

The background of the slide features a dark gray field with a faint, light gray pattern. This pattern consists of a series of concentric, slightly irregular circles or spirals that emanate from a point on the left side, overlaid with a grid of thin, intersecting lines.

Charakterisierung des mobilen Genpools von Bakterienisolaten der ISS: Resistenztransfer zwischen pathogenen Bakterien im Biofilm

Elisabeth Grohmann
Umweltmikrobiologie/Genetik
Technische Universität Berlin

Mobile genetische Elemente

Definition:

bewegliche DNA-Moleküle, nicht essentiell für das Überleben der Wirtszelle, liefern zusätzliche Informationen zur Adaption der Zelle an veränderte Umweltbedingungen, können sich selbst oder mit Hilfe von Zusatzfaktoren intra- oder interzellulär bewegen/übertragen

Bedeutung:

- Evolution
- Adaption
- Virulenz
- Antibiotikaresistenzen
- Biodegradation
- Syntheseleistungen

Bedeutung von mobilen genetischen Elementen

im klinischen Bereich und in der Umwelt

Antibiotikaresistenzen

Virulenzfaktoren (Toxine, Adhäsine)

UV-Resistenz

Biofilmproduktion

Mobile genetische Elemente

Größe: 10^2 bis 10^6 Basenpaare (bp)

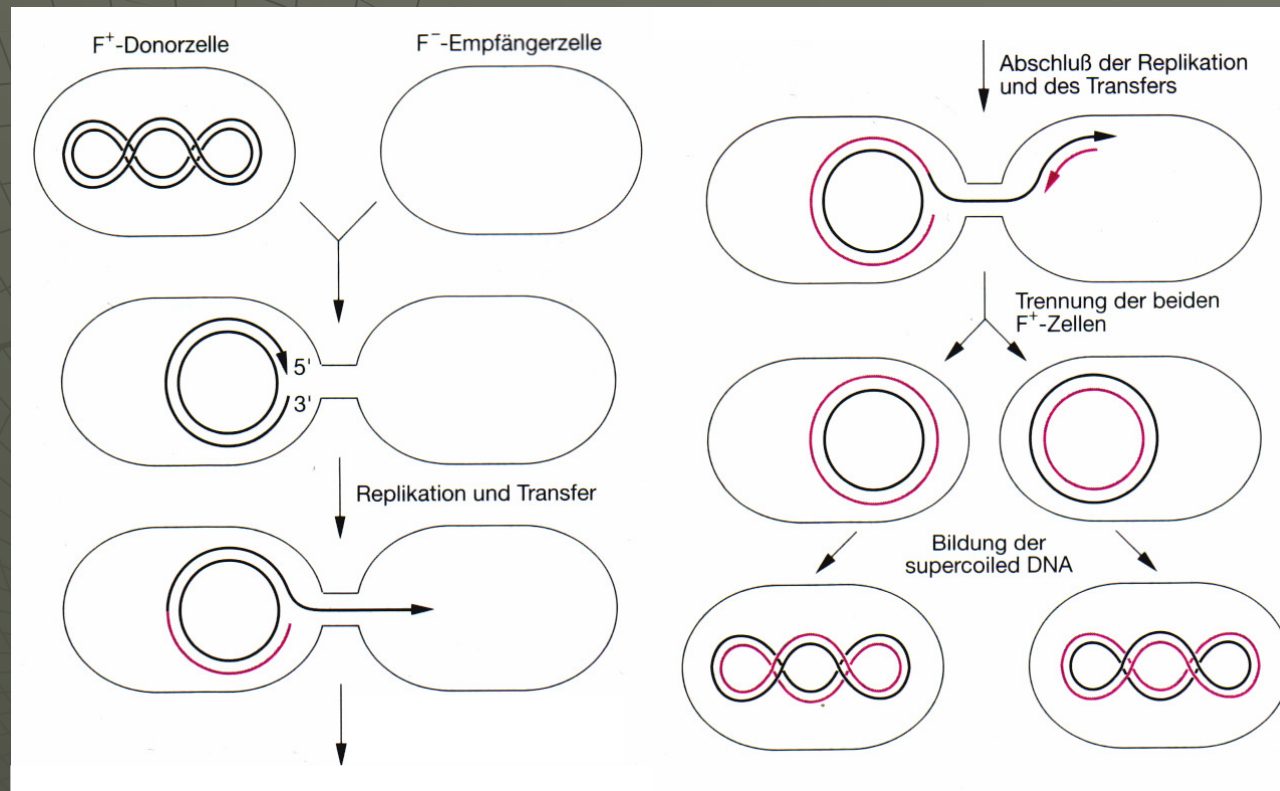
genetische Elemente:

- Plasmide
- (konjugative) Transposons
- Insertionssequenzen
- Integrons
- transponierbare Bakteriophagen
- Mobile Introns
- Shufflons
- Integrative Plasmide
- Pathogenitätsinseln

Mechanismen zur Verbreitung von mobilen genetischen Elementen

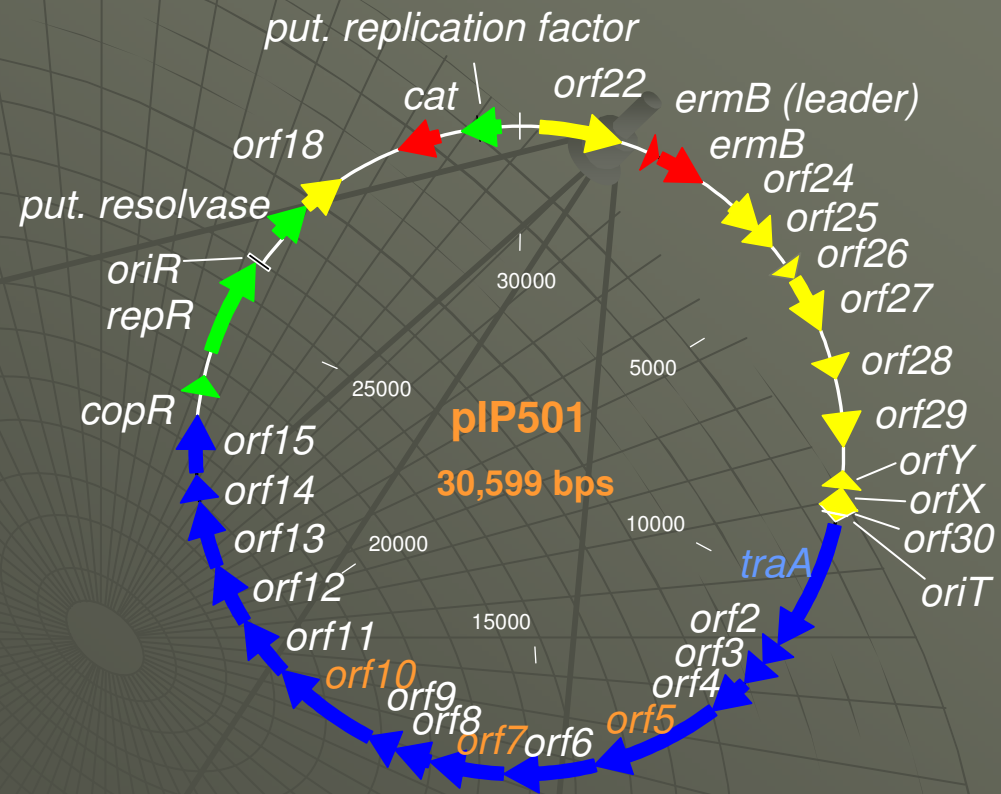
- 1) Bakterielle Konjugation
- 2) Transposition
- 3) Transformation
- 4) Transduktion

Bakterielle Konjugation



Hennig, 1998

Broad-host-range Plasmid pIP501





Molekulare Tools zum Monitoring des konjugativen Plasmidtransfers in Gram-positiven Bakterien

