

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI  
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ

# TEZĂ DE DOCTORAT

## Rezumat

Conducător științific:

Prof. Dr. Horia-Leonard BANCIU

Doctorand:

Dumitrana-Daniela IORDACHE

**Cluj-Napoca,**

**2024**

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI  
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ

**Caracterizarea și impactul evolutiv al sistemelor CRISPR-  
Cas în bacteriile patogene de relevanță clinică**

**Rezumat**

Conducător științific:

Prof. Dr. Horia-Leonard BANCIU

Doctorand:

Dumitrana-Daniela IORDACHE

**Cluj-Napoca,**

**2024**

# Cuprins

|  |    |
|--|----|
| SCHIȚA TEZEI .....   | 4  |
| CAPITOLUL I.....   | 6  |
| Sistemul CRISPR-Cas: Puternicul modulator al genomurilor accesorii în procariote .....   | 6  |
| I.1. Introducere .....   | 6  |
| I.2. Structura sistemului CRISPR-Cas .....   | 7  |
| I.3. Proteinele Cas .....  | 9  |
| I.4. Clasificarea sistemelor CRISPR-Cas .....  | 10 |
| I.5. Mecanismul imunității adaptative CRISPR-Cas.....  | 12 |
| I.6. Originea și evoluția sistemului CRISPR-Cas .....  | 15 |
| I.7. Rolul sistemului CRISPR-Cas transferul orizontal de gene (HGT) .....  | 17 |
| I.7.1. Medierea HGT de către CRISPR-Cas .....  | 17 |
| I.7.2. HGT al sistemului CRISPR-Cas .....  | 19 |
| I.8. CRISPR-Cas și reglarea expresiei genelor de virulență în bacterii .....   | 20 |
| I.9. Apărarea anti-CRISPR.....   | 22 |
| I.10. Aplicații biotehnologice ale sistemelor CRISPR-Cas.....  | 23 |
| I.11. Concluzii.....   | 26 |
| REFERINȚE .....  | 26 |
| CAPITOLUL II.....  | 45 |
| Diversitatea și distribuția sistemelor CRISPR-Cas în <i>Enterobacteriaceae</i> : implicații pentru evoluție și epidemiologie ..... | 45 |
| II.1. Introducere .....  | 45 |
| II.2. Materiale și metode.....   | 47 |
| II.2.1. Colectarea datelor.....  | 47 |
| II.2.2. Analiza locilor CRISPR.....  | 48 |

|   |    |
|---|----|
| II.2.3. Designul amorselor PCR .....  | 48 |
| II.2.4. Validarea experimentală a amorselor PCR.....  | 49 |
| II.2.5. Analiza statistică .....  | 49 |
| II.3. Rezultate .....   | 50 |
| II.3.1. Clasificarea locilor CRISPR în <i>S. enterica</i> , <i>K. pneumoniae</i> și <i>E. coli</i> .....      | 50 |
| II.3.2. Frecvența locilor CRISPR în genomurile enterobacteriene studiate.....                                 | 52 |
| II.3.3. Caracterizarea unităților de repeat/spacer.....   | 54 |
| II.3.4. Designul de amorse PCR pentru locii CRISPR .....  | 60 |
| II.3.5. Validarea experimentală a amorselor PCR.....  | 60 |
| II.4. Discuții.....   | 61 |
| II.5. Concluzii.....  | 63 |
| REFERINȚE.....  | 64 |
| CAPITOLUL III .....   | 70 |
| CRISPR-Cas și rezistența la antibiotice: o relație paradoxală în <i>E. coli</i> și <i>P. aeruginosa</i> ..... | 70 |
| III.1. Introducere .....  | 70 |
| III.2. Materiale și metode.....   | 72 |
| III.2.1. Selectarea genomurilor.....  | 72 |
| III.2.2. Analizarea genelor de rezistență la antibiotice (ARG) .....  | 73 |
| III.2.3. Analizarea secvențelor spacer din CRISPR.....  | 73 |
| III.3. Rezultate .....  | 75 |
| III.3.1. Arhitectura sistemelor CRISPR-Cas în <i>E. coli</i> și <i>P. aeruginosa</i> .....                    | 75 |
| III.3.2. Distribuția sistemelor CRISPR-Cas în <i>E. coli</i> și <i>P. aeruginosa</i> .....                    | 76 |
| III.3.3. Analiza secvențelor spacer .....   | 77 |
| III.3.4. Impactul sistemelor CRISPR-Cas asupra achiziției de ARG.....   | 79 |
| III.3.4.1. Variante de ARG în <i>E. coli</i> .....  | 81 |

