

Biología y evolución de plásmidos bacterianos

Álvaro San Millán



Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal,
Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria. 28034, Madrid.



Figura 1. Miembros del PBE lab.
De izquierda a derecha: Jon Sicilia,
Jerónimo Rodríguez, Carmen de la Vega,
Cristina Herencias, Álvaro San Millán, Aida
Alonso, Ricardo León, Javier de la Fuente y
Laura Toribio.

El grupo *Plasmid Biology and Evolution* (PBE lab, www.pbelab.es) nació en enero de 2016 y desde entonces ha crecido de forma sostenida hasta alcanzar su composición actual (Figura 1). El PBE lab pertenece al Área de Microbiología, Inmunología e Infección del Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, en el Hospital Universitario Ramón y Cajal (Madrid). En el PBE lab, nuestro principal interés es el estudio de las dinámicas evolutivas de los plásmidos en las poblaciones bacterianas. Los plásmidos son elementos genéticos que replican independientemente del cromosoma y que son capaces de transferir información genética horizontalmente entre bacterias en un proceso conocido como conjugación. De este modo, los plásmidos juegan un papel clave en la evolución y ecología bacteriana porque permiten a las bacterias acceder a nuevos caracteres adaptativos. El ejemplo más ilustrativo de la capacidad de los plásmidos para potenciar la evolución

bacteriana es el papel clave que han jugado en la diseminación de mecanismos de resistencia a antibióticos. Este fenómeno ha contribuido de manera estratégica al desarrollo de la crisis global de resistencia antibiótica que afrontamos actualmente (MacLean and San Millan, 2019).

En nuestro grupo desarrollamos principalmente dos grandes líneas de investigación:

EVOLUCIÓN EN TIEMPO REAL DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN EL HOSPITAL

Los plásmidos conjugativos juegan un papel esencial en la diseminación de la resistencia a antibióticos en escenarios de relevancia clínica (San Millan, 2018). Uno de los factores principales que comprometen el éxito de la diseminación de los plásmidos con-

jugativos es el coste biológico que imponen en sus hospedadores bacterianos, lo que se traduce en una disminución de la capacidad reproductiva de las bacterias portadoras del plásmido (San Millan and MacLean, 2017). El origen de estos costes, y de la evolución compensatoria responsable de mitigarlos, continúan siendo en gran parte desconocidos. Estas dinámicas evolutivas son extremadamente relevantes, porque van a ser al menos parcialmente responsables de la aparición de las asociaciones bacteria-plásmido exitosas que se diseminan incontroladamente en los hospitales (San Millan, 2018).

En nuestro grupo intentamos comprender cuales son las bases genéticas y evolutivas que determinan el establecimiento de estas asociaciones exitosas en el hospital. Para ello, y gracias a la colaboración con los excelentes microbiólogos clínicos del hospital, estudiamos la evolución de cepas de enterobacte-

rias portadoras de plásmidos de resistencia a antibióticos aisladas de la microbiota intestinal de pacientes hospitalizados (Figura 2). Combinamos técnicas de genómica, transcriptómica, edición genética con tecnología CRISPR, cribados CRISPRi y citometría de flujo con modelización matemática para caracterizar la epidemiología y evolución las bacterias portadoras de plásmidos de resistencia a antibióticos (DelaFuente *et al.*, 2020; San Millan *et al.*, 2014b; San Millan *et al.*, 2018; San Millan *et al.*, 2015). Nuestros resultados ayudan a predecir, y potencialmente contener, las diseminación de asociaciones bacteria-plásmido de interés clínico en nuestro hospital.

PAPEL DE LOS PLÁSMIDOS MULTICOPIA EN LA EVOLUCIÓN BACTERIANA

Los plásmidos se pueden dividir de manera general entre aquellos de gran tamaño y bajo número de copias y los de pequeño tamaño y alto número de copias. Aunque el límite de tamaño varía entre familias bacterianas, esta distribución bimodal de tamaños y copias se mantiene constante a través de la filogenia (San Millan *et al.*, 2014a; Smillie *et al.*, 2010). Los plásmidos conjugativos de gran tamaño juegan un papel decisivo en la diseminación de la resistencia a antibióticos y por lo tanto se han estudiado exhaustivamente durante las últimas décadas. Los plásmidos pequeños multicopia son extremadamente comunes en los procariontes, pero su papel en la biología y evolución bacteriana se ha estudiado en menor medida.

En nuestro laboratorio investigamos las posibles ventajas evolutivas asociadas a los plásmidos multicopia. Una de las características más destacadas de estos plásmidos es el hecho de que representan una isla de poliploidía en el genoma haploide de la mayoría de las bacterias. En estudios recientes, hemos demostrado que la poliploidía provista por estos plásmidos tiene al menos dos consecuencias importantes: (i) acelerar la evolución de los genes que codifican (San Millan *et al.*, 2016) y (ii) mantener la diversidad alélica de los mismos en las bacterias hospedadoras (Rodríguez-Beltrán *et al.*, 2018) (Figura 3).