Die Bakterienisolate für die konjugativen Plasmidtransferstudien stammen von

- CONCORDIA Station
- ISS Station

Kreuzungen mit ISS Stämmen als Donoren

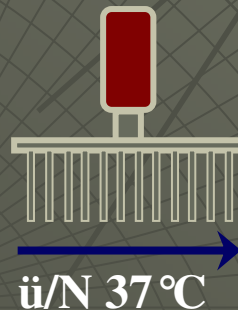
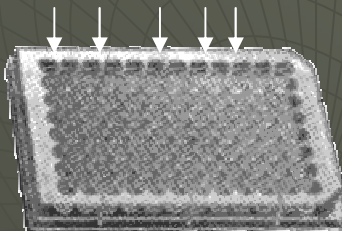
Triparentale Matings

Donor 1: ISS Stamm

Donor 2: *E. faecalis* mit mobilisierbarem Plasmid
(pMSPA-GFP) und pMSPVA-RFP

Rezipient: *S. pneumoniae* AB^R

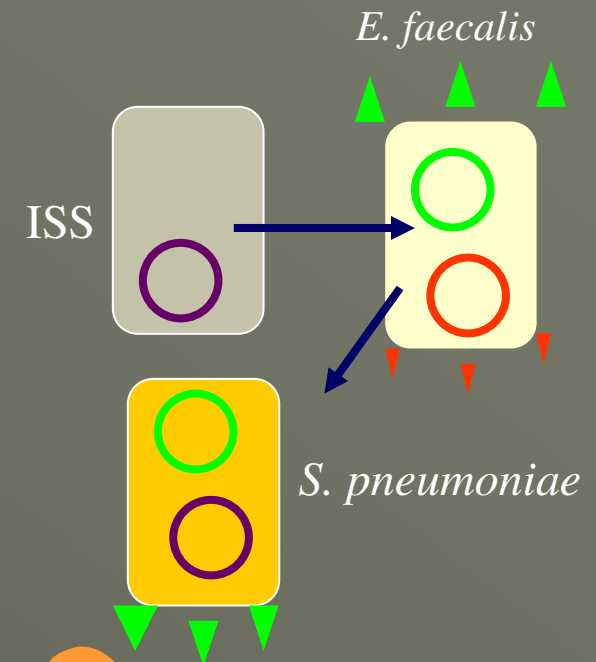
Matings



Selektive
Antibiotika

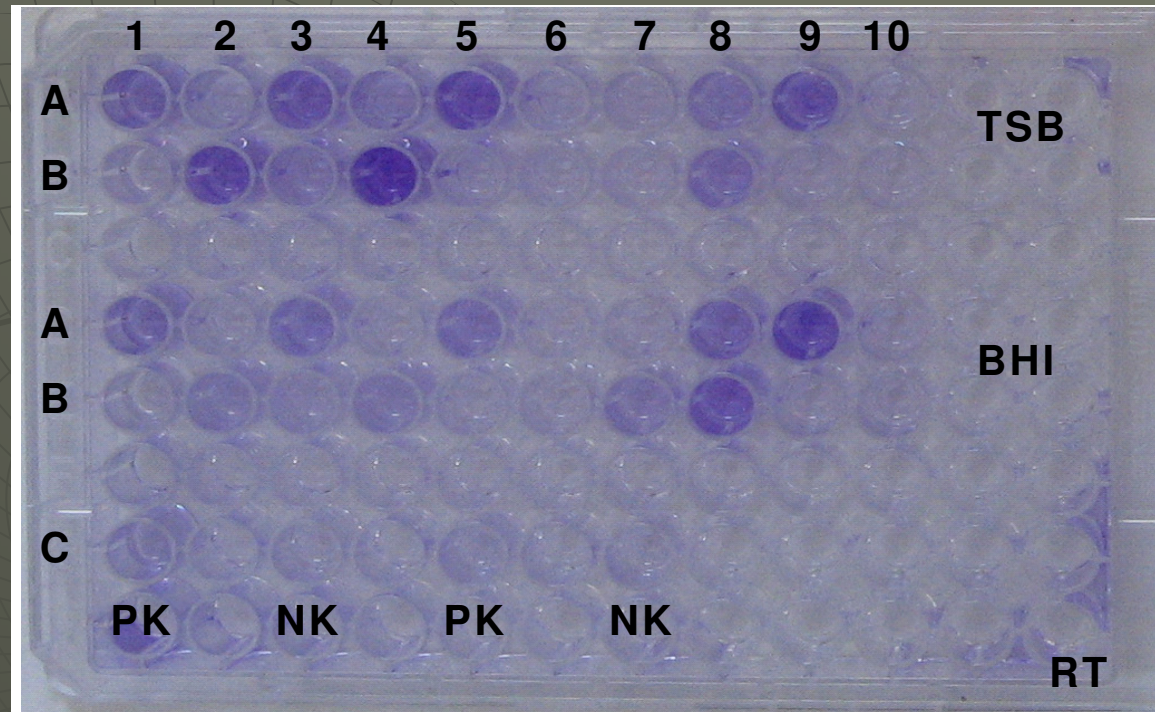
S. pneumoniae Transkonjugant mit mobilisierbarem
Plasmid und konjugativem Plasmid

