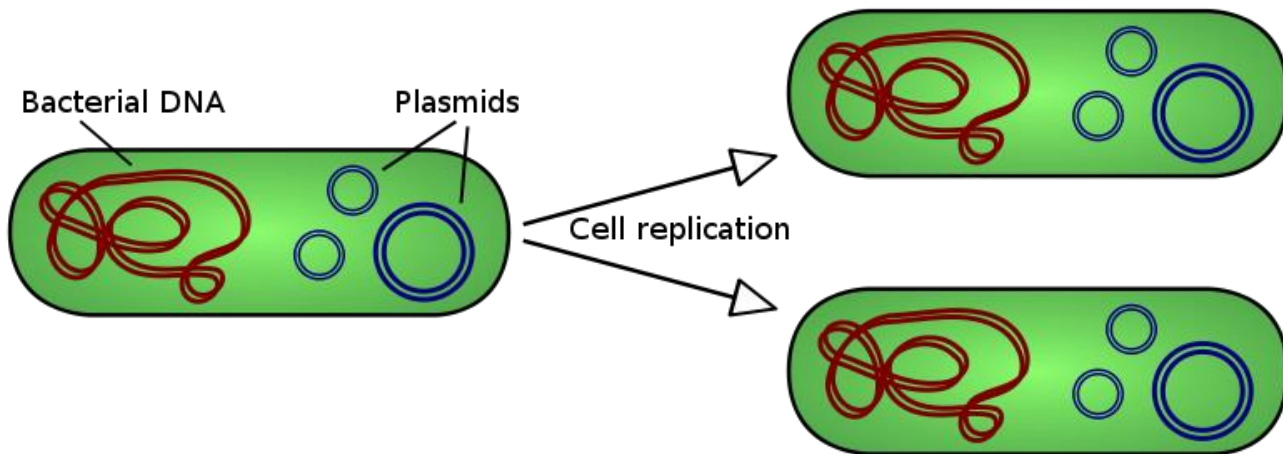


❑ Τα πλασμίδια των βακτηρίων διακρίνονται σε:

- Συζευκτικά-αυτομεταβιβάσιμα: μεταβιβάζονται μεταξύ των βακτηριακών κυττάρων (Βακτηριακή σύζευξη)
- Μη συζευκτικά πλασμίδια: δεν μεταβιβάζονται μεταξύ των βακτηριακών κυττάρων

Πλασμίδια

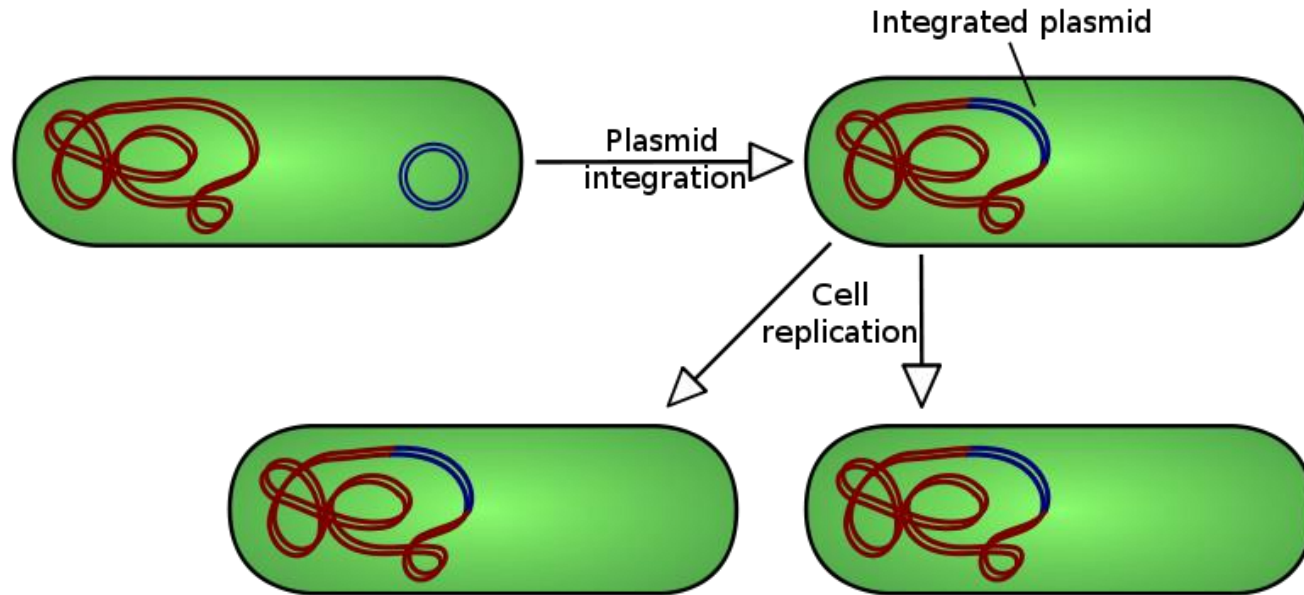
- ❑ Τα πλασμίδια **αντιγράφονται αυτόνομα**, ανεξάρτητα από το χρωμόσωμα του ξενιστή λόγω της ύπαρξης δικών τους συστημάτων αντιγραφής
- ❑ Με αυτό τον τρόπο, κατά τη διαίρεση του κυττάρου/βακτηρίου κάθε θυγατρικό κύτταρο που προκύπτει εξασφαλίζει την παρουσία τουλάχιστον ενός αντιγράφου από το εμπεριεχόμενο στο μητρικό κύτταρο πλασμίδιο => όλη τη γενετική πληροφορία που εμπεριέχεται στο πλασμίδιο



Εξασφαλίζεται η κάθετη μεταφορά του γενετικού υλικού του πλασμιδίου στα θυγατρικά κύτταρα

Πλασμίδια

- Ενίοτε τα πλασμίδια ενσωματώνονται στο χρωμόσωμα (επισώματα)



Πλασμίδια

- Ειδικά στα βακτήρια, τα φυσικά πλασμίδια μπορεί να φέρουν γονίδια υπεύθυνα για τη μεταφορά του ίδιου του πλασμιδίου από ένα βακτηριακό κύτταρο σε άλλο (tra2 σύμπλεγμα γονιδίων) = συζευτικά - αυτομεταβιβάσιμα πλασμίδια



Οριζόντια μεταφορά γενετικής πληροφορίας

- Με τον τρόπο αυτό προσδίδουν στα βακτηριακά κύτταρα που τα παραλαμβάνουν νέα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά

Πλασμίδια

□ Τα πλασμίδια είναι δυνατόν να φέρουν γονίδια για:

α) την αναπαραγωγή του πλασμιδίου

β) τον σχηματισμό συζευκτικών ινιδίων (sex pilli)

γ) την ικανότητα σύζευξης και μεταφοράς

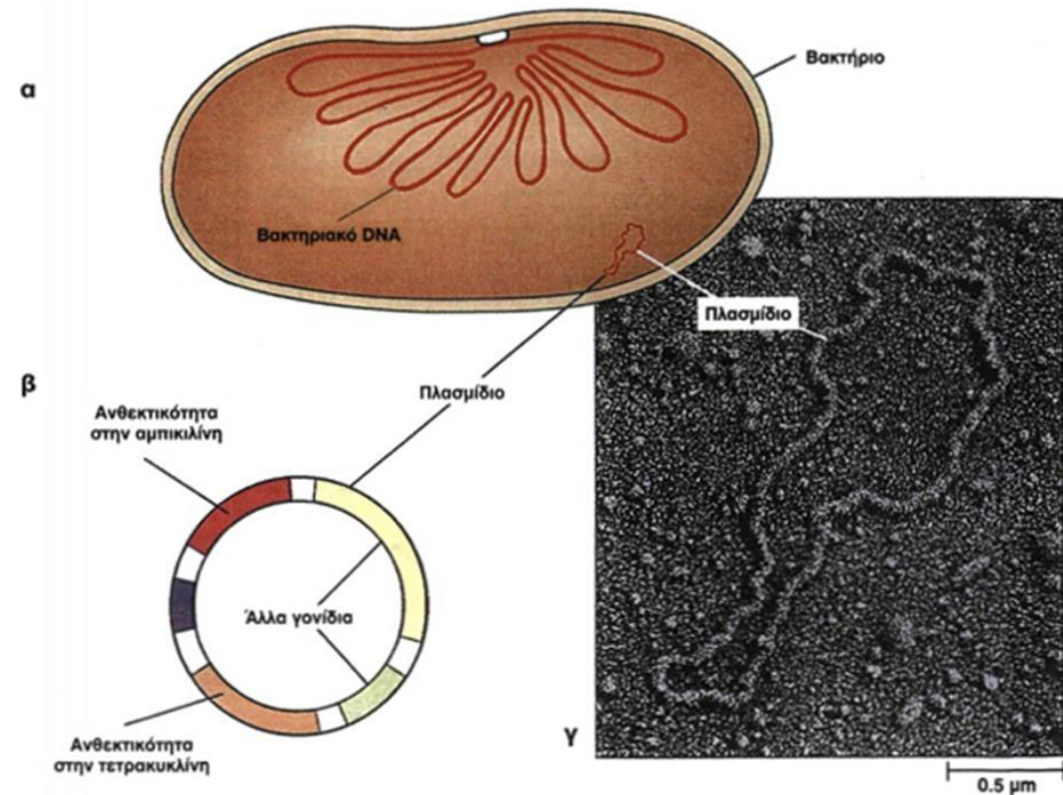
DNA σε άλλο βακτήριο

δ) την αντοχή στα αντιβιοτικά

ε) την παραγωγή βακτηριοσινών

στ) την σύνθεση τοξινών

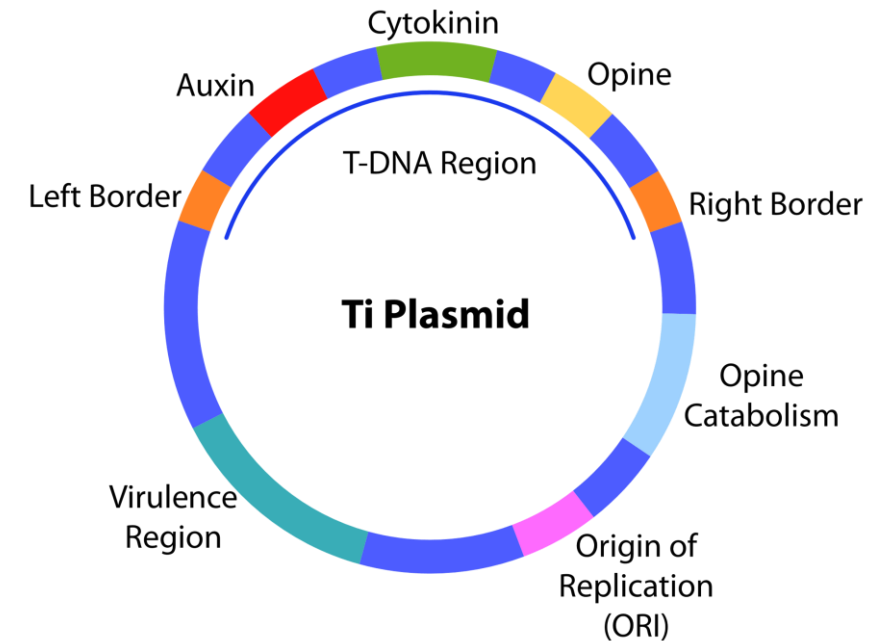
ζ) την ανθεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα



Πλασμίδια

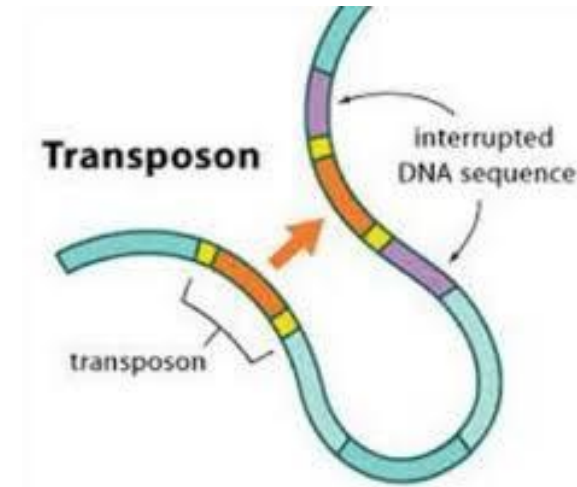
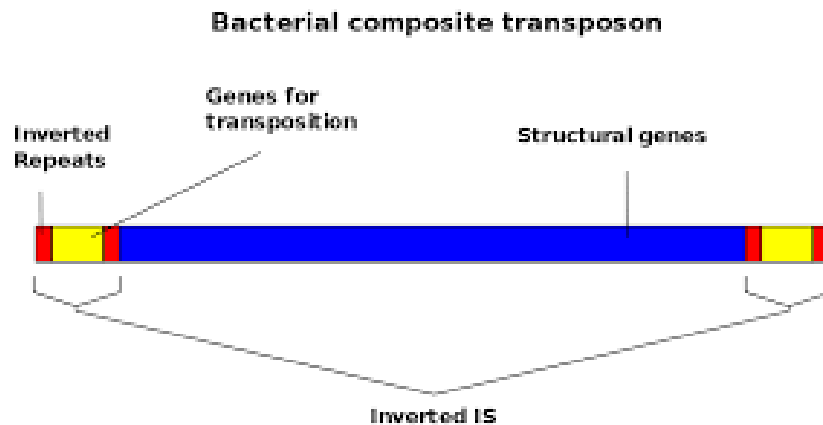
□ Διάφορες κατηγορίες πλασμιδίων:

- F (fertility) πλασμίδια: συζευκτικά (*F-E. coli*)
- R (resistance) πλασμίδια: ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά (RP4-*Pseudomonas*)
- Col πλασμίδια: τοξικότητα για άλλα βακτηρια (*ColE1-E. coli*)
- Πλασμίδια αποικοδόμησης: δυνατότητα μεταβολισμού για ασυνήθη μόρια (τολουένιο, σαλικυλικό) (TOL-*Pseudomonas*)
- Πλασμίδια παθογένεσης: δυνατότητα παθογένεσης στο φορέα (Ti-*Agrobacterium*)



Μεταθετόνια ή Τρανσποζόνια

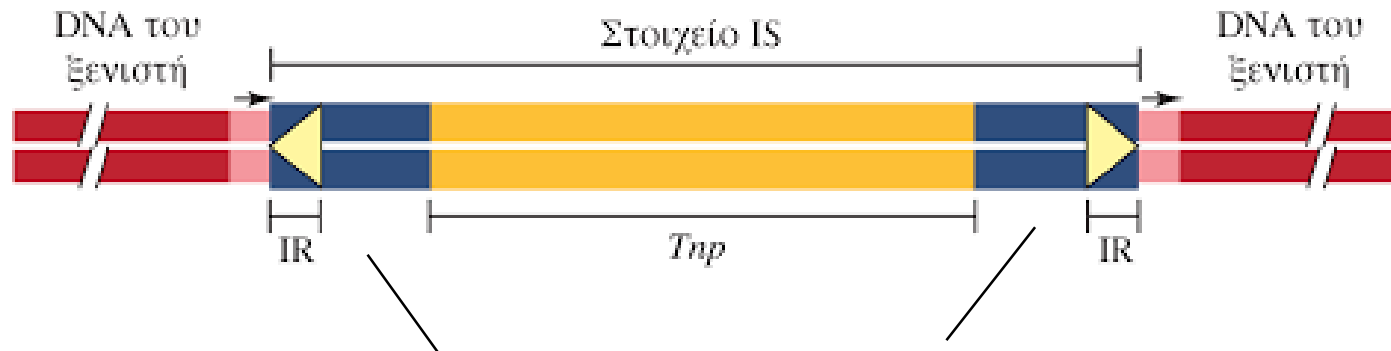
- Τα **μεταθετόνια ή τρανσποζόνια** (transposons) είναι αλληλουχίες γραμμικού DNA, μήκους 2,5-23 Kb, οι οποίες είναι κινητές = **έχουν τη δυνατότητα να μετακινούνται** με δικούς τους μηχανισμούς σε άλλες θέσεις στο χρωμοσωμικό DNA ή σε πλασμίδια



- Σε αντίθεση με τα πλασμίδια -που αντιγράφονται αυτόνομα– **δεν διαθέτουν συστήματα αντιγραφής** και για το λόγο αυτό προκειμένου να επιβιώσουν **πρέπει να ενσωματωθούν** σε γενετικά στοιχεία ικανά για αντιγραφή, όπως είναι το χρωμοσωμικό DNA ή τα πλασμίδια στο κύτταρο

Μεταθετόνια ή Τρανσποζόνια

- Τα μικρότερα τρανσποζόνια (<2.5 Kb) γνωστά ως **ακολουθίες ένθεσης ή αλληλουχίες παρεμβολής** (insertion sequence, IS elements) είναι ο απλούστερος τύπος μεταθετών στοιχείων. Διαθέτουν μόνο γονίδια που είναι υπεύθυνα για τη μετάθεση και φέρουν απλώς το γονίδιο της μεταθετάσης ή τρανσποζάσης που είναι υπεύθυνη για τη μετακίνηση του γενετικού στοιχείου

