

EL CICLE CEL·LULAR BACTERIÀ i LA POLIPLOÏDIA

SECCIÓ D'ENSENYAMENT
SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA



UAB Universitat Autònoma
de Barcelona

27 D'OCTUBRE DEL 2021

Jordi Barbé Garcia
Dpt Genètica i Microbiologia
Facultat de Biociències (UAB)

LA POLIPLOÏDIA: UN FET HABITUAL I ÀMPLIAMENT ESTÈS ENTRE LES ESPÈCIES BACTERIANES

AQUESTA XERRADA TE COM A FINALITAT APROFONDIR EN UN ASPECTE CONCRET DE L'ESTRUCTURA I FUNCIONAMENT DE LES CÈL·LULES BACTERIANES COM ÉS EL CICLE CEL·LULAR I ESTÀ ORGANITZADA EN DOS BLOCS

1. ESTAT ACTUAL DEL CONEIXEMENT SOBRE L'ESTRUCTURA DEL CICLE CEL·LULAR DELS BACTERIS, DELS SEUS CROMOSOMES I DE LA SEVA DOTACIÓ GÈNICA

2. EXEMPLES DE COM TREBALLAR A L'AULA EL CICLE CEL·LULAR BACTERIÀ I LES SEVES IMPLICACIONS EN UN ENFOC DE CONTEXT

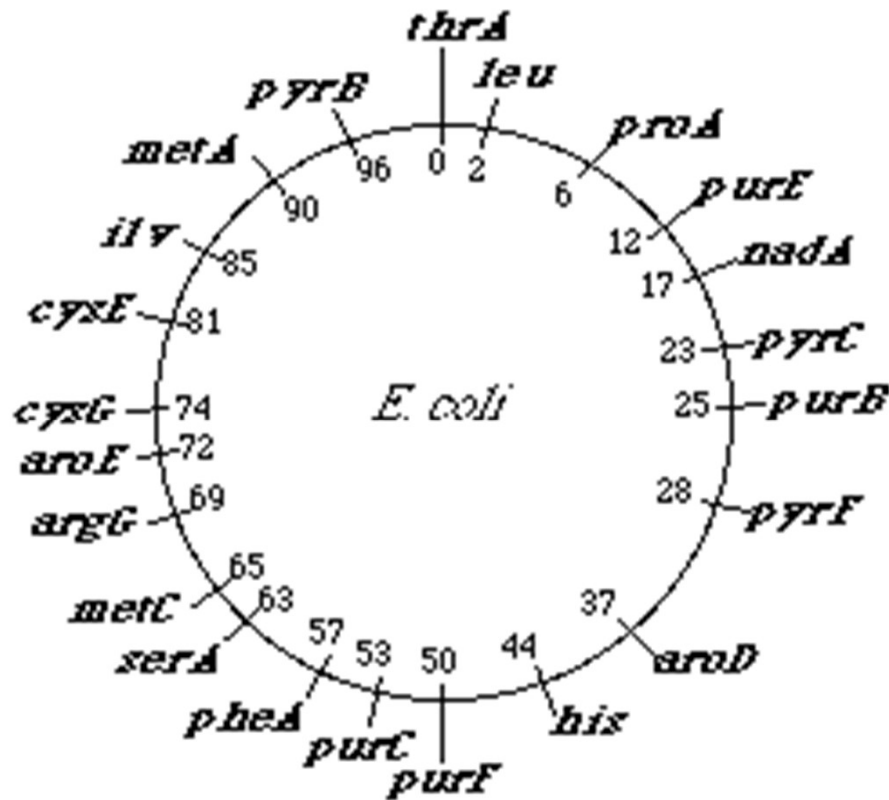
GEOMETRIA DELS CROMOSOMES BACTERIANS

CIRCULAR: *Escherichia coli*

LINEAL: *Borrelia burgdorferi*

Cromosomes circulars

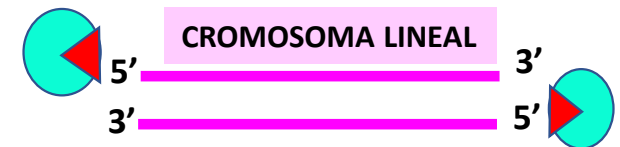
El cromosoma d' *E. coli* és circular i té aproximadament 4.600 Kiloparells de bases



QUINA AVANTATGE TENEN
ELS CROMOSOMES CIRCULARS?

NO HI HA EXTREMS
LLIURES QUE PUGUIN
FACILITAR L'ACCIÓ
DE LES EXONUCLEASES

EXONUCLEASA
CEL.LULAR

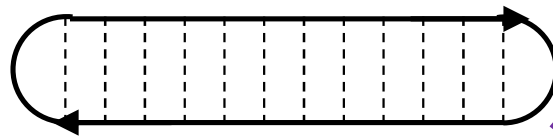


EXONUCLEASA
CEL.LULAR

Cromosomes lineals

Extrems lliures de dsDNA són sensibles a les nucleases intracel·lulars

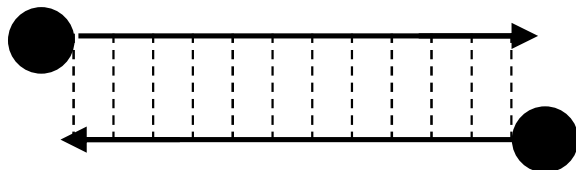
Borrelia burgdorferi



PSEUDOTELÒMERS

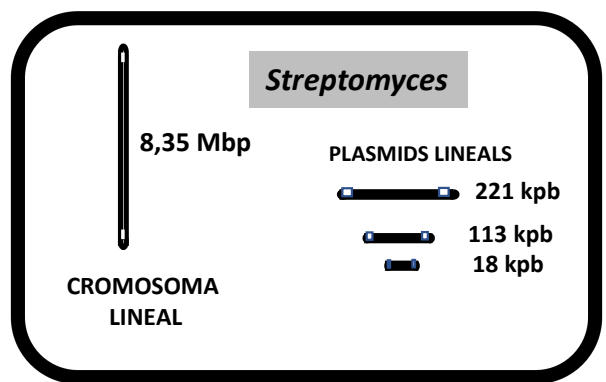
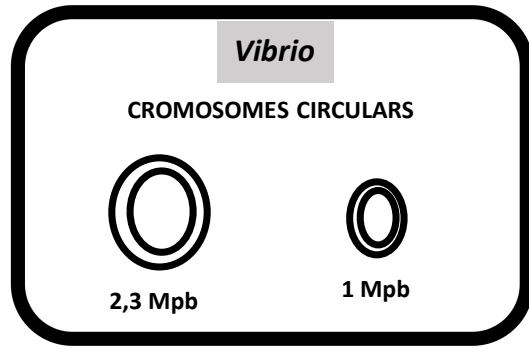
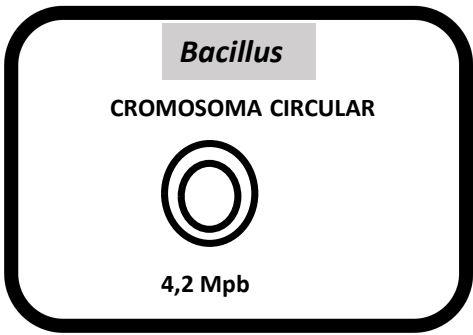
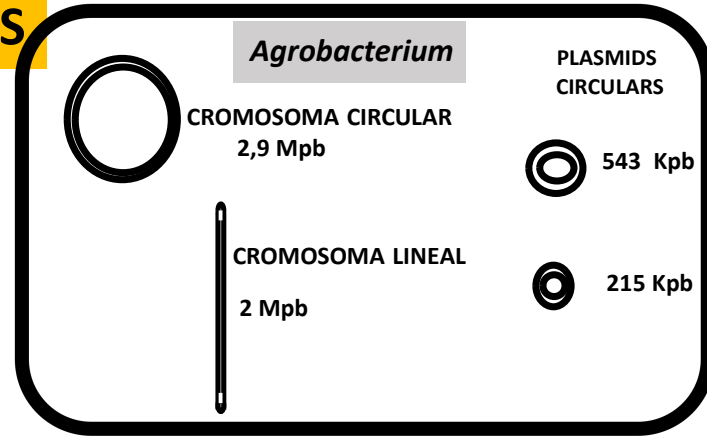
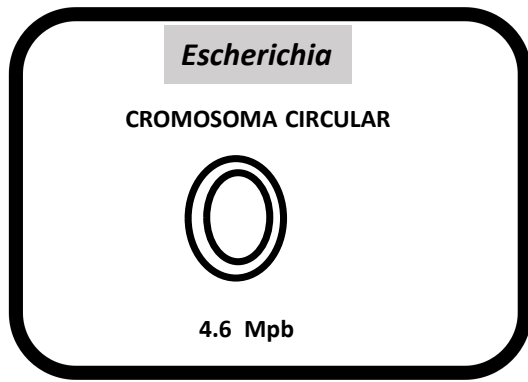
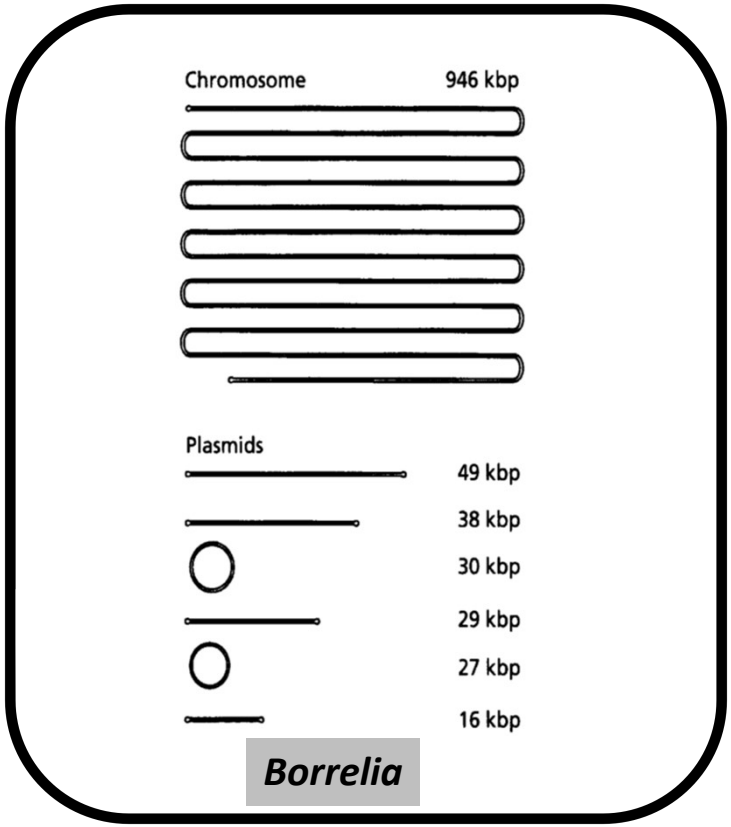


Streptomyces coelicolor



PROTEÍNA TERMINAL
UNIDA A L'EXTREM 5'

ESTRUCTURA DEL GENOMA DE DIFERENTS ESPÈCIES BACTERIANES



CROMOSOMES, MINICROMOSOMES I MEGAPLASMIDIS

Espècie bacteriana	Composició i Mida en Megaparell de Bases (Mpb) del Genoma
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 Cromosoma circular (2,9 Mpb), 1 Cromosoma linial (2 Mpb), 2 Megaplasmidis (0,54 i 0,2 Mpb)
<i>Brucella melitensis</i>	2 Cromosomes circulars (2,1 i 1,1 Mpb)
<i>Leptospira interrogans</i>	1 Cromosoma circular (4,3 Mpb) 1 Megaplasmidi (0,36 Mpb)
<i>Rhizobium meliloti</i>	1 Cromosoma circular (3,6 Mpb) 2 Megaplasmidis (1,7 i 1,6 Mpb)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	2 Cromosomes circulars (2,2 i 1,2 Mpb)
<i>Vibrio cholerae</i>	2 Cromosomes circulars (2,3 i 1 Mpb)

Minicromosomes

¿?