Plasmid DNA Isolierung



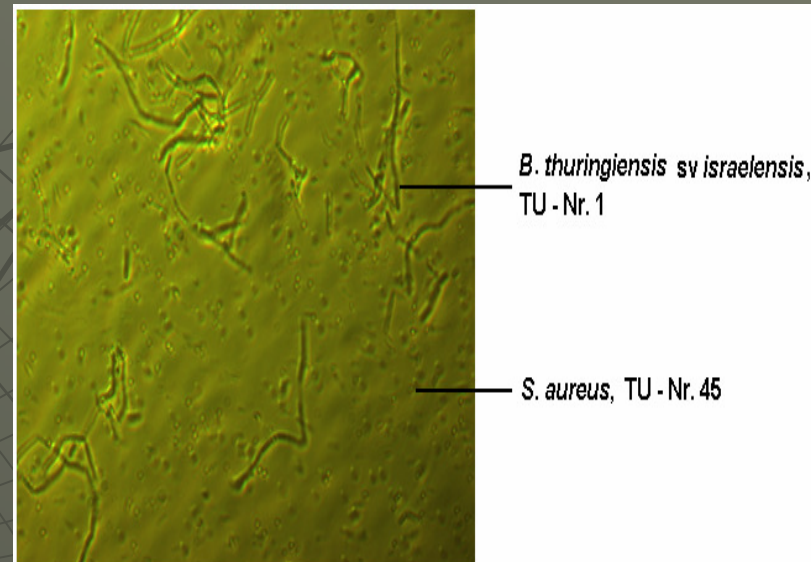
Mobilisierung

Biofilm Screening von ISS und CONCORDIA Isolaten



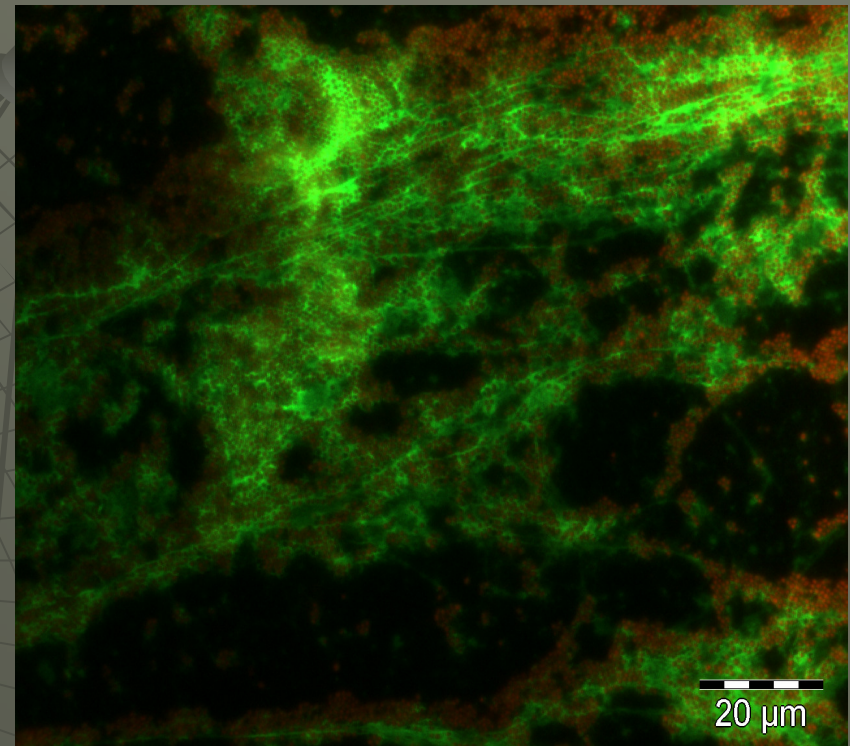
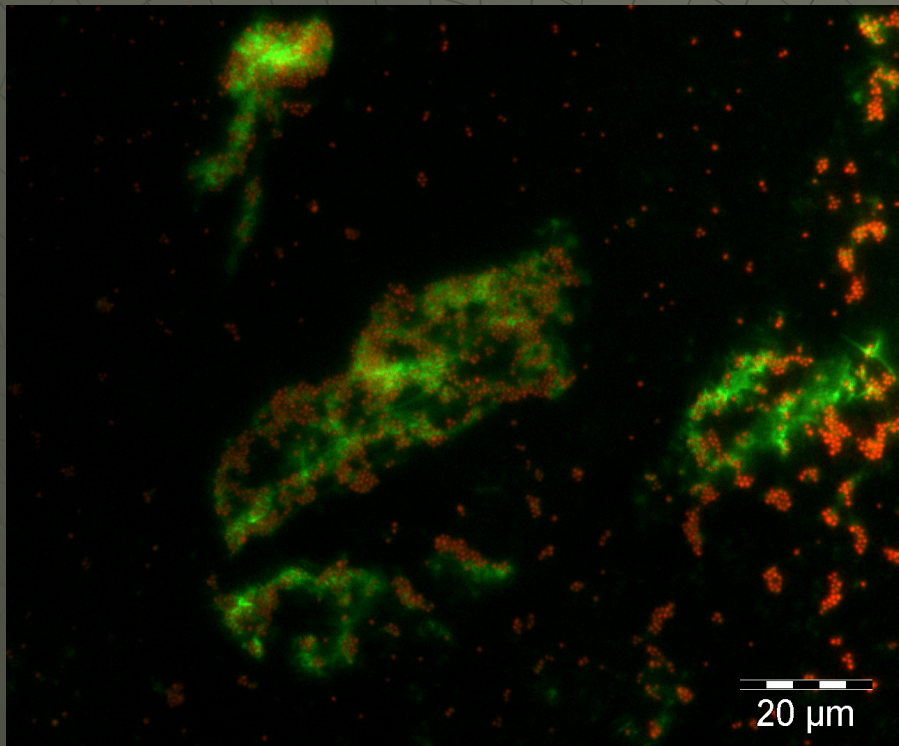
Medium in MT Platten mit Bakterienstamm über Nacht inkubiert, wells mit Puffer gespült. Anhaftende Bakterien (Biofilm) werden mit Kristallviolett gefärbt. OD_{570} wird im ELISA Reader gemessen. Positive Kontrolle: *Sinorhizobium* Spezies

Zwei Spezies Biofilm aus CONCORDIA Isolaten



**Biofilm Bildung: 8 Tage Wachstum in
up flow Biofilmreaktor (Länge: 13,8
cm, Innen Ø: 4,4 cm, Glasperlen: 3 mm
Ø) in BHI Medium bei
Raumtemperatur**