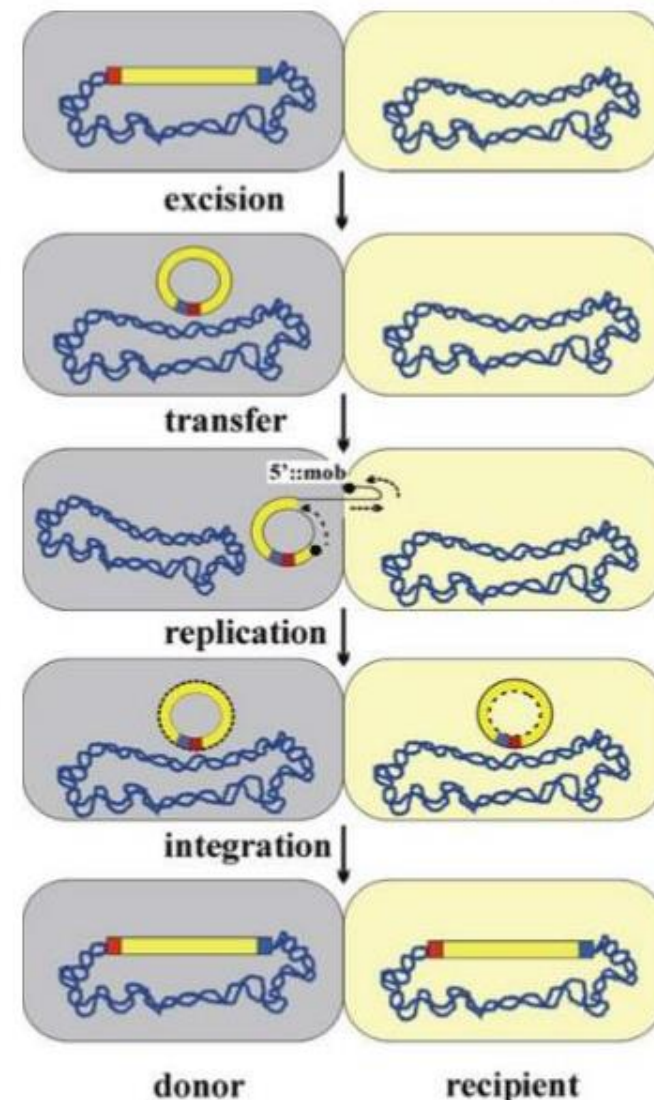


Φέρουν στα άκρα τους τις ανεστραμμένες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (IR), που καθορίζουν το τμήμα που θα μετατεθεί

- Τα μεγαλύτερα τρανσποζόνια φέρουν συνήθως ένα ή περισσότερα πρόσθετα γονίδια, εκτός από τα απαραίτητα για τη μετακίνησή τους (π.χ. γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά)

Μεταθετόνια ή Τρανσποζόνια

- ❑ Πολλά τρανσποζόνια έχουν ελάχιστη ή καμία εξειδίκευση στόχου και επομένως είναι σε θέση να παρεμβληθούν σε διάφορες θέσεις στο χρωμοσωμικό ή πλασμιδιακό DNA
- ❑ Επιπρόσθετα υπάρχουν και **συζευκτικά τρανσποζόνια**, τα οποία διαθέτουν γονίδια που τους επιτρέπουν όχι μόνο να μετακινούνται από μία θέση του βακτηριακού γονιδιώματος σε άλλη, αλλά να μεταφέρονται ολόκληρα από ένα βακτήριο σε άλλο
- ❑ Τα συζευκτικά τρανσποζόνια φαίνονται σαν να είναι **υβρίδια** μεταξύ τρανσποζόνιων και πλασμιδίων και έχουν ταυτοποιηθεί τόσο σε Gram-αρνητικά όσο και Gram-θετικά βακτήρια



Ενσωματόνια ή Ιντεγκρόνια

□ Τα ενσωματόνια ή ιντεγκρόνια (integrons) είναι ένα είδος μεταθετών γενετικών στοιχείων, τα οποία έχουν την ικανότητα να **ενσωματώνουν εξωγενή γονίδια** αλλά και να τα **αποκόπτουν** = είναι ικανά να αναγνωρίζουν και να ενσωματώνουν γονιδιακές κασέτες

Ο όρος “**superintegron**” επινοήθηκε από τον Mazel και τους συνεργάτες του το 1998 για τα ενσωματόνια (integrons) που έχουν ενσωματώσει εκατοντάδες γονιδιακές κασέτες

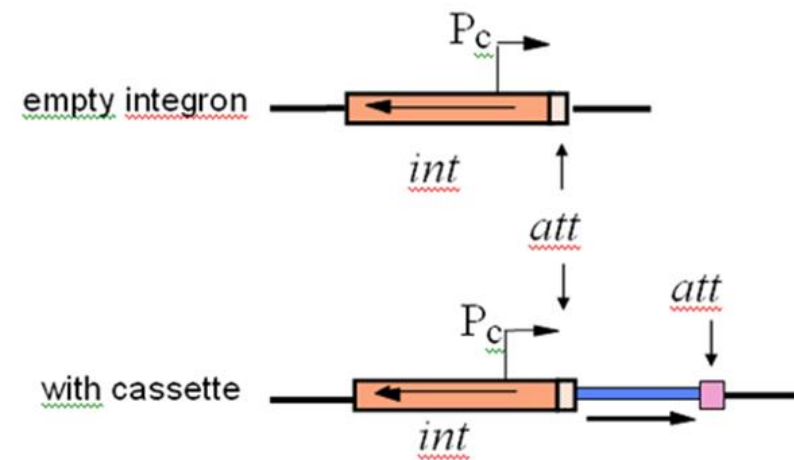
□ Χαρακτηρίζονται από την παρουσία **3 δομικών** στοιχείων :

α) το γονίδιο της ιντεγράσης (*int*)

β) την ειδική θέση ανασυνδυασμού (*att*), για την ενσωμάτωση της κασέτας

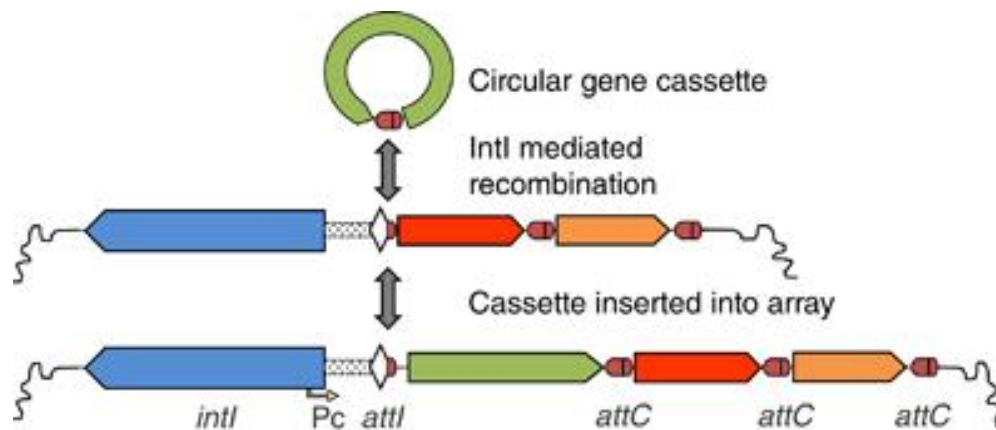
γ) τον κοινό υποκινητή (P_c)

□ Μετακινούνται με πλασμίδια και τρανσποζόνια, ενώ έχουν βρεθεί και στο βακτηριακό χρωμόσωμα



Γονιδιακές κασέττες (Gene cassettes)

- ❑ Οι γονιδιακές κασέττες (gene cassettes) είναι μικρά κινητά γενετικά στοιχεία άγνωστης προέλευσης που έχουν μέγεθος μικρότερο από 2 kbp (συνήθως 500-1000 bp) = τα μικρότερα από τα γνωστά μεταθετά στοιχεία
- ❑ Κάθε γονιδιακή κασέττα είναι ένα διακριτό μεταθετό στοιχείο και μπορεί να υπάρχει είτε ελεύθερο, σε κλειστή κυκλική μορφή ή σε μια ενοποιημένη γραμμική μορφή



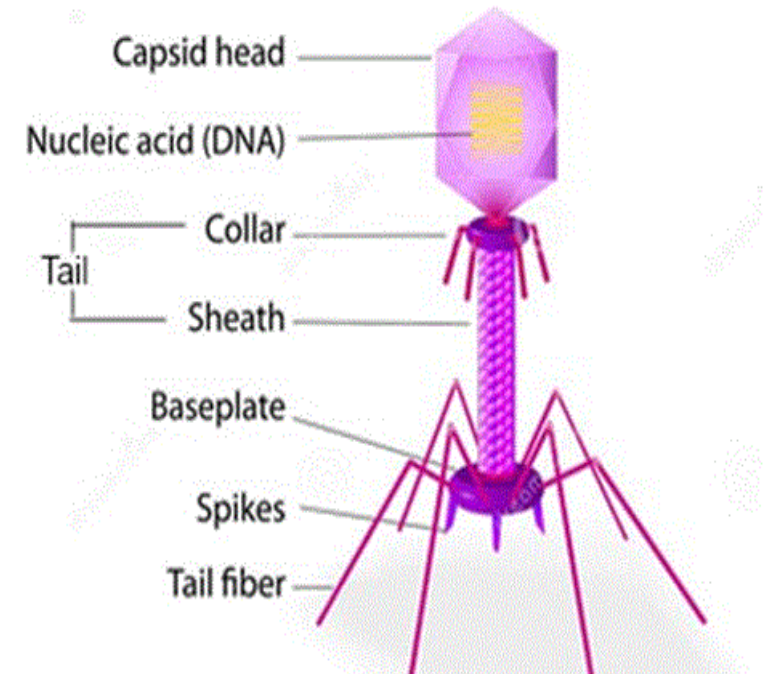
- ❑ Μέχρι σήμερα, έχουν παρατηρηθεί μόνο στα Gram-αρνητικά βακτήρια

Γονιδιακές κασέττες (Gene cassettes)

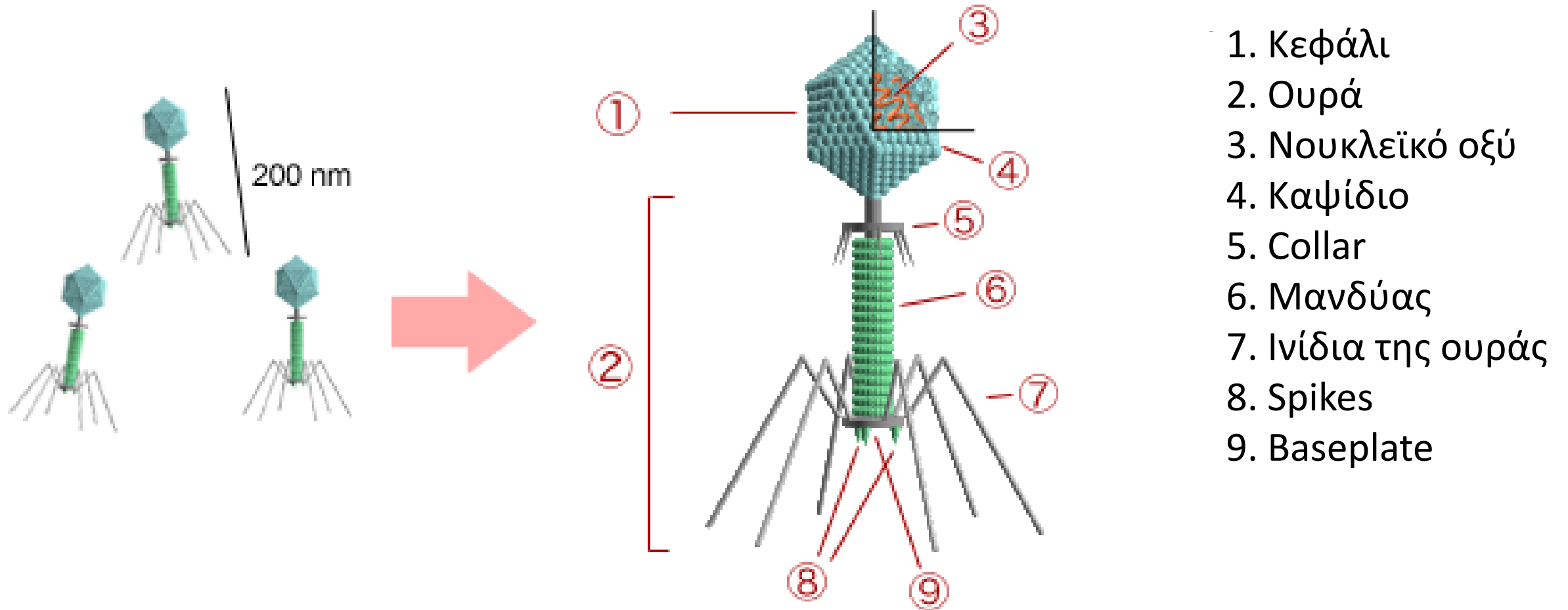
- ❑ Οι γονιδιακές κασέττες διαφέρουν από τα πλασμίδια στο ότι **δεν διαθέτουν συστήματα αντιγραφής**, και από τα τρανσποζόνια στην **έλλειψη συστημάτων μετάθεσης**
 - ❑ Κινούνται μέσω της περιοχής ανασυνδυασμού σε ειδική θέση και συνήθως βρίσκονται σε συγκεκριμένες θέσεις μέσα σε ένα ιντεγκρόνιο-ενσωματόνιο - δεν εκφράζονται έως ότου ενσωματωθούν κοντά σε έναν υποκινητή του ιντεγκρόνιου-ενσωματονίου
 - ❑ Καθώς οι γονιδιακές κασέττες δεν διαθέτουν συστήματα αντιγραφής, η κλειστή κυκλική μορφή δεν μπορεί να αναπαραχθεί και ο ρόλος της περιορίζεται σε αυτόν ενός ενδιάμεσου στην κίνηση της κασέττας
- ❑ Αποτελούνται από ένα μοναδικό γονίδιο ή από ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (Open Reading Frame, ORF) σε συνδυασμό με μια Intl-εξειδικευμένη θέση ανασυνδιασμού 59-be (59-base element)

Βακτηριοφάγοι

- ❑ Οι βακτηριοφάγοι είναι οι ιοί των βακτηρίων
- ❑ Ως γενετικό υλικό μπορεί να φέρουν διπλή έλικα DNA (dsDNA), μονή έλικα DNA (ssDNA) ή RNA
- ❑ Επιβιώνουν εξωκυττάρια διότι προστατεύονται από **πρωτεϊνικό περίβλημα**
- ❑ Μολύνουν τα βακτήρια και είτε **πολλαπλασιάζονται ενδοκυττάρια** και απελευθερώνονται προξενώντας **λύση του κυττάρου** (λυτικός κύκλος- παθογόνος βακτηριοφάγος), είτε το γονιδίωμα τους **ενσωματώνεται** στο χρωμόσωμα του βακτηρίου μεταδιδόμενο και στα θυγατρικά κύτταρα (λυσιγόνο στάδιο)