|   |     |
|---|-----|
| III.3.4.2. Variante de ARG în <i>P. aeruginosa</i> .....        | 82  |
| III.4. Discuții .....   | 82  |
| III.5. Concluzii .....  | 85  |
| REFERINȚE .....   | 86  |
| CAPITOLUL IV .....  | 92  |
| Concluzii generale și noutatea rezultatelor .....               | 92  |
| IV.1. Concluzii generale .....                                  | 92  |
| IV.2. Noutatea rezultatelor .....                               | 93  |
| IV.3. Perspective .....   | 94  |
| ANEXE CAPITOLUL II .....  | 96  |
| ANEXE CAPITOLUL III .....                                       | 97  |
| LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ SUB FORMĂ DE CAPITOLE ..... | 109 |
| LISTA PUBLICAȚIILOR NEINCLUSE ÎN TEZĂ .....                     | 109 |
| PARTICIPAREA LA CONFERINȚE INTERNAȚIONALE .....                 | 110 |
| MULȚUMIRI .....   | 112 |

## SCHIȚA TEZEI

Sistemul CRISPR-Cas este un mecanism de apărare adaptativă, care se găsește în bacterii și archaea. Acesta cuprinde structura CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) și genele asociate CRISPR (Cas) și acționează ca un mecanism sofisticat care încorporează fragmente de ADN străin de la virusuri și elemente genetice mobile (MGE) în structura CRISPR, iar ulterior le utilizează pentru a recunoaște și distruge invadatorii care prezintă potrivire.

Obiectivul principal al acestei teze a fost caracterizarea și explorarea implicațiilor evolutive ale sistemului CRISPR-Cas în speciile procariote de relevanță clinică. Pentru a atinge acest obiectiv, au fost urmărite trei obiective specifice după cum urmează:

- Caracterizarea sistemelor CRISPR-Cas în câteva specii bacteriene patogene și designul amorselor PCR pentru locii CRISPR, facilitând detectarea lor în studii viitoare care vizează înțelegerea căilor evolutive ale sistemelor CRISPR-Cas, monitorizarea diseminării agenților patogeni bacterieni și, potențial, permițând dezvoltarea unor metode rapide de diagnostic.
- Investigarea corelațiilor dintre caracteristicile structurii CRISPR (de exemplu, secvențele repetitive, numărul de secvențe *spacer*) și originea geografică sau sursa de colectare a izolatelor bacteriene.
- Examinarea influenței diferitelor tipuri de sistem CRISPR-Cas asupra achiziției de gene de rezistență la antibiotice (ARG) în bacterii relevante clinic.

**Capitolul I** reprezintă un *review* al descoperirilor recente privind structura, ecologia și evoluția sistemelor CRISPR-Cas, subliniind rolul lor în modularea genomurilor accesorii, care reprezintă partea variabilă a genomului unei specii și care include adesea gene dobândite prin transfer orizontal de gene, și impactul asupra evoluției și fiziologiei procariotelor.

**Capitolul II** a avut ca scop investigarea relației dintre caracteristicile locilor CRISPR din enterobacterii, originea geografică a bacteriilor și sursa de colectare, putând oferind perspective asupra evoluției și răspândirii sistemelor CRISPR-Cas. Au fost dezvoltate amorse PCR foarte eficiente pentru fiecare locus, permițând amplificarea și analiza țintită a locilor CRISPR din diverse populații bacteriene pentru a facilita cercetările viitoare.

În **Capitolul III** a fost explorat impactul sistemelor CRISPR-Cas de tip I-E și I-F asupra achiziției de ARG în două bacterii patogene relevante clinic, *Escherichia coli* și *Pseudomonas*

*aeruginosa*. Ambele specii posedă genomuri care încorporează fie sisteme de tip I-E, fie I-F, cu proporții variabile și rareori coexistând în cadrul aceluiși genom. Această caracteristică prezintă o oportunitate valoroasă de a analiza funcționalitățile independente ale fiecărui sistem și modul în care mecanismele de reglare genetică ale bacteriilor le influențează în contextul achiziției de ARG.