En resumen, en nuestro grupo intentamos comprender la biología de poblaciones de los plásmidos de resistencia a antibióticos com-

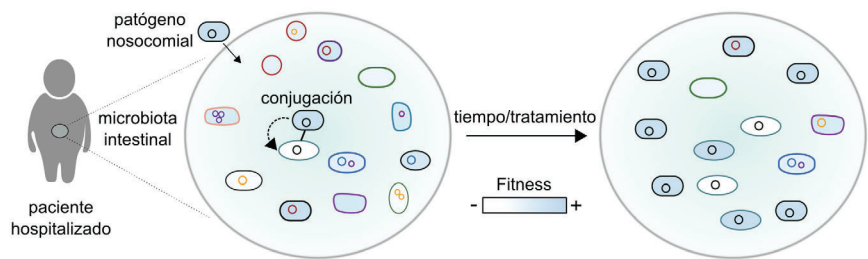


Figura 2. Evolución de la resistencia a antibióticos mediada por plásmidos. Modificada de (San Millan, 2018). Dinámicas evolutivas de asociaciones bacteria-plásmido en la microbiota intestinal de un paciente hospitalizado. Un patógeno nosocomial portador de un plásmido de resistencia a antibióticos coloniza la microbiota intestinal y transfiere el plásmido a bacterias residentes en esta microbiota. El plásmido puede producir un coste biológico (i.e. reducción de *fitness*). Legenda: blanco, *fitness* bajo; azul, *fitness* alto), pero es seleccionado por un tratamiento con antibióticos. Con el tiempo, este coste desaparece gracias a mutaciones compensatorias.

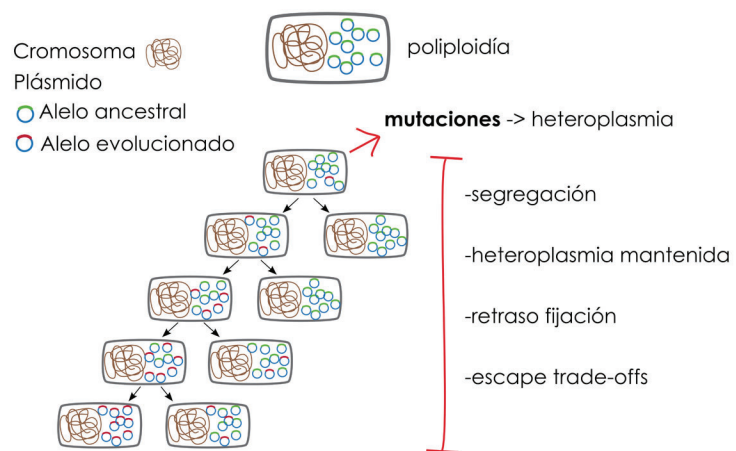


Figura 3. Dinámicas evolutivas de los plásmidos multicopia.

binando técnicas avanzadas de biología molecular y biología evolutiva. Nuestro objetivo último es aplicar los conceptos que aprendemos del estudio de la evolución de la resistencia antibióticos mediada por plásmidos al desarrollo de estrategias más racionales de control de las enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS

- DelaFuente, J., Rodríguez-Beltrán, J., San Millan, A.**, 2020. Methods to Study Fitness and Compensatory Adaptation in Plasmid-Carrying Bacteria. *Methods Mol Biol* 2075, 371-382.
- MacLean, R.C., San Millan, A.**, 2019. The evolution of antibiotic resistance. *Science* 365, 1082-1083.
- Rodríguez-Beltrán, J., Hernández-Beltrán, J.C.R., DelaFuente, J., Escudero, J.A., Fuentes-Hernández, A., MacLean, R.C., Peña-Miller, R., San Millan, A.**, 2018. Multicopy plasmids allow bacteria to escape from fitness trade-offs during evolutionary innovation. *Nat Ecol Evol* 2, 873-881.
- San Millan, A.**, 2018. Evolution of Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in the Clinical Context. *Trends Microbiol* 26, 978-985.
- San Millan, A., Escudero, J.A., Gifford, D.R., Mazel, D., MacLean, R.C.**, 2016. Multicopy plasmids potentiate the evolution of antibiotic resistance in bacteria. *Nature Ecology & Evolution* 1, 0010.
- San Millan, A., Heilbron, K., MacLean, R.C.**, 2014a. Positive epistasis between co-infecting plasmids promotes plasmid survival in bacterial populations. *ISME J* 8, 601-612.
- San Millan, A., MacLean, R.C.**, 2017. Fitness Costs of Plasmids: a Limit to Plasmid Transmission. *Microbiology Spectrum* 5.
- San Millan, A., Peña-Miller, R., Toll-Riera, M., Halbert, Z.V., McLean, A.R., Cooper, B.S., MacLean, R.C.**, 2014b. Positive selection and compensatory adaptation interact to stabilize non-transmissible plasmids. *Nat Commun* 5, 5208.
- San Millan, A., Toll-Riera, M., Qi, Q., Betts, A., Hopkinson, R.J., McCullagh, J., MacLean, R.C.**, 2018. Integrative analysis of fitness and metabolic effects of plasmids in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *ISME J* 12, 3014-3024.
- San Millan, A., Toll-Riera, M., Qi, Q., MacLean, R.C.**, 2015. Interactions between horizontally acquired genes create a fitness cost in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat Commun* 6, 6845.
- Smillie, C., Garcillán-Barcia, M.P., Francia, M.V., Rocha, E.P., de la Cruz, F.**, 2010. Mobility of plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev* 74, 434-452.