Η δομή ενός βακτηριοφάγου

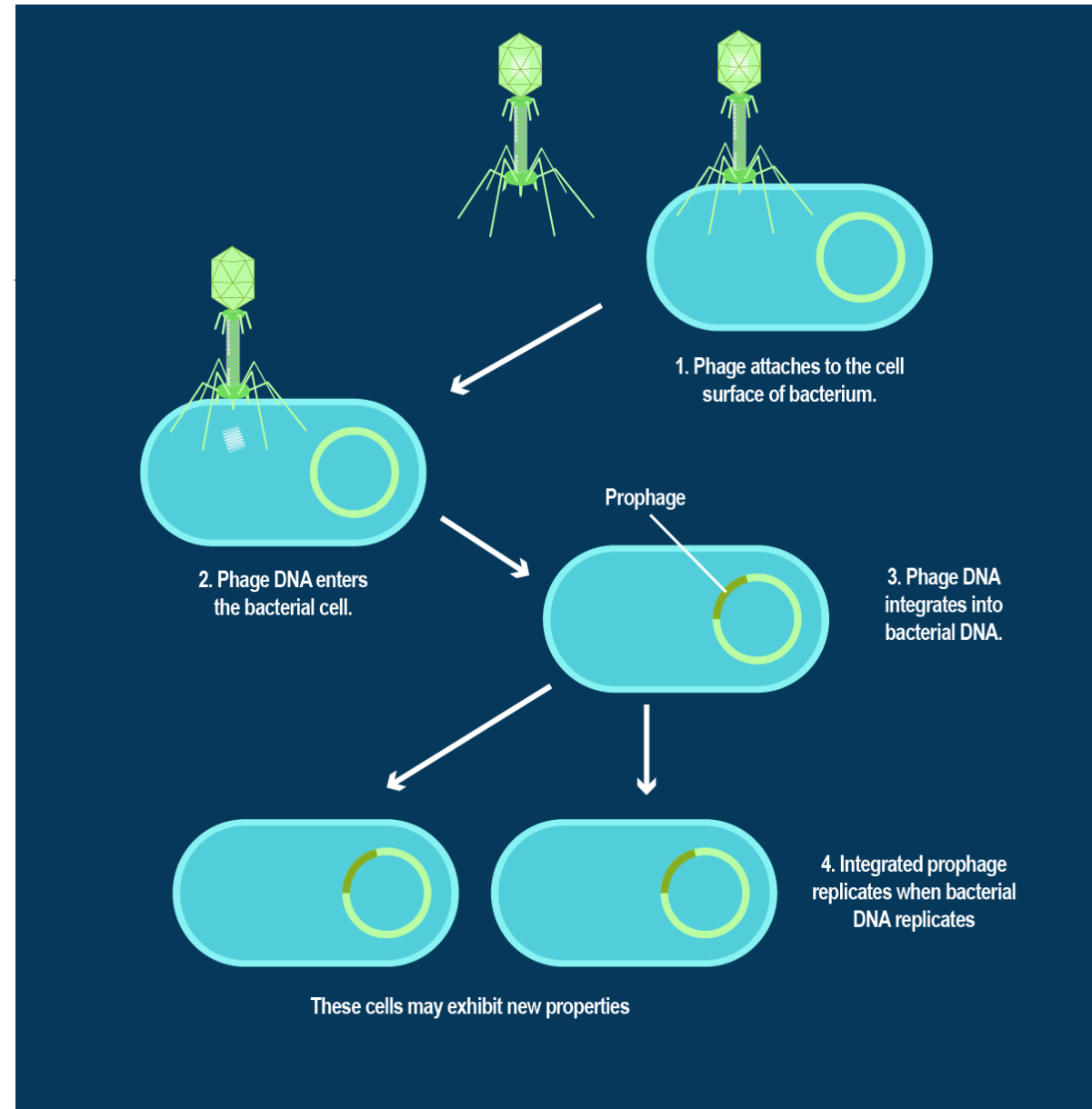


Βακτηριοφάγοι

□ Οι βακτηριοφάγοι μπορούν να μολύνουν ένα κύτταρο, ακολουθώντας δύο διαφορετικές πορείες :

A. Είσοδος και λύση του κυττάρου στο οποίο έχουν εισέλθει, παράγοντας πολλαπλά αντίγραφα τους = **παθογόνοι βακτηριοφάγοι**

B. Ενσωμάτωση στο γονιδίωμα του ξενιστή ως **προφάγοι**, διπλασιαζόμενοι ταυτόχρονα με το βακτηριακό γονιδίωμα



Βακτηριοφάγοι

❑ Όταν ένας προφάγος αποδεσμευτεί από το βακτηριακό χρωμόσωμα, μπορεί να πάρει μαζί του ένα μικρό γειτονικό τμήμα από το DNA του ξενιστή, χάνοντας κάποιο μέρος του δικού του γονιδιώματος

=> Ένας βακτηριοφάγος μπορεί να μεσολαβήσει στη μεταφορά ενός βακτηριακού γονιδίου ή ενός μέρους του βακτηριακού γονιδίου από το ένα κύτταρο στο άλλο (=μεταγωγή)

❑ Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι βακτηριοφάγων που κάνουν μεταγωγή:

1. **Βακτηριοφάγοι γενικευμένης μεταγωγής**: δεν έχουν ειδική θέση εισαγωγής στο γονιδίωμα του ξενιστή τους
2. **Βακτηριοφάγοι ειδικής μεταγωγής**: εισάγονται σε ένα μοναδικό σημείο στο γονιδίωμα του ξενιστή

Βιολογική σημασία των μεταθετών στοιχείων

- Αποτελούν πηγή γενετικής αλλαγής και ποικιλότητας =>
Σημαντική συμμετοχή στην εξέλιξη γονιδιωμάτων

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων

- ❑ Οριζόντια μεταφορά γονιδίων καλείται η άμεση φυσική μεταφορά γονιδίων από ένα είδος στα αναπαραγωγικά κύτταρα ενός άλλου είδους
- ❑ Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων συμβαίνει στη φύση με τη βοήθεια των μεταθετών στοιχείων
- ❑ **Το εξελικτικό δυναμικό των οργανισμών είναι απεριόριστο**
- ❑ Απαντάται πολύ συχνά στους προκαρυώτες: βακτήρια και αρχαία
- ❑ Για τα βακτήρια, η οριζόντια μεταφορά γονιδίων αποτελεί τον κυρίαρχο τρόπο προσαρμογής τους, συνεισφέροντας σημαντικά στην εξέλιξη και τη δομή του γονιδιώματος

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων

□ Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων στα βακτήρια παίζει κεντρικό ρόλο στην προσαρμογή τους σε περιβαλλοντικές προκλήσεις, όπως:

- Ο αποικισμός νέων περιβάλλοντων
- Η εκμετάλλευση νέων πηγών άνθρακα
- Η ανθεκτικότητα σε τοξίνες

- Προσαρμογή θαλάσσιων μικροβίων σε ποικιλία πηγών άνθρακα
- Προσαρμογή βακτηρίων σε ακραία περιβάλλοντα
- Προσαρμογή εντερικών μικροβιακών κοινοτήτων ή παθογόνων στον άνθρωπο ξενιστή τους

□ Μπορεί επίσης να συμβάλει στη βελτιστοποίηση υπάρχοντων δυνατοτήτων-χαρακτηριστικών

=> Επηρεάζει άμεσα τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βακτηρίων και **προωθεί την συνεργασία**

=> Προσδίδει **συγκριτικό πλεονέκτημα** στα βακτήρια δέκτες και επηρεάζει πιθανότατα τη **δομή** της κοινότητας και τη **δυναμική** των οικοσυστημάτων και πιθανότατα και τη **λειτουργία** του οικοσυστήματος

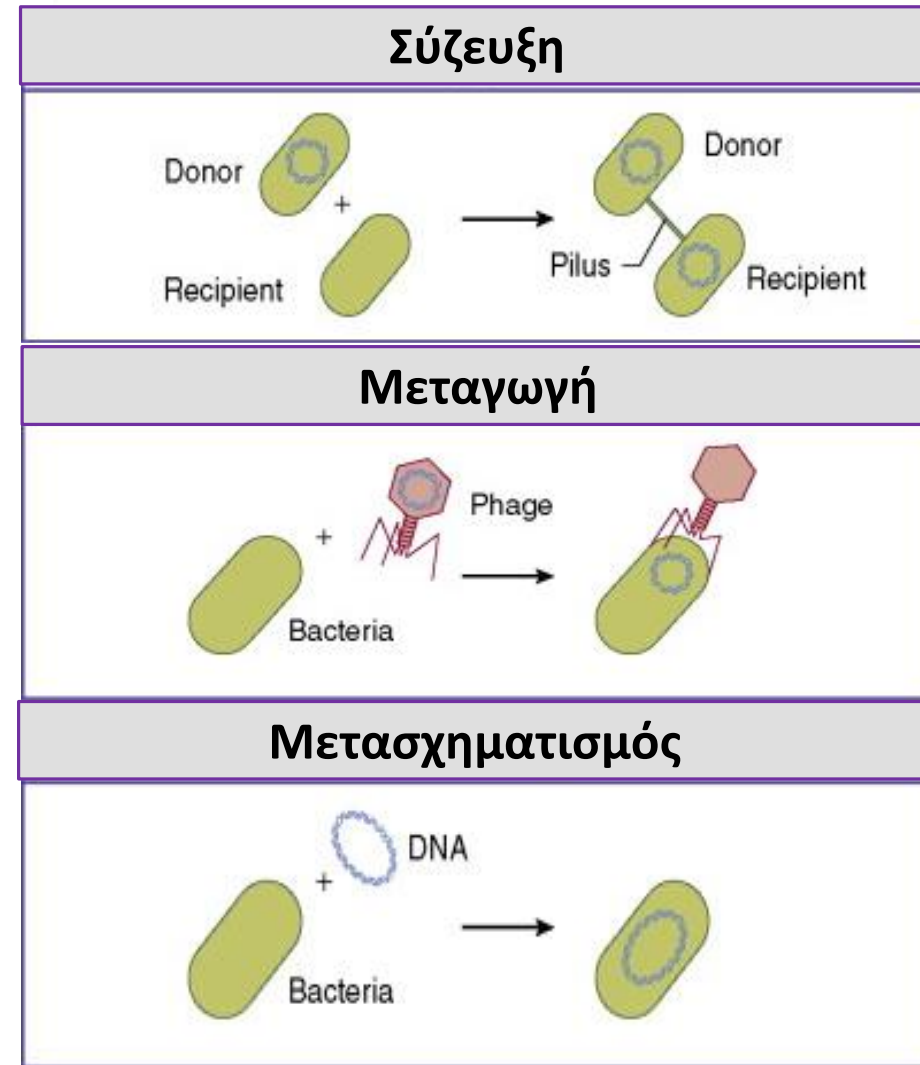
Οριζόντια μεταφορά γονιδίων

- ❑ Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων κατέχει κυρίαρχο εξελικτικό ρόλο στη διαμόρφωση των βακτηριακών κοινοτήτων
- ❑ Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί μεταξύ οργανισμών που φυλογενετικά απέχουν πολύ
- ❑ Τα γονίδια συχνά μεταφέρονται σε συστοιχίες που περιέχουν έναν αριθμό γονιδίων
- ❑ Μεταξύ των μεταφερόμενων γονιδίων μόνο ορισμένα, αρκούν για την αποδοχή της μεταφερόμενης περιοχής μέσω θετικής επιλογής, ενώ τα υπόλοιπα απλώς μεταφέρονται => μπορεί ωστόσο να επιφέρουν συνέπειες σε κυτταρικό επίπεδο ή σε επίπεδο κοινότητας ή στην περίπτωση οικοσυστημάτων τροφίμων μπορεί να έχουν συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία καθώς εισέρχονται στο εντερικό οικοσύστημα

Μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

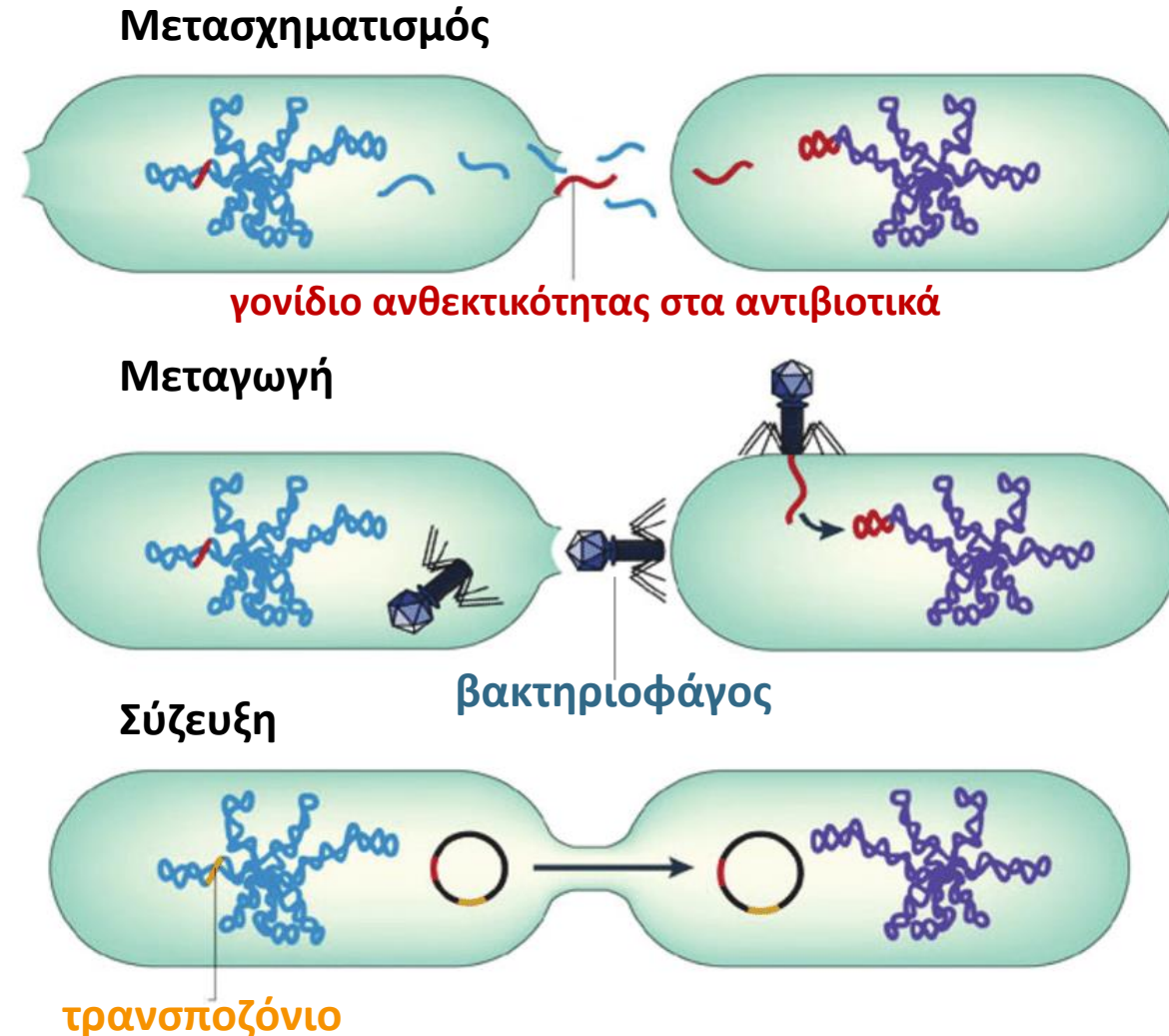
□ Στα βακτήρια υπάρχουν **3 μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων**

- 1. Σύζευξη (Conjugation)** : άμεση μεταφορά γονιδίων από ένα κύτταρο- δότη σε ένα κύτταρο-δέκτη
- 2. Μεταγωγή (Transduction)**: μεταφορά γονιδίων από το ένα κύτταρο στο άλλο με βακτηριοφάγους
- 3. Μετασχηματισμός (transformation)** : πρόσληψη DNA από το περιβάλλον



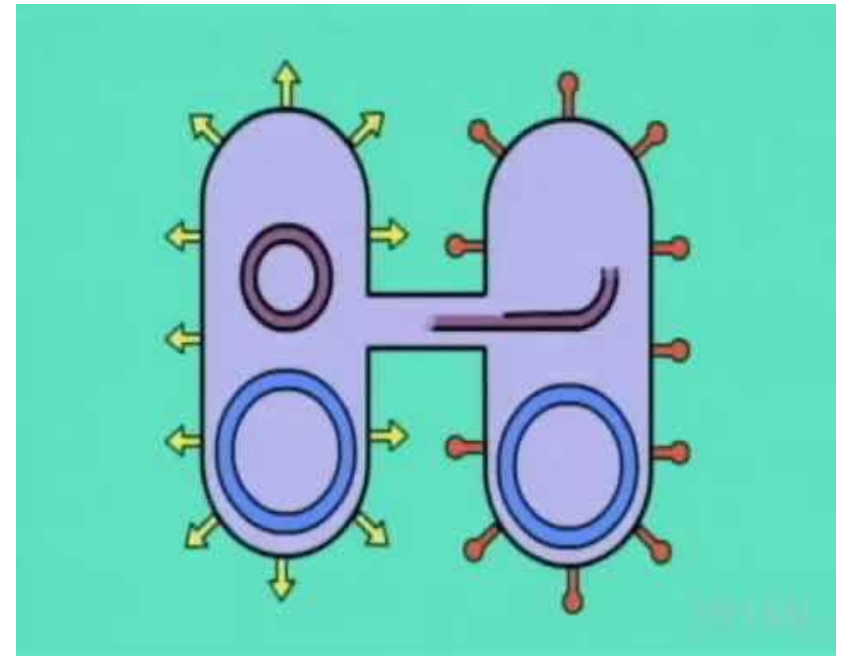
Μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

- Ο πιο κοινός μηχανισμός οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων ανάμεσα σε βακτήρια, ειδικά από ένα είδος δότη σε διαφορετικά είδη δέκτες, είναι η σύζευξη
- Παρόλο που τα βακτήρια μπορούν να αποκτήσουν γονίδια διαμέσου μεταγωγής και μετασχηματισμού, οι μηχανισμοί αυτοί απαντώνται σπανιότερα και κυρίως μεταξύ στελεχών του ίδιου είδους ή μεταξύ στενά συγγενικών ειδών



Σύζευξη

- Η βακτηριακή σύζευξη (conjugation) αποτελεί μια διαδικασία κατά την οποία πραγματοποιείται μονόδρομη μεταφορά γενετικών πληροφοριών μεταξύ ενός βακτηριακού κυττάρου-δότη κι ενός βακτηριακού κυττάρου δέκτη διαμέσου άμεσης κυτταρικής επαφής