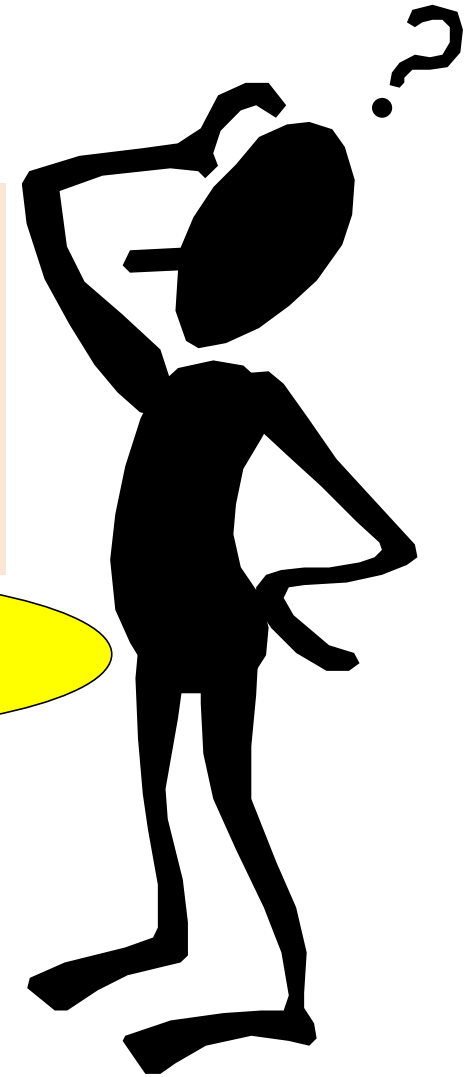
Què és un megaplasmidi?

Quina diferencia hi ha entre un megaplasmidi i un cromósoma?

QUÈ ÉS UN GEN HOUSEKEEPING?

PRESENCIA GENS HOUSEKEEPING!!

GENS CODIFICANT COMPONENTS SÍNTESI MACROMOLECULAR:
RIBOSOMES, APARELL TRANSCRIPCIÓ.....



EXEMPLES CONCRETS DE GENS HOUSEKEEPINGS

GENS CODIFICATS PEL CROMOSOMA II DE *Rhodobacter sphaeroides*

TAMANY: 0,94 Mb

Codifica RNAs ribosomals i 5 t-RNAs

GENS CODIFICATS PEL CROMOSOMA II DE *Vibrio cholerae*

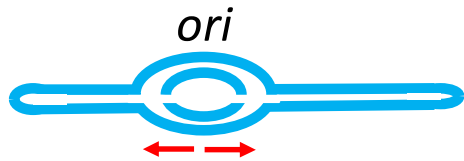
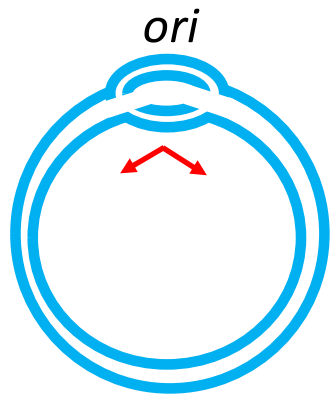
TAMANY: 1,1 Mb

**Proteïnes ribosomals L22 i L35
Factor inici traducció
Aminoacil-tRNA sintetases**

ESTRUCTURA DE L'INICI DE LA REPLICACIÓ CROMOSÒMICA A L'ARBRE FILOGENÈTIC DE LA VIDA

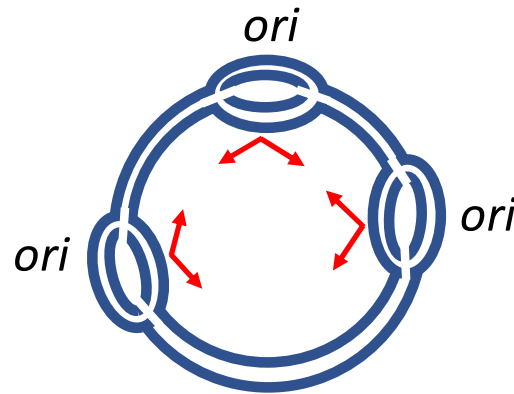
LUCA (Last Universal Common Ancestor)

DOMINI BACTERIA



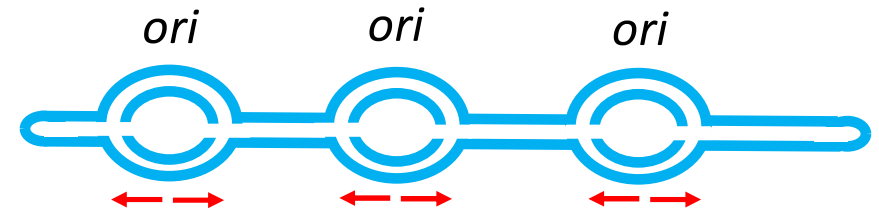
CROMOSOMA CIRCULAR o LINIAL
1 ORIGEN DE REPLICACIÓ PER CROMOSOMA

DOMINI ARCHAEA



CROMOSOMA CIRCULAR
ENTRE 2- 4 ORIGENS DE REPLICACIÓ
PER CROMOSOMA

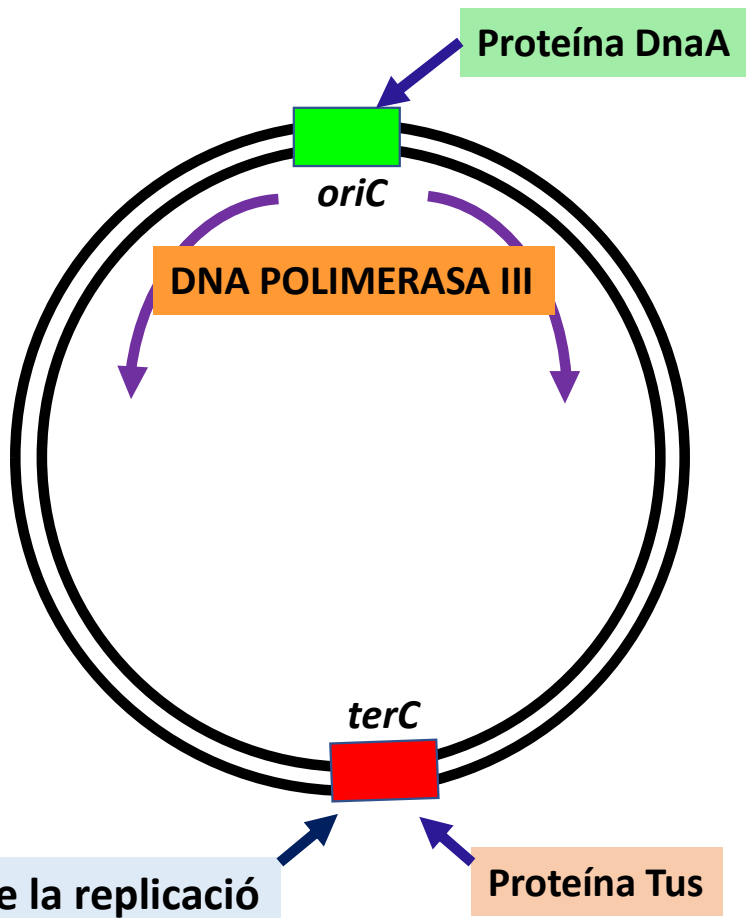
DOMINI EUKARYA



CROMOSOMA LINIAL
MÚLTIPLES ORIGENS DE REPLICACIÓ PER CROMOSOMA
A *Saccharomyces cerevisiae* HI HA UNS 350 DISTRIBUITS
ENTRE ELS SEUS 16 CROMOSOMES

EN TOTS ELS CASOS LA REPLICACIÓ ÉS BIDIRECCIONAL (↔)

MECANISME MOLECULAR DE L'INICI I DE LA FINALITZACIÓ DE LA REPLICACIÓ D'UN CROMOSOMA CIRCULAR BACTERIÀ



La proteína DnaA s'uneix a una seqüència específica que té varies còpies en la regió *oriC* (caixes *dnaA*).

Aquesta unió de la proteína DnaA provoca l'obertura de la doble cadena de DNA en aquesta regió.