În **Capitolul IV** sunt rezumate principalele constatări și concluzii ale acestei teze, oferind o imagine de ansamblu cuprinzătoare a contribuțiilor cercetării și subliniind potențialele căi pentru investigații viitoare.

În ansamblu, această teză de doctorat contribuie la o înțelegere mai profundă a rolului sistemului CRISPR-Cas în adaptarea și evoluția procariotelor, concentrându-se asupra impactului său asupra diversității genomice, distribuției geografice și rezistenței la antibiotice. Această cercetare facilitează detectarea acestor sisteme în studii viitoare prin caracterizarea sistemelor CRISPR-Cas în bacterii patogene și dezvoltarea de amorse PCR specifice. În plus, explorează corelațiile dintre caracteristicile structurii CRISPR și originea geografică, oferind perspective asupra evoluției și răspândirii acestui sistem imunitar adaptiv. Constatări noi evidențiază relația complexă dintre diferitele tipuri de sistem CRISPR-Cas și achiziția de gene de rezistență la antibiotice în bacterii relevante clinic. Această cercetare contribuie la fundamentul pentru investigații viitoare în dezvoltarea de strategii inovatoare bazate pe CRISPR pentru a combate rezistența la antibiotice.

# **Capitolul I: Sistemul CRISPR-Cas: Puternicul modulator al genomurilor accesorii în procariote**

Fiind expuse frecvent la invazia acizilor nucleici străini, bacteriile și archaea au dezvoltat un sistem de apărare adaptivă ingenios numit CRISPR-Cas. Sistemul este compus din structura CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats), împreună cu genele asociate CRISPR (Cas). Acest sistem constă dintr-un mecanism complex care integrează fragmente de acizi nucleici străini de la virusuri și elemente genetice mobile (MGE) în structura CRISPR. Segmentele inserate (secvențele *spacer*) sunt transcrise și apoi utilizate de proteinele Cas ca ARN ghid pentru recunoașterea și inactivarea țintelor. Diferite tipuri și familii de sisteme CRISPR-Cas constau în module distincte de adaptare și efectori cu traiectorii evolutive parțial independente. Originea modulelor efectoare și mecanismul de integrare/ștergere a secvențelor *spacer* este mult mai puțin clar. O revizuire a celor mai recente date privind structura, ecologia și evoluția sistemelor CRISPR-Cas și rolul lor în modularea genomurilor accesorii în procariote este propusă în acest articol. Impactul sistemului CRISPR-Cas asupra fiziologiei și ecologiei procariotelor, modularea evenimentelor de transfer orizontal de gene, este, de asemenea, discutat aici. Acest sistem a câștigat popularitate după ce a fost propus ca instrument pentru editarea embrionilor de plante și animale, în terapia cancerului, ca agent antimicrobian împotriva bacteriilor patogene și chiar în lupta împotriva virusurilor.

## **Capitolul II: Diversitatea și distribuția sistemelor CRISPR-Cas în *Enterobacteriaceae*: implicații pentru evoluție și epidemiologie**

Adăugarea succesivă a secvențelor a secvențelor *spacer* în structura CRISPR a făcut din acest sistem un marker molecular valoros, cu multiple aplicații. Datorită gradului ridicat de polimorfism al locilor CRISPR, compararea lor în bacterii din diverse surse poate oferi perspective asupra evoluției și răspândirii sistemelor CRISPR-Cas. Scopul acestui studiu a fost de a stabili o corelație între locii CRISPR din enterobacterii, secvența de repetiții directe (DR) și numărul de unități *spacer*, împreună cu originea geografică și sursa de colectare. În acest scop, un total de



4401 genomuri atribuite speciilor *Escherichia coli* (n=2133), *Salmonella enterica* (n=1297) și *Klebsiella pneumoniae* (n=971) (familia *Enterobacteriaceae*) au fost preluate din baza de date CRISPRCas++ (<https://crisprcas.i2bc.paris-saclay.fr/MainDb/StrainList>). Cel mai răspândit a fost sistemul CRISPR-Cas I-E în toate cele trei specii studiate. *E. coli* prezintă și tipul I-F, dar într-un procent mult mai mic. Sistemele găsite în *K. pneumoniae* pot fi clasificate în I-E și I-E\*. Sistemele I-E și I-F au doi loci CRISPR, în timp ce I-E\* are un singur locus în amonte de clusterul Cas.