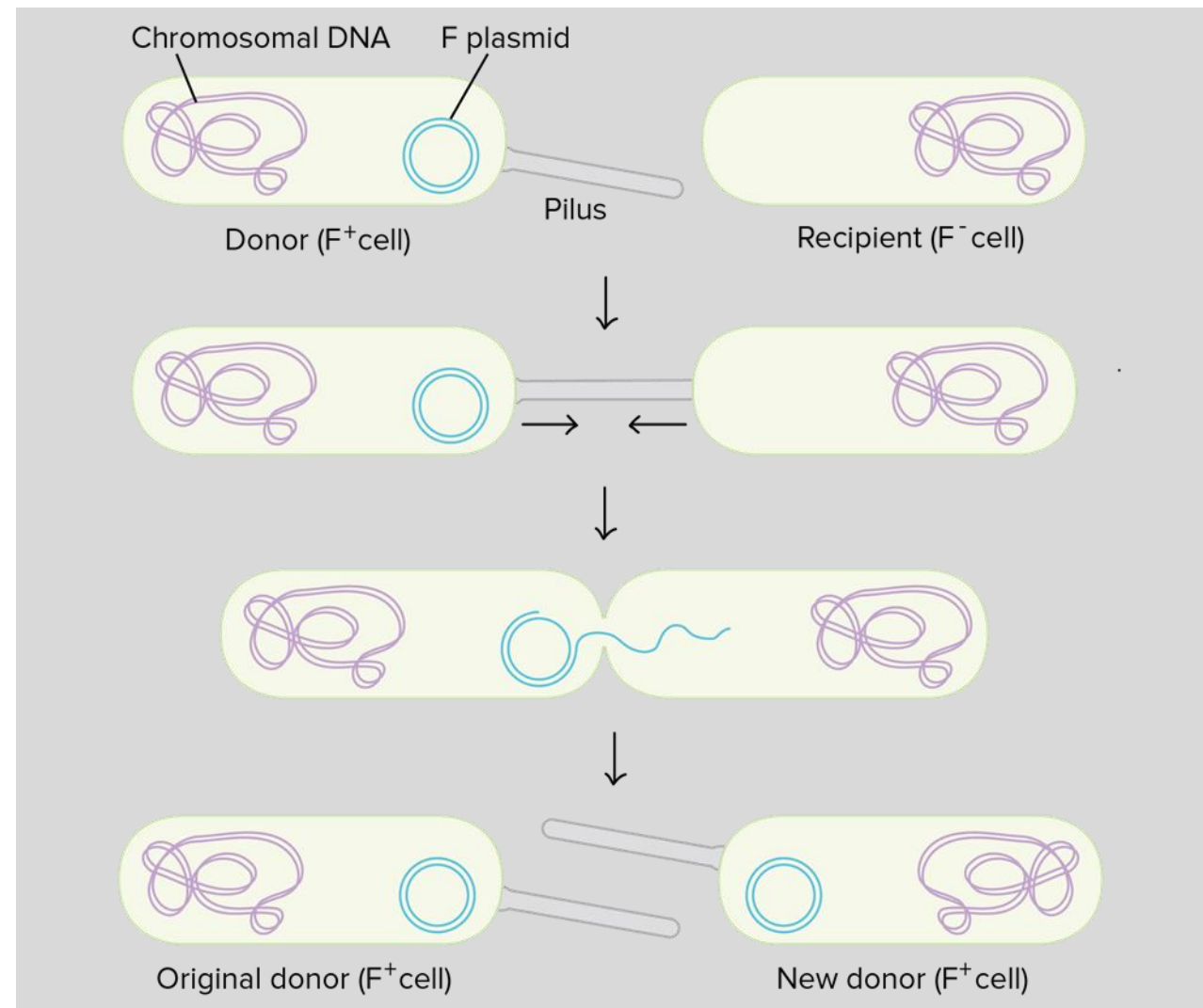


Σύζευξη

- ❑ Η σύζευξη κωδικοποιείται από πλασμίδια ή τρανσποζόνια
- ❑ Τα περισσότερα πλασμίδια είναι είτε **αυτομεταβιβάσιμα**, είτε **κινητοποιήσιμα**
 - Τα **αυτομεταβιβάσιμα** κωδικοποιούν τα γονίδια που τους είναι απαραίτητα για τη σύζευξη και τη μεταφορά τους, και πολλές φορές κωδικοποιούν και γονίδια που υποβοηθούν τη μεταφορά των κινητοποιήσιμων πλασμιδίων ή και του χρωμοσώματος των βακτηρίων
 - Τα **κινητοποιήσιμα**, έχουν γονίδια που τους δίνουν τη δυνατότητα να ακολουθήσουν τα αυτομεταβιβάσιμα στη μεταφορά τους
- ❑ Το κύτταρο του βακτηρίου δότη περιέχει ένα συζευτικό πλασμίδιο, ενώ το κύτταρο του βακτηρίου δέκτη δεν διαθέτει κάτι αντίστοιχο.
- ❑ Το συζευτικό πλασμίδιο είναι αυτομεταβιβάσιμο

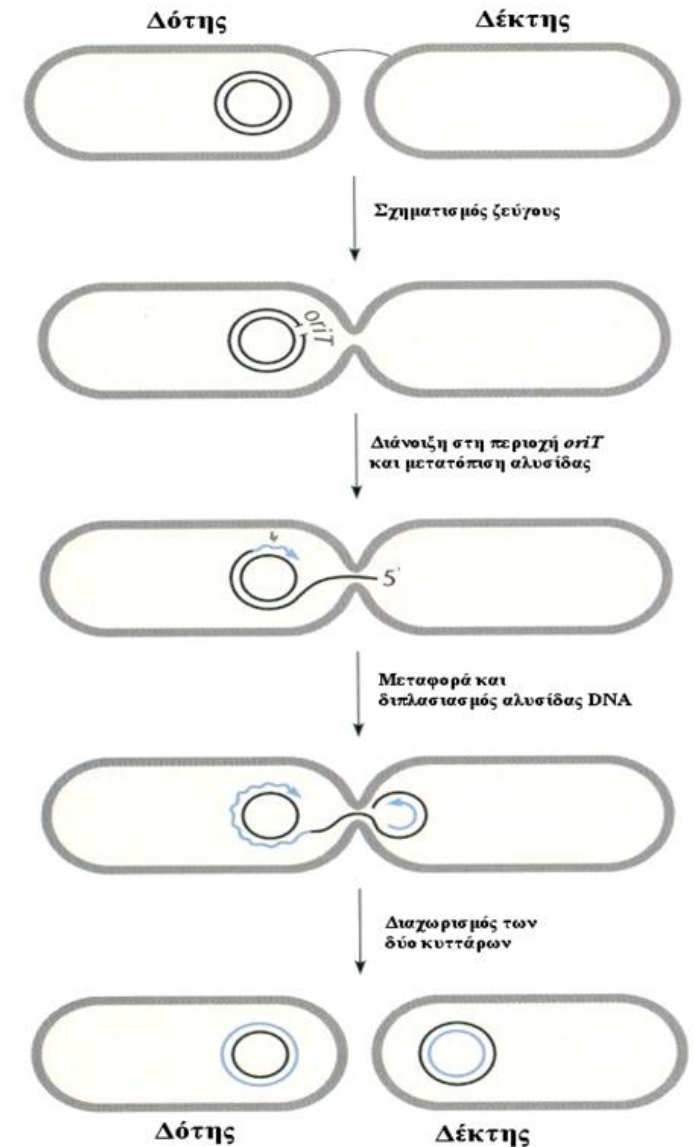
Σύζευξη

- ❑ Η ιδιότητα του δότη παρέχεται στο αντίστοιχο κύτταρο από την παρουσία ενός πλασμιδίου που ονομάζεται παράγοντας F (Fertility factor, παράγοντας γονιμότητας)
- ❑ Τα κύτταρα που **φέρουν** τον παράγοντα γονιμότητας είναι **δότες** γονιδίων και συμβολίζονται με **F+**
- ❑ Τα κύτταρα που **δεν φέρουν** τον παράγοντα γονιμότητας είναι **δέκτες** γονιδίων και συμβολίζονται με **F-**
- ❑ Τα **F+** και **F-** βακτήρια διαφέρουν και **φαινοτυπικά**
 - F+: φέρουν συζευκτικά νημάτια που είναι απαραίτητα για τη σύζευξη (αρσενικά)
 - F- : δεν φέρουν συζευκτικά νημάτια (θηλυκά)



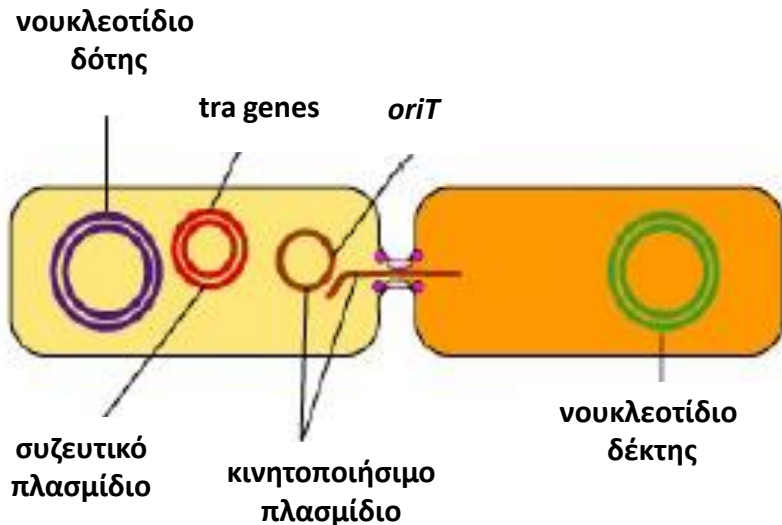
Σύζευξη

- ❑ Εμπεριέχει κατά κανόνα τη συμμετοχή ενός συζευτικού παράγοντα = συζευτικό ινίδιο (sex pilus)
- ❑ F+ πλασμίδια: Εμφανίζουν στην επιφάνειά τους ένα συζευκτικό ινίδιο (sex pili) που κωδικοποιείται στον F παράγοντα
- ❑ Το γονίδιο *traA* κωδικοποιεί την παραγωγή της πιλίνης, πρωτεΐνη η οποία πολυμεριζόμενη σχηματίζει το ινίδιο
- ❑ Η όλη αυτή διεργασία απαιτεί τη συνεργασία 12 *tra* γονιδίων, τα οποία υποβοηθούν στο πολυμερισμό της πιλίνης και στη μεταφορά της δια μέσου της μεμβράνης στην επιφάνεια του κυττάρου



Σύζευξη

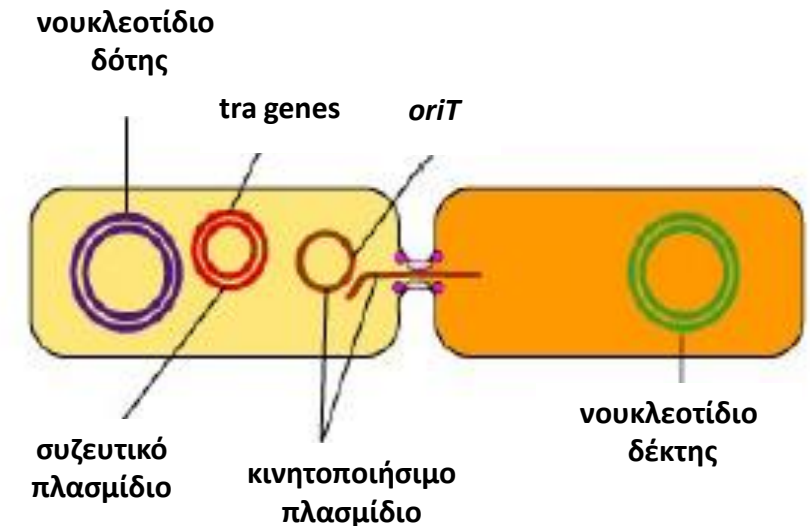
- ❑ Τα γονίδια της σύζευξης = *tra* genes, δίνουν τη δυνατότητα στο βακτήριο να σχηματίσει ένα συζευτικό ζευγάρι με κάποιον άλλο οργανισμό
- ❑ Οι αλληλουχίες *oriT* (origin of transfer) καθορίζουν σε ποιο σημείο του πλασμιδίου ξεκινά η μεταφορά του DNA εξυπηρετώντας ως σημείο έναρξης της αντιγραφής όπου τα ένζυμα πολλαπλασιασμού του DNA θα κόψουν το DNA για την έναρξη αντιγραφής και τη μεταφορά του



- ❑ Τα κινητοποιήσιμα πλασμίδια στερούνται *tra* γονιδίων για την αυτομετάδοσή τους αλλά διαθέτουν τις αλληλουχίες *oriT* για την έναρξη της μεταφοράς του DNA και μπορούν να μεταφερθούν μέσω σύζευξης εφόσον το βακτήριο στο οποίο ανήκουν διαθέτει συζευτικό πλασμίδιο

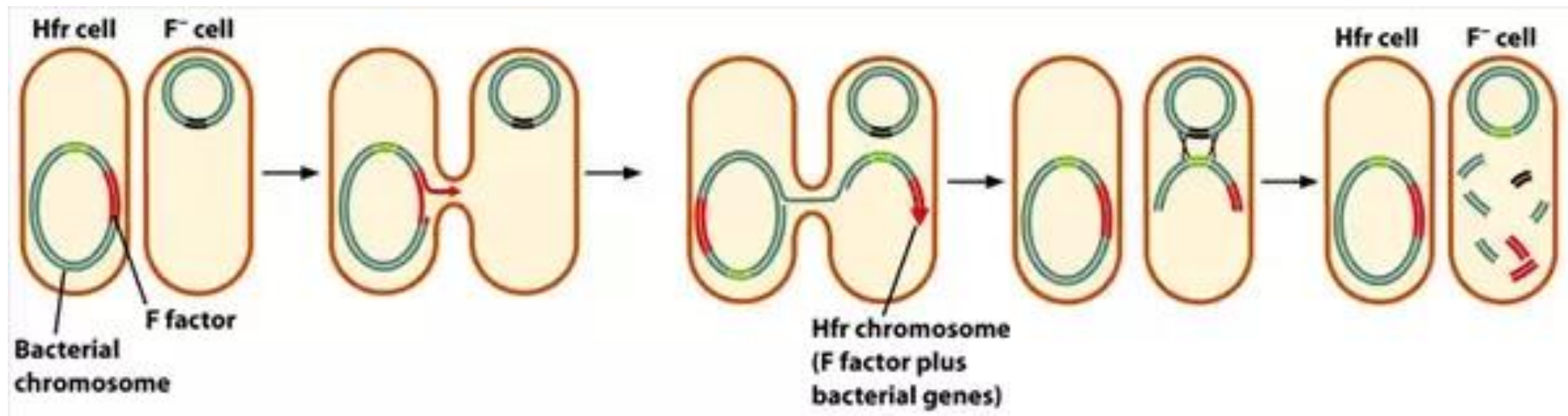
F Σύζευξη

- ❑ Περιγράφει την μεταφορά ενός F πλασμιδίου που φέρει *tra* γονίδια που κωδικοποιούν τον σχηματισμό του συζευτικού νηματίου και συζευτικού ζεύγους μεταξύ ενός βακτηρίου δότη και ενός βακτηρίου δέκτη
- ❑ Ένα τμήμα του F πλασμιδίου σπάει με τη δράση μιας νουκλεάσης στην *oriT* αλληλουχία που καθορίζει σε ποιο σημείο του πλασμιδίου ξεκινά η μεταφορά του DNA εξυπηρετώντας ως σημείο έναρξης της αντιγραφής όπου τα ένζυμα αντιγραφής θα κόψουν το DNA για να ξεκινήσει η αντιγραφή και η μεταφορά του DNA
- ❑ Το κομμένο τμήμα εισέρχεται στο βακτήριο δέκτη ενώ το υπόλοιπο τμήμα του πλασμιδίου παραμένει στο δότη. Κάθε τμήμα του συνθέτει τότε ένα συμπληρωματικό αντίγραφο
- ❑ Ο δέκτης γίνεται τότε F+ (αρσενικό) και μπορεί να συνθέσει ένα συζευτικό ινίδιο



Σύζευξη Υψηλής Συχνότητας Ανασυνδιασμού (HFR)

- ❑ Η Hfr σύζευξη ξεκινά όταν ένα F πλασμίδιο με γονίδια τύπου *tra* εισέρχεται ή ενσωματώνεται στο χρωμόσωμα ώστε να σχηματίσει ένα Hfr βακτήριο
- ❑ Μια νουκλεάση τότε σπάει ένα τμήμα του DNA του δότη στην περιοχή *oriT* του εισερχόμενου F πλασμιδίου και η κομμένη αλληλουχία του DNA δότη ξεκινά να εισέρχεται στο βακτήριο δέκτη
- ❑ Το υπόλοιπο άθικτο κομμάτι του DNA παραμένει στο δότη και δημιουργεί συμπληρωματικό αντίγραφο του εαυτού του
- ❑ Η βακτηριακή συνδεση συνήθως σπάει πριν να ολοκληρωθεί η μεταφορά του συνολικού χρωμοσώματος έτσι ώστε το υπόλοιπο τμήμα του F πλασμιδίου να εισέρχεται σπάνια στο δέκτη
- ❑ Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, να πραγματοποιείται μεταφορά ορισμένου χρωμοσωμικού DNA, που μπορεί να ανταλαχθεί για κάποιο τμήμα του DNA δέκτη με ομόλογο ανασυνδιασμό, χωρίς τη δυνατότητα σχηματισμού συζευτικού ινιδίου και συζευτικών ζευγών