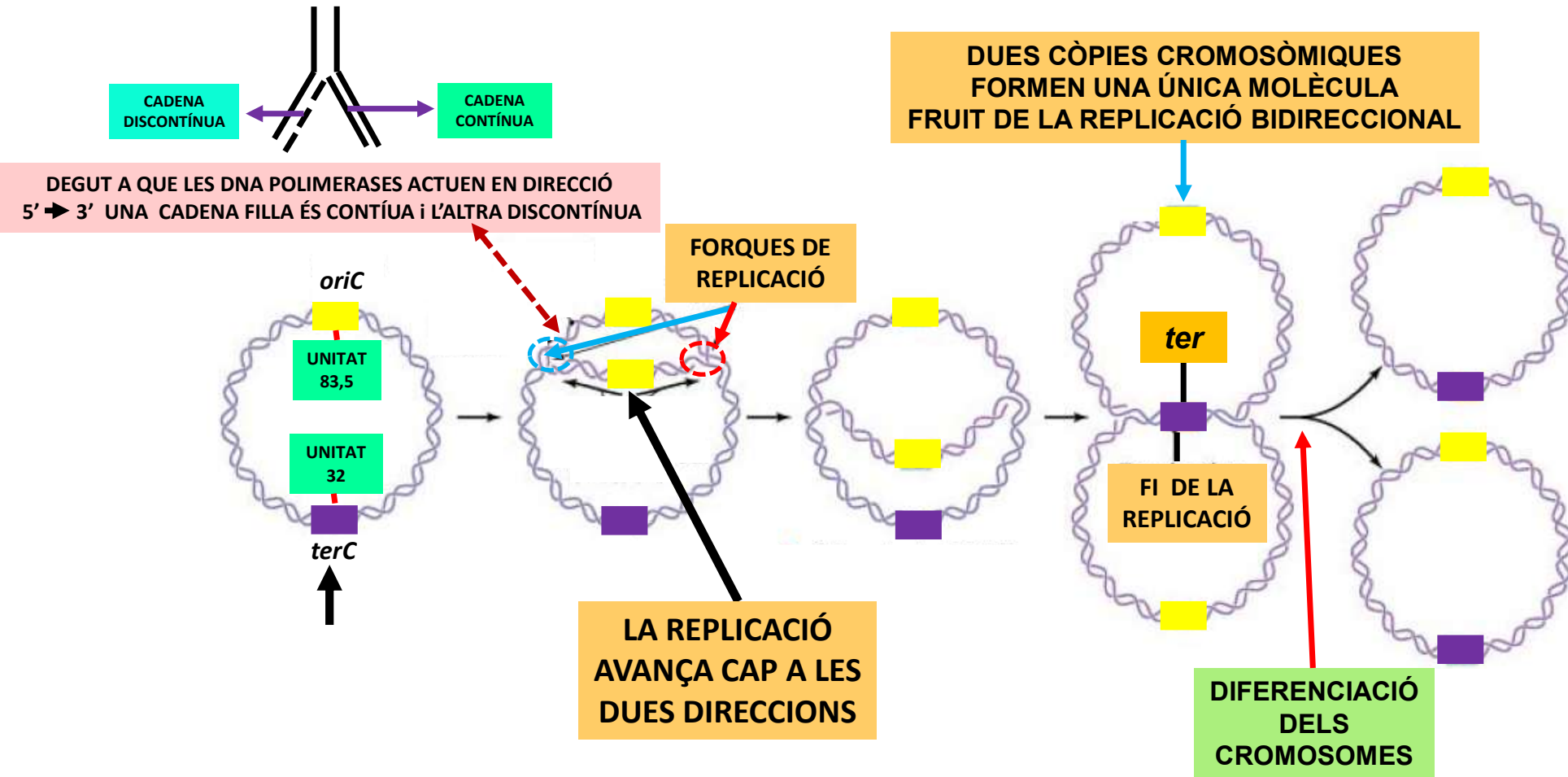
Un cop oberta la doble cadena, la DNA polimerasa III pot entrar i començar la replicació bidireccional.

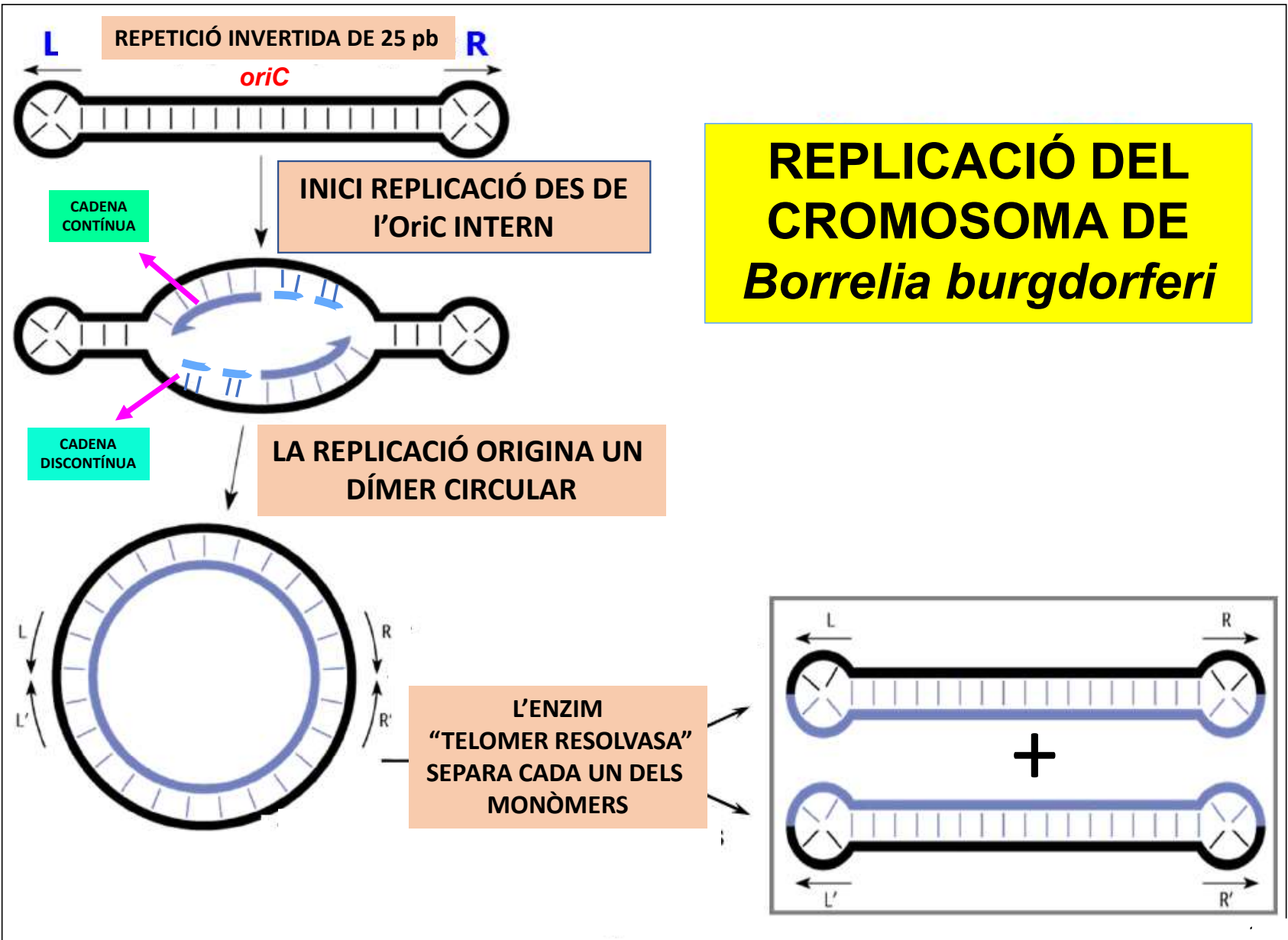
La proteína Tus s'uneix a una seqüència específica que es troba en la regió *terC*.

La unió de la proteína Tus interfereix amb les DNA helicases que obren la doble cadena de DNA el que origina un alentiment en la velocitat de replicació.

Aquest alentiment en la velocitat de còpia provoca que les molècules de DNA polimerasa III que venen per cadascun dels dos costats perdin afinitat i s'alliberin del cromosoma aturant-se així la replicació.

Aspectes generals de la replicació del cromosoma a *E. coli*





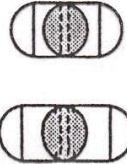
REPLICACIÓ DEL CROMOSOMA DE *Borrelia burgdorferi*

REPRESENTACIÓ DEL CICLE CEL·LULAR BACTERIÀ: EXEMPLE A *E. coli*

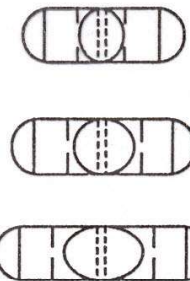
MORFOGÈNESI

Nova Cèl.lula

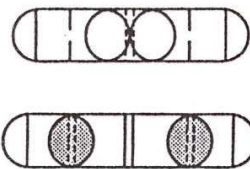
INICI ELONGACIÓ DE LA CÈL·LULA



AL LLARG DEL CICLE CEL·LULAR LES CÈL·LULES CREIXEN LONGITUDINALMENT DE FORMA CONTINUADA



INICI SEPTACIÓ



DIVISIÓ



Cèl.lules Noves

FASE DEL CICLE CEL·LULAR

FASE I

Temps necessari per a l'acumulació de la Proteína Dna A

Duració variable en funció

de la riquesa del medi

FASE C

Elongació cromosoma
Finalització replicació
Diferenciació cromosomes

Duració 40 min*

FASE D

Formació del septe
Divisió cel·lular

Duració 20 min*

AQUESTA ESTRUCTURA DEL CICLE CEL·LULAR ÉS GENERAL PER TOTES LES ESPÈCIES BACTERIANES!!

Velocitat de còpia de la DNA polimerasa d'*E. coli* unes 900 bases/segon

* Valors per *E. coli*

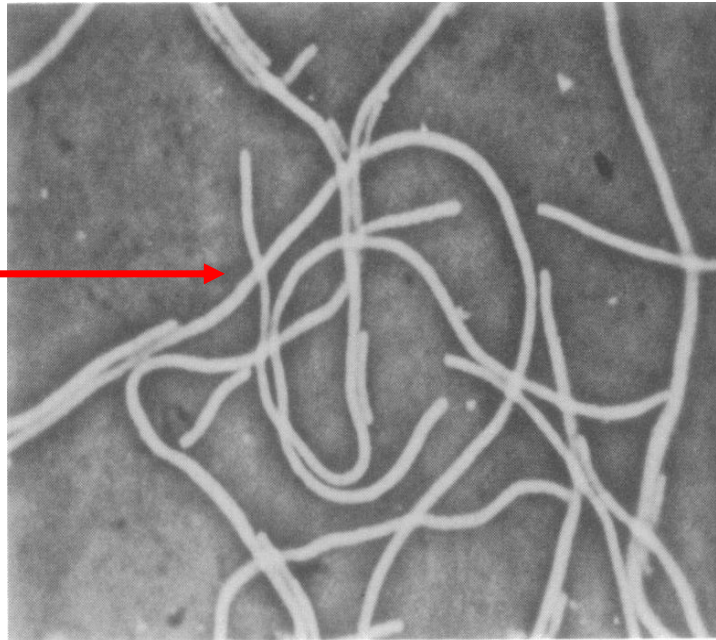
PODEN VARIAR EN ALTRES ESPÈCIES BACTERIANES

LES TRES FASES DEL CICLE CEL.LULAR BACTERIÀ ESTAN INTERRELACIONADES



LA INTERRUPCIÓ DE LA FASE I IMPLICA QUE NO COMENÇA LA FASE C i LA INTERRUPCIÓ DE LA FASE C COMPORTA QUE NO TE LLOC LA FASE D i PER TANT NO HI HA DIVISIÓ

FILAMENTS CEL.LULARS
ORIGINATS AL INTERROMPRE'S
LA FASE DE REPLICACIÓ C



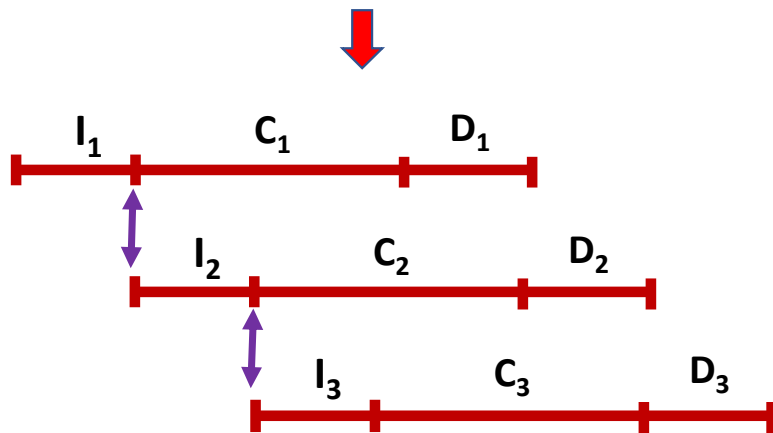
El cicle cel·lular bacterià i el número de còpies cromosòmiques