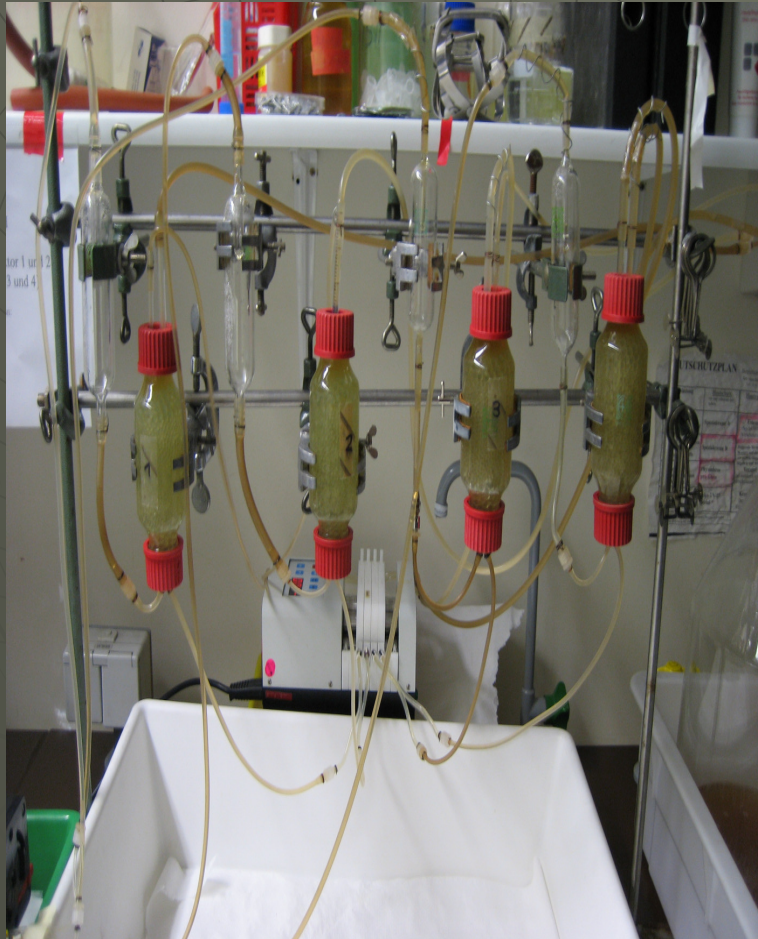
Nachweis der Biofilmbildung durch Lektinfärbung und Fluoreszenzmikroskopie



Arends *et al.* (in
preparation)

Triparentale Matings in Festbett Biofilmreaktoren

Kurzzeit Experimente



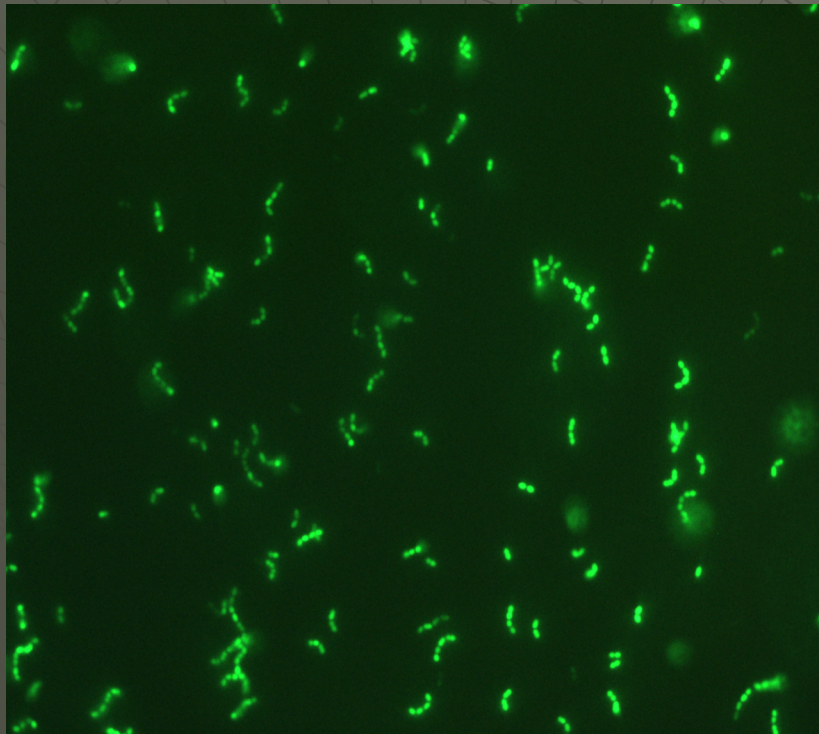
- Donor 1:
Biofilm aus ISS Stämmen mit
konjugativen Plasmiden
- Donor 2: Gram-positives Bakterium mit
mobilisierbarem Plasmid
(pMSPA-GFP, pMSPVA-RFP)
- Rezipient: *S. pneumoniae* AB^R