Μεταγωγή

- Η μεταγωγή (transduction) είναι μια διαδικασία κατά την οποία οι βακτηριοφάγοι μεσολαβούν για να μεταφερθεί βακτηριακό DNA από ένα βακτήριο δότη σε ένα βακτήριο δέκτη
- Διακρίνεται σε δύο μορφές: τη γενικευμένη και την ειδική μεταγωγή
- Γενικευμένη μεταγωγή:
 - Κατά τη διάρκεια της λυτικής φάσης, περιστασιακά το καψίδιο του φάγου σχηματίζεται συμπτωματικά γύρω από ένα μικρό τμήμα βακτηριακού DNA
 - Όταν αυτός ο βακτηριοφάγος, μολύνει ένα άλλο βακτήριο εγχύει το τμήμα του DNA του βακτηρίου δότη στο βακτήριο δέκτη όπου μπορεί στη συνέχεια να ανταλλαχθεί με τμήμα DNA του δέκτη με ομόλογο ανασυνδιασμό

Μεταγωγή

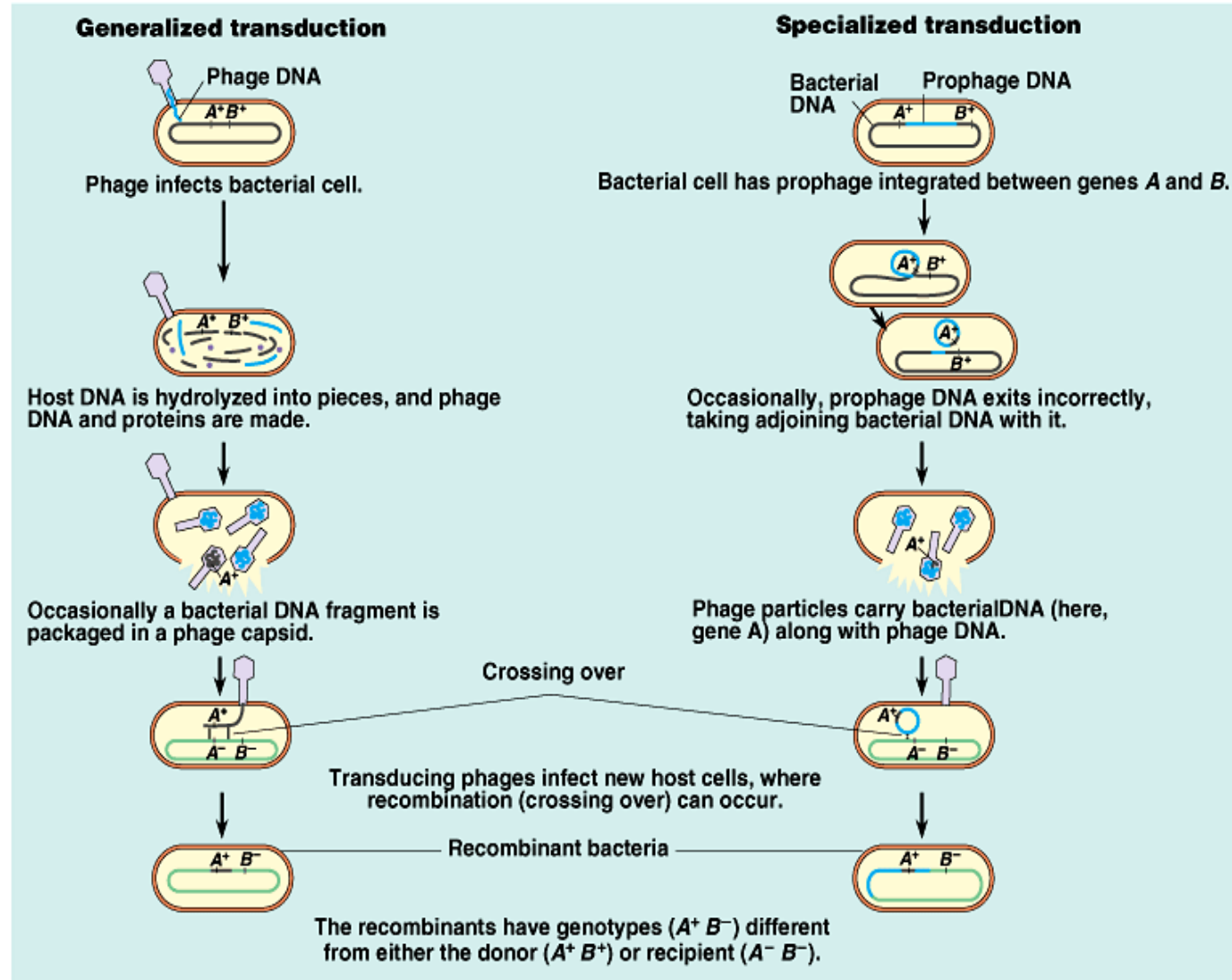
❑ Ειδική μεταγωγή:

- ❑ Παρατηρείται περιστασιακά κατά τη διάρκεια του λυσιγόνου σταδίου του βιολογικού κύκλου ενός βακτηριοφάγου
- ❑ Συμβαίνει μόνο στα κύτταρα ξενιστές τα οποία έχουν ένα ενσωματωμένο προφάγο σε ένα συγκεκριμένο σημείο του γονιδιώματός τους
- ❑ Κατά τη διάρκεια της αυτόματης επαγωγής, ένα μικρό τμήμα βακτηριακού DNA μπορεί να ανταλλαχθεί με ένα τμήμα του γονιδιώματος του βακτηριοφάγου, που παραμένει στο βακτηριακό νουκλεΐδιο
- ❑ Το κομμάτι αυτό του βακτηριακού DNA αναπαράγεται ως ένα μέρος του γονιδιώματος του βακτηριοφάγου και τοποθετείται εντός του καψιδίου του κάθε φάγου του
- ❑ Οι βακτηριοφάγοι ελευθερώνονται, προσροφώνται στα βακτήρια δέκτες, και ελευθερώνουν-εγχύουν το σύνθετο DNA του βακτηρίου δότη και του φάγου στο βακτήριο δέκτη όπου εισάγεται στο βακτηριακό χρωμόσωμα

Γενικευμένη vs. Ειδική μεταγωγή

Γενικευμένη μεταγωγή

- 1: Ο βακτηριοφάγος προσροφάται σε ένα ευαίσθητο βακτήριο
- 2: Το γονιδίωμα του βακτηριοφάγου εισέρχεται στο βακτήριο και κατευθύνει το μεταβολισμό του βακτηρίου προς την παραγωγή συστατικών και ενζύμων για τον βακτηριοφάγο. Τα κωδικοποιημένα ένζυμα του θα σπάσουν το βακτηριακό χρωμόσωμα
- 3: Το καψίδιο ενός βακτηριοφάγου δημιουργείται συμπτωματικά γύρω από ένα τμήμα του χρωμοσώματος του βακτηρίου δότη ή γύρω από ένα πλασμίδιο και όχι γύρω από γονιδίωμα του φάγου
- 4: Οι βακτηριοφάγοι ελευθερώνονται κατά τη λύση του βακτηρίου. Ο βακτηριοφάγος φέρει τμήμα DNA του βακτηρίου δότη και όχι το γονιδίωμα του βακτηριοφάγου
- 5: Ο βακτηριοφάγος που φέρει το DNA του βακτηρίου δότη προσροφάται σε ένα βακτήριο δέκτη
- 6: Ο βακτηριοφάγος εισάγει το DNA του βακτηρίου δότη το οποίο φέρει σε ένα βακτήριο δέκτη
- 7: Πραγματοποιείται ομόλογος ανασυνδιασμός και το DNA του βακτηρίου δότη ανταλλάσσεται με ένα τμήμα DNA του δέκτη



Ειδική μεταγωγή

- 1: Ο βακτηριοφάγος προσροφάται σε ένα ευαίσθητο κύτταρο και εισάγει το γονιδίωμα του ώστε μετατραπεί σε προφάγο
- 2: Περιστασιακά κατά την αυτόματη επαγωγή, το DNA αποκόπτεται λανθασμένα και ένα μικρό κομμάτι DNA του βακτηρίου δότη προσλαμβάνεται ως τμήμα του γονιδιώματος του βακτηριοφάγου στη θέση ενός τμήματος του DNA του βακτηριοφάγου που παραμένει στο χρωμόσωμα του βακτηρίου
- 3: Καθώς ο βακτηριοφάγος αντιγράφεται, το τμήμα του βακτηριακού DNA αντιγράφεται ως τμήμα του γονιδιώματος του βακτηριοφάγου. Και κάθε βακτηριοφάγος φέρει αυτό το τμήμα του βακτηριακού DNA
- 4: Ο βακτηριοφάγος προσροφάται στο βακτήριο δέκτη και εισάγει το γονιδίωμα του
- 5: Το γονιδίωμα του βακτηριοφάγου που φέρει DNA του βακτηρίου δότη εισάγει στο βακτήριο δέκτη το βακτηριακό γονιδίωμα

Μετασχηματισμός

- ❑ Ο μετασχηματισμός αποτελεί μια μορφή γενετικού ανασυνδιασμού κατά τον οποίο ένα τμήμα DNA από ένα νεκρό, αποδομημένο βακτήριο εισέρχεται σε ένα δεκτικό βακτήριο δέκτη και ανταλλάσσεται με ένα τμήμα DNA του δέκτη
- ❑ Συνήθως αφορά σε ομόλογο ανασυνδιασμό, περιοχών DNA που έχουν σχεδόν ταυτόσημες αλληλουχίες νουκεοτιδίων => παρόμοια στελέχη βακτηρίων ή στελέχη του ίδιου βακτηριακού γένους
- ❑ Στη φύση ορισμένα μόνο βακτήρια, όπως τα *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Hemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* και *Helicobacter pylori* τείνουν να είναι δεκτικά και «μετασχηματίσιμα»
- ❑ Τα δεκτικά βακτήρια μπορούν να δεσμεύουν πολύ περισσότερο DNA από τα μη δεκτικά. Κάποια από τα γένη αυτά υφίστανται επίσης αυτόλυση που παρέχει έπειτα DNA για ομόλογο ανασυνδιασμό
- ❑ Επιπρόσθετα, κάποια δεκτικά βακτήρια σκοτώνουν μη δεκτικά κύτταρα ώστε να ελευθερωθεί DNA για μετασχηματισμό

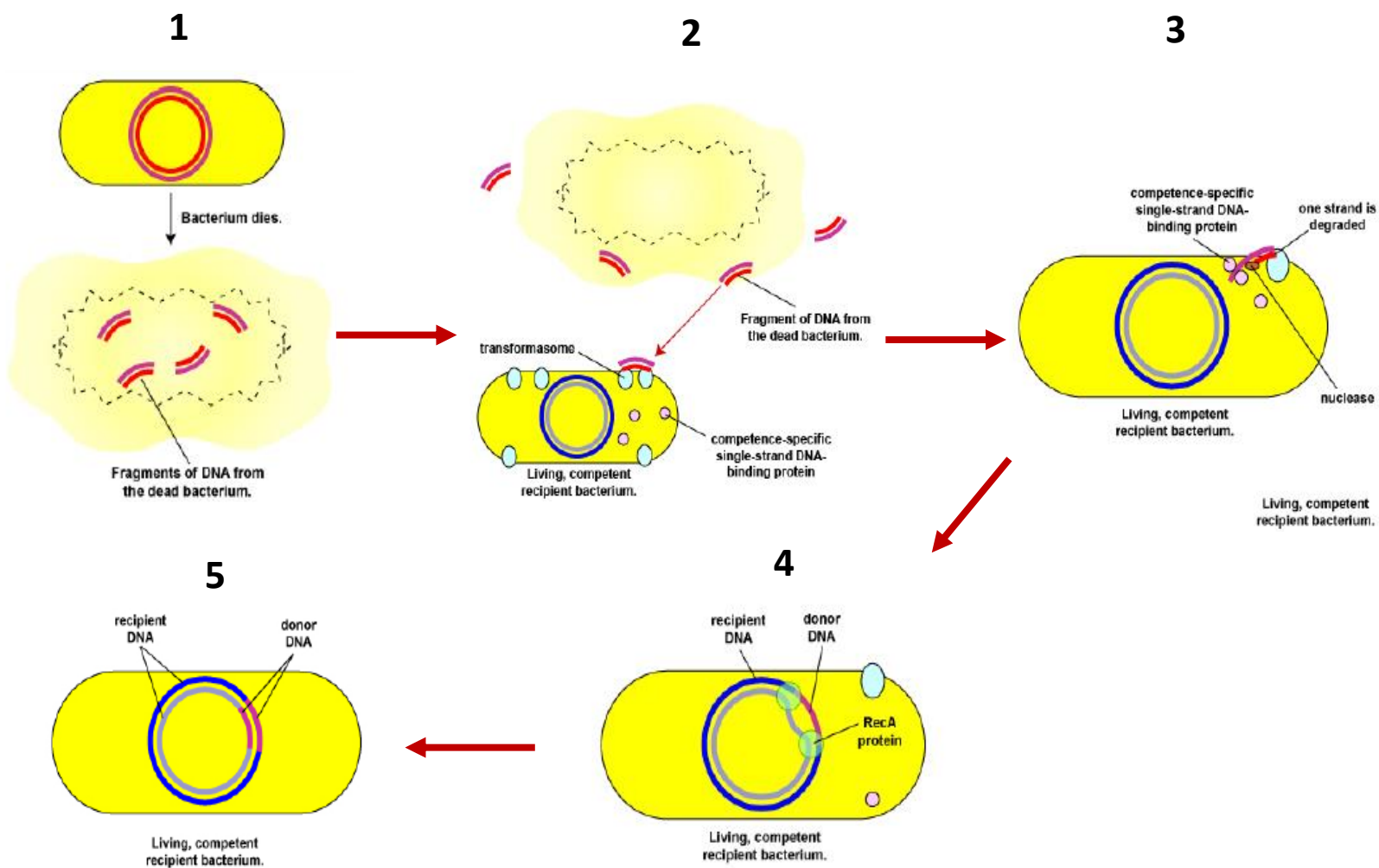
Μετασχηματισμός

- ❑ Στο εργαστήριο αυτό το DNA απομονώνεται από τα κύτταρα δότες
- Ένα κύταρο δέκτης αποκτά γονίδια από ελεύθερο DNA που υπάρχει στο θρεπτικό μέσο
- ❑ Στη φύση το ελεύθερο DNA προέρχεται από τυχαία καταστροφή των βακτηρίων
- ❑ Ο μετασχηματισμός αρχίζει με την είσοδο ενός κομματιού DNA από το θρεπτικό μέσο στο δέκτη και τελειώνει με την αντικατάσταση ομολόγου κομματιού DNA που υπάρχει στο δέκτη
- **Όλα τα βακτήρια δεν είναι δεκτικά στην πρόσληψη γυμνού DNA**