Inici de la replicació cromosòmica està marcat per

i) La concentració de DnaA i la unió d'aquesta a l'OriC

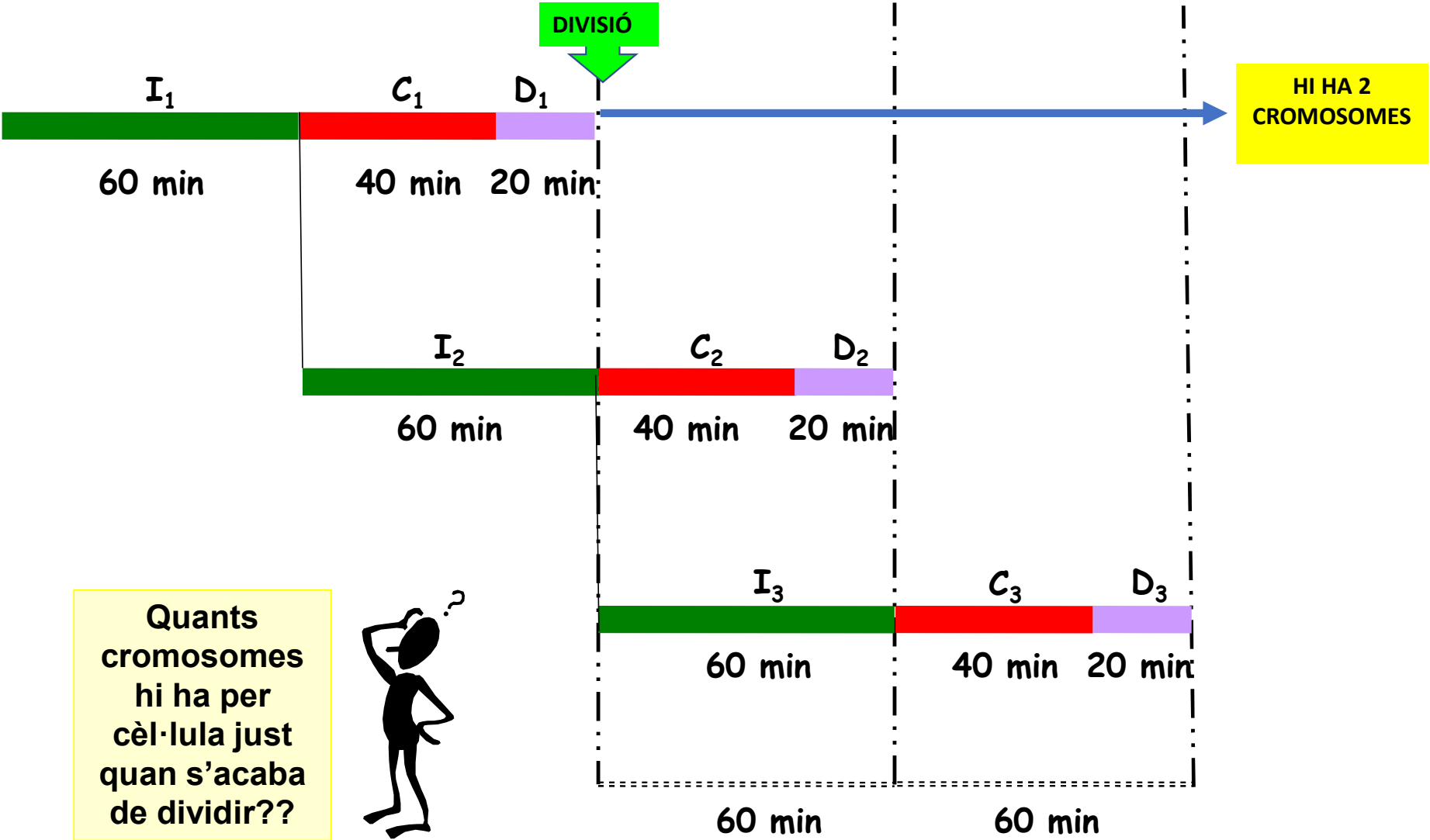
ii) Disponibilitat de dNTPs

Quan s'acaba una fase I s'inicia una nova fase I₂ donat que la cèl.lula sintetitza de forma continuada proteïna DnaA el que implica que quan s'aconsegueix el nivell necessari de proteïna DnaA per obrir l'*oriC* es torna a començar la fase (C) de replicació

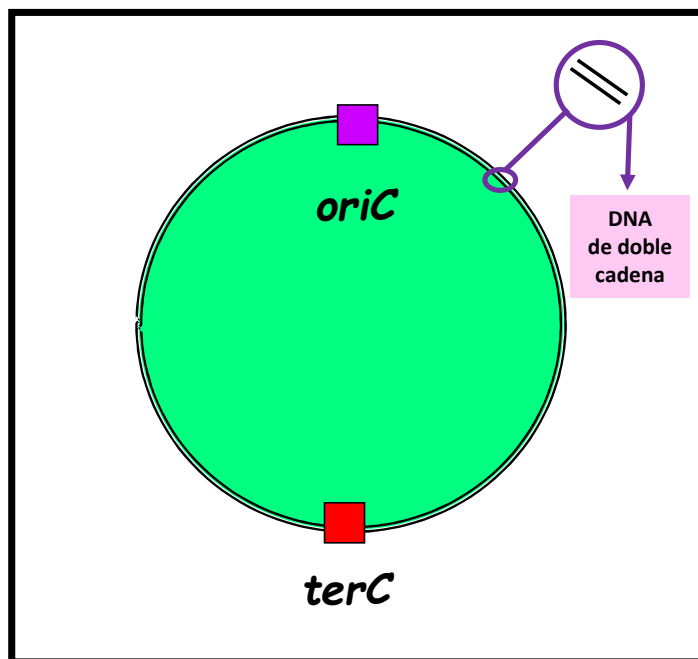


Podem tenir cèl·lules que continguin més d'una còpia del(s) seu(s) cromosoma(es)