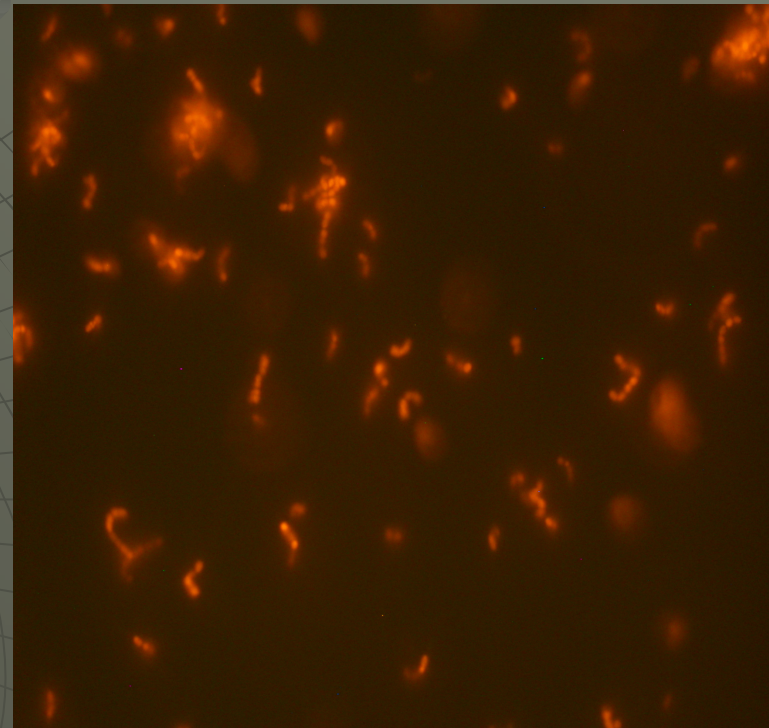
S. pneumoniae Transkonjuganten (pMSPA-GFP, konjugatives
ISS Plasmid)

Detektion der Transkonjuganten und Donoren durch Fluoreszenzmikroskopie

E. faecalis Transkonjuganten



RFP-markierte Plasmiddonoren



Triparentale Matings in Festbett Biofilmreaktoren

Langzeit Experimente

- **Mating Partner wie in Kurzzeit Experimenten**
- **Zwei und Multispezies Biofilme aus ISS/CONCORDIA Isolaten**
- **Trägermaterial zur Biofilmbildung:
Kunststoffmaterialien, Glasperlen**

- ➔ **Langzeit Plasmidtransfer Monitoring**
- ➔ **Abschätzung der Plasmidtransfer Frequenzen (Resistenz/
Virulenzfaktoren) unter naturnahen Bedingungen**

Genetik TU Berlin Kooperationspartner

Karsten Arends

Katarzyna Schiwon

Sandra Hahn

Anja Will

Katrin Prescha

Christine Bohn

UCL Louvain-la-Neuve:

Jacques Mahillon

ULB Brüssel:

Ariane Toussaint

Raphael LePlae

Laurence van Melderren

Drittmittel:

DLR

ESA

SCK-CEN Mol:

Max Mergeay

Rob Van Houdt