Μετασχηματισμός

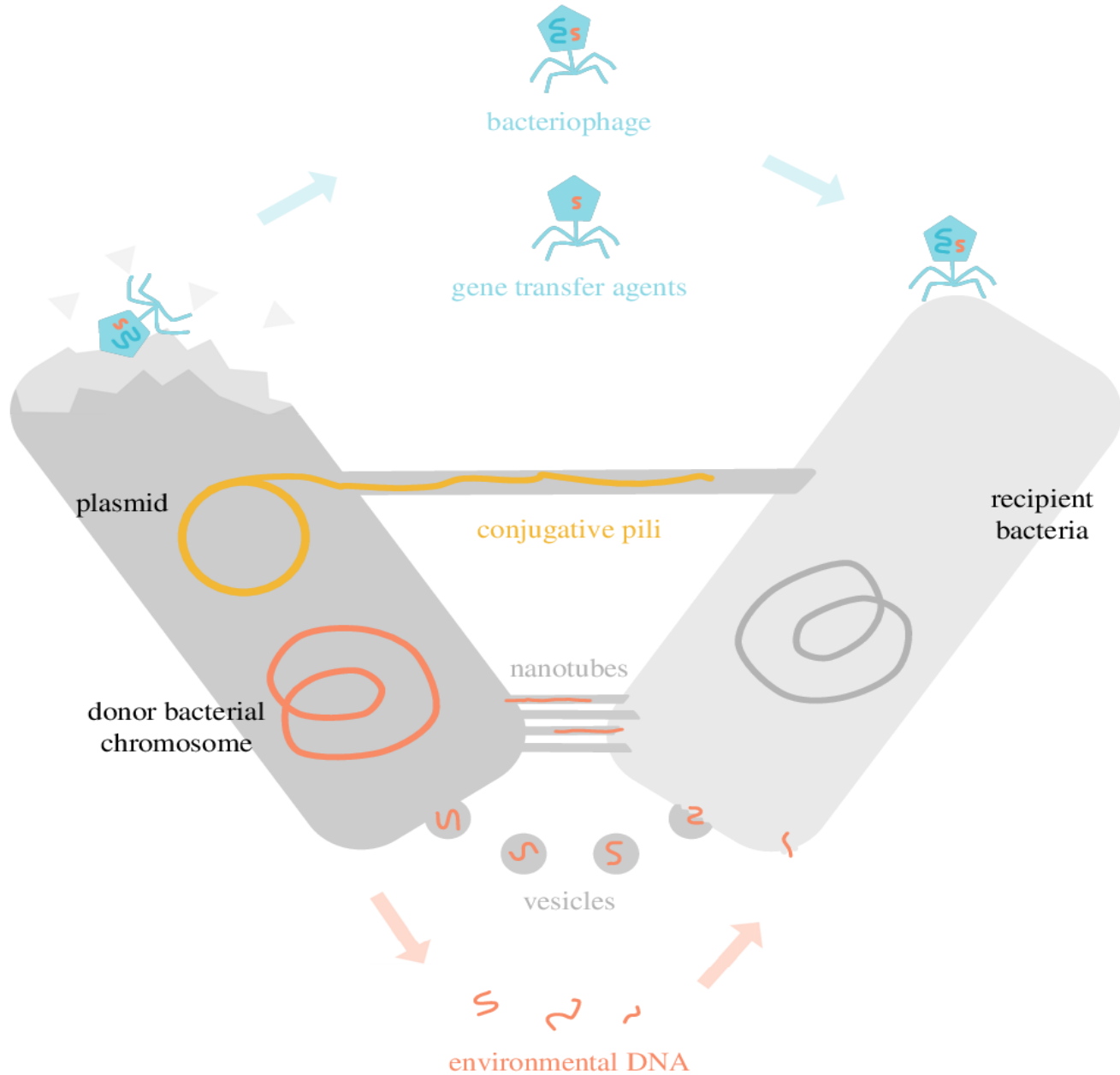
- ❑ Κατά τον μετασχηματισμό, τμήματα DNA ελευθερώνονται από ένα νεκρό αποδομούμενο βακτήριο και δεσμεύονται στην επιφάνεια ενός ζωντανού δεκτικού βακτηρίου δέκτη
- ❑ Ανάλογα από το βακτήριο, είτε και οι δυο κλώνοι του DNA διαπερνούν το δέκτη, ή μια νουκλεάση αποδομεί τον ένα κλώνο του συγκεκριμένου τμήματος και ο δεύτερος κλώνος του DNA εισέρχεται στο δέκτη
- ❑ Το τμήμα αυτό του DNA του δότη ανταλλάσσεται στη συνέχεια με ένα κομμάτι από το DNA του δέκτη μέσω RecA πρωτεϊνών και άλλων μορίων και περιλαμβάνει τη θραύση και την επανένωση των τμημάτων του DNA

Μετασχηματισμός



1. Το βακτήριο δότη πεθαίνει και αποδομείται
2. Τμήματα του DNA του νεκρού βακτηρίου δότη προσδένονται στα μετασχηματοσώματα (transformasomes) του κυτταρικού τοιχώματος ενός ζωντανού βακτηρίου δέκτη
3. Μια νουκλεάση διασπά ένα τμήμα της αλληλουχίας του DNA δότη και το κομμάτι του DNA που απομένει εισέρχεται στο δέκτη. Εξειδικευμένες πρωτεΐνες των δεκτικών κυττάρων προσδένονται στο μονόκλωνο τμήμα του DNA του δότη για να αποτρέψουν την αποδόμηση του στο κυτταρόπλασμα
4. Οι RecA πρωτεΐνες προωθούν τη γενετική ανταλλαγή ανάμεσα σε ένα τμήμα DNA του δότη και σε ένα τμήμα DNA του δέκτη => σπάσιμο και επανένωση των τμημάτων του δίκλωνου DNA
5. Ολοκλήρωση μετασχηματισμού

Μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων



- Μεταγωγή
- Σύζευξη
- Μετασχηματισμός

Προβλήματα στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων

- ❑ Η ανταλλαγή γονιδίων μπορεί να προκαλέσει σημαντική **απώλεια της προσαρμοστικής ικανότητας** τόσο του οργανισμού δότη όσο και του οργανισμού δέκτη
- ❑ Τα εισερχόμενα γονίδια αντιπροσωπεύουν πρόσθετο DNA που χρησιμοποιεί τα **κυτταρικά αποθέματα** για την αντιγραφή, τη μεταγραφή και τη μετάφραση
- ❑ Η σύσταση της αλληλουχίας του νέου DNA μπορεί να επιφέρει πρόβλημα στους **μηχανισμούς έκφρασης** του κυττάρου δέκτη, προκαλώντας
 - μη φυσιολογική αναδίπλωση πρωτεϊνών
 - αντιδράσεις στρες
- ❑ Τα γονίδια που εκφράζονται μπορεί να παρέμβουν στη κυτταρική ομοιόσταση διαταράσσοντας τις διεργασίες της **κυτταρικής σηματοδότησης και του μεταβολισμού**

Προβλήματα στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων

- ❑ Τα αποκτηθέντα μεταθετά στοιχεία μπορούν να πολλαπλασιαστούν στο χρωμόσωμα, καταστρέφοντας τα γονίδια στα οποία εισέρχονται και προκαλώντας απώλεια γονιδίων μέσω ανασυνδιασμού
- **Οι δότες επίσης επηρεάζονται**
- ❑ Η παραγωγή του συζευκτικού μηχανισμού **επιφέρει μεταβολικό κόστος** και *εκθέτει* τα κύτταρα που τον διαθέτουν σε **F+ εξειδικευμένους βακτηριοφάγους** που αναγνωρίζουν και χρησιμοποιούν το συζευκτικό ινίδιο ως δέκτη
- ❑ Η ελευθέρωση των καψιδίων των **βακτηριοφάγων** εκκρίνει γενετικό υλικό μέσω γενικευμένης μεταγωγής ή μέσω των μεταθετών στοιχείων μπορεί να οδηγήσει σε **λύση**

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων

□ Απόκτηση ή απώλεια λειτουργιών στο βακτηριακό γονιδίωμα ;

□ Το βακτηριακό γονιδίωμα αποτελεί δυναμική οντότητα

1. Πολλές λειτουργίες (γονίδια) διατηρούνται σταθερά και η πίεση της επιλογής επιτρέπει μόνο ελάχιστες (ή καθόλου) τροποποιήσεις (μεταλλάξεις)

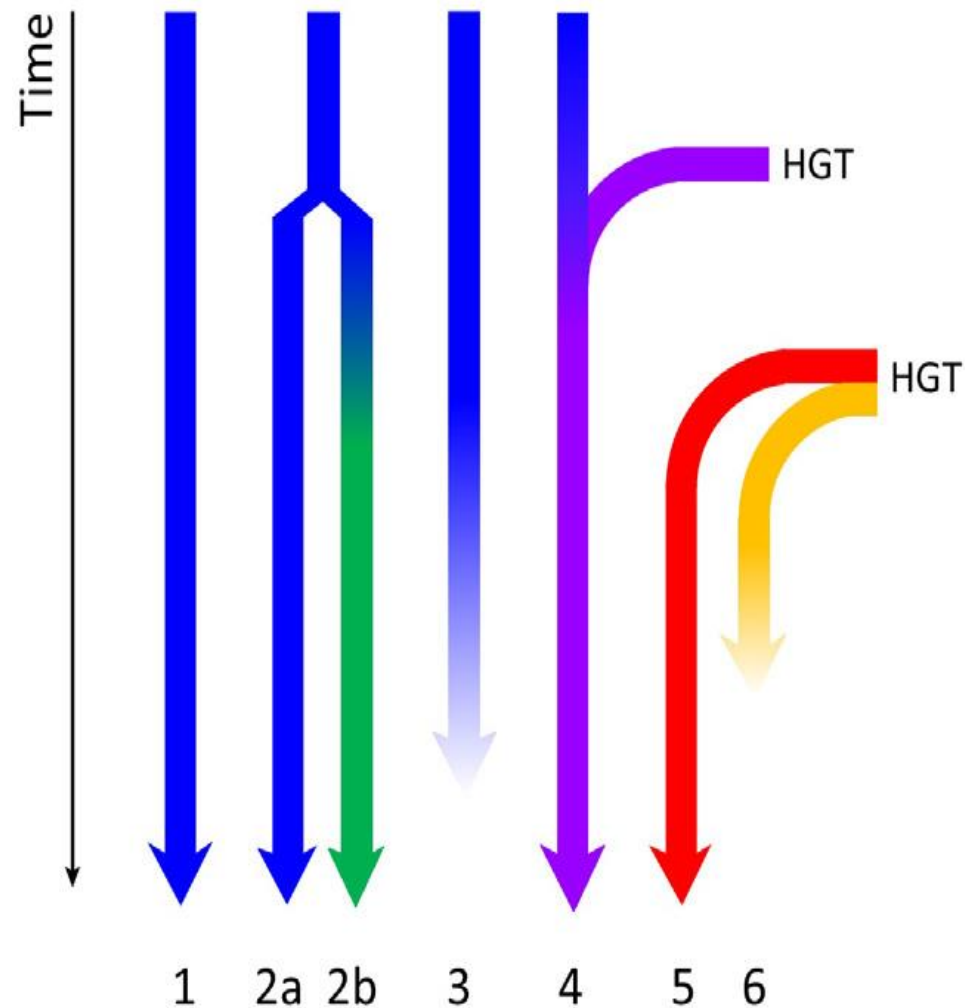
2. Μετά το διπλασιασμό ενός γονιδίου, το ένα αντίγραφο (2a) διατηρείται (2b) και το άλλο μπορεί να εξελιχθεί ώστε να αποκτήσει μια νέα σχετική λειτουργία (π.χ., ένζυμο με τροποποιημένη εξειδίκευση υποστρώματος)

3. Λειτουργίες χωρίς χρησιμότητα βαθμιαία εξαλείφονται

4. Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων μπορεί να οδηγήσει σε (μερική) αντικατάσταση των γονιδίων από ορθόλογα γονίδια ή από λειτουργικά ομόλογα (διαφορετικά γονίδια με ισοδύναμη λειτουργία)

5. Εντελώς νέες λειτουργίες μπορεί να αποκτηθούν μέσω της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων και να διατηρηθούν σταθερά

6. Γονίδια που προήλθαν από οριζόντια γονιδιακή μεταφορά και δεν έχουν λειτουργική χρησιμότητα βαθμιαία εξαλείφονται



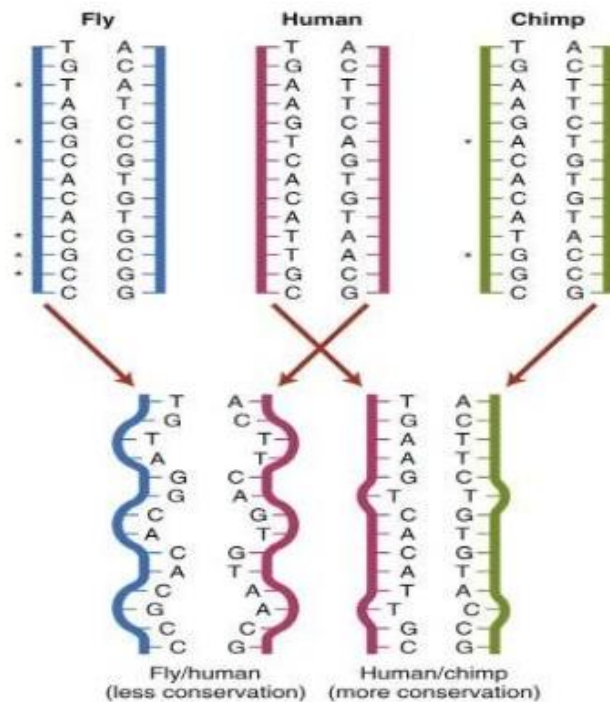
Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς σε φυσικά ενδιαιτήματα

- Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων μπορεί να ανιχνευτεί χρησιμοποιώντας συνδιασμό διαφόρων κριτηρίων, όπως:
 - Τοπική ασυνήθιστα υψηλή ομοιότητα αλληλουχιών DNA μεταξύ ενός πιθανού δότη και δέκτη
 - Υψηλότερη ομοιότητα αλληλουχιών DNA σε απομακρυσμένα φυλογενετικά είδη ή ταξονομικές βαθμίδες συγκριτικά με άλλα πιο στενά συσχετιζόμενα είδη
 - Φυλογενετική ασυνέπεια (π.χ., όταν ένα γονίδιο εμφανίζεται να είναι φυλογενετικά διαφορετικό από εκείνα του είδους)

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς σε φυσικά ενδιαίτηματα

➤ Παραδοσιακές στρατηγικές

- ❑ Καλλιέργειο-εξαρτώμενες τεχνικές, για τις περιπτώσεις όπου ο δότης και ο δέκτης κατά τη σύζευξη, τη μεταγωγή ή το μετασχηματισμό έχουν βρεθεί να διαφοροποιούνται από τις «περιβαλλοντικές τους ρυθμίσεις»
- ❑ Κλειδί για την επιτυχία αυτών των μεθόδων αποτελεί η ικανότητα επιλογής των κυττάρων του δότη και του δέκτη χρησιμοποιώντας ένα **συνδιασμό κατάλληλων δεικτών** συμπεριλαμβανομένης της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά
- ❑ Μοριακές μέθοδοι όπως: DNA:DNA υβριδοποίηση, αλληλούχιση σε DNA ή RNA που απομονώθηκε από το ενδιαίτημα ενδιαφέροντος καθώς και σε απομονώσεις βακτηρίων



DNA-DNA υβριδοποίηση: εκτίμηση του βαθμού γενετικής ομοιότητας μεταξύ ομάδων διαφορετικών DNA αλληλουχιών. Χρησιμοποιείται για τον καθορισμό της φυλογενετικής απόστασης μεταξύ 2 οργανισμών

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς σε φυσικά ενδιατήματα

➤ Σύγχρονες στρατηγικές

☐ Βιοπληροφορική:

- Ανάλυση των αλληλουχιών των μεταθετών γενετικών στοιχείων και των βακτηρίων ξενιστών (= βακτήρια δέκτες)

Στόχος: Η ταυτοποίηση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών αλληλουχιών (sequence signatures) και λειτουργιών σχετικών με την οριζόντια μεταφορά γονιδίων και η μελέτη της εμμοχής των μεταθετών στοιχείων καθώς αλληλεπιδρούν με τις περιβαλλοντικές συνθήκες

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς στο περιβάλλον σε φυσικά ενδιαιτήματα

➤ Σύγχρονες στρατηγικές

❑ **Συγκριτική γονιδιωματική (Comparative genomics)**

- ❑ Οι μελέτες αυτές εστιάζουν στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων μεταξύ οργανισμών που διαφοροποιούνται φαινοτυπικά και ανήκουν στο ίδιο είδος, όπως π.χ. παθογόνα και μη παθογόνα στελέχη του ίδιου είδους
- ❑ Βοηθούν στην ταυτοποίηση γονιδίων που μεταφέρονται οριζόντια και επιφέρουν νέα χαρακτηριστικά, χωρίς ωστόσο να απαντούν σε ερωτήματα σχετικά με τα ωφέλη (αν υπάρχει κάποιο) ως προς την προσαρμοστική ικανότητα που έχει η οριζόντια μεταφορά ενός ή περισσότερων γονιδίων μαζί με πολλαπλά γονίδια που μπορεί να επιφέρουν κόστος προσαρμοστικότητας

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς σε φυσικά ενδιαιτήματα

➤ Σύγχρονες στρατηγικές

- ❑ Νέες μέθοδοι, όπως: PCR ανάλυση αντίστροφής μεταγραφής του περιβαλλοντικού mRNA ακολουθούμενη από υβριδοποίηση ή DNA-based υβριδοποίηση με τη χρήση μικροσυστοιχιών (microarrays), μπορεί να διευκολύνει τη μελέτη της έκφρασης συγκεκριμένων πλασμιδίων, φάγων, τρανσποζονίων ή γονιδίων του ξενιστή
- ❑ Ωστόσο, στην περίπτωση των περιβαλλοντικών δειγμάτων οι μέθοδοι αυτές εξ' ορισμού διαταράσσουν το σύστημα (**system-disruptive**), καθώς βασίζονται σε προηγούμενη εξαγωγή - απομόνωση DNA, RNA ή βακτηριακών κυττάρων από το περιβάλλον

Extraction (DNA or RNA)