În urma analizelor statistice, nu a fost evidentă o grupare distinctă, dar au existat relații semnificative statistic între diferitele locii CRISPR și numărul de unități *spacer*: pentru fiecare dintre speciile interogate, numărul de unități *spacer* a fost semnificativ diferit ( $p < 0.01$ ) în funcție de origine (Africa, Asia, Australia și Oceania, Europa, America de Nord și America de Sud), dar nu a fost legat de tipul sursei de izolare (tulpini umane, animale, vegetale, alimentare sau de laborator). Nu a fost găsită nicio asociere cu secvența DR, demonstrând că variantele CRISPR-Cas sunt vechi și foarte răspândite.

Nu în ultimul rând, au fost dezvoltate amorse PCR de înaltă eficiență pentru fiecare locus, valorificând regiunile conservate ale secvențelor care flanchează, identificate în timpul caracterizării CRISPR. Aceste amorse facilitează cercetările viitoare, permițând amplificarea și analiza țintită a acestor loci CRISPR în diverse populații bacteriene. Un subset al acestor amorse este deja utilizat în laboratorul nostru pentru a investiga sistemele CRISPR-Cas în bacterii din diverse medii, demonstrând valoarea lor practică.

### **Capitolul III: CRISPR-Cas și rezistența la antibiotice: o relație paradoxală în *E. coli* și *P. aeruginosa***

Acest studiu a avut ca scop investigarea impactului sistemelor CRISPR-Cas de tip I-E și I-F asupra achiziției de gene de rezistență la antibiotice (ARG) la *Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*, două bacterii patogene de relevanță clinică. Datele genomice din bazele de date disponibile public au fost analizate pentru prezența și tipul sistemelor CRISPR-Cas și ARG. Secvențele *spacer* au fost extrase, iar țintele lor au fost identificate folosind CRISPRTarget. Teste statistice au fost utilizate pentru a compara prevalența ARG între genomurile cu și fără sisteme CRISPR-Cas.

Tipurile de sistem CRISPR-Cas prevalente (I-E în *E. coli* și I-F în *P. aeruginosa*) nu au împiedicat achiziția de ARG. Surprinzător, genomurile *E. coli* cu sistemul I-E au prezentat o prevalență mai mare de ARG în comparație cu cele fără CRISPR-Cas ( $p < 0.00001$ ). Multe variante ARG au fost găsite exclusiv în genomuri care posedă tipul I-E CRISPR-Cas. În schimb, tipurile de sistem mai puțin comune (I-F în *E. coli* și I-E în *P. aeruginosa*) au fost asociate cu o prevalență redusă a ARG ( $p < 0.00001$  în *E. coli* și  $p = 0.0122$  în *P. aeruginosa*). Nu au fost găsite secvențe spacer care să vizeze direct ARG-uri sau componente ale integronului.

Sub presiunea selectivă a antibioticelor, sistemele CRISPR-Cas foarte active ar impune probabil un cost semnificativ în ceea ce privește supraviețuirea și capacitatea bacteriilor de a se reproduce, prin prevenirea achiziției de ARG, vizând MGE care le transportă. Aceste descoperiri contestă presupunerea că sistemele CRISPR-Cas împiedică în mod universal achiziția de ARG, evidențiind o interacțiune complexă care poate fi influențată de costurile de fitness și de presiunile selective alternative. Această cercetare contribuie la o înțelegere mai profundă a rolului complex al sistemelor CRISPR-Cas în evoluția bacteriană și și rezistența la antibiotice.

## Capitolul IV: Concluzii generale și noutatea rezultatelor

### IV.1. Concluzii generale

Această teză de doctorat a explorat rolul complex al sistemului CRISPR-Cas și implicațiile sale evolutive în speciile procariote relevante clinic. Printr-o combinație de analiză a literaturii, analiză bioinformatică și cercetare bazată pe ipoteze, am dezvăluit câteva concluzii cheie:

- Sistemele CRISPR-Cas modelează evoluția procariotelor prin imunitate adaptativă și modularea genomului: Articolul nostru cuprinzător de tip *review* subliniază rolul esențial al sistemului CRISPR-Cas în imunitatea procariotelor, evoluând constant ca răspuns la peisajul dinamic elementelor genetice mobile. Dincolo de rolul său în apărarea adaptativă, sistemele CRISPR-Cas influențează, de asemenea, transferul orizontal de gene, modelând achiziția atât a materialului genetic benefic, cât și a celui dăunător. Această interacțiune evidențiază complexitatea evoluției și adaptării bacteriene, sistemul CRISPR-Cas servind ca un modulator cheie al genomurilor procariote.