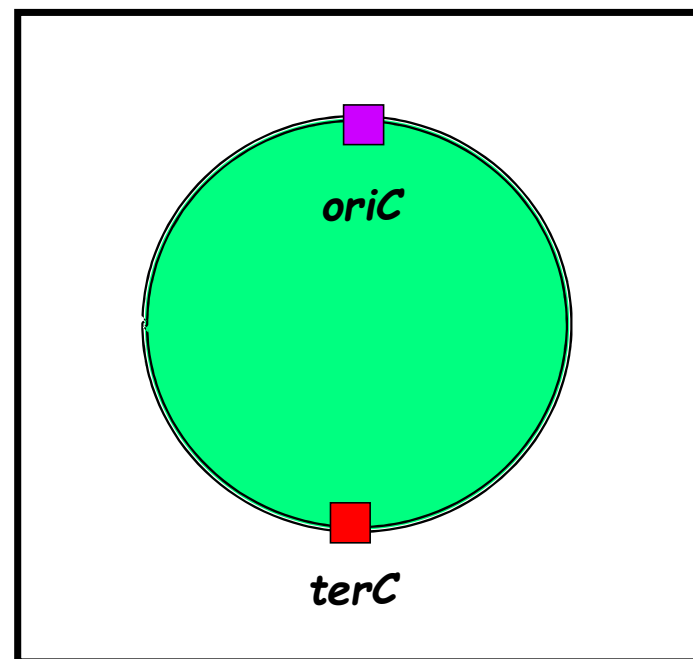
Durada de FASE I de 60 min



Durada de FASE I de 60 min

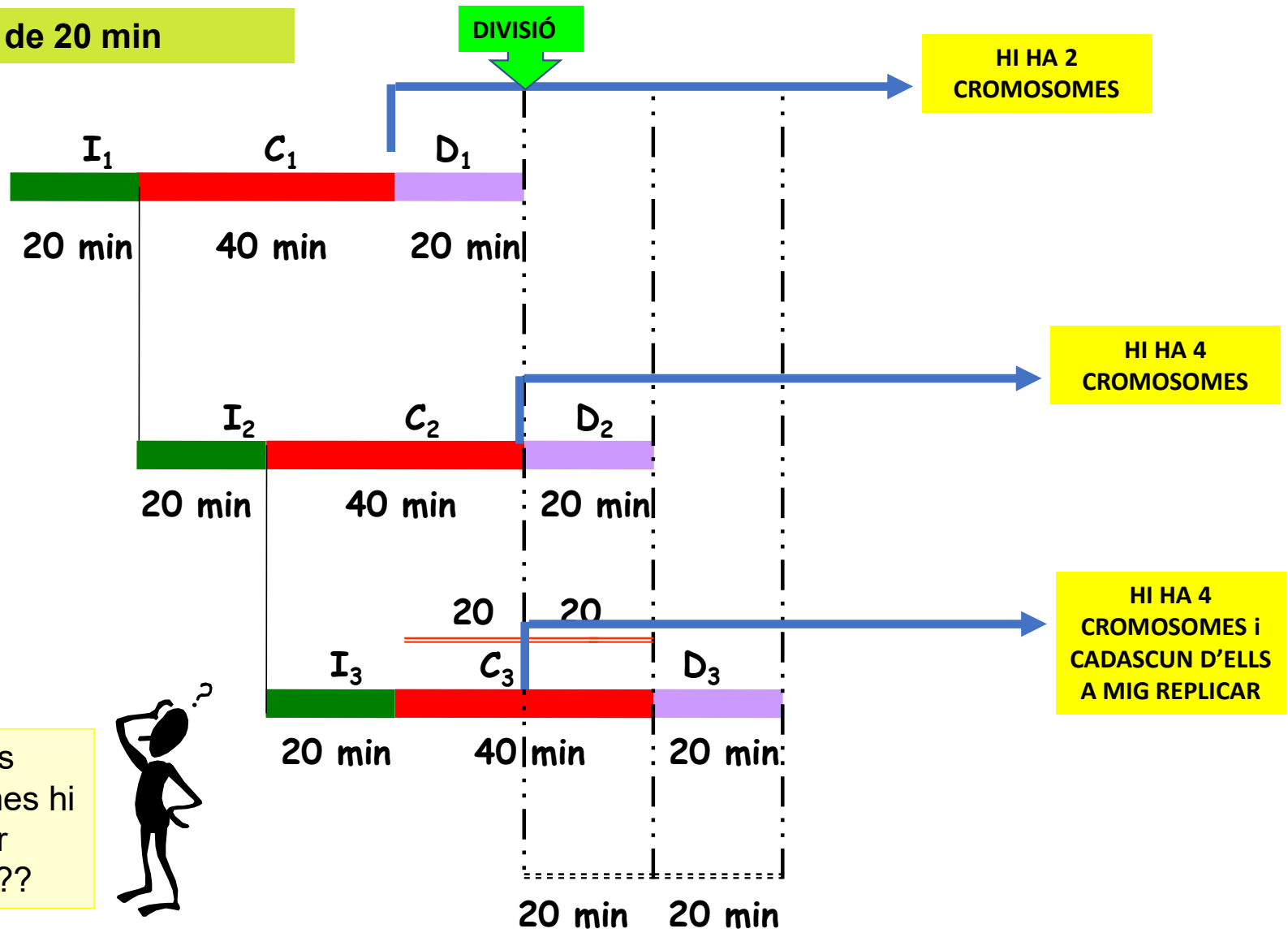


CÈ.LULA 1



CÈ.LULA 2

Durada de FASE I de 20 min

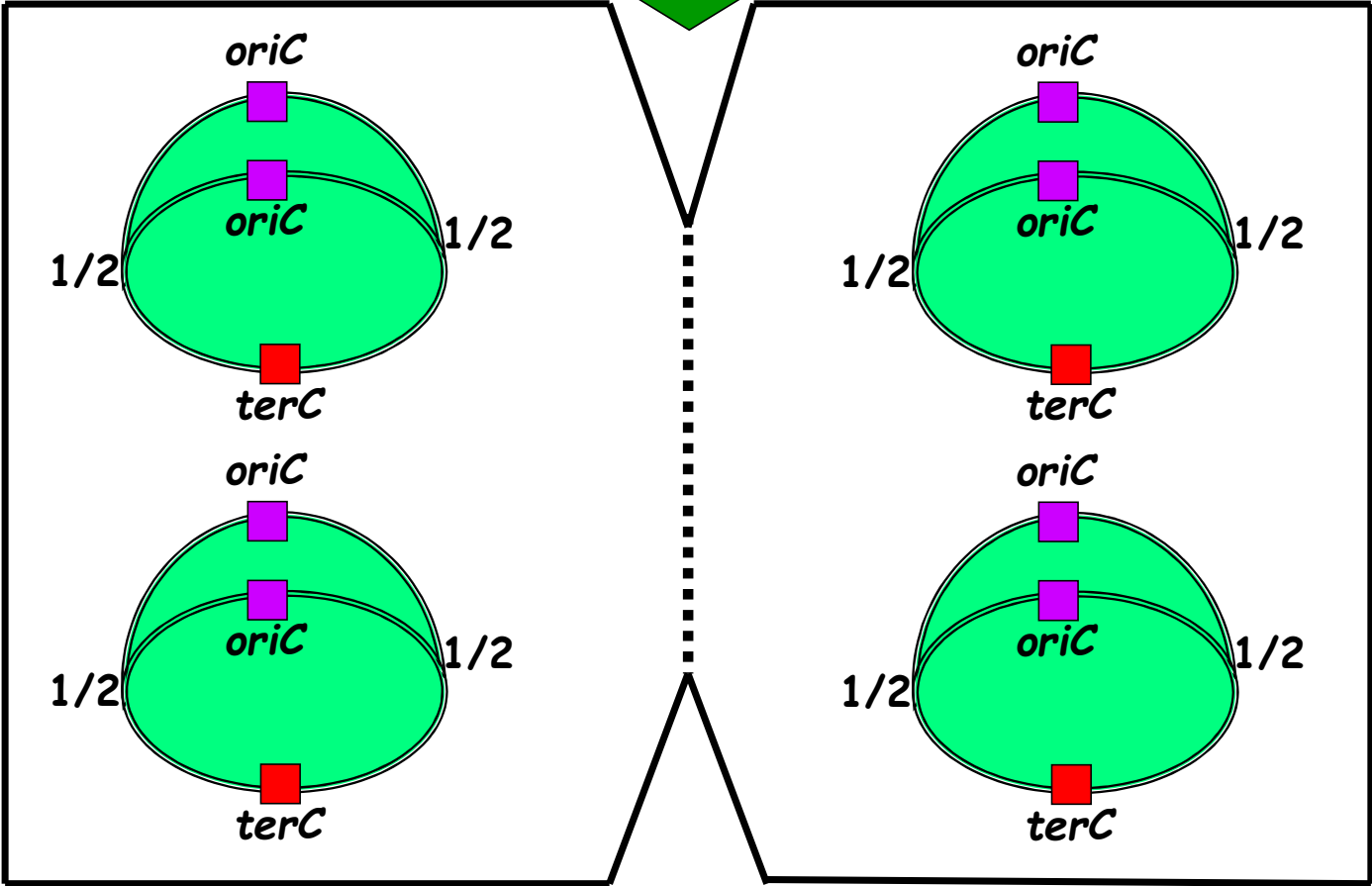


Durada de FASE I de 20 min

D1

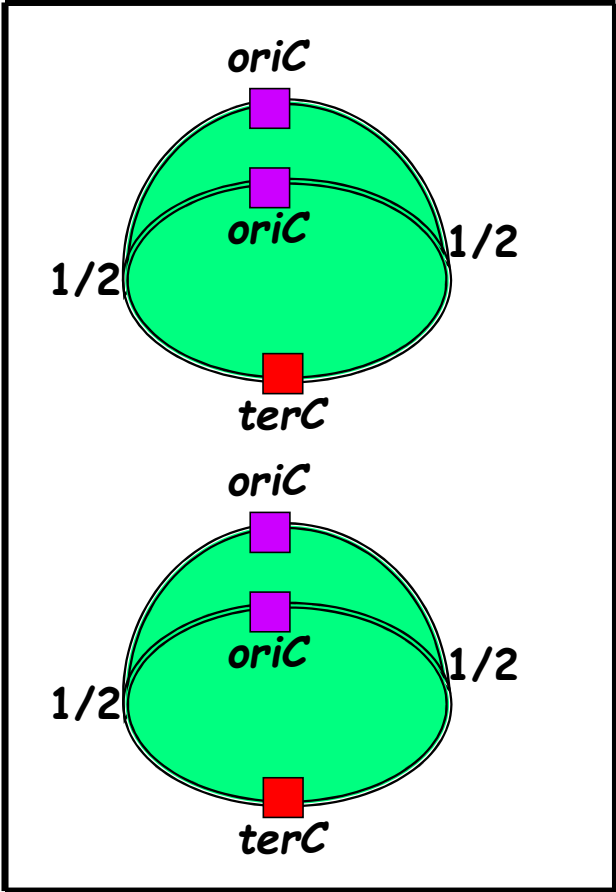
CÈL.LULA 1

CÈL.LULA 2

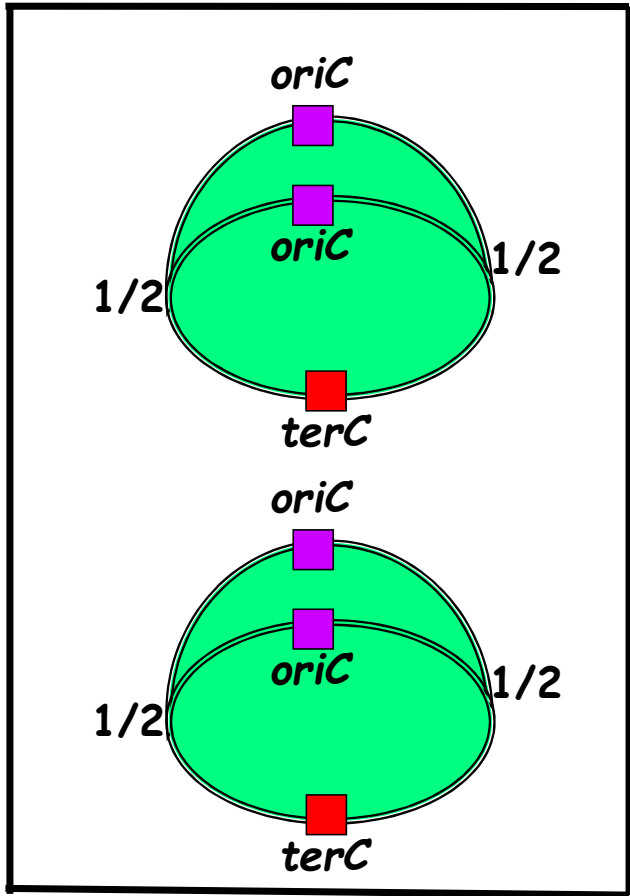


Durada de FASE I de 20 min

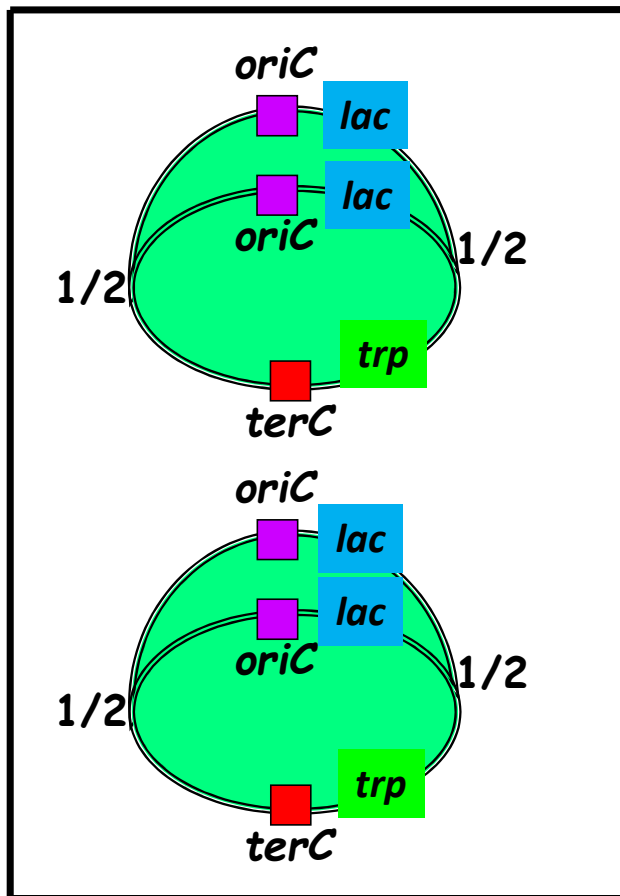
CÈL.LULA 1



CÈL.LULA 2



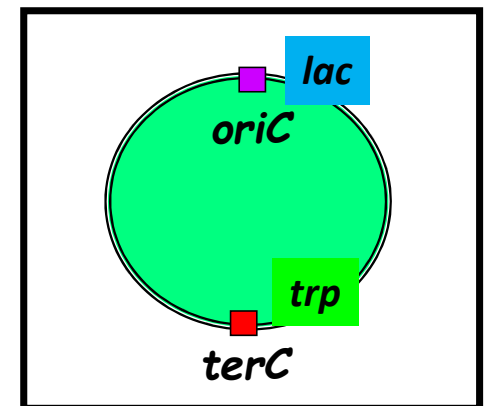
QUANTES CÒPIES GÈNIQUES TINDRÀ UNA CEL.LULA D' *E. coli* EN LA QUE LA SEVA FASE I TE UNA DURADA DE 20 MINUTS?