Differential labelling

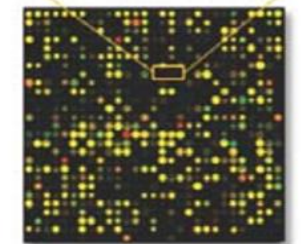


Hybridization



Scan

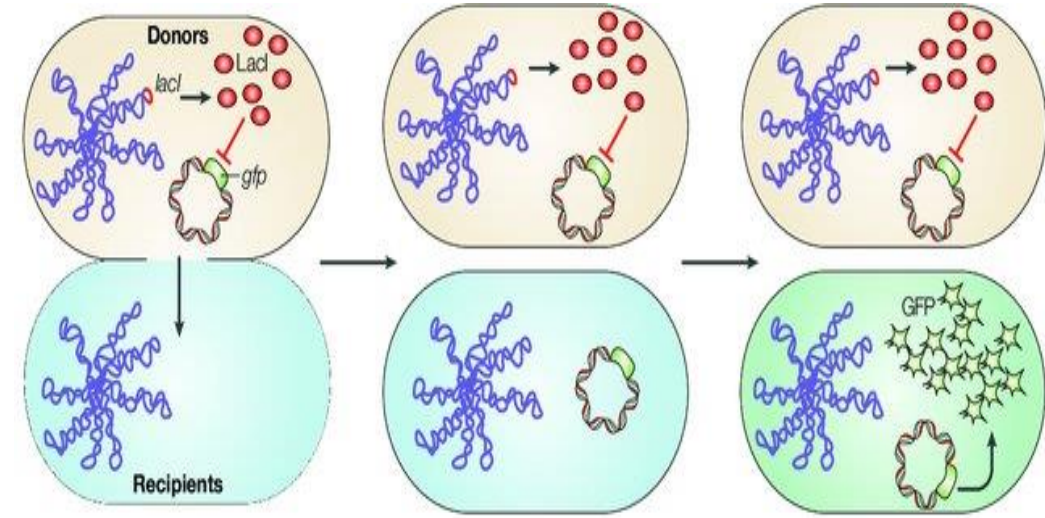
Downregulated Upregulated



Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για την ανίχνευση οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς σε φυσικά ενδιαιτήματα

➤ Σύγχρονες στρατηγικές

- ❑ Άμεση *in situ* παρακολούθηση της οριζόντιας μεταφοράς των γονιδίων με τρόπο που δεν διαταράσσει (**non-disruptive**) το σύστημα
- ❑ Χρήση φθορίζοντων δεικτών όπως το γονίδιο **gfp** για τη μελέτη των αυτομεταβιβάσιμων ή κινητοποιήσιμων πλασμιδίων
- ❑ *In situ* παρακολούθηση της μεταφοράς πλασμιδίων και της φυσιολογίας της μικροβιακής κοινότητας μέσω συνδιαστικής χρήσης συστημάτων φθορισμού και συνεστιακής μικροσκοπίας σάρωσης με λέιζερ έχει συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση των σύνθετων αυτών διεργασιών



Για παράδειγμα η χρήση ενός στελέχους δότη που περιέχει ένα πλασμίδιο που φέρει το **γονίδιο gfp** που καταστέλλεται για έκφραση στο γενότυπο του δότη θα μπορούσε να δώσει τη δυνατότητα παρακολούθησης της μεταφοράς του πλασμιδίου σε μη καλλιεργήσιμα βακτήρια όπου το γονίδιο αυτό εκφράζεται

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ

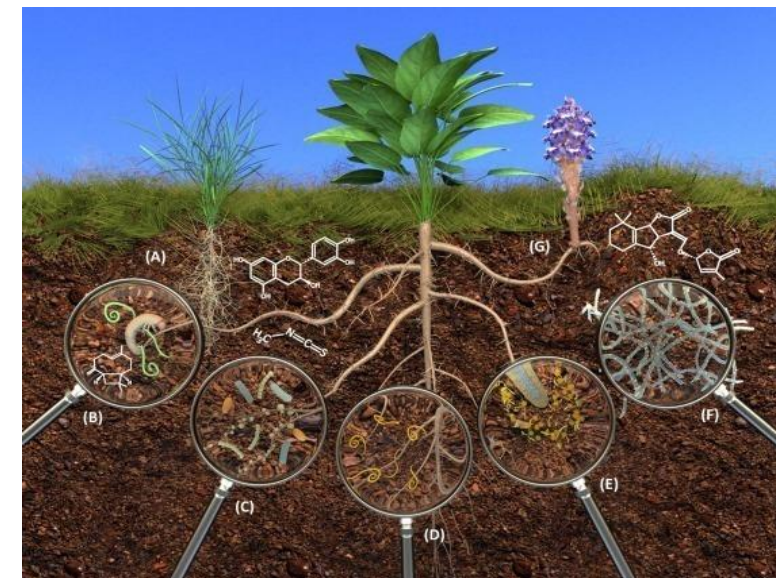
□ Έδαφος = ετερογενές ενδιαίτημα

□ Η ποικιλότητα των μικροοργανισμών στα εδαφικά οικοσυστήματα είναι εξαιρετικά υψηλή και εξαρτάται από παράγοντες όπως:

■ **Αβιοτικοί:** η θερμοκρασία, το pH, η συγκέντρωση των θρεπτικών, το οξυγόνο και η περιεχόμενη υγρασία

■ **Βιοτικοί:** ανταγωνιστικές και συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μικροοργανισμών του εδάφους, παρουσία οργανισμών όπως γεωσκώληκες, πρωτόζωα και μύκητες

■ Πρόσθετες μεταβλητές περιλαμβάνουν τον τύπο της φυτικής βλάστησης, τον τύπο του εδάφους και τις πρακτικές διαχείρισης του εδάφους



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ

- Η ρύθμιση του γενετικού μηχανισμού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το περιβάλλον => οι παραπάνω παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη συχνότητα της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων
- Οριζόντια μεταφορά γονιδίων **υψηλή σε σημεία με μεγάλη διαθεσιμότητα θρεπτικών** (nutritional hot spots) όπως η ριζόσφαιρα, φυτικοί και ζωικοί ιστοί σε αποσύνθεση και σημεία του εδάφους που δέχτηκαν λίπανση με κοπριά

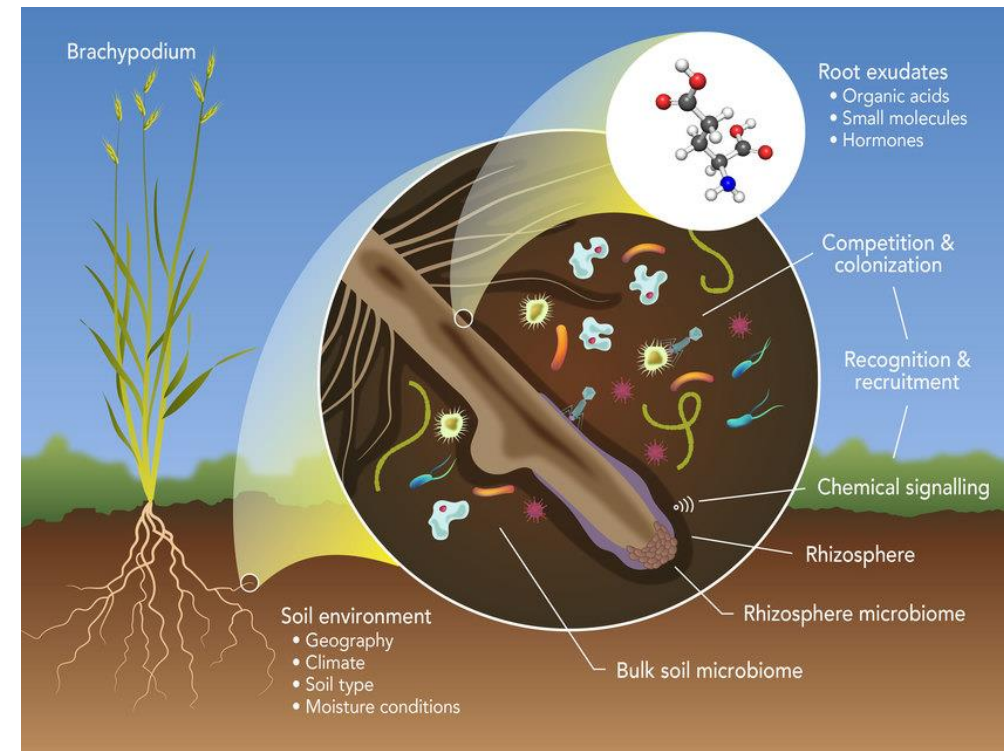
Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ – ΡΙΖΟΣΦΑΙΡΑ

□ Οι κυριότεροι παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν τη συχνότητα της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων στη ριζόσφαιρα είναι : (1) η αύξηση των ριζών και (2) η παραγωγή ριζικών εκκρίσεων

=> Περίπου 10 φορές χαμηλότεροι ρυθμοί μεταφοράς γονιδίων σε εδάφος απουσία της ριζόσφαιρας μπιζελιών και κριθαριού

□ Για ορισμένα πλασμίδια εξαιρετικά μεγάλο εύρος οργανισμών με ρόλο δέκτη παρατηρήθηκε στην περιοχή της ριζόσφαιρας



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ – ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΛΙΠΑΝΣΗ

□ Η εφαρμογή κοπριάς στο έδαφος:

- Συνεισφέρει στην αύξηση των μεταθετών γενετικών στοιχείων τοπικά = συσσώρευση, αλλά και στη συχνότητα της οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς στο εδαφικό οικοσύστημα
- Οδηγεί στην αύξηση της ποικιλότητας των μεταθετών γενετικών στοιχείων και στη διάχυση νέων φαινοτύπων (π.χ. ανθεκτικότητα σε καινούργιες αντιβιοτικές ουσίες) μεταξύ των βακτηριακών πληθυσμών
- Μπορεί να ενισχύσει την πλασμιδιακή κινητοποίηση και την επιβίωση του εισαχθέντος στελέχους δότη

→ Στην περίπτωση που η εφαρμογή της γίνει ταυτόχρονα με κάποιο αντιβιοτικό, η επίδραση είναι συνεργιστική και επηρεάζει τη συχνότητα και την σύσταση των μεταθετών γενετικών στοιχείων που εισάγονται με την κοπριά



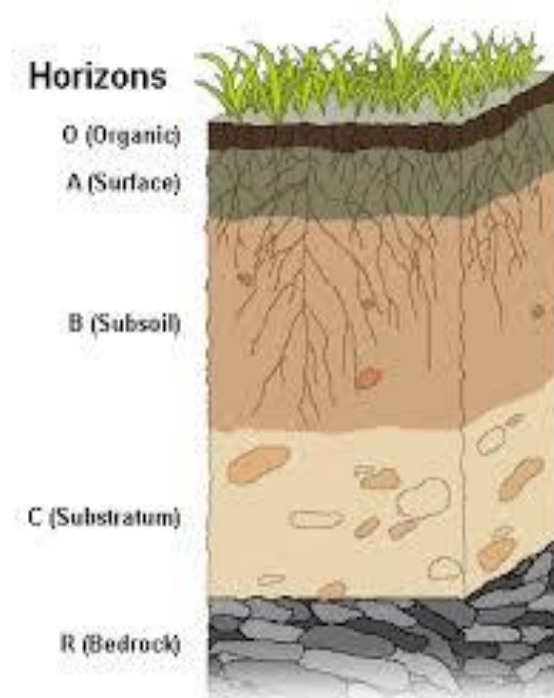
Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ – ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ

- Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων πραγματοποιείται και σε εδάφη με χαμηλή διαθεσιμότητα σε θρεπτικά

=> Στα βαθύτερα υπόγεια στρώματα του εδάφους όπου επικρατούν ολιγοτροφικές και ακραίες φυσικοχημικές συνθήκες

- Ωστόσο, είναι πιθανότερο να παρατηρηθεί συχνότερα οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά λόγω λόγω των σημαντικών βιοσυνθετικών και ενεργητικών απαιτήσεων των διεργασιών της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΕΔΑΦΟΣ – ΜΕΤΑΓΩΓΗ και ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ

- Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων με ειδική μεταγωγή παρατηρείται συχνά ανάμεσα στους μικροοργανισμούς του εδάφους
- Η ποικιλότητα και η δυναμική των βακτηριοφάγων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων => υψηλότερη σε περιοχές όπως η ριζόσφαιρα
- Στο εδαφικό οικοσύστημα, παρουσιάζουν **τοπική προσαρμογή** στα βακτήρια ξενιστές τους => φάγοι από την ίδια εδαφική περιοχή θεωρούνται πιο μολυσματικοί από φάγους από πιο απομακρυσμένα εδαφικά δείγματα
- Αντίθετα, η παρουσία δεκτικών στο μετασχηματισμό βακτηρίων μεταξύ των μικροοργανισμών του εδάφους είναι πολύ **περιορισμένη**, με τις ελάχιστες περιπτώσεις στις οποίες παρατηρείται αυτός ο μηχανισμός να ευνοείται από την παρουσία ανόργανων υλικών σε διαμερισμό που χρησιμεύει για την προστασία του DNA (= προσρόφηση) από τις DNases

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

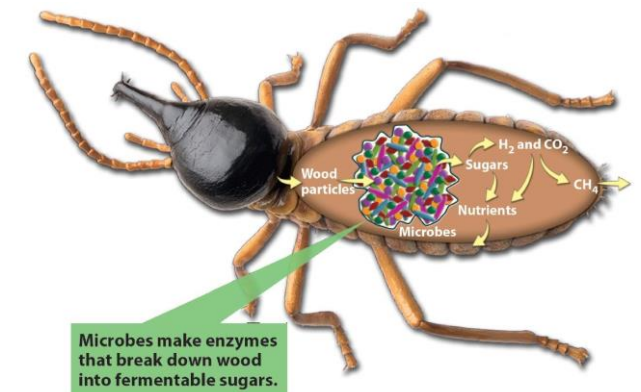
❑ ΥΔΑΤΙΝΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

- ❑ Τα υδάτινα οικοσυστήματα αποτελούν το μεγαλύτερο ενδιαίτημα μικροοργανισμών στη Γη => παρατηρούνται υψηλοί ρυθμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων
- ❑ Η παρουσία γονιδίων ανθεκτικότητας είναι συχνή σε θαλάσσια βακτήρια και σχετίζεται με το βαθμό της ρύπανσης με τοξικά χημικά απόβλητα
- ❑ Η μελέτη της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων στα υδάτινα οικοσυστήματα πραγματοποιείται με πειράματα μικροκόσμων
 - Περιορισμένη αντιπροσώπευση των πραγματικών οικολογικών ενδιαιτημάτων
 - Συνήθως πειράματα μοντελοποίησης παράκτιων και παραποτάμιων οικοσυστημάτων - συνήθως απουσία της μικροβιακής χλωρίδας
 - Πειράματα μικρής κλίμακας => υποσκελίζουν το ρόλο σημαντικών μεταβλητών που επηρεάζουν την οριζόντια γονιδιακή μεταφορά
 - Χρήση οργανισμών μοντέλων ως δότες και δέκτες που προεπιλέγονται υπό εργαστηριακές συνθήκες για την παρακολούθηση της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

❑ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ (π.χ. θηλαστικά, έντομα κτλ)

- ❑ Το εντερικό σύστημα των οργανισμών φιλοξενεί μεγάλο αριθμό ποικίλων μικροοργανισμών που επιτελούν πληθώρα λειτουργιών, σημαντικών για τον οργανισμό ξενιστή (π.χ. πρόληψη από τον αποικισμό παθογόνων, αποδόμηση τροφής, παραγωγή χρήσιμων ουσιών και θρεπτικών κ.α.)
- ❑ Τα εντερικά μικροβιακά οικοσυστήματα είναι εμπλουτισμένα με μεταθετά γενετικά στοιχεία => πεδία εκτεταμένης οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς
- ❑ Μεταφορά γονιδίων μολυσματικότητας, ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, αλλά και γονιδίων που κωδικοποιούν διάφορες υδρολάσες και ένζυμα μεταβολισμού λιπαρών οξέων (π.χ. βουτυρικού οξέος)



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

❑ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ (π.χ. θηλαστικά, έντομα κτλ)

- Ποιοι παράγοντες συνεισφέρουν στην οριζοντια μεταφορά γονιδίων που παρατηρείται στο εντερικό μικροβίωμα;
- ❑ Άνθρωπος και ζώα κτηνοτροφικής σημασίας και πρόσληψη αντιβιοτικών – έντομα – εντομοκτόνα = **αυξημένη πίεση επιλογής**
- ❑ **Ευνοϊκό *in vivo* περιβάλλον** για την οριζόντια μεταφορά γονιδίων
 - Ο ξενιστής παρέχει συνεχόμενη ροή θρεπτικών διατηρώντας ενεργό το μεταβολισμό των μικροοργανισμών του εντέρου
 - Οι πυκνότητες των μικροβιακών πληθυσμών εξαιρετικά υψηλές και ως εκ τούτου συνεισφέρουν στους μηχανισμούς οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων που απαιτούν άμεση επαφή μεταξύ των κυττάρων (π.χ. σύζευξη)
 - Σταθερότητα συνθηκών: π.χ. θερμοκρασία σε ομοιόθερμα ζώα => βελτιστοποιημένη αποτελεσματικότητα βακτηριακών κυττάρων
 - Εξαιρετικά υψηλή ποικιλότητα του εντερικού μικροβιώματος