- Sistemele CRISPR-Cas sunt vechi, răspândite și diverse: Lucrarea noastră confirmă rădăcinile evolutive profunde ale imunității CRISPR-Cas. Distribuția largă a acestor sisteme și diversitatea tipurilor și subtipurilor evidențiază importanța lor în modelarea genomurilor procariote și a răspunsurilor adaptative.
- Mecanismul de bază este stabil, repertoriul de unități *spacer* este dinamic: În timp ce mecanismul de bază CRISPR-Cas (genele *cas* și secvența DR) prezintă o conservare remarcabilă între specii și în timp, repertoriul de unități *spacer* suferă o evoluție rapidă ca răspuns la provocările de mediu locale. Acest echilibru de stabilitate și adaptabilitate permite procariotelor să mențină o apărare eficientă împotriva amenințărilor diverse și în continuă schimbare
- Sistemele CRISPR-Cas influențează HGT printr-o interacțiune complexă de factori: În timp ce sistemele CRISPR-Cas nu vizează direct ARG sau componentele integronului, ele pot afecta indirect achiziția de ARG prin vizarea plasmidelor și fagilor care le transportă adesea. De asemenea, aceste plasmide pot conține profagi integrați, care pot fi vizați de sistemul CRISPR-Cas, ducând la eliminarea atât a profagului, cât și a plasmidei care transportă ARG. Cu toate acestea, lucrarea noastră sugerează că relația dintre CRISPR-Cas și HGT este complexă și dependentă de context, unele sisteme putând facilita achiziția de gene benefice în anumite condiții.
- CRISPR-Cas și rezistența la antibiotice: Sistemele CRISPR-Cas nu previn neapărat achiziția de ARG. De exemplu, tipurile de sistem CRISPR-Cas prevalente atât în *E. coli* (I-E), cât și în *P. aeruginosa* (I-F) nu au împiedicat achiziția de ARG și, în cazul *E. coli*, au fost chiar asociate cu o prevalență crescută a ARG. În schimb, tipurile CRISPR-Cas mai puțin răspândite în ambele specii au fost legate de o prezență redusă a ARG. Această relație paradoxală subliniază nevoia urgentă de cercetări suplimentare pentru a înțelege interacțiunea complexă dintre CRISPR-Cas, rezistența la antibiotice și alte presiuni selective.

În general, această teză demonstrează impactul semnificativ al sistemelor CRISPR-Cas asupra evoluției, ecologiei și fiziologiei procariotelor. Prin înțelegerea mecanismelor și dinamicii acestor sisteme, putem obține informații valoroase despre lupta continuă dintre bacterii și elementele genetice mobile și putem dezvolta instrumente și strategii inovatoare pentru a aborda provocările globale de sănătate, cum ar fi rezistența la antibiotice.

## IV.2. Noutatea rezultatelor

Această teză aduce câteva contribuții inovatoare în domeniul cercetării CRISPR-Cas și bacteriene:

Analiza diversității CRISPR-Cas în *Enterobacteriaceae*: Analiza noastră bioinformatică oferă o caracterizare cuprinzătoare a sistemelor CRISPR-Cas în cadrul a trei genuri de *Enterobacteriaceae* importante clinic (*Salmonella*, *Escherichia* și *Klebsiella*). În mod notabil, am identificat o variație geografică semnificativă în numărul de unități *spacer* din cadrul structurilor CRISPR. Acest lucru sugerează că presiunile de mediu locale, cum ar fi expunerea la diverși bacteriofagi, pot conduce la adaptarea repertoriului de secvențe *spacer* la acești agenți patogeni. Această constatare oferă perspective valoroase asupra forțelor ecologice și evolutive care modelează diversitatea CRISPR-Cas în aceste bacterii și evidențiază importanța luării în considerare a contextului geografic atunci când se studiază imunitatea mediată de CRISPR-Cas.

