

Curs d'actualització de conceptes de Microbiologia en base al nou currículum de Batxillerat



BLOC 1

Estructura de les cèl·lules bacterianes i arqueus. Relacions filogenètiques

Montserrat Llagostera

Grup de Microbiologia Molecular
Departament de Genètica i de Microbiologia

UAB

9 de novembre de 2022

**59/553 Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya Núm.8758 -
22.9.2022**

Els avenços de la biologia s'han accelerat notablement en les darreres dècades. En aquest camp s'han produït grans canvis de paradigma (com el descobriment de la cèl·lula, el de la teoria de l'evolució, el naixement de la biologia molecular i el descobriment dels virus i els prions, entre d'altres) que han revolucionat el concepte d'organisme viu i la comprensió del seu funcionament.



INFORME GRUPO DE TRABAJO NACIONAL EvAU BIOLOGÍA

PREÁMBULO

Por último, y aprovechando este informe, nos gustaría transmitir a la CRUE y al organismo que corresponda, la gran incertidumbre que nos han generado las noticias que nos llegan a través de los medios de comunicación sobre el futuro formato de la EvAU y el papel de la asignatura de Biología en dicha prueba y en bachillerato.

La relevancia y rápidos avances en diferentes campos de la Biología hacen necesario abordar fenómenos cuyo conocimiento y comprensión requerirán de una permanente actualización de conocimientos en los diferentes campos de estudio de dicha disciplina.

L'objectiu d'aquesta xerrada és l'actualització de sabers recollits sota la formulació genèrica:

“Diferenciació entre els bacteris i els arqueobacteris”

que forma part dels sabers de segon curs de la matèria Biologia

Aquesta xerrada en cap moment pretén ser un classe de Batxillerat, sinó una revisió i actualització dels sabers sobre l'estructura de la cèl·lula procariota (bacteris i arqueus)

La microbiota

Quan et sentis sol



Recorda que hi ha milions de procariotes que viuen en el teu cos i que signifiqués el seu món per a ells





Grandària dels procariotes

El procariota més gran conegut fins febrer de 2022 era *Thiomargarita namibiensis* (1997). Diàmetre de 0,75 mm

Des de febrer de 2022 és
Ca. Thiomargarita magnifica

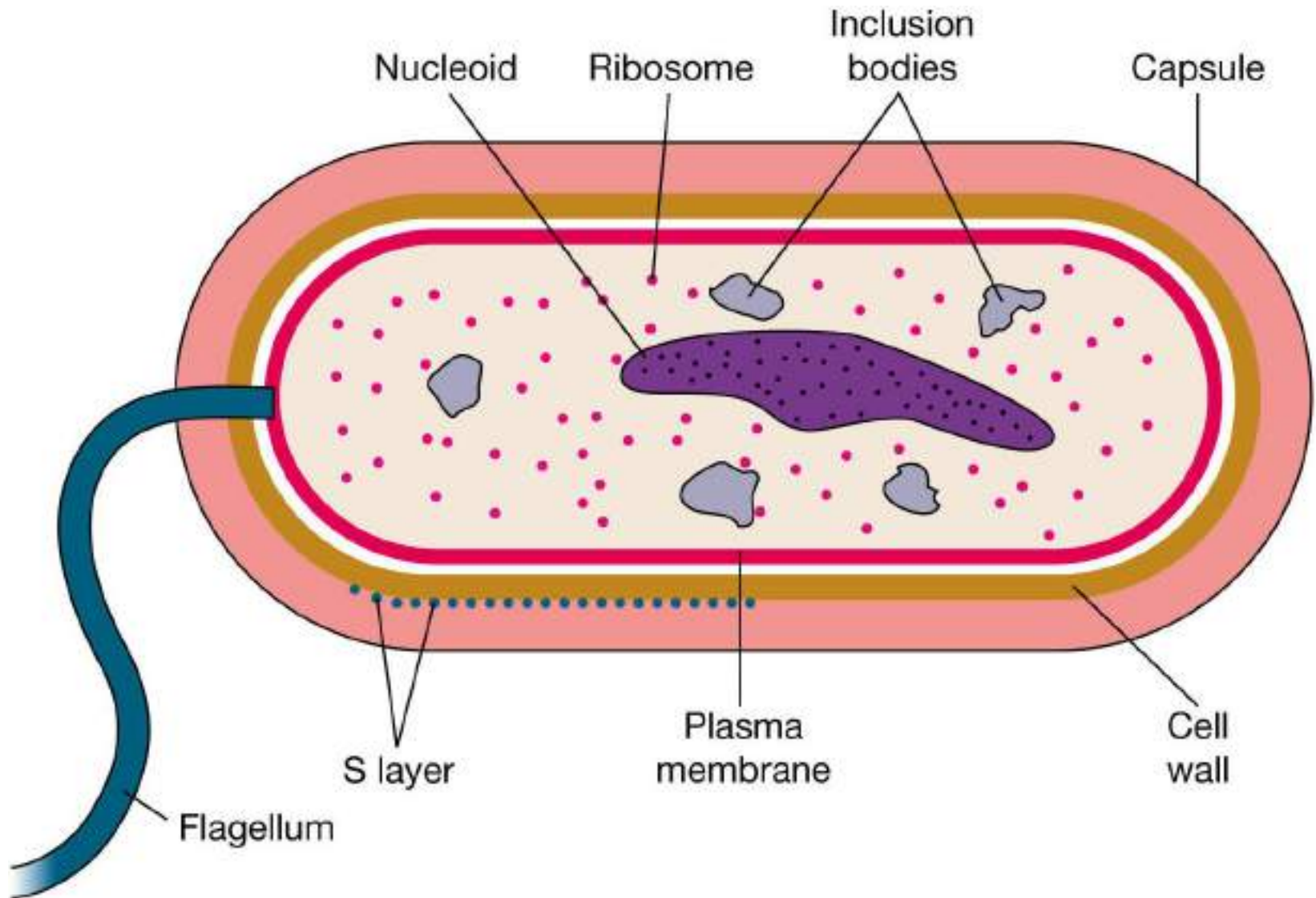
<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.16.480423v1>

Volland et al. 2022. A centimeter-long bacterium with DNA contained in metabolically active, membrane-bound organelles. *Science*, Jun 24;376(6600):1453-1458. doi: 10.1126/science.abb3634.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35737788/>

Cells of most bacterial species are around 2 μm in length, with some of the largest specimens reaching 750 μm . Using fluorescence, x-ray, and electron microscopy in conjunction with genome sequencing, we characterized *Ca. Thiomargarita magnifica*, **a bacterium with an average cell length greater than 9,000 μm that is visible to the naked eye**. We found that these cells grow orders of magnitude over theoretical limits for bacterial cell size through unique biology, display unprecedented **polyploidy of more than half a million copies of a very large genome**, and undergo a dimorphic life cycle with asymmetric segregation of chromosomes in daughter cells. These features, along with **compartmentalization of genomic material and protein synthesis in membrane-bound organelles**, indicate gain of complexity in the *Thiomargarita* lineage, and challenge traditional concepts of bacterial cells

TÍPIC ESQUEMA D'UNA CÈL·LULA BACTERIANA



Maquinaria de síntesi proteica representa del 30 al 70% del pes sec de la cèl·lula

Aspecte granular i extremadament viscós

Pes humit

20% proteïnes

7-20% RNA

2% DNA

1-2% Precursors solubles i ions

(tres vegades la concentració proteica de la clara d'un ou de gallina)

- Citoesquelet
- Regió nuclear o nucleoide ben diferenciat

Informació genètica

Transcripció en la interfície citoplasma-nucleoid

- Orgànuls
- Microcompartiments proteïcs
- Inclusions de reserva

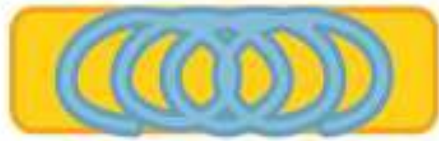
NO MESOSOMES, els quals són artefactes originats durant la tinció a l'observació microscòpia

Protein	Cartoon	Bacteria or archaea	Distribution	Function
Tubulin superfamily				
FtsZ		Bacteria	Almost all bacteria	Organization of cell division processes
		Archaea	Almost all Euryarchaeota, some other archaea	Organization of cell division processes
FtsZ _m		Bacteria	Some magnetotactic bacteria	Unclear role in magnetosome function
CetZ		Archaea	Some Euryarchaeota	Control of cell shape
TubZ		Bacteria	Diverse bacterial plasmids, bacteriophage genomes, some chromosomal copies	Segregation of plasmids and phage DNA, others unknown
BubAII		Bacteria	<i>Prostheco bacter</i> spp. (<i>Verrucomicrobia</i>)	Unknown
Artubulin	?	Archaea	Some Thaumarchaeota	Unknown
FtsZ _I	?	Bacteria	Diverse bacteria	Unknown, possibly membrane remodelling
	?	Archaea	Diverse Euryarchaeota, possibly Crenarchaeota	Unknown, possibly membrane remodelling
Actin superfamily				
MreB		Bacteria	Almost all non-cocoid bacteria	Organization of cell wall synthesis
	?	Archaea	Archaeal actins whose closest homologues are MreB remain unstudied	Unknown
FtsA		Bacteria	Many bacteria, not identified in Archaea	Cooperates with FtsZ during cell division
MamK		Bacteria	Magnetotactic bacteria	Alignment of magnetosomes
ParM-like		Bacteria	Diverse bacterial plasmids, bacteriophage genomes, some chromosomal copies	Segregation of plasmids and phage DNA, others unknown
	?	Archaea	A group of archaeal actins, including Is0583, related to bacterial ParMs	Unknown
Crenactin	?	Archaea	Some Crenarchaeota	Putative role in cell division



Coiled coil filaments				
Crescentin		Bacteria	<i>Caulobacter</i> spp.	Required for cell curvature, modulates cell wall synthesis
Scy, FilP		Bacteria	Actinobacteria	Role in organization of polar growth
CCRPs	?	Bacteria	Diverse bacteria	Diverse cytoskeletal roles, mostly unknown
DivIVA		Bacteria	Most Gram-positive bacteria and some others	Varied roles in organization of growth at poles and division
ESCRT		Archaea	Diverse archaea, ubiquitous in some classes of Crenarchaeota	Division in some cases, others unknown
CrvA		Bacteria	<i>Vibrio</i> spp.	Promotes cell curvature
Other filament systems				
Bactofilins	?	Bacteria	Diverse bacteria	Control of cell shape, mostly unknown
SepF		Bacteria	Most Gram-positive bacteria, all Cyanobacteria	Cooperates with FtsZ during cell division
	?	Archaea	FtsZ-containing archaea (Euryarchaeota and others)	Putative FtsZ membrane anchor
PopZ		Bacteria	Some Gram-negative bacteria	Cell pole marker, signalling hub
SpoIVA		Bacteria	Sporulating Firmicutes	Forms a protein coat around forespores
Periplasmic flagella		Bacteria	Spirochaetes	Forms helical cytoskeleton and produces motility
Fibril		Bacteria	<i>Spiroplasma</i> spp.	Forms cytoskeletal ribbon

Tipus Actina
Forma cel·lular
Segregació cromosòmica



MreB

Tipus Tubulina
Divisió cel·lular



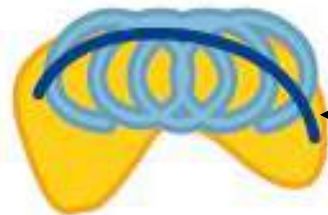
Anell Z



MreB

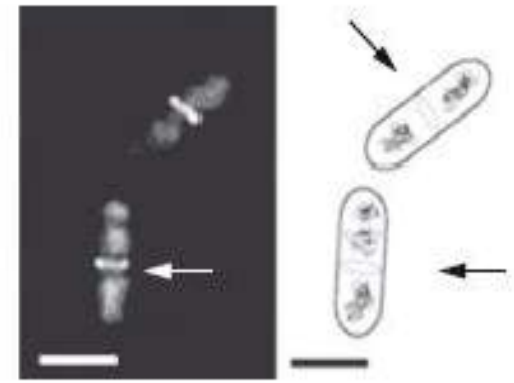


MreB



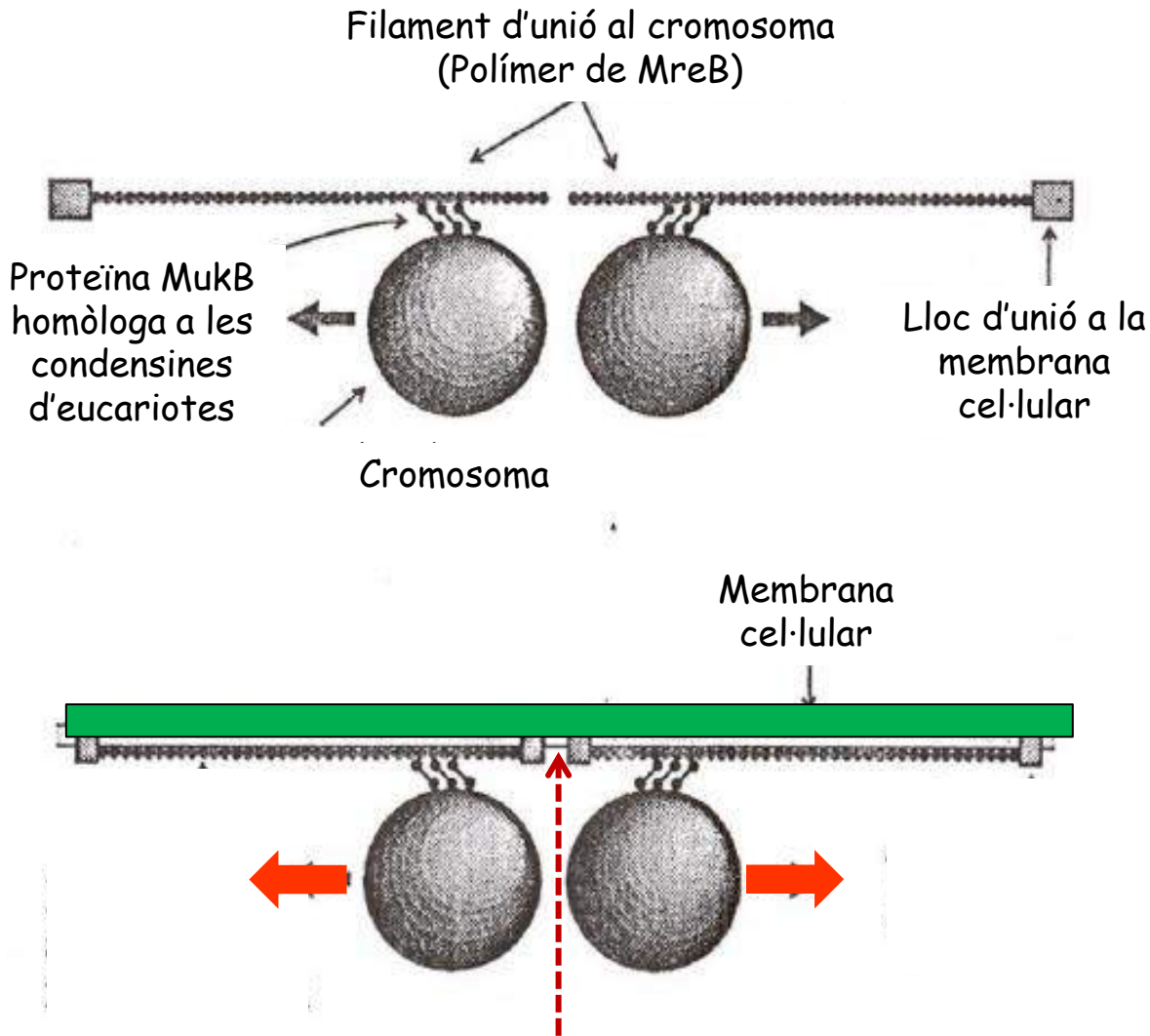
CreS

Forma cel·lular
Tipus filament
intermedi
Caulobacter crescentus



Anell Z

Proteïna MreB i segregació cromosòmica



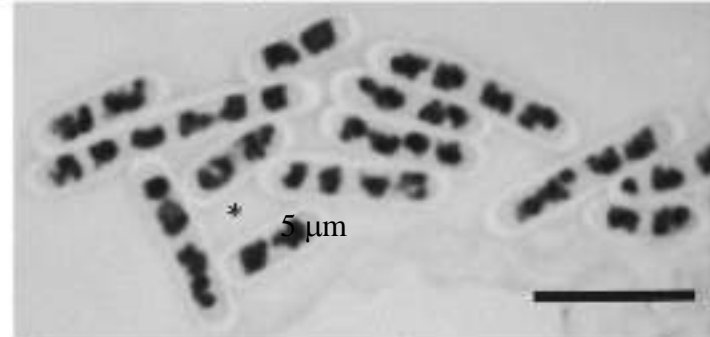
Polimerització de MreB i desplaçament dels cromosomes als pols cel·lulars

Nucleoids de *Bacillus* tenyits amb HCl-Giemsa

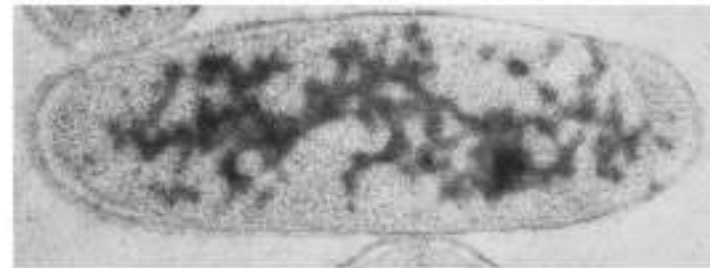
Immunodetecció de DNA d'*E. coli* en creixement.

Model de dos nucleoides en d'*E. coli* en creixement. Noteu que el nucleoide metabòlicament actiu no és compacte ni esfèric, sinó que es projecta cap a la matriu citoplasmàtica

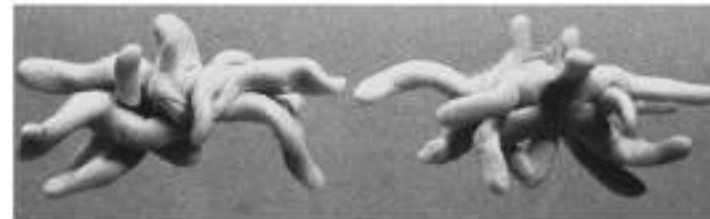
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(a)



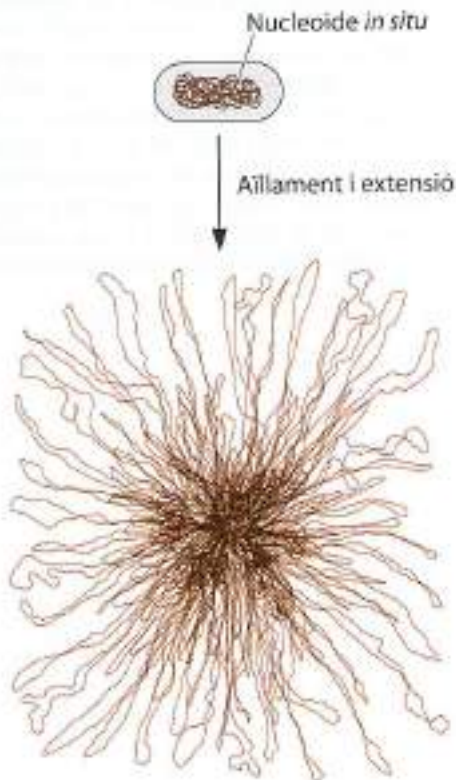
(b)



(c)

CROMOSOMA: Element genètic autoreplicatiu que codifica els productes essencials (gens *house-keeping* o de manteniment de la cèl·lula), implicats en el metabolisme en totes les diferents condicions de creixement

Fixeu-vos bé en el problema de mides entre el cromosoma i la cèl·lula



El cromosoma de la soca MG1655 d'*Escherichia coli* K-12 és DNA circular i covalentment tancat (ccc DNA, sigles en anglès de *covalently closed circular DNA*).

Té una mida de **4.639 kb** i codifica 4.150 gens.

Si s'obris totalment, s'obté una **circumferència de aproximadament 1,5 mm amb un diàmetre de 0,5 mm**, el que significa 500 vegades el diàmetre d'una cèl·lula.

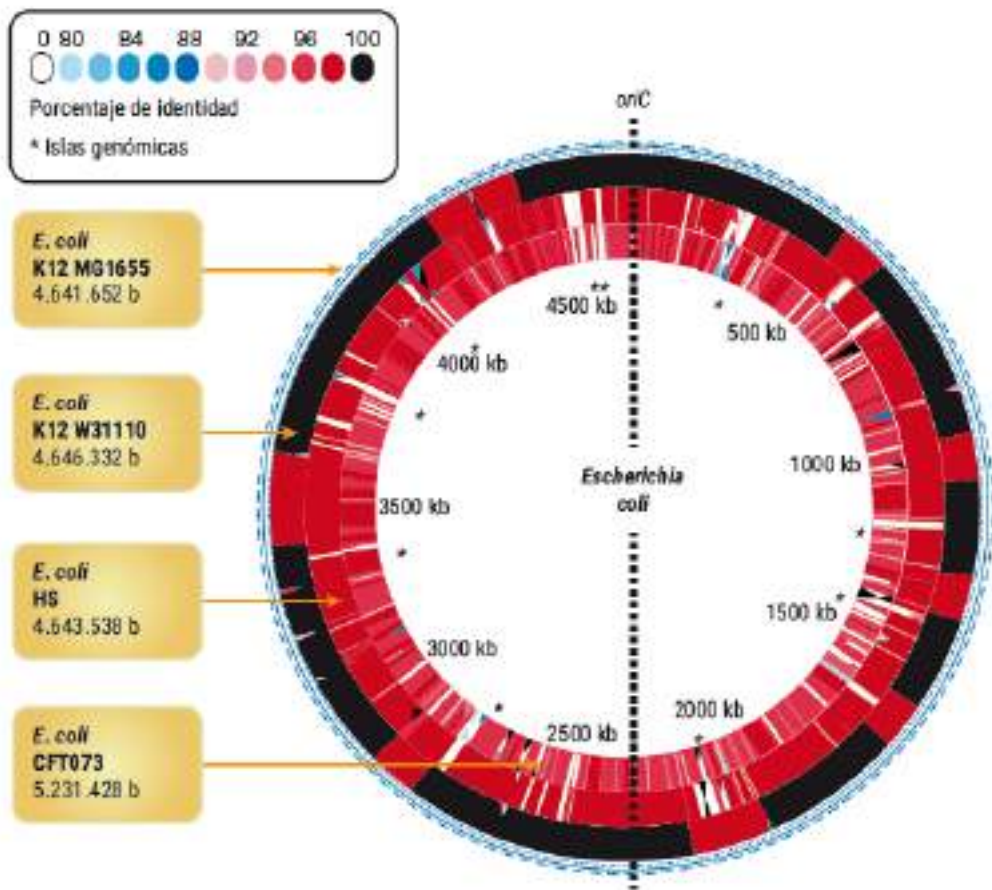
Per situar-nos en context, l'operó lactosa té una longitud de **1,7 µm**.

Cromosoma: Mida, geometria i número



Organisme	Trets	Mb	Nº	Geometria
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Genoma cel.lular més petit?	0,58	1	Circular
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Malaltia de Lyme	0,91	1	Lineal
<i>Haemophilus influenzae</i>	Diferents patologies	1,83	1	Circular
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	Fototròfic	4.00	2	Circular
<i>Bacillus subtilis</i>	Grampositiu, model genètic	4,21	1	Circular
<i>Escherichia coli</i>	Gramnegatiu, model genètic	4,64	1	Circular
<i>Streptomyces coelicolor</i>	Actinomicet, productor d'antibiòtics	8,66	1	Lineal
<i>Methanococcus jannaschii</i>	Metanògen, creix a elevada temperatura	1,66	1	Circular
<i>Halobacterium sp NRC1</i>	Creix a elevada concentració salina	2,57	3	Circular
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Creix a elevada temperatura i pH àcid	2,99	1	Circular
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Eucariota microbià: Llevat, model genètic, aplicacions industrials	12,06	16	Lineal

Contingut i similitud del DNA dels cromosomes de diferents soques d'una mateixa espècie



- Major similitud entre les dues soques K12.
- Soca HS, és comensal
- Soca CFT073 és patògena i és la que presenta menys similituds amb les altres soques.

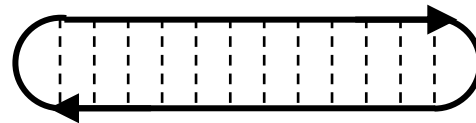
Cromosomes circulars (cccDNA)

Avantatge: No presenten extrems lliures que puguin facilitar l'acció de les exonucleases

Cromosomes lineals

Problema: Presenten extrems lliures sensibles a l'acció de les nucleases intracel·lulars

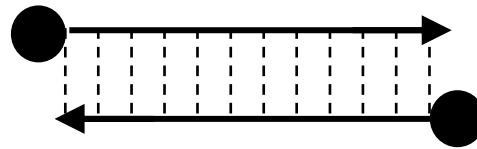
Borrelia



hairpin telomere

Extrems covalentment tancats

Streptomyces



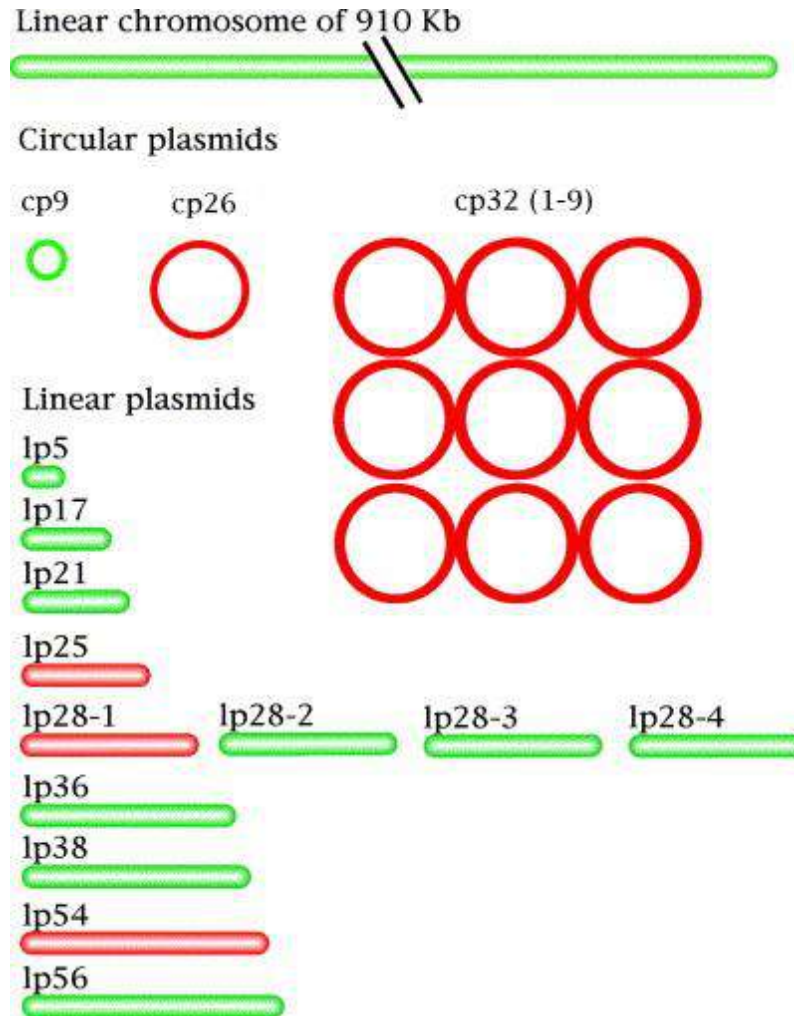
invertron telomere

Proteïna covalentment unida a l'extrem 5'

Genoma: Cromosomes, plasmidis i megaplasmidis

Espècie bacteriana	Composició del genoma
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 Cromosoma circular (2,9 Mb), 1 Cromosoma lineal (2 Mb) 2 Megaplasmidis (0,54 i 0,2 Mb)
<i>Brucella melitensis</i>	2 Cromosomes circulars (2,1 i 1,1 Mb)
<i>Leptospira interrogans</i>	1 Cromosoma circular (4,3 Mb) 1 Megaplasmidi (0,36 Mb)
<i>Rhizobium meliloti</i>	1 Cromosoma circular (3,6 Mb) 2 Megaplasmidis (1,7 i 1,6 Mb)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	2 Cromosomes circulars (2,2 i 1,2 Mb)
<i>Vibrio cholerae</i>	2 Cromosomes circulars (2,3 i 1 Mb)

Genoma de *Borrelia burgdoferi*



Adaptat de Stewart et al. 2005. Plasmid, 53:1-13

PLASMIDI: Element genètic autoreplicatiu que **NO CONTÉ** gens *house-keeping*

ATENCIÓ. WIKIPEDIA DIU: Los plásmidos son moléculas de ADN extracromosómico generalmente circular que se replican de manera autónoma y **se transmiten** (esto último por un proceso llamado conjugación) independientemente del ADN cromosómico. Tienen un tamaño **de 3 a 10 kb**

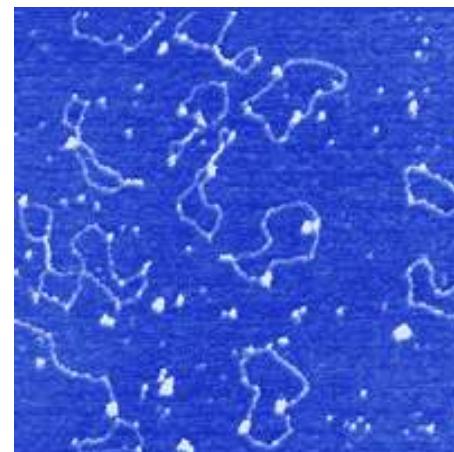
- Normalment dsDNA, circular, covalentment tancat i superenrotllat
- Hi ha plasmidis lineals
- Grandària variable (de 10^3 a $>10^6$ pb)
- Replicació autònoma, coordinada o no amb la replicació del cromosoma
- Nombre de còpies per cèl·lula variable (de 1-2 a més de 100)
- Estructura modular

Origen de replicació

Funcions de Replicació

Partició

Regions no essencials



**Quina diferència hi ha
entre un megaplasmidi
i un cromosoma?**



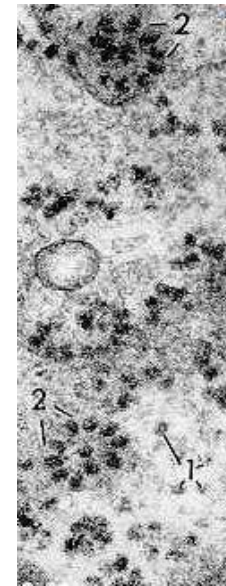
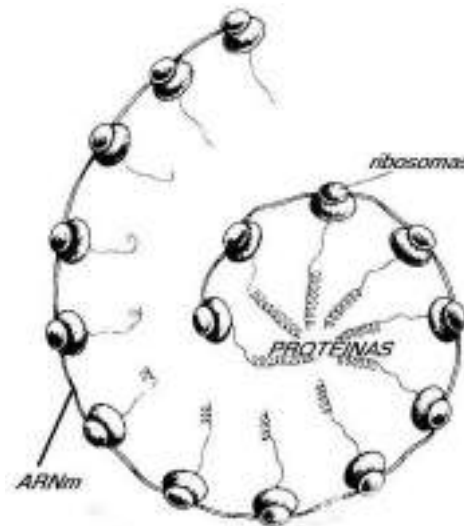
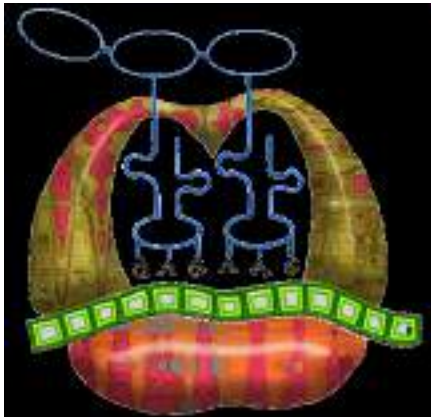
20.000 a 200.000 per cèl·lula

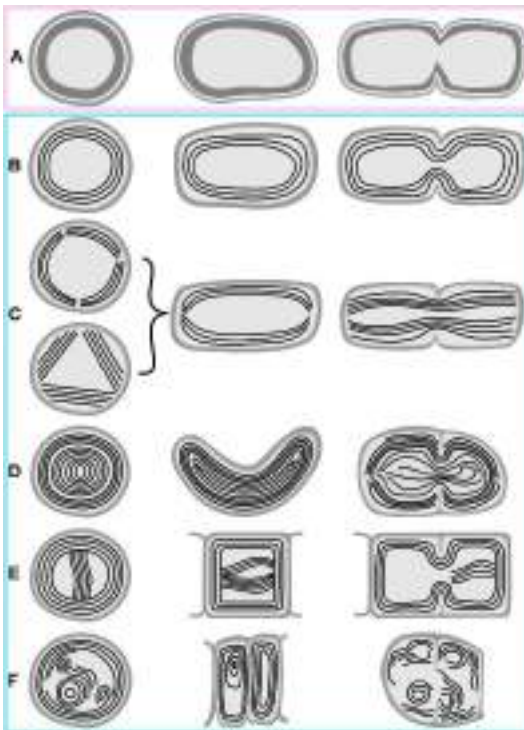
70S

Subunitat petita: 30S (rRNA 16S i 21 proteïnes)

Subunitat gran: 50S (rRNA 23S i 30 proteïnes)

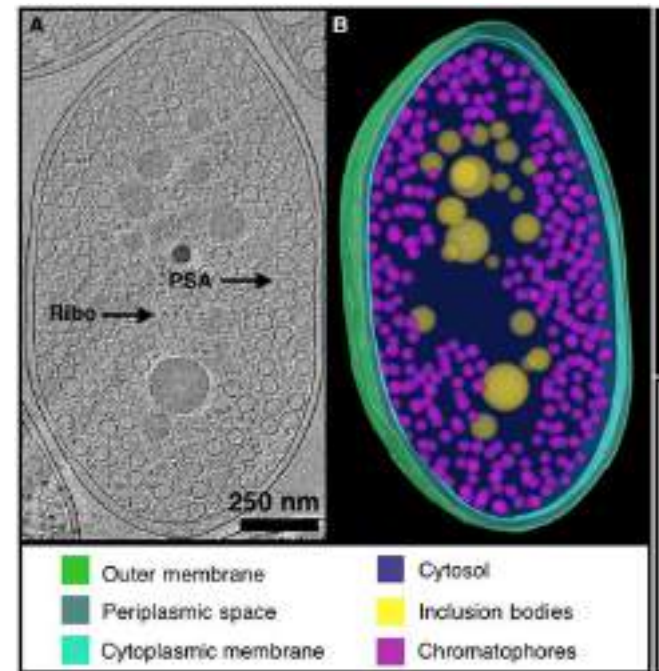
Normalment units a mRNA formant poliribosomes (o polisomes)





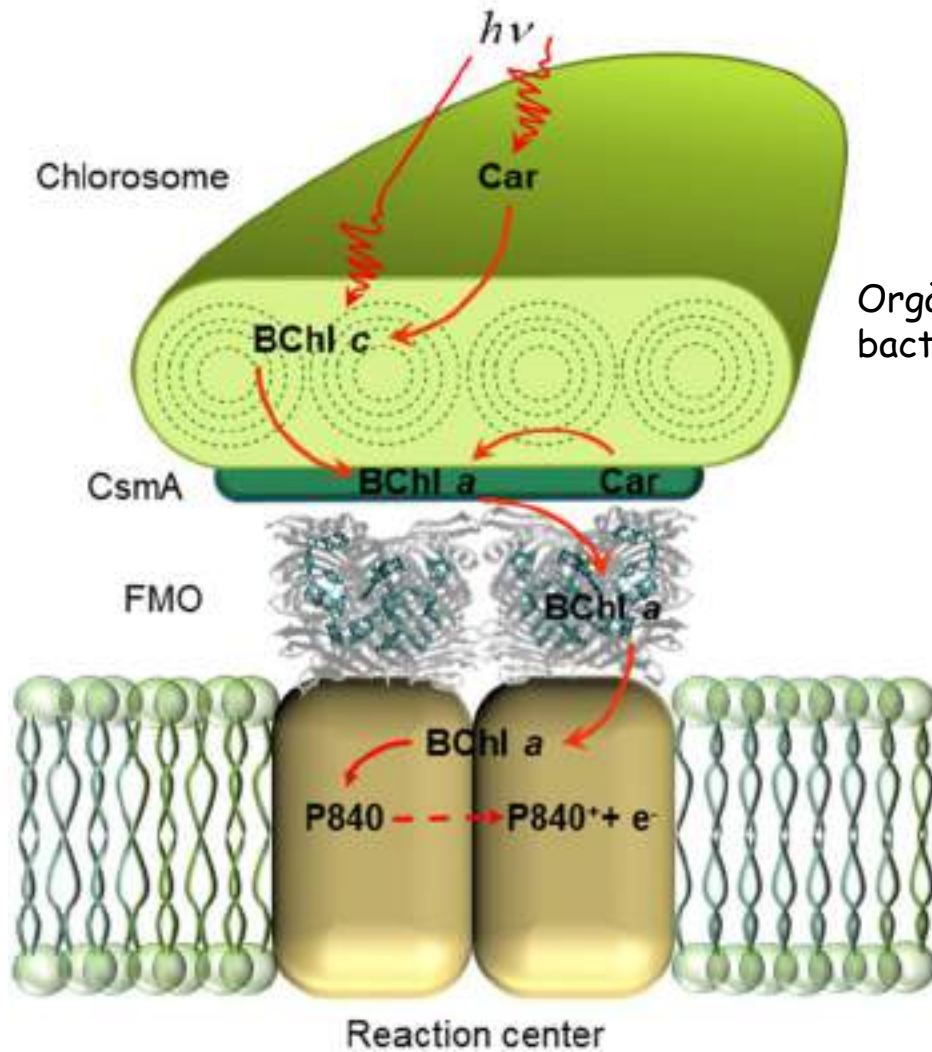
Tilacoides

Organització de les membranes amb tilacoides dels cianobacteris



Cromatòfors

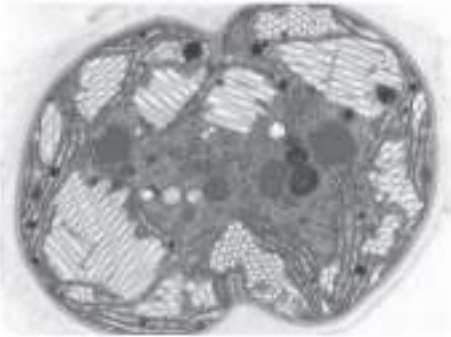
Orgànuls on es realitza la fotofosforil·lació en bacteris fototròfics vermells com *Rhodospirillum rubrum*



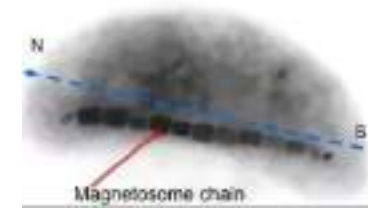
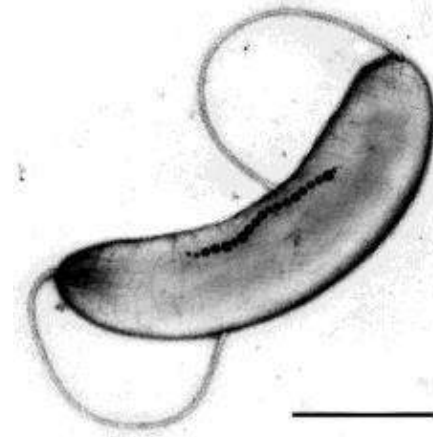
Chlorosomes.

Orgànuls especialitzats en la captació de llum en bacteris fototròfics verds com *Chlorobium* sp.

Vesícules de gas

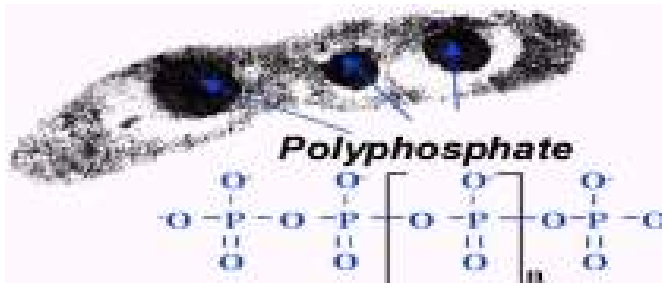


Magnetosomes



Acidocalcisomes

(Grànuls de volutina o metacromàtics)

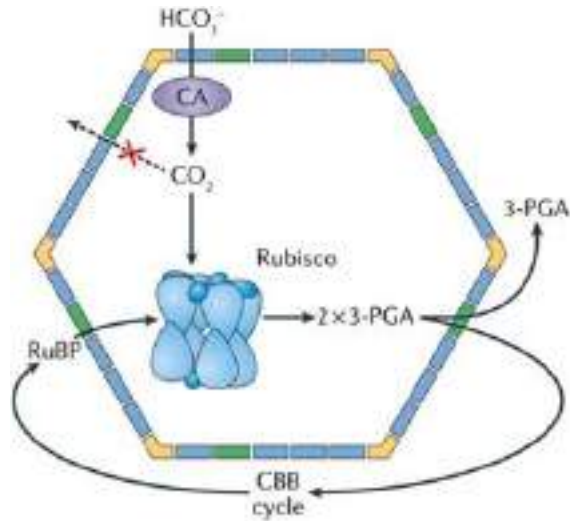


METACHROMATIC GRANULES

- > Also called as Volutin / Babes-Ernst granules.
- > Highly refractive, strongly basophilic bodies consisting of polyphosphate.
- > Appear reddish when stained with Polychrome Methylene blue.
- > Special staining like Albert's or Neisser's demonstrate granules more clearly.
- > Characteristic of diphtheria bacilli.

Metabolosomes

Els metabolosomes tenen més substrats inicials que els carboxisomes, però normalment comparteixen una bioquímica bàsica comuna que es basa en un enzim distintiu



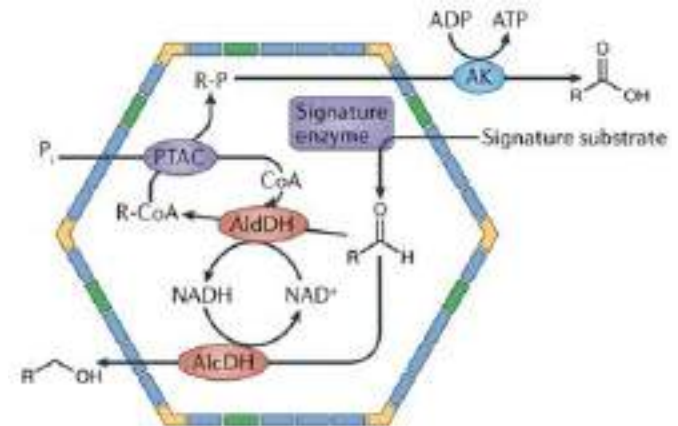
Carboxisoma

Encapsula CO_2 i Rubisco

(ribulosa-1,5-bisfosfat carboxilasa)

per a la fixació del CO_2 com a part del cycle de Calvin-Benson-Bassham.

L'envolta impedeix la pèrdua del CO_2 al citoplasma

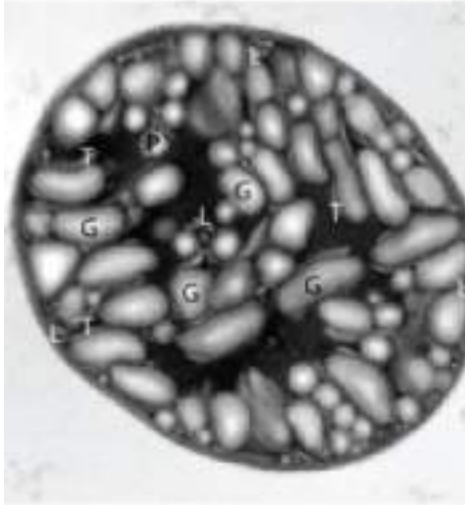


En l'exemple els enzims són:

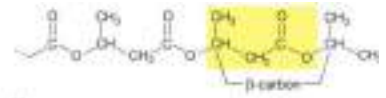
- Enzim distintiu
- Aldehid deshidrogenasa (AldDH)
- Alcohol deshidrogenasa (AlcDH)
- Fosfotransacilasa (PTAC).

L'enzim distintiu genera l'aldehid que després es converteix en un alcohol per l'AlcDH. Aquesta reacció usa CoA i NAD^+ , que es reciclen en una branca de reacció independent que utilitza AldDH i PTAC per produir un producte fosforilat (R-P). Aquest producte és després desfosforilat per una acetil quinasa (AK) en una reacció que genera ATP

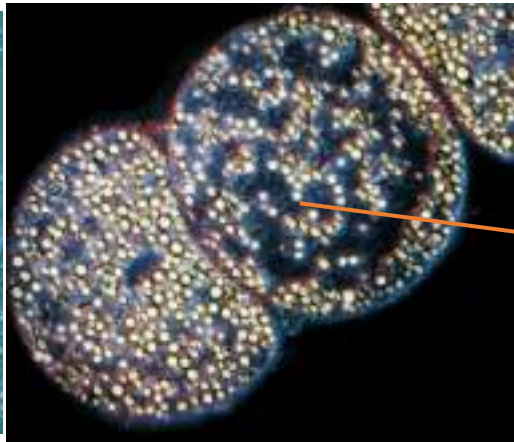
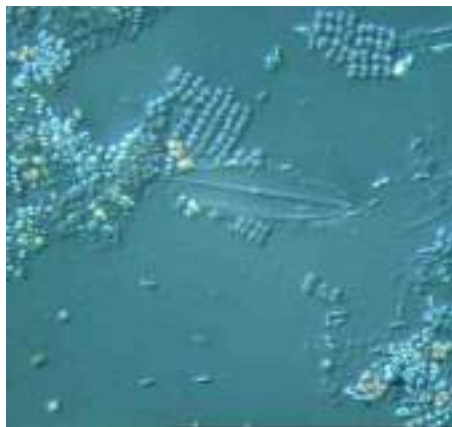
Glicògen



Polihidroxiàlcanoats (PHA) carbonosomes

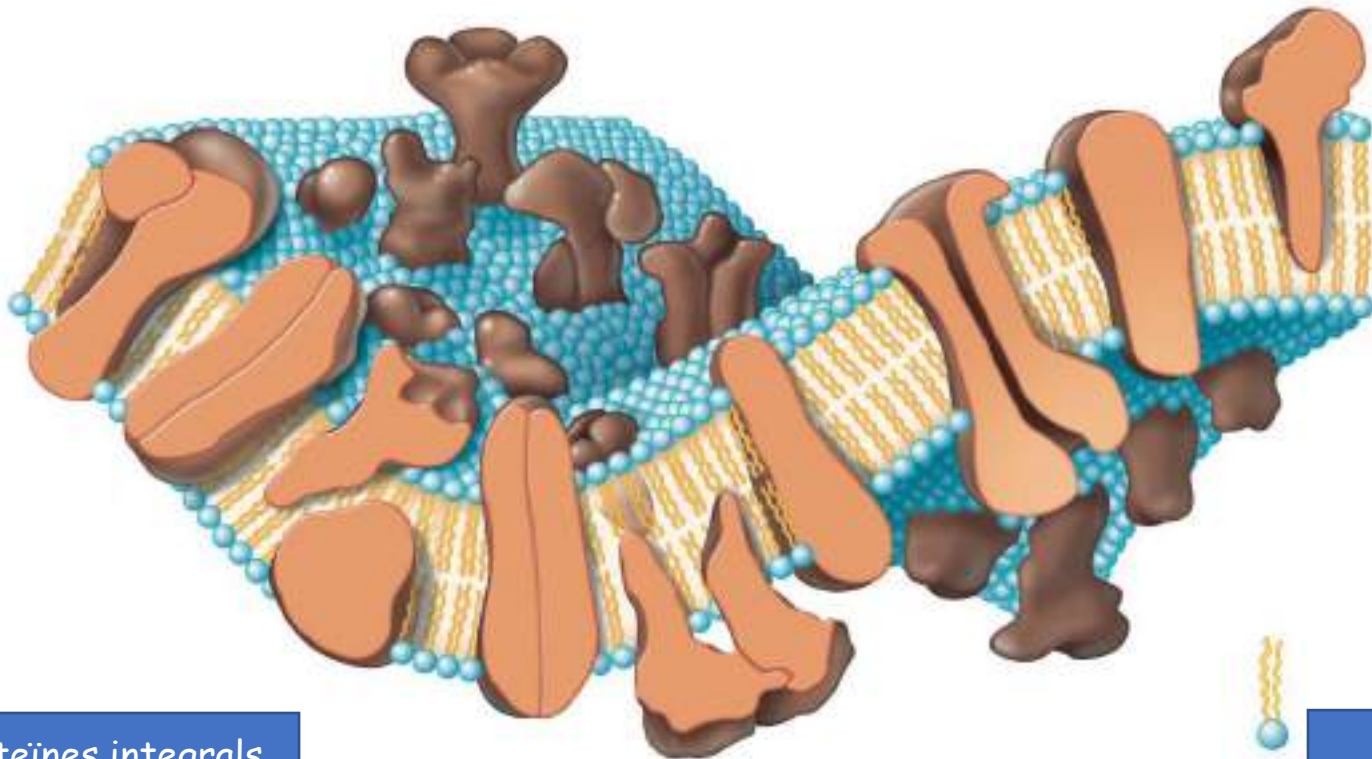


Grànuls de sofre



Thiomargarita namibiensis

LA MEMBRANA CEL·LULAR BACTERIANA



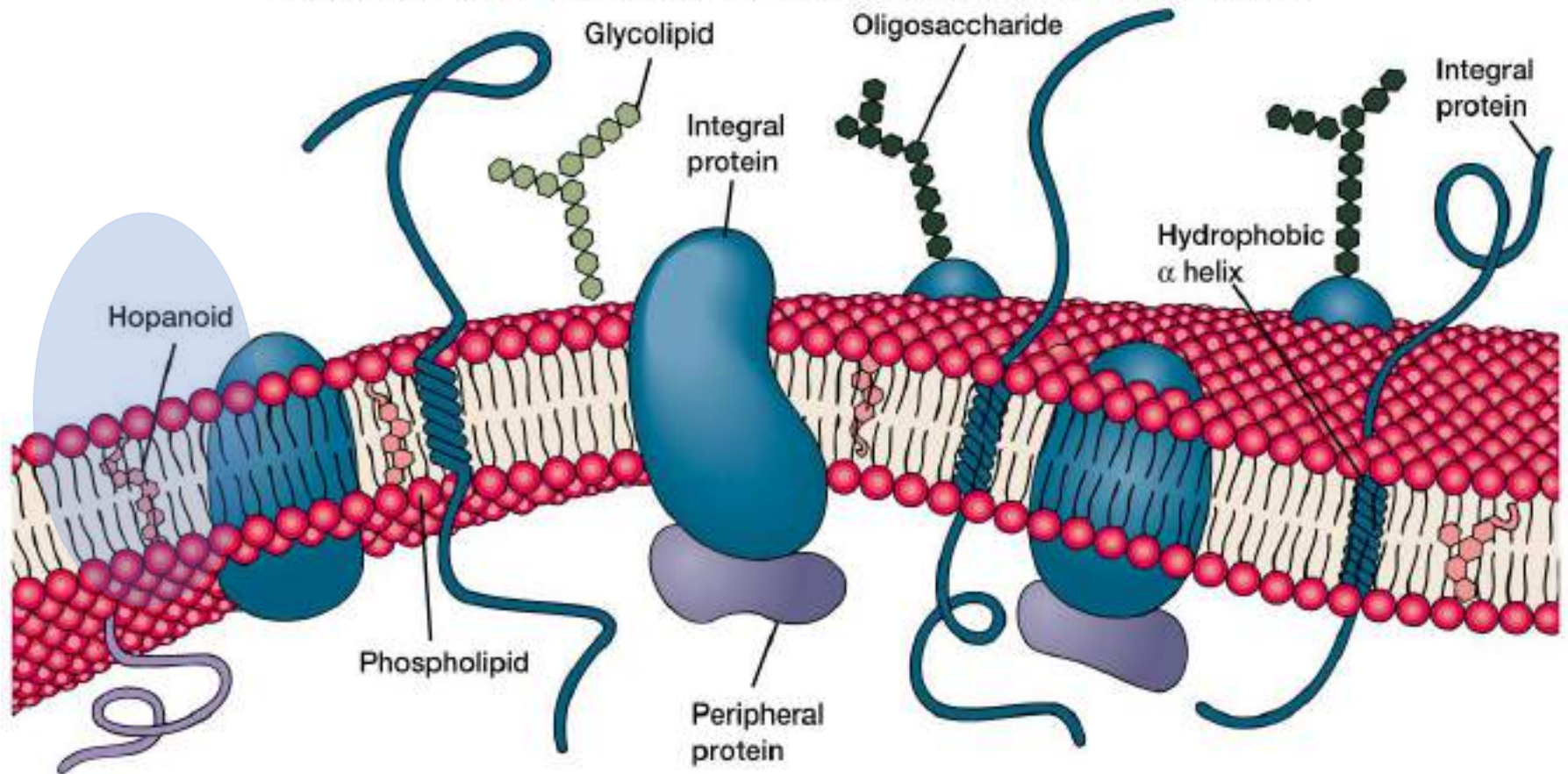
Proteïnes integrals de membrana

Fosfolípids

200 classes diferents de proteïnes: 70% massa de la membrana!!

TÍPICA MEMBRANA BACTERIANA

Copyright © The McGraw-Hill Companies,



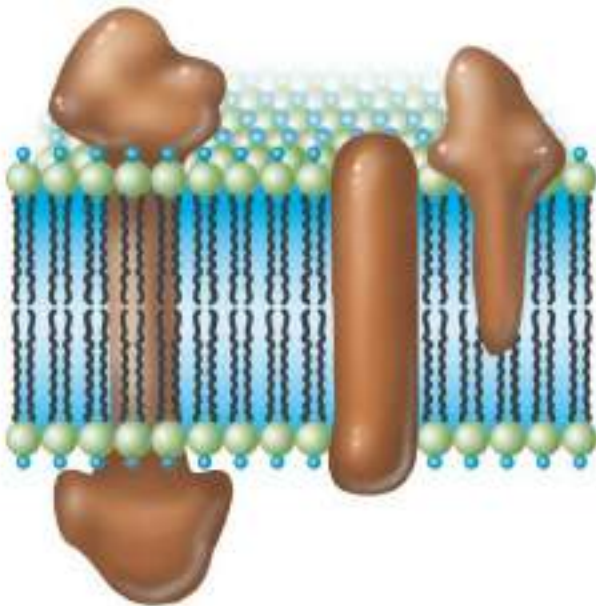
TRENCANT UN PARADIGMA

MEMBRANA CEL·LULAR DELS ARCHAEA.

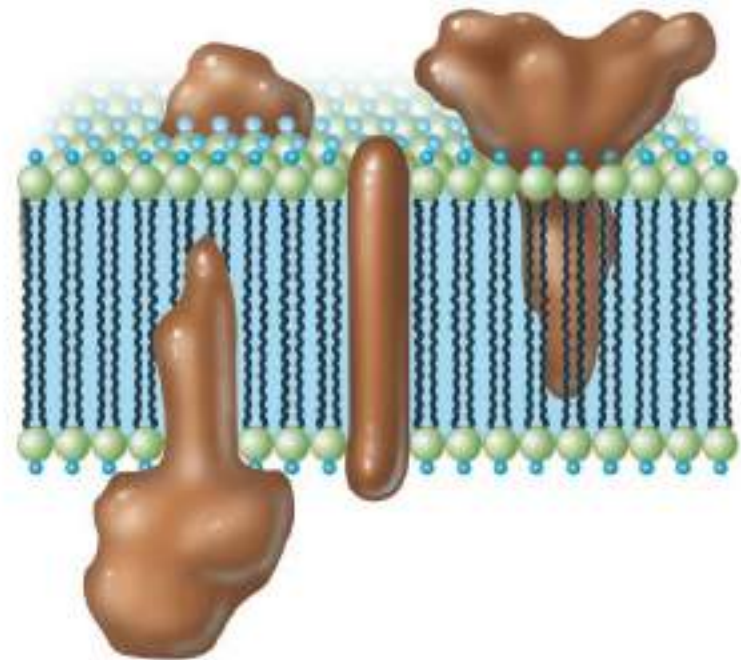
Bicapa lipídica

Monocapa lipídica

Típica de certs hipertermòfils



Dièter de glicerol



Tetraèter de diglicerol

SECRECIÓ DE PROTEÏNES EN GRAMNEGATIUS

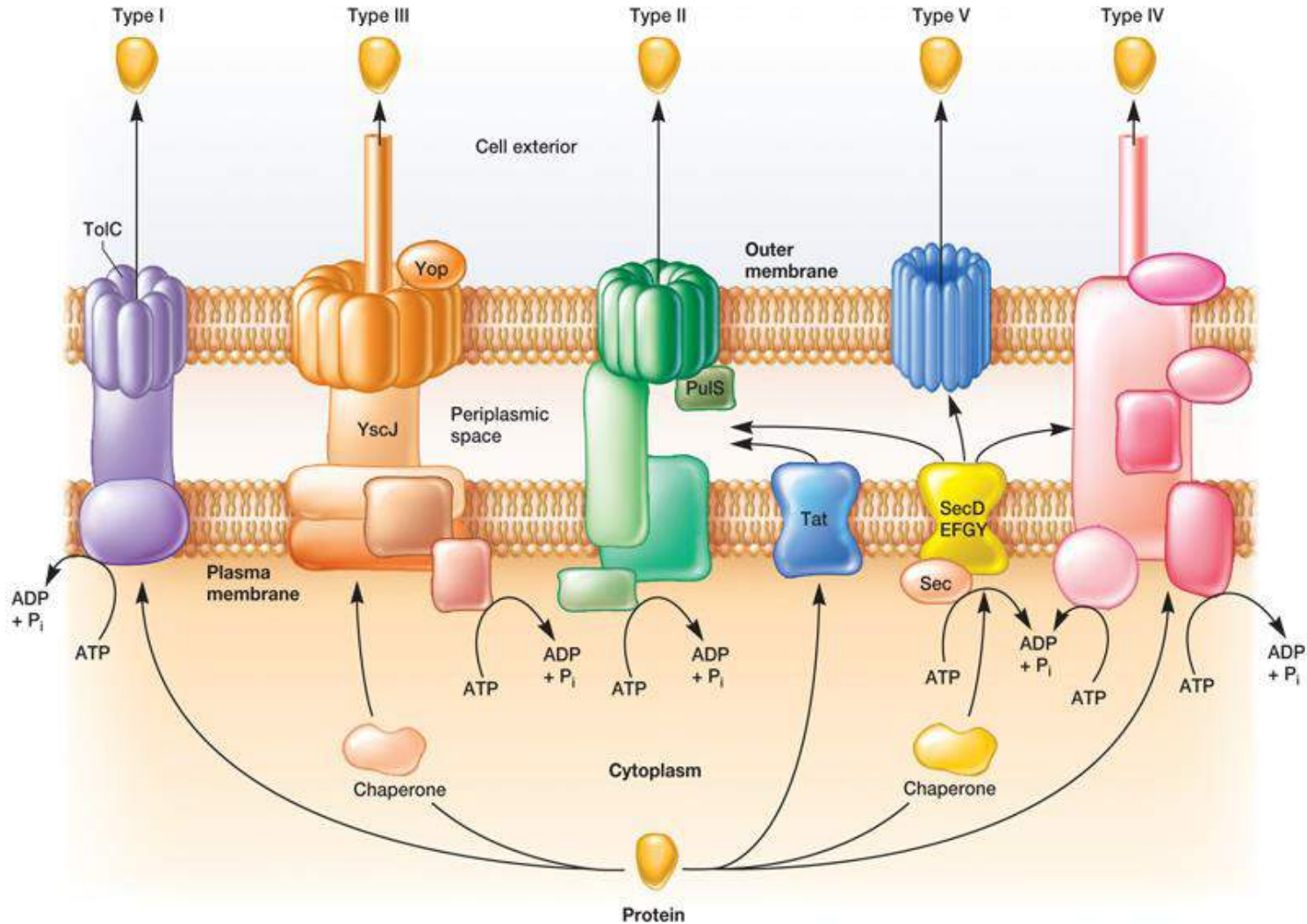
Transportadors ABC, normalment amb dues proteïnes addicionals.

Injecta compostos directament a l'interior de les cèl·lules eucariotes

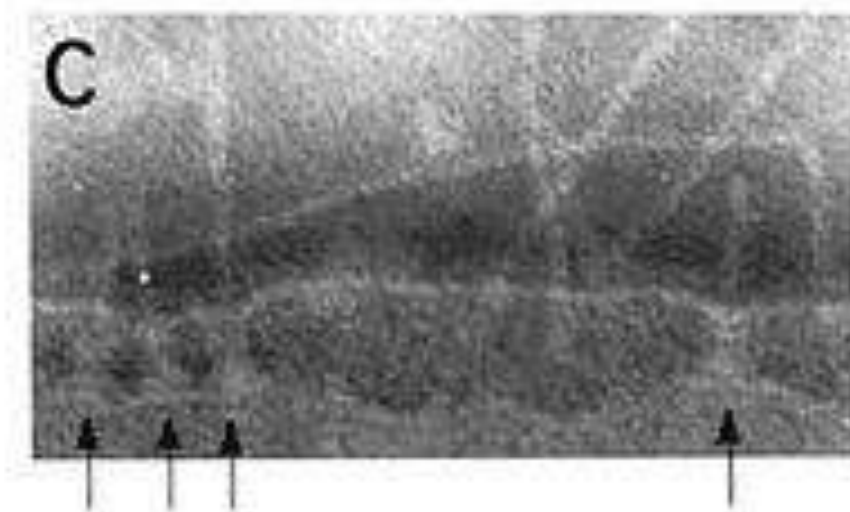
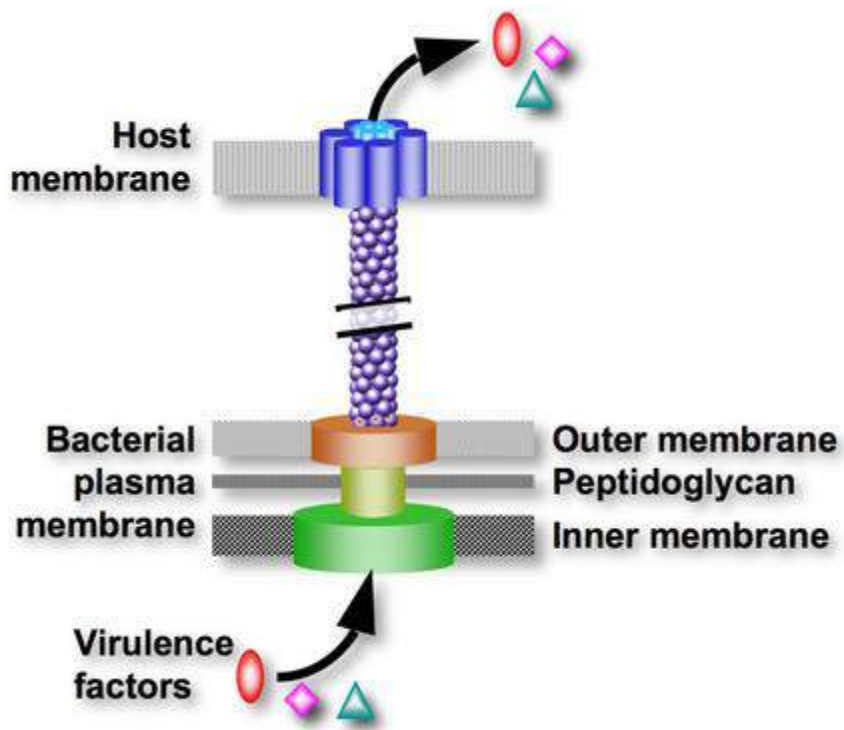
Sistema Tat

Sistema Sec

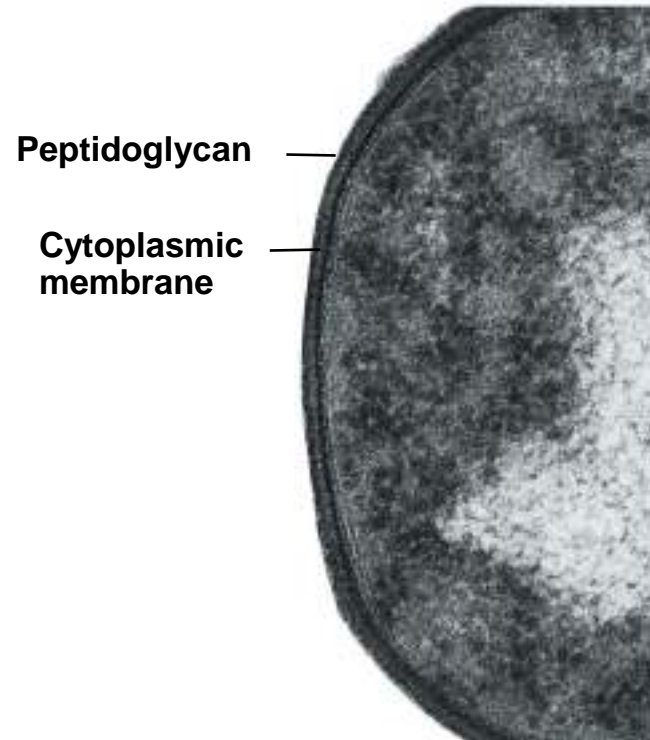
Conjugació/Virulència. Secreten DNA i proteïnes



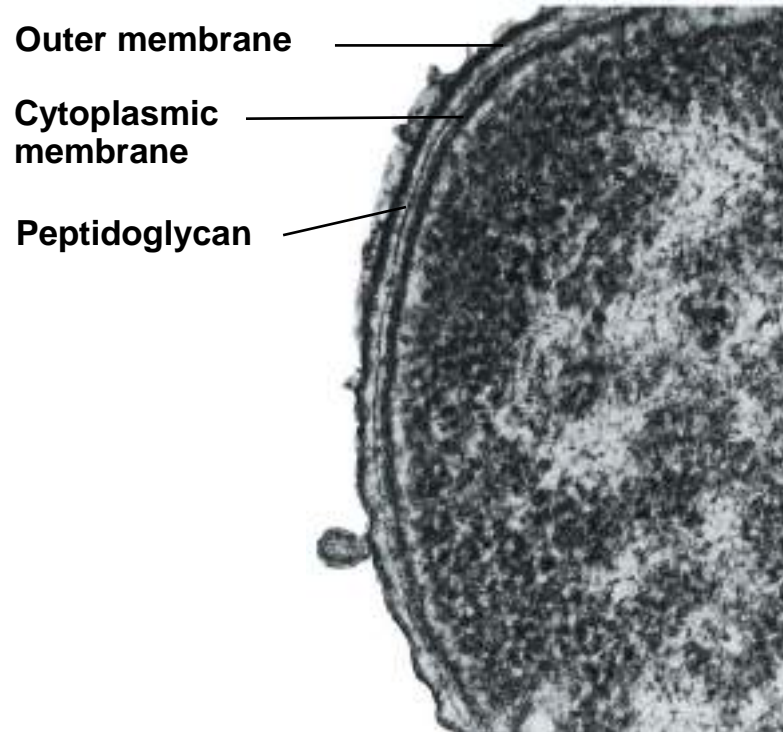
Sistema tipus III de secreció de proteïnes



Paret bacteriana



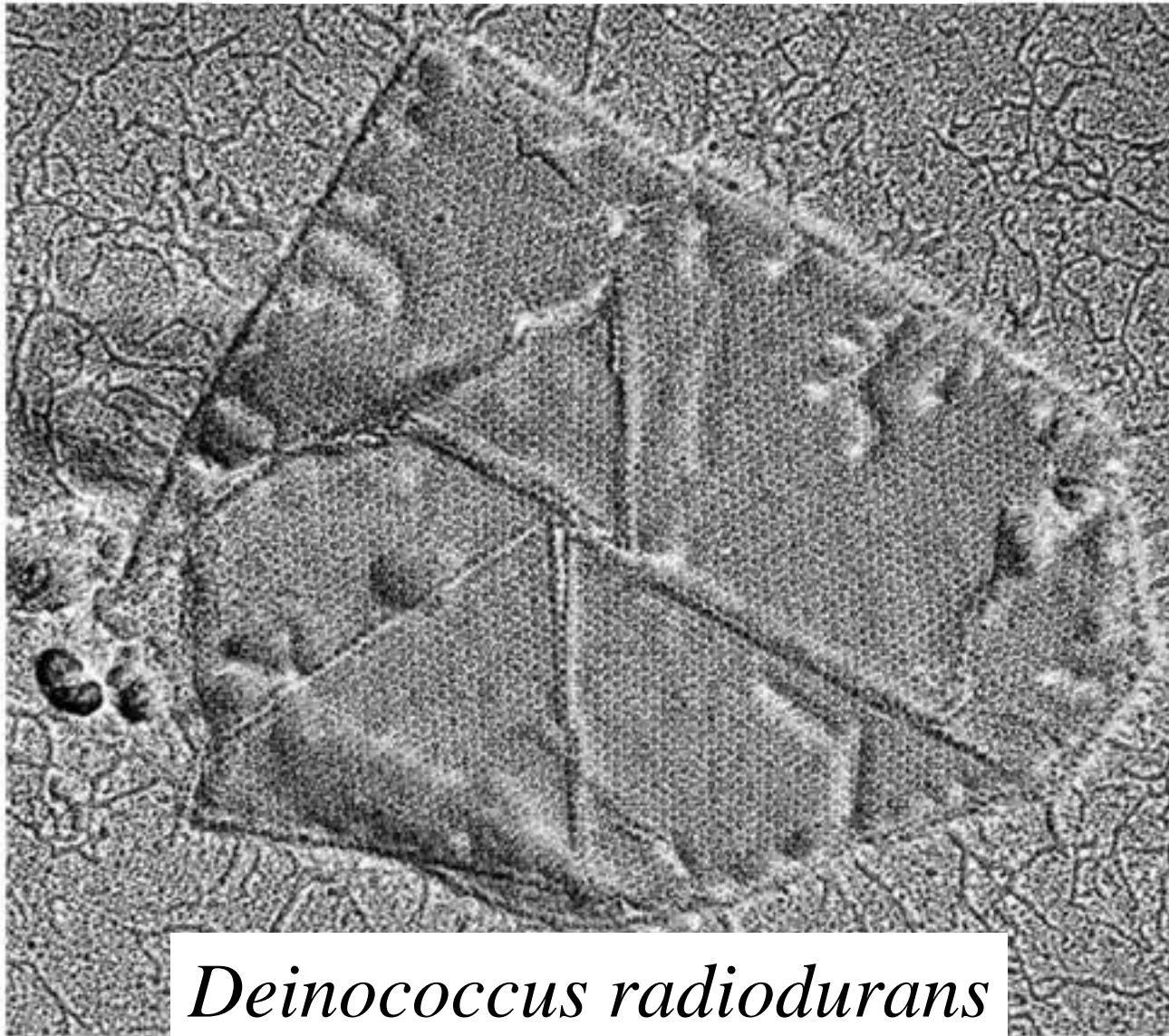
Grampositiu



Gramnegatiu

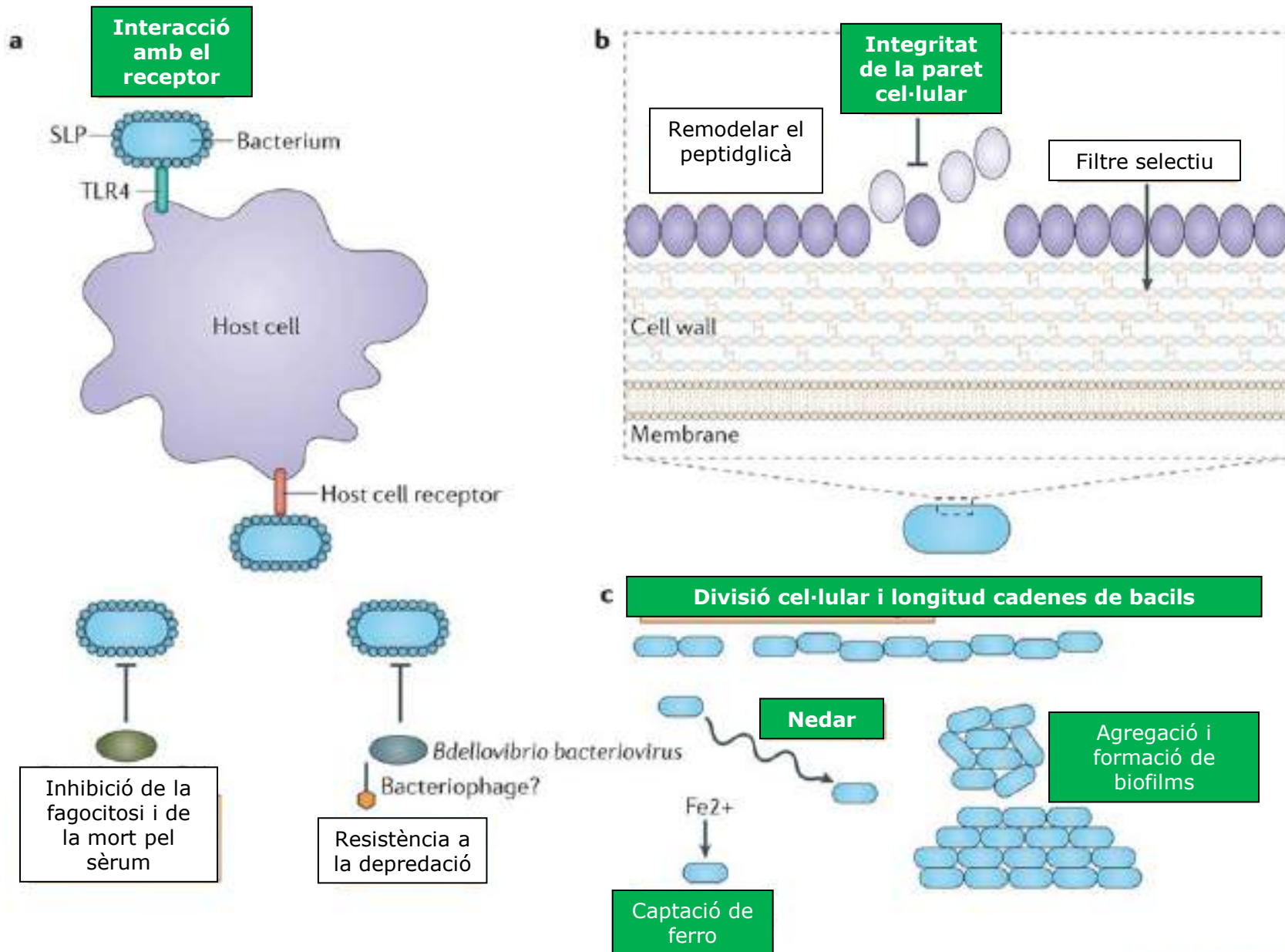
Capes S bacterianes

SLP (S-layer proteins)

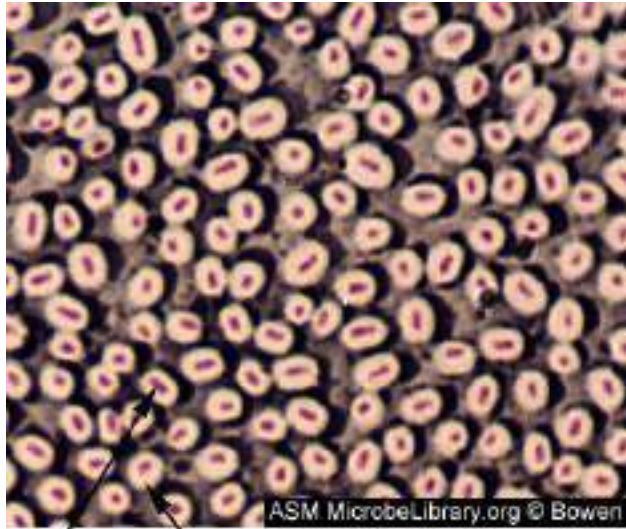


Deinococcus radiodurans

Possibles funcions de les capes S bacterianes

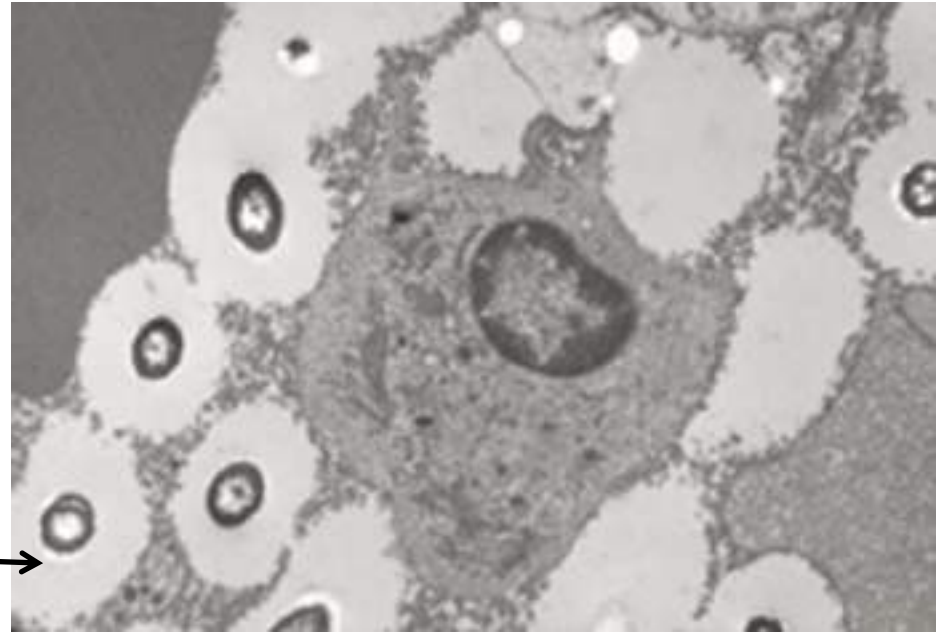


Glicocàlix: Capes mucoses i Càpsules

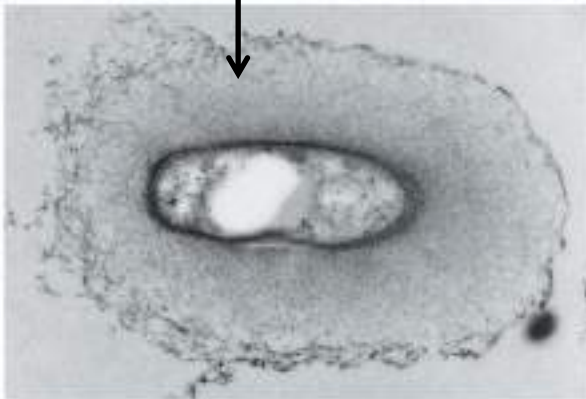


Cell

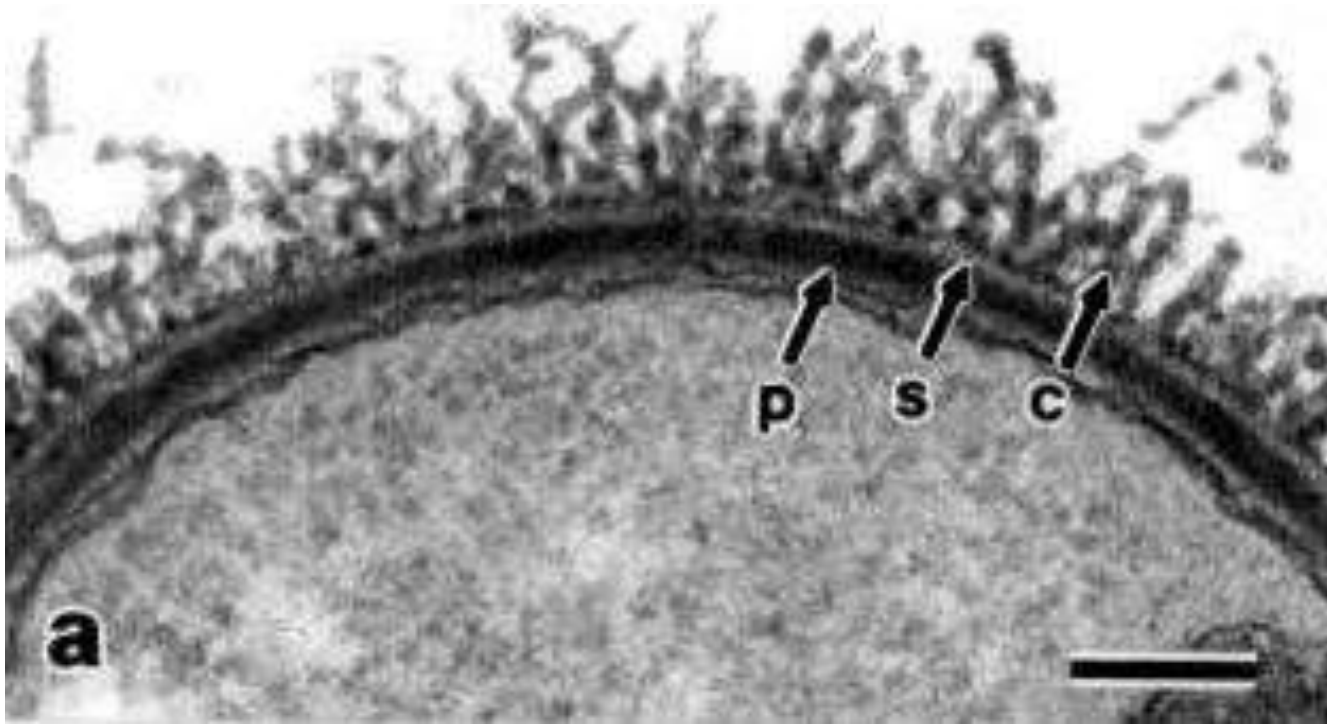
Capsule



Macròfag envoltat de *Bacillus anthracis*

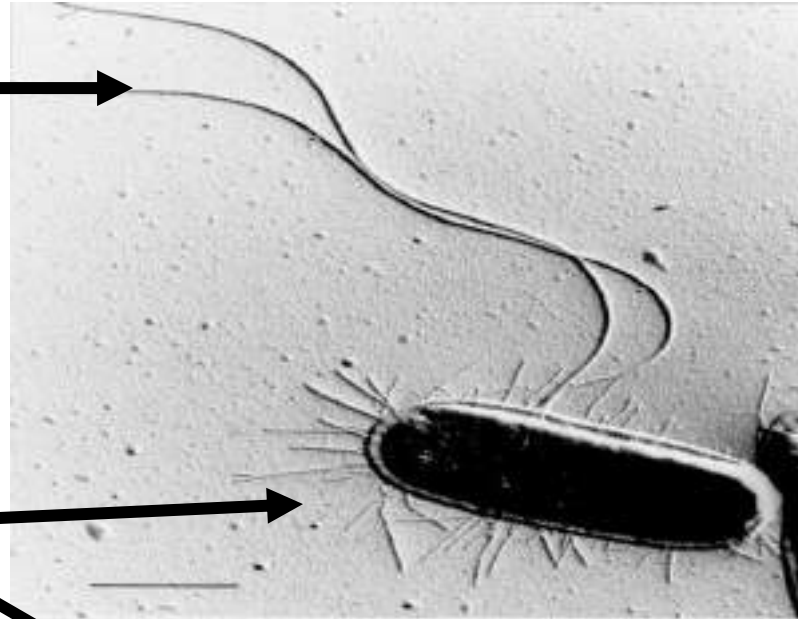


Envoltas de *Bacillus anthracis*

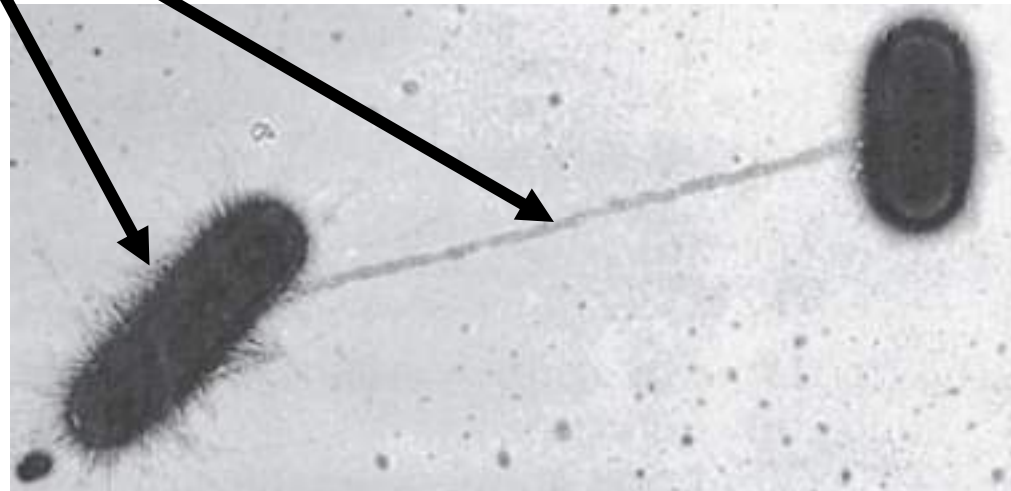
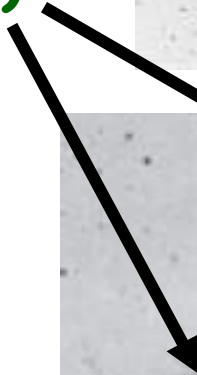


Indica que significa p, s i c en la imatge

Flagels



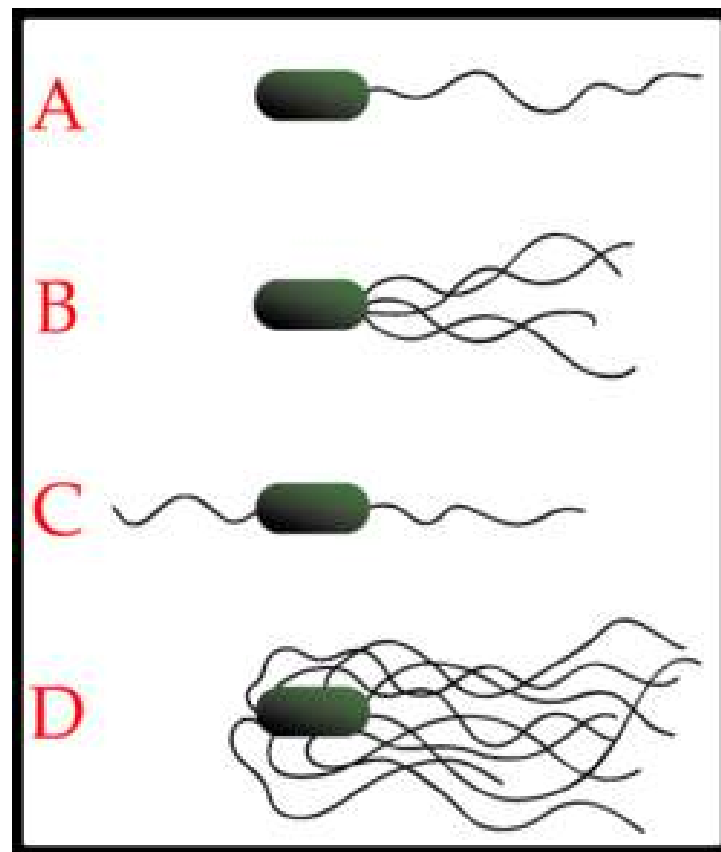
Fímbries o pili (*pilus*)



ELS FLAGELS

Són diferents dels flagels d'eucariotes

A: Polar Monòtrica
B: Polar Lofòtrica
C: Polar Anfítrica
D: Perítrica



Estructura semi-rígida

- No és flexible
- Longitud d'ona típica de cada espècie
- Moviment rotacional

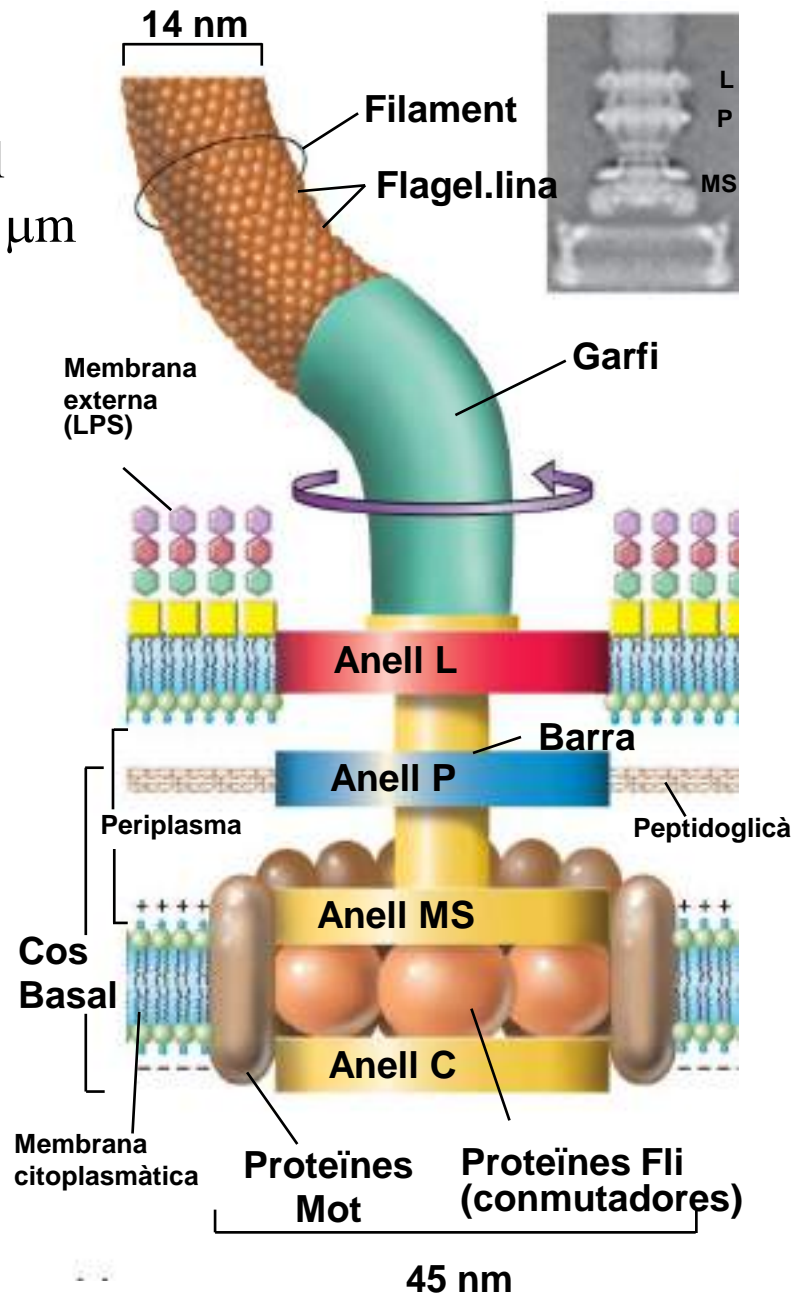
Energia

- Translocació H^+
- 1000 H^+ per una rotació

Desplaçament en medis líquids

- Bacteri:
30-100 Longituds cel·lular/s
0,17 m/h
- Guepard:
25 Longitud del cos/s
110 Km/h

Longitud del filament: 10-20 μm



LES FÍMBRIES O PILI

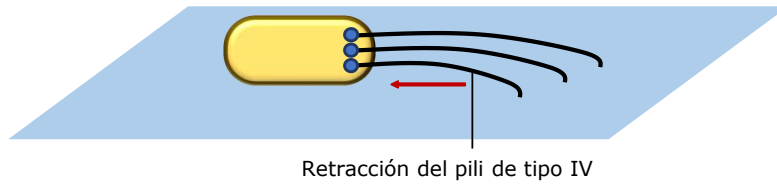
Apèndixs filamentosos de naturalesa proteica, formats per subunitats de pilina covalentment unides o no.

Hi ha diferents tipus definits en funció de com es realitza l'assemblatge.

Tenen diferents funcions important per la cèl·lula com:

- Adhesió a superfícies i colonització (invasió del hospedador en el cas de patògens)
- Formació de biopelícules (*biofilms*)
- Mobilitat en superfícies (*twitching*)

Pili de tipus IV