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

❑ ΒΙΟΦΙΛΜ

- ❑ Προσαρμογή των προκαρυωτών που εμφανίστηκε νωρίς εξελικτικά – προσδίδει αντοχή σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες
- ❑ Σήμερα οι βιοκοινότητες που σχηματίζουν βιοφίλμ είναι ευρέως διαδεδομένες σε πολλά φυσικά περιβάλλοντα
- ❑ Δεδομένης της δομής και της λειτουργίας τους τα βιοφίλμ θεωρούνται **hot spots** για την οριζόντια μεταφορά γονιδίων
 - Υψηλή πληθυσμιακή πυκνότητα
 - Υψηλή εγγύτητα μεταξύ των κυττάρων
 - Μεταβολικά ενεργά κύτταρα στα βιοφίλμ
 - Προστασία των μικροοργανισμών από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες και άρπαγες
- ❑ Υψηλή αποτελεσματικότητα της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων στα βιοφίλμ και συνεισφορά των συζευκτικών πλασμιδίων στην ανάπτυξη, σταθεροποίηση και εξάπλωση των βιοφίλμ

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

❑ ΒΙΟΦΙΛΜ

- ❑ Τα βιοφίλμ μπορούν να επεκτείνουν το εύρος των ξενιστών των μεταθετών γενετικών στοιχείων που μεταφέρονται οριζόντια
- ❑ Τα πλασμίδια από την άλλη πλευρά, είναι κατάλληλα να προωθήσουν την εξέλιξη κοινωνικών χαρακτηριστικών όπως ο σχηματισμός βιοφίλμ => τα πλασμίδια αντιγράφονται αυτόνομα γεγονός που ενισχύει την προσωπική τους επιτυχία προωθώντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βακτηρίων
- ❑ Φέρουν συνήθως γονίδια που αυξάνουν άμεσα την προσαρμοστική ικανότητα του ξενιστή τους
- ❑ «**Mafia traits**» που κωδικοποιούνται στα μεταθετά γενετικά στοιχεία βοηθούν τα βακτήρια να διατηρήσουν σταθερές κοινωνικές αλληλεπιδράσεις

Π.χ. Το πλασμίδιο ColE1 κωδικοποιεί την colicin που σκοτώνει τα γειτονικά *E. coli* κύτταρα αν δεν περιέχουν το πλασμίδιο ColE1

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΒΙΟΦΙΛΜ

- Η παρουσία προφάγων στο γονιδίωμα του ξενιστή φαίνεται να ασκεί ρυθμιστική επίδραση στο σχηματισμό του βιοφίλμ και στην ανθεκτικότητα του σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά και στη φυσιολογία του ξενιστή συμπεριλαμβανομένου του κεντρικού μεταβολισμού
- Ορισμένες πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από προφάγους είναι απαραίτητες για τον σχηματισμό των βιοφίλμ
- Το υπόστρωμα του βιοφίλμ αποτελείται από μια μάζα πολυμερών, συνήθως εξωκυτταρικό DNA, πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες => λύση μιας μερίδας του μικροβιώματος προκαλούμενη από φάγους, θα παρέχει εξωκυτταρικό DNA, συνεισφέροντας στον σχηματισμό του βιοφίλμ και στη διατήρηση του από τους εναπομείναντες βακτηριακούς πληθυσμούς
- Άμεση ενσωμάτωση σωματιδίων των βακτηριοφάγων στο εξωκυτταρικό πολυμερές υπόστρωμα των βιοφίλμ

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε φυσικά οικοσυστήματα

□ ΒΙΟΦΙΛΜ

- Είναι αυξημένες οι πιθανότητες μετασχηματισμού μεταξύ των βακτηρίων του βιοφίλμ;
- Συμμετέχει το εξωκυτταρικό DNA του εξωκυτταρικού υποστρώματος που περιβάλλει το βιοφίλμ στο φυσικό μετασχηματισμό των βακτηρίων του βιοφίλμ;

- Υπάρχει πιθανότητα μεταφοράς DNA στα βιοφίλμ – ωστόσο ο μηχανισμός περίπλοκος
- Περιγράφεται ως “cell-to-cell μετασχηματισμός” και έχει βρεθεί να συντελείται με τη μεσολάβηση χημικών μοριακών σημάτων όπως οι *N*-acyl-l-homoserine lactones



Παράγοντες που επηρεάζουν την οριζόντια μεταφορά γονιδίων

❑ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ SOS

- ❑ Ποικίλες συνθήκες στρες συνεισφέρουν στην αύξηση των ρυθμών οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων
- ❑ Για παράδειγμα η επίδραση της **UV ακτινοβολίας** ή της **αστίας** επηρεάζει την κινητικότητα των τρανσποζονίων και των ακολουθιών ένθεσης-αλληλουχιών παρεμβολής
- ❑ Η SOS αντίδραση επάγεται από παράγοντες που καταστρέφουν το DNA όπως οι **τοξίνες** (mitomycin C) και τα **αντιβιοτικά** και μπορεί να οδηγήσει σε έως και 300 φορές αύξηση των ρυθμών της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων => η χρήση αντιβιοτικών που επάγουν SOS αντιδράσεις μπορούν να προκαλέσουν **συνεπιλογή** άλλων γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που συνδέονται με κάποιο μεταθετό στοιχείο
- ❑ Η αντίδραση SOS ελέγχει τον ανασυνδυασμό στα ιντεργκρόνια αυξάνοντας την πιθανότητα αντικατάστασης των γονιδιακών κασετών και ενσωμάτωσης τους στα κύτταρα

Παράγοντες που επηρεάζουν την οριζόντια μεταφορά γονιδίων

❑ ΜΕΡΙΚΗ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΗ ΑΠΟ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

❑ Συγκεντρώσεις αντιβιοτικών που προκαλούν μερική παρεμπόδιση των μικροβίων μπορούν να αυξήσουν σημαντικά την συχνότητα της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων σε πολλούς τύπους μεταθετών γενετικών στοιχείων

→ π.χ. Μερικώς παρεμποδιστική συγκεντρώση β-λακτάμης οδήγησε σε αύξηση της οριζόντιας μεταφοράς πλασμιδίων με ανθεκτικότητα στην τετρακυκλίνη κατά 1000 φορές στο *Staphylococcus aureus*

Εμπόδια στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων μεταξύ βακτηρίων

- Ανάλογα με το είδος των βακτηρίων που συμμετέχουν ενεργά στην οριζόντια μεταφορά των γονιδίων ένας αριθμός διεργασιών μπορεί να παρεμποδίσουν την πρόσληψη και σταθεροποίηση των ξένων μορίων DNA στα βακτήρια
- **Αποκλεισμός μέσω επιφάνειας (Surface exclusion)**: φαίνεται να δημιουργεί ένα αποτελεσματικό εμπόδιο στη μεταφορά γονιδίων μέσω σύζευξης σε βακτηριακά κύτταρα που φέρουν τα απαραίτητα γονίδια για τη μεταφορά - αλλαγή της σύστασης της εξωτερικής επιφάνειας του κυττάρου και μείωση της δεκτικότητας του στο συζευτικό ινίδιο – απαντάται τόσο σε θετικά όσο και σε αρνητικά κατά Gram βακτήρια
- **Συστήματα περιορισμού**: DNA που αναγνωρίζεται ως ξένο μπορεί να σπάσει σε κομμάτια από τις ενδονουκλεάσες περιορισμού

Σημασία της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

□ Διασπορά γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

- Η διάχυση των γονιδίων που προσδίδουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά μεταξύ παθογόνων βακτηρίων του ανθρώπου και των ζώων αποτελεί παράδειγμα οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων σε παγκόσμια κλίμακα = είναι το πιο γνωστό παράδειγμα ταχύτατης προσαρμογής των πληθυσμών των βακτηρίων σε μια ισχυρή πίεση επιλογής
- Η προσαρμογή αυτή συμβαίνει όχι ως αποτέλεσμα μετάλλαξης των απειλούμενων πληθυσμών, αλλά μέσω διάχυσης απλών γονιδίων ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά με μεταθετά γενετικά στοιχεία
- Βάση για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά : μεταθετά γενετικά στοιχεία (π.χ. πλασμίδια, τρανσποζόνια) διασπείρουν αποτελεσματικά τα γονίδια της ανθεκτικότητας, μεμονωμένα ή σε συστοιχίες, μεταξύ πολλών γενών και ειδών βακτηρίων

Ο ρόλος της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων στη διασπορά γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

- Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην ιατρική και στην κτηνοτροφία ασκούν συνεχόμενη πίεση επιλογής για την ανάπτυξη ανθεκτικών σε αυτά πληθυσμών βακτηρίων

Παραδείγματα από την ανθρώπινη βιολογία και τη δημόσια υγεία

- Οι τετρακυκλίνες και οι λακτάμες που χορηγούνται συχνά στα ζώα ασκούν πίεση επιλογής για τη ανάπτυξη **ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά tetracycline και methicillin**
- Γονίδια που επιφέρουν ανθεκτικότητα σε αυτά τα αντιβιοτικά έχουν μεταφερθεί οριζόντια **σε παθογόνο για τον άνθρωπο στέλεχος του *Staphylococcus aureus***, προκαλώντας την ανθεκτικότητα του στο methicillin (στέλεχος CC398)
- Μετά την απόκτηση της ανθεκτικότητας ενός βακτηριακού στελέχους μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων, τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται και συνεχίζουν να εξελίσσονται καθώς μετακινούνται ανάμεσα στους ασθενείς και τα νοσοκομεία
- Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται σε πολλά είδη βακτηρίων, προκαλώντας διακριτούς πληθυσμούς ποικίλων στελεχών

Παραδείγματα από την κλινική ιατρική

- Οριζόντια μεταφορά γονιδίων – πρόβλημα για την κλινική επιτήρηση και θεραπεία
 - Οι πληθυσμοί των βακτηρίων εξελίσσονται ταχύτατα = ποικιλότητα που απαιτεί εξατομικευμένη παρακολούθηση για τον καθορισμό της αποτελεσματικής θεραπείας και την ανίχνευση νέων στελεχών όπως αυτά του *S.aureus* με ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά methicillin και vancomycin
 - Διαθεσιμότητα νέων φαρμάκων και διαγνωστικών εργαλείων: ανάγκη για συνεχής επιτήρηση για την εμφάνιση νέων ανθεκτικών παθογόνων λόγω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων
- => «αγώνας δρόμου» με την εξέλιξη

Σημασία της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

- ❑ **Διάχυση γονιδίων που συμμετέχουν στον καταβολισμό ξενοβιοτικών ουσιών - περιβαλλοντικών ρυπαντών**
- ❑ Η πίεση της επιλογής είναι παρόμοια με αυτή στην περίπτωση ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά – ΩΣΤΟΣΟ η διαδικασία της αποικοδόμησης ξενοβιοτικών ουσιών προϋποθέτει τη **συμμετοχή σύνθετων γενετικών συστημάτων**, συνήθως οπερόνια με 10 ή και περισσότερα γονίδια
- ❑ **Παράδειγμα:** το συζευτικό πλασμίδιο pNL1 του *Sphingomonas aromaticovorans* – περιέχει 15 συστοιχίες γονιδίων που σχετίζονται άμεσα με τον καταβολισμό των αρωματικών ενώσεων, επιτρέποντας στα βακτήρια ξενιστές του να αποικοδομούν ενώσεις όπως το διφαινύλιο, το ναφθαλένιο και το ξυλένιο
- ❑ Οι γενετικοί μηχανισμοί που ευθύνονται είναι πιθανόν οι ίδιοι με αυτούς που ευθύνονται για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά: πλασμίδια και τρανσποζόνια διασπείρουν καταβολικά οπερόνια σε εύρος βακτηρίων

Σημασία της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

- ❑ **Διασπορά παραγόντων καθοριστικών για την παθογένεση**
- ❑ Τα περισσότερα γονίδια παθογένεσης βρίσκονται στο βακτηριακό χρωμόσωμα, όπου απαντώνται ως διακριτές ομάδες γονιδίων γνωστές ως **νησίδες παθογένεσης**
- ❑ Ενσωματώνονται στο γονιδίωμα των παθογόνων οργανισμών και απουσιάζουν συνήθως από το γονιδίωμα των μη παθογόνων των ίδιων ή στενά συσχετιζόμενων ειδών
- ❑ Θεωρούνται μεταθετά γενετικά στοιχεία – οριζόντια μεταφορά

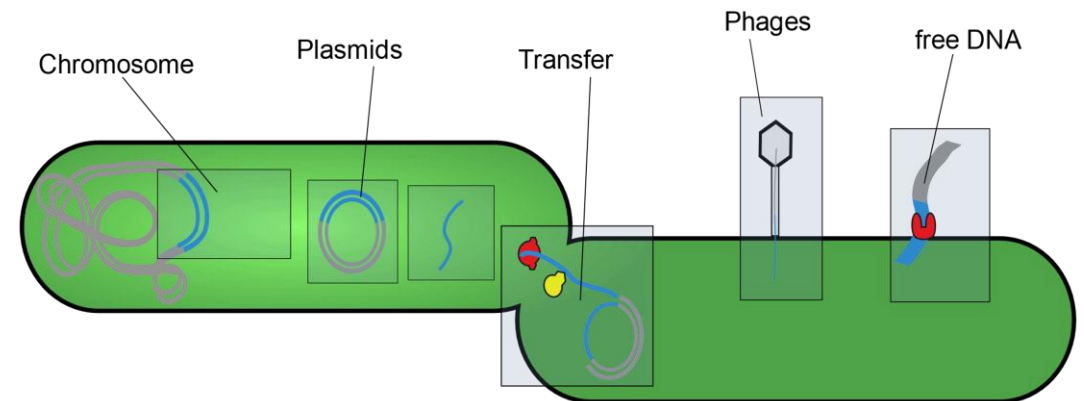
Σημασία της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

□ Διασπορά παραγόντων καθοριστικών για την παθογένεση

□ Νησίδες παθογένεσης

- Το μέγεθος τους κυμαίνεται μεταξύ 10-200 kb
- Κωδικοποιούν γονίδια που συνεισφέρουν στην επιδημικότητα του αντίστοιχου παθογόνου
- Τυπικά παραδείγματα επιδημικών παραγόντων που κωδικοποιούν αποτελούν διάφοροι παράγοντες προσκόλλησης, τοξίνες, παράγοντες αποικισμού και συστήματα απέκκρισης

- Μεταφέρονται με μηχανισμούς της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων: μεταφορά με πλασμίδιο, βακτηριοφάγο, συζευτικό τρανσποζόνιο



Οριζόντια μεταφορά γονιδίων στους ευκαρυώτες

- ❑ Οι ευκαρυώτες θεωρείται ότι προήλθαν εξελικτικά από τους προκαρυώτες
- ❑ Στην πραγματικότητα μαζική οριζόντια μεταφορά γονιδίων από ενδοσυμβιωτικά βακτήρια (συμπεριλαμβανομένων των προγόνων των χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων) στον πυρήνα αποτελούν τη βάση της θεωρίας της προέλευσης των ευκαρυωτικών οργανισμών
- ❑ Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί μπορούν να χρησιμοποιήσουν ως μεταθετά γενετικά στοιχεία τους ιούς και τα βακτήρια
 - Από τη δεκαετία του '70 ήταν γνωστό ότι το ένζυμο τρυψίνη του βακτηρίου *S. griseus* μοιάζει περισσότερο στην τρυψίνη των βοοειδών παρά σε άλλες βακτηριακές τρυψίνες
 - Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε ότι τουλάχιστον 100 γονίδια εμφανίστηκαν στον άνθρωπο μέσω οριζόντιας μεταφοράς από βακτήρια
 - Αντίστοιχα 8 γονίδια του *M. tuberculosis* έχουν προέλθει από τον άνθρωπο

Οριζόντια μεταφορά γονιδίων στους ευκαρυώτες

- ❑ Υπάρχουν ακόμα και σήμερα παραδείγματα σύζευξης μεταξύ βακτηρίων και ευκαρυωτικών οργανισμών
- **Υπό εργαστηριακές συνθήκες:** Μεταφορά σε ζύμες, νηματοειδείς μύκητες και φυτά
- **Στο φυσικό περιβάλλον:** μεταφορά T-DNA σε φυτά
- ❑ Ενδοκυτταρικά και εξωκυτταρικά παθογόνα βακτήρια μπορούν να μεταφέρουν DNA στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων
- ❑ Οποιοδήποτε εξωγενές κυτοπλασματικό DNA συλέγεται από τον πυρήνα και ενσωματώνεται στα χρωμοσώματα με μη ομόλογο ανασυνδιασμό
- ❑ Βακτηριακό και ιϊκό DNA ενσωματώνεται σταθερά στα χρωμοσώματα των φυτών και των ζώων με τους γνωστούς γενετικούς μηχανισμούς: σύζευξη, μεταγωγή (ρετροϊοί αντίστοιχία με βακτηριοφάγους) και μετασχηματισμός

Επίλογος-From Tree of Life to Web of Life

- ❑ Η οριζόντια μεταφορά γονιδίων περιπλέκει τις σχέσεις μεταξύ των ειδών καθώς και την κατασκευή ενός φυλογενετικού δέντρου όπου όλα τα είδη προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο
- ❑ Τα γονίδια σε ένα γονιδίωμα μπορεί να έχουν διαφορετικές εξελικτικές ιστορίες, καθώς ακόμη και μια σπάνια γονιδιακή μεταφορά μπορεί να προκαλέσει διαφορετικές μοριακές γενεαλογικές σχέσεις