Investigarea relației dintre CRISPR-Cas și ARG: Studiul nostru abordează interacțiunea complexă dintre sistemele CRISPR-Cas și achiziția de ARG, un subiect de interes semnificativ în domeniu. Noutatea abordării noastre constă în compararea sistematică a două sisteme CRISPR-Cas prevalente (I-E și I-F) atât în *E. coli*, cât și în *P. aeruginosa*. Această analiză comparativă ne permite să analizăm impactul unic pe care fiecare sistem îl are în cadrul diferitelor specii bacteriene, unde sunt supuse unor mecanisme de reglare distincte. Observațiile noastre contestă opinia convențională conform căreia CRISPR-Cas acționează universal ca o barieră în calea achiziției de ARG, subliniind importanța luării în considerare a tipului specific de sistem și a contextului ecologic atunci când se evaluează impactul său asupra rezistenței la antibiotice.

Observații consistente cu o structură CRISPR-Cas antică și distribuită global: Constatările noastre, împreună cu cercetările anterioare, susțin ipoteza unei origini antice și a unei diseminări globale a secvențelor DR în cadrul sistemelor CRISPR-Cas. Acest lucru întărește noțiunea că mecanismul de bază CRISPR-Cas este foarte conservat și probabil precede divergența multor linii bacteriene. Observațiile noastre se adaugă la numărul tot mai mare de dovezi care sugerează că, în timp ce repertoriul de secvențe *spacer* evoluează rapid ca răspuns la presiunile locale, cadrul fundamental al sistemului rămâne remarcabil de stabil evolutiv în timp.

Dezvoltarea de amorse PCR specifice locilor CRISPR: În acest studiu au fost dezvoltate și validate amorse PCR pentru fiecare locus CRISPR identificat în studiul nostru. Aceste amorse pot

fi utilizate în cercetările viitoare pentru a investiga prevalența și diversitatea sistemelor CRISPR-Cas în diverse medii și contexte clinice.

În ansamblu, aceste contribuții avansează înțelegerea noastră asupra sistemului CRISPR-Cas și a implicațiilor sale pentru evoluția și ecologia procariotelor și în lupta continuă împotriva rezistenței la antibiotice.

## LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ SUB FORMĂ DE CAPITOLE

### CAPITOLUL I

Butiuc-Keul, A., Farkas, A., Carpa, R. and **Iordache, D.** (2022). CRISPR-Cas system: the powerful modulator of accessory genomes in prokaryotes. *Microb Physiol* **32**: 2–17. <https://doi.org/10.1159/000516643>

### CAPITOLUL II

**Iordache, D.**, Baci, G.M., Căpriță, O., Farkas, A., Lup, A., and Butiuc-Keul, A. (2022). Correlation between CRISPR loci diversity in three enterobacterial taxa. *Int J Mol Sci* **23**: 12766. <https://doi.org/10.3390/IJMS232112766>

## LISTA PUBLICAȚIILOR NEINCLUSE ÎN TEZĂ

- [1] Costache, C., Colosi, I. A., Toc, D. A., Daian, K., Damacus, D., Botan, A., Toc, A. G., Pana, A., Panaitescu, P., Neculicioiu, V., Șchiopu, P., **Iordache, D.** și Butiuc-Keul, A. (2024) CRISPR-Cas system, antimicrobial resistance and *Enterococcus* genus – a complicated relationship. *Biomed* **12**: 1625. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12071625>
- [2] Butiuc-Keul, A., Farkas, A., Carpa, R., Dobrota, C. și **Iordache, D.** (2022). Development of smart fruit crops by genome editing. *Turkish J Agric For* **46**: 129–140. <https://doi.org/10.3906/TAR-2012-104>
- [3] Toc, D. A., Butiuc-Keul, A. L., **Iordache, D.**, Botan, A., Mihaila, R. M., Costache, C. A., Colosi, I. A., Chiorean, C., Neagoe, D. S., Gheorghiu, L., și Junie, L. M. (2022) Descriptive analysis of circulating antimicrobial resistance genes in vancomycin-resistant