TINDRÀ 2 CROMOSOMES SENCERS i CADASCUN D'ELLS A MIG REPLICAR!!!

COLOQUEM ARA EN EL CROMOSOMA ELS OPERONS *lac* i *trp*

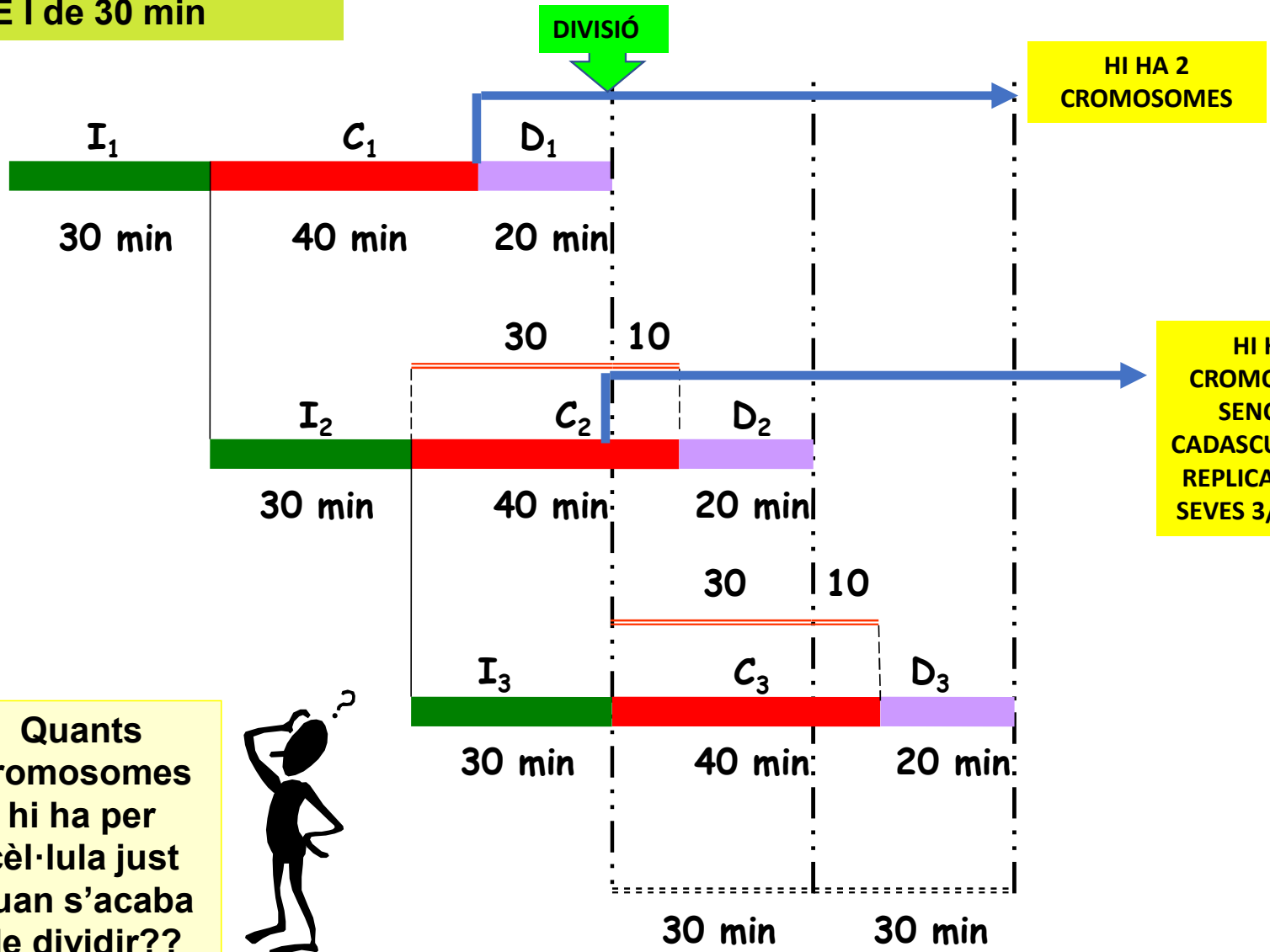
QUANTES CÒPIES DELS OPERONS *lac* i *trp* TINDRAN AQUESTES CÈ.LULES?



4 CÒPIES DE L'OPERÓ *lac*

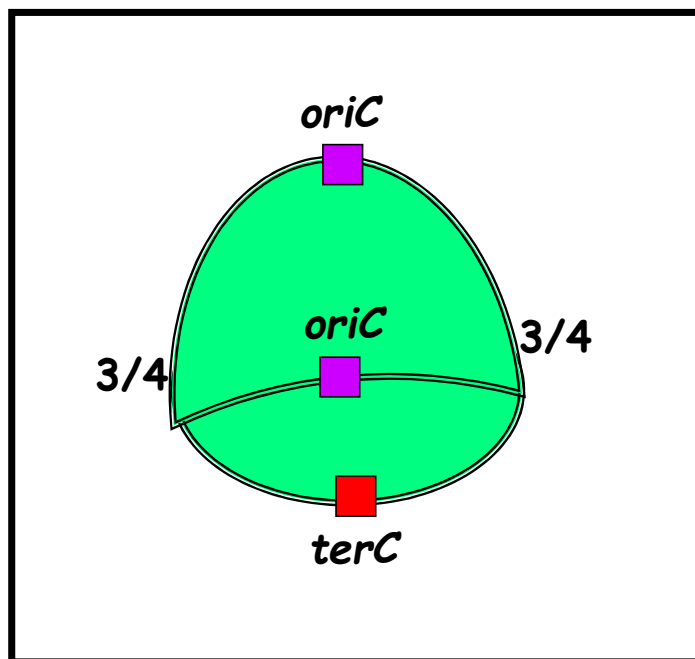
2 CÒPIES DE L'OPERÓ *trp*

Durada de FASE I de 30 min

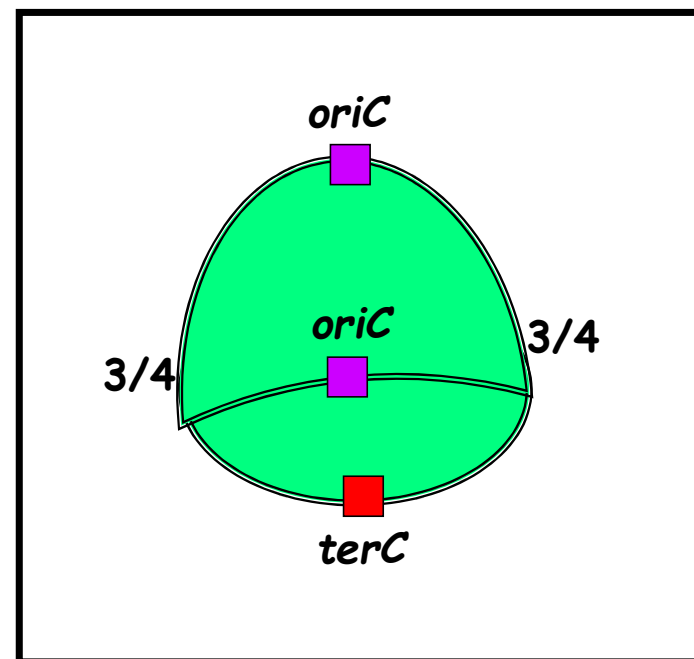


Durada de FASE I de 30 min

CÈL.LULA 1



CÈL.LULA 2



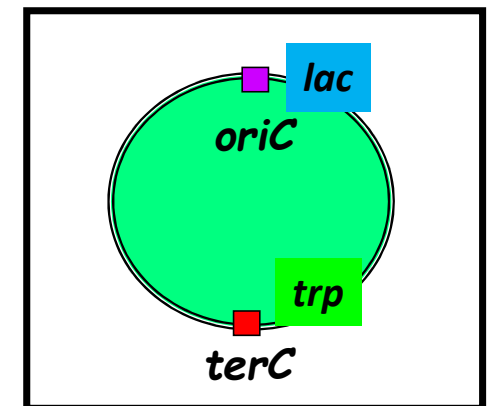
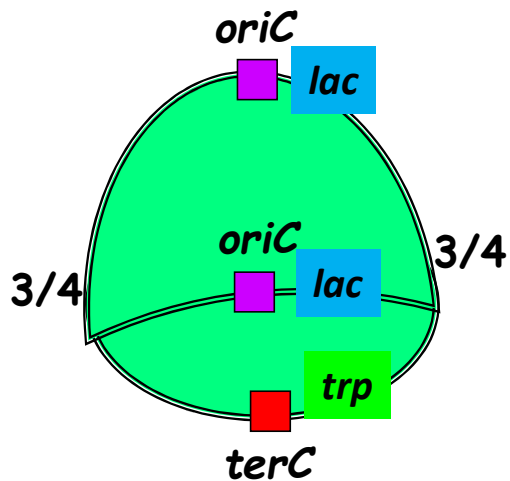
QUANTES CÒPIES GÈNIQUES TINDRÀ UNA CEL.LULA D' *E. coli* EN LA QUE LA SEVA FASE I TE UNA DURADA DE 30 MINUTS?

TINDRÀ 1 CROMOSOMA SENCER QUE ESTARÀ REPLICAT EN LES SEVES 3/4 PARTS

QUANTES CÒPIES DELS OPERONS *lac* i *trp* TINDRAN AQUESTES CÈL.LULES?

2 CÒPIES DE L'OPERÓ *lac*

1 CÒPIA DE L'OPERÓ *trp*



Número de còpies cromosòmiques de diferents espècies bacterianes en diverses condicions de cultiu

Espècie bacteriana	Nº Còpies Genoma en Medi Mínim	Nº Còpies Genoma en Medi Ric
<i>Desulfovibrio gigas</i>	8	16
<i>Azotobacter vinelandii</i>	2	32
<i>Methanosarcina acetivorans</i>	2	16

IMPLICACIONS DE L'ESTRUCTURA DEL CICLE CEL·LULAR BACTERIÀ

***LES CÈL·LULES BACTERIANES PODEN TENIR MES D'UNA CÒPIA DEL SEU CROMOSOMA, ADHUC AQUESTA DOSI CROMOSÒMICA ADDICIONAL NO TE PER QUÈ SER IGUAL A UN CROMOSOMA SENCER**

***LES CÈL·LULES BACTERIANES PODEN TENIR UN NÚMERO DIFERENT DE CÒPIES DELS DIVERSOS GENS**

***QUAN MES A PROP ESTÀ UN GEN DE L'ORIGEN DE REPLICACIÓ DEL CROMOSOMA D'UNA CÈL·LULA BACTERIANA MÉS POSSIBILITAT HI HA QUE AQUEST GEN TINGUI UN MAJOR NÚMERO DE CÒPIES**

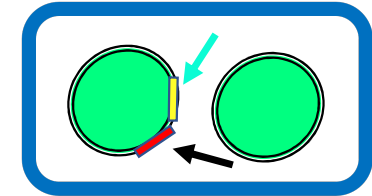
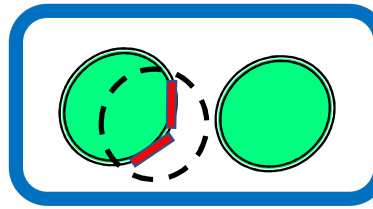
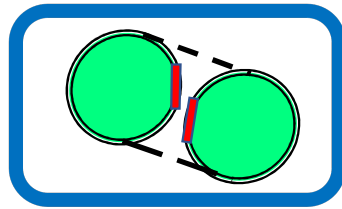
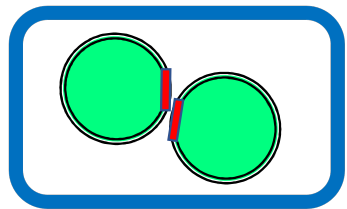
***AQUESTS EFECTES SOBRE LA DOSIS GÈNICA ESTAN DIRECTAMENT LLIGATS A LA RIQUESA DEL MEDI DE CULTIU**

ALGUNES CONSEQÜÈNCIES DE LES CARACTERÍSTIQUES DE L'ESTRUCTURA DEL CICLE CEL.LULAR BACTERIÀ

+ PROMOURE REORDENACIONS GENÈTIQUES I GENERAR NOVES VARIANTS DE FUNCIONS CEL.LULARS

+ AUGMENTAR EL NÚMERO DE CÒPIES DELS GENS MES PROPERS ALS *oriC*

IMPACTE DE LA POLIPLOÏDIA EN L'EVOLUCIÓ DELS BACTERIS



LA PRESENÇA DE MÉS D'UNA CÒPIA D'UN CROMOSOMA POT PROVOCAR RECOMBINACIONS ENTRE LES SEVES REGIONS HOMÒLOGUES

AQUESTES RECOMBINACIONS PODEN ORIGINAR DUPLICACIONS EN UN MATEIX CROMOSOMA

LES REGIONS DUPLICADES PODEN EVOLUCIONAR DE FORMA INDEPENDENT DONANT LLOC A **NOVES VARIANTS** DE LES FUNCIONES QUE CODIFICAVEN

LA **TRANSFERÈNCIA GÈNICA HORIZONTAL** PERMET L'EXPANSIÓ DE **LES NOVES VARIANTS** ENTRE DIVERSES ESPÈCIES BACTERIANES

LA IMPORTÀNCIA DEL RNA RIBOSOMAL A LES CÈL.LULES BACTERIANES

+ AL VOLTANT DEL 80 % DEL PES SEC D'UNA CÈL.LULA BACTERIANA ÉS RNA RIBOSOMAL

+ AQUESTA PROPORCIÓ TAN ELEVADA DE RNA RIBOSOMAL ES DEU A LA NECESSITAT QUE TENEN ELS BACTERIS DE FABRICAR MOLTS RIBOSOMES PER PODER PROLIFERAR RÀPIDAMENT QUAN HI HA PROUS NUTRIENTS A L'ENTORN

+ L'ESTRATÈGIA EVOLUTIVA QUE HAN SEGUIT ELS BACTERIS PER ACONSEGUIR AQUEST OBJECTIU HA ESTAT TENIR VARIES CÒPIES DELS GENS *rrn* QUE CODIFIQUEN ELS RNA RIBOSOMALS

+ PERÒ COM HO FARIEU PER MILLORAR AQUESTA ESTRATÈGIA CONECTANT-LA AMB LES CONDICIONS NUTRICIONALS DE L'ENTORN?

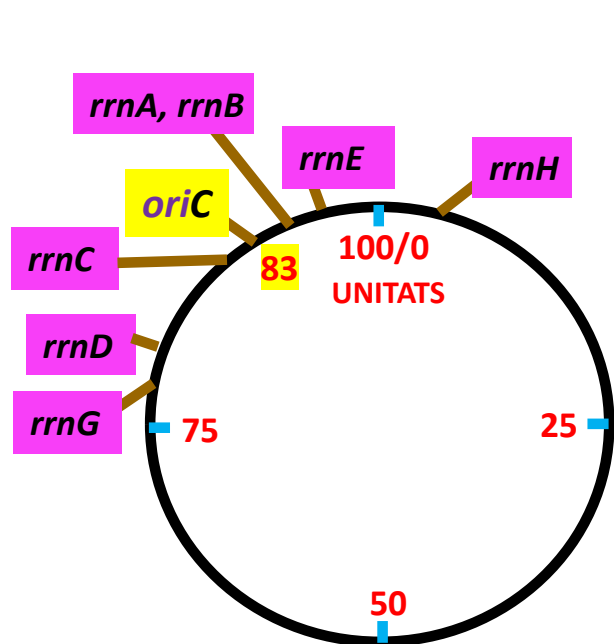
+ UNA POSSIBILITAT ÉS QUE ES SELECCIONIN REORDENACIONS GENÈTIQUES QUE COMPORIN UNA ACUMULACIÓ DE GENS *rrn* A PROP DELS *oriC*

+ D'AQUESTA MANERA QUAN LES CÈL.LULES CREIXIN EN AMBIENTS AMB MOLTS NUTRIENTS HI HAURÀ MES CÒPIES DE REGIONS *oriC* EL QUE AUGMENTARÀ CONSIDERABLEMENT LA QUANTITAT D'AQUESTS GENS *rrn* I PER TANT LA FABRICACIÓ DE RIBOSOMES

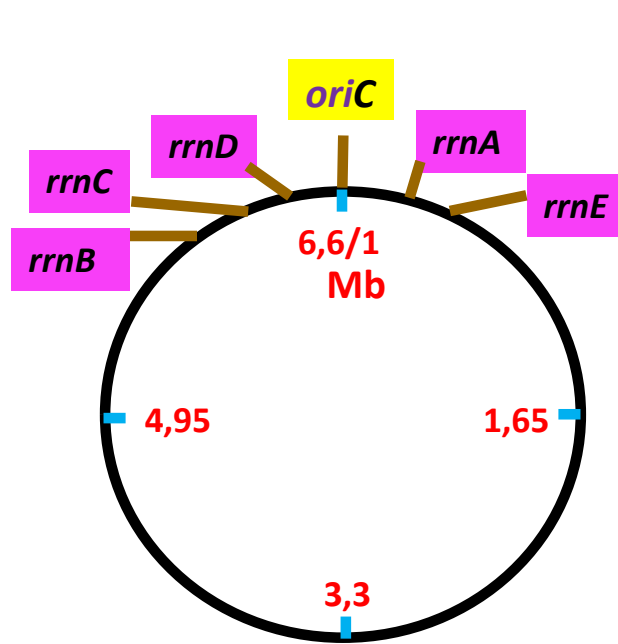
EVOLUTIVAMENT S'HA PRODUT AQUESTA ESTRATÈGIA?

VEIEM-HO?