- Enterococcus* (VRE) during the COVID-19 pandemic. *Biomed* **10**: 1122. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES10051122>
- [4] Totolici, A. I., Mitrea, S., Cioloca, A. T., Lupu, A., Mórnicz, P. M., Muntean, D., Negre, R., Topîrceanu, A., Țoc, M., și **Iordache, D.** (2022) Breathing chemicals: a review of air pollution over the years. *Stud Univ Babeș-Bolyai Biol* **67**: 177–198. <https://doi.org/10.24193/SUBBBIOL.2022.1.10>
- [5] Dobrescu, M. Ștefan, **Iordache, D.** și Butiuc-Keul, A. (2022) Revealing the CRISPR array in bacteria living in our organism. *Stud Univ Babeș-Bolyai Biol* **67**: 131–142. <https://doi.org/10.24193/SUBBBIOL.2022.1.07>
- [6] Butiuc-Keul, A., Carpa, R., Podar, D., Szekeres, E., Muntean, V., **Iordache, D.** și Farkas, A. (2021) Antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. through the urban water cycle. *Curr Microbiol* **78**: 1227–1237. <https://doi.org/10.1007/S00284-021-02389-W>
- [7] Toth, P., **Fiț, D.**, Culda, C. A., Carpa, R., Butiuc-Keul, A., Roba, C. A. și Rosu, C. (2020) Quality assessment of drinking water from several private wells from Lazuri Village (Satu Mare County, Romania). *J Environ Prot Ecol* **21**: 106–115. [https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference\\_id/7302539](https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/7302539)
- [8] Butiuc-Keul, A., **Fiț, D.** și Farkas, A. (2019). Trends in molecular biology of several fruit trees. *JOJ Hort Arboricult* **2**: 63–65. <https://doi.org/10.19080/JOJHA.2018.02.555589>
- [9] Butiuc-Keul, A., Goia, I., Cristea, V., **Fiț, D.**, Șuteu, A. și Farkas, A. (2019) RAPD markers associated with linolenic acid synthesis in several *Boraginaceae* plant species. *Ann Oradea Univ Biol Fascicle* **26**: 62–66. <https://bioresearch.ro/2019-1/062-066-AUOFB.26.1.2019-BUTIUC-KEUL.A.-RAPD.markers.associated.pdf>

## PARTICIPAREA LA CONFERINȚE INTERNAȚIONALE

- [1] **Iordache, D.**, Butiuc-Keul, A. (2024) The puzzling paradox of CRISPR-Cas: why common systems don't block antibiotic resistance genes.
- Prezentare orală și abstract la a doua ediție a Conferinței organizate de *Societatea Română de Bioinformatică – RoBioinfo* 2024, 11-13 Aprilie 2024, Cluj-Napoca, România. *Accelerating human and environmental knowledge discovery through*

- bioinformatics advances, Abstract book, ISBN: 978-606-28-1795-4, pp. 57.*  
<https://www.editurauniversitara.ro/medicina-33/accelerating-human-and-environmental-knowledge-discovery-through-bioinformatics-advances-2nd-robioinfo-conference-2024.html#resp-tab1>
- [2] **Iordache, D.**, Dobrescu, M., Fita, A., Butiuc-Keul, A. (2023) The intricate relationship between the CRISPR-Cas system and antibiotic-resistance genes in *Klebsiella pneumoniae*.
- Abstract la Conferința Anuală organizată de *Societatea Română de Biochimie și Biologie Moleculară Romanian*, 13-15 Septembrie, 2023, Cluj-Napoca, Romania. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Biology, 68(2), RSBMB Book of abstracts pp. 81,* [https://biogeo.ubbcluj.ro/RSBMB/wp-content/uploads/2023/09/Abstract-book-RSBMB-2023\\_varianta-finala.pdf](https://biogeo.ubbcluj.ro/RSBMB/wp-content/uploads/2023/09/Abstract-book-RSBMB-2023_varianta-finala.pdf).
- [3] **Fiț, D.**, Farkas, A., Butiuc-Keul, A. (2019) CRISPR-CAS system in *Pseudomonas sp.* – structure and role in horizontal gene transfer of antimicrobial resistance genes.
- Abstract la Conferința Anuală organizată de *Societatea Română de Biochimie și Biologie Moleculară Romanian*, 26-27 Septembrie, 2023, Iași, Romania. *Journal of Experimental and Molecular Biology, 20(3), RSBMB Book of abstracts, pp. 25.* <http://www.jemb.bio.uaic.ro/index.php/jemb/article/view/36/23>.