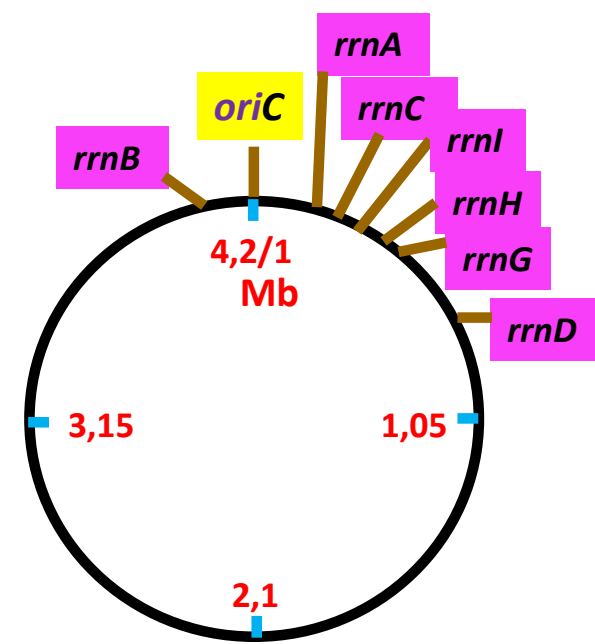
DISTRIBUCIÓ DELS GENS *rrn* EN ELS CROMOSOMES DE DIFERENTS ESPÈCIES BACTERIANES



MAPA CROMOSOMA *Escherichia coli*



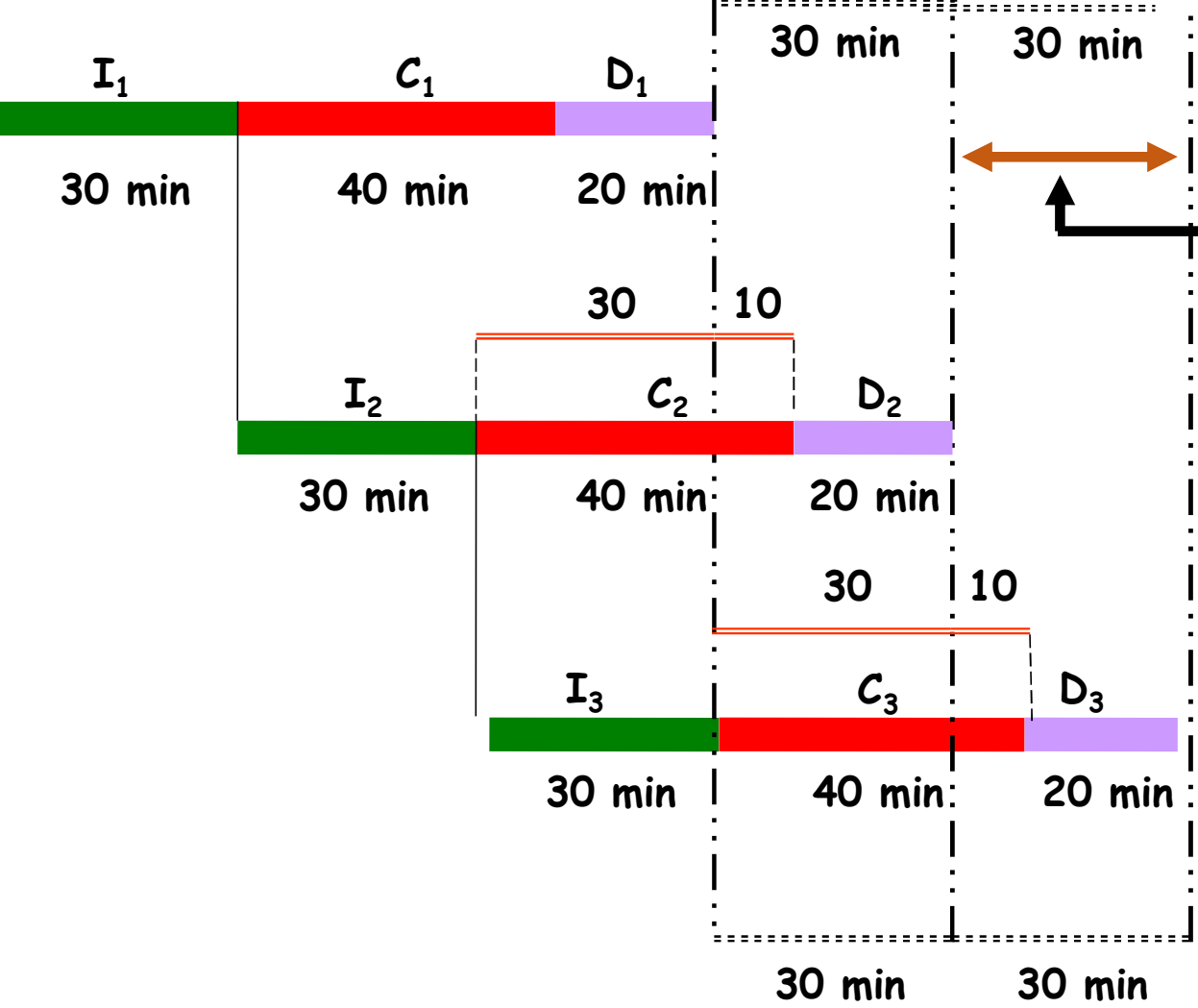
CROMOSOMA *Pseudomonas aeruginosa*



CROMOSOMA *Bacillus subtilis*

EFFECTIVAMENT, L'EVOLUCIÓ HA SELECCIONAT L'ESTRATÈGIA D'ACUMULAR GENS *rrn* AL VOLTANT DELS *oriC*

COM PUC CALCULAR AL LABORATORI LA DURADA DE LA FASE I ?



QUIN ÉS EL TEMPS DE GENERACIÓ DE LA POBLACIÓ EN AQUEST DIAGRAMA?

EL QUE TRANCORRE DEL FINAL DE LA D₂ AL FINAL DE LA D₃

30 minuts

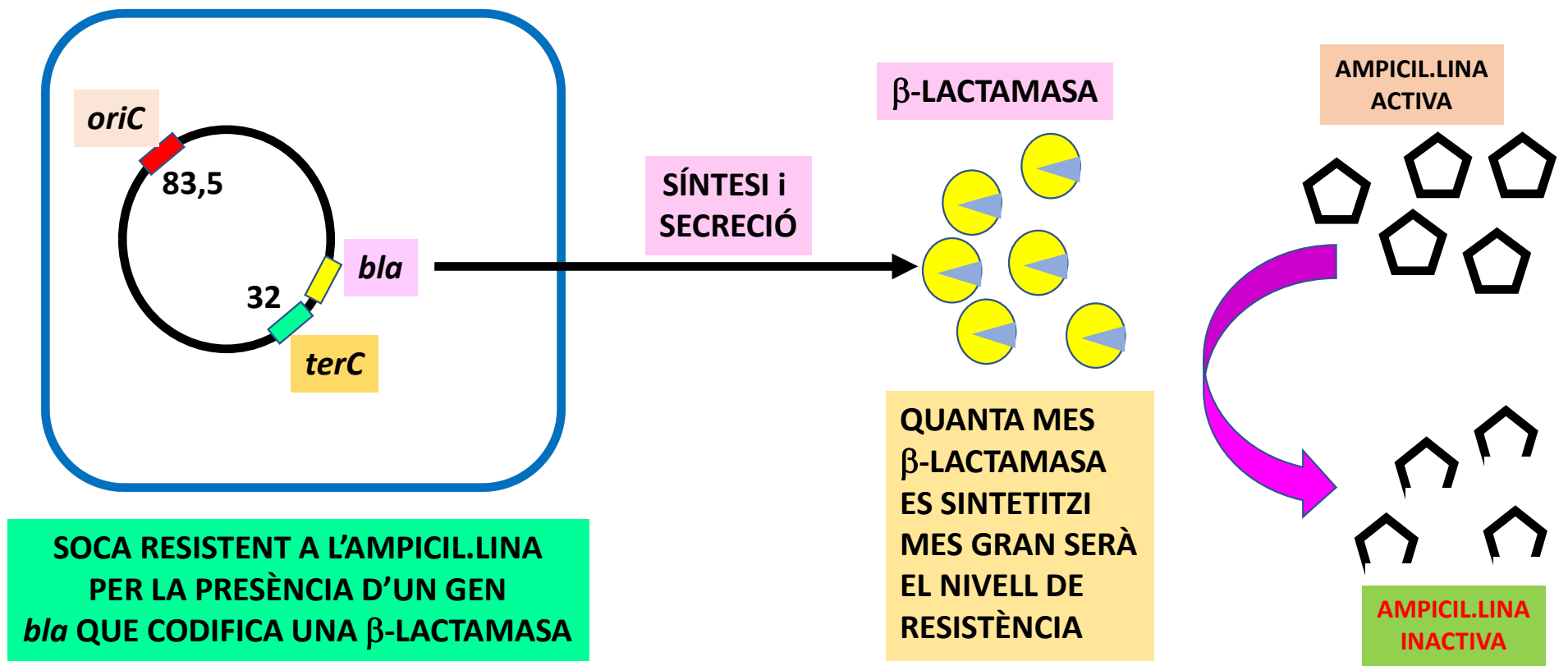
QUINA ALTRA ETAPA TAMBÉ DURA 30 minuts?

LA FASE I !!!!!

LA DURADA DE LA FASE I ÉS IGUAL AL TEMPS DE GENERACIÓ DEL CULTIU!!

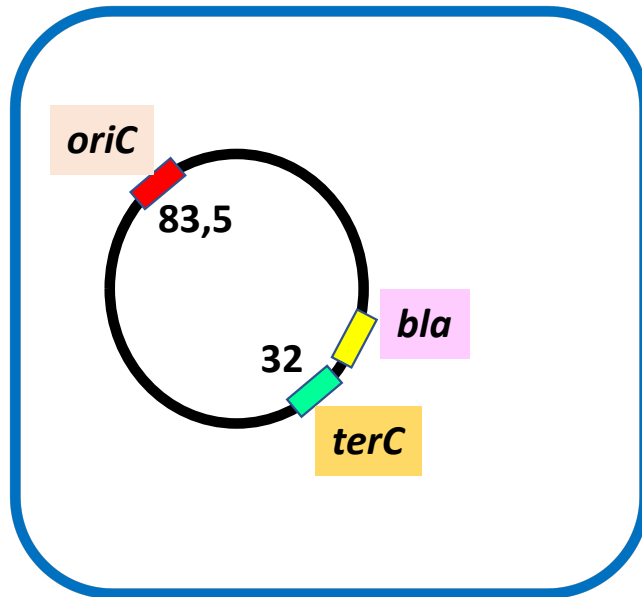
**EXEMPLES DE QÜESTIONS DERIVADES DE L'ESTRUCTURA DEL
CICLE CEL.LULAR D'*E. coli* PER TREBALLAR A L'AULA**

Els transposons són una estructura genètica que pot saltar des d'un plasmidi a un cromosoma bacterià i integrar-se en qualsevol lloc d'aquest. El transposó Tn3 conté el gen *bla* que codifica un enzim denominat β -lactamasa que trenca l'antibiòtic ampil.lina i fa que les cèl.lules bacterianes siguin resistents a aquest antibacterià.

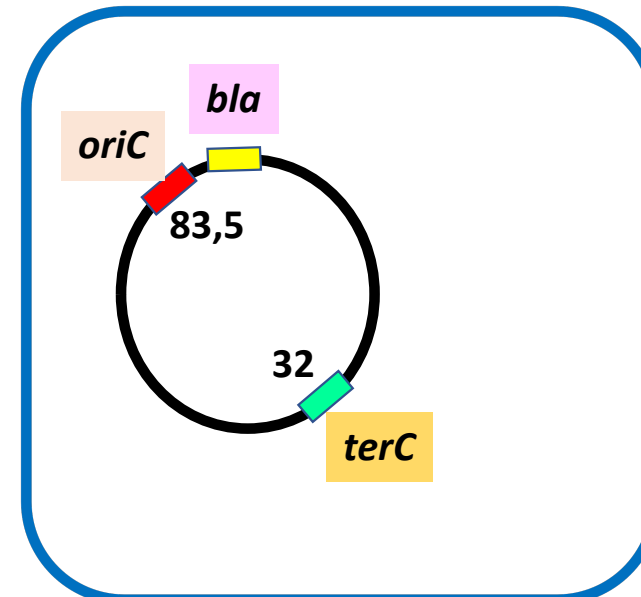


PROBLEMA A RESOLDRE

A partir de mostres clíniques s'han aïllat 2 soques d'*E. coli* (CAT1, i CAT2) que porten el Tn3 inserit respectivament en les posicions 30 i 90 del seu cromosoma. Quina d'aquestes soques serà més resistent a l'ampicil·lina quan duguin a terme una infecció intestinal?



SOCA CAT1



SOCA CAT2

EN QUINA SOCA EL GEN *bla* ESTÀ MES A PROP DE L'*oriC*?

A LA SOCA CAT2, QUE ÉS LA QUE PRESENTARÀ
UNA MAJOR RESISTÈNCIA DONAT QUE TINDRÀ MES CÒPIES D'AQUEST GEN

EN EL CAS QUE LA INFECCIÓ FOS EPIDÈRMICA, EL RESULTAT SERIA EL MATEIX?

NO!!

LA DISPONIBILITAT DE NUTRIENTS DAMUNT LA PELL NO ÉS LA MATEIXA QUE AL TRACTE DIGESTIU i PER TANT LA FASE I DEL CICLE CEL.LULAR SERIA MES LLARGA I EL NÚMERO DE CÒPIES DEL CROMOSOMA SERIA D'UN PER CÈ:LULA

MES EXEMPLES DE QÜESTIONS PER RESOLDRE A CLASSE

Les soques d'*E. coli* CAT765 i CAT989 tenen en el seu cromosoma el gen *stx* que codifica una enterotoxina. A la soca CAT765 aquest gen *stx* es troba en la unitat 80 del seu cromosoma mentre que a la soca CAT989 el mateix gen està a la unitat 35 del cromosoma. Quina de les dues soques produirà més enterotoxina quan es trobin en el tracte digestiu d'una persona?

Es vol inserir el gen que codifica la insulina en el cromosoma d'una soca d'*E. coli* per procedir a la seva producció al laboratori. Per obtenir el màxim rendiment, serà més adequat inserir-ho en la unitat 33 del cromosoma o en la unitat 87?

La fase C del cicle cel.lular del bacteri *Pseudomonas aeruginosa* dura 40 minuts. La replicació del cromosoma d'aquest patògen és bidireccional. Si el seu cromosoma té 4.200.000 pb, quina és la velocitat de còpia de la seva DNA polimerasa implicada en la replicació?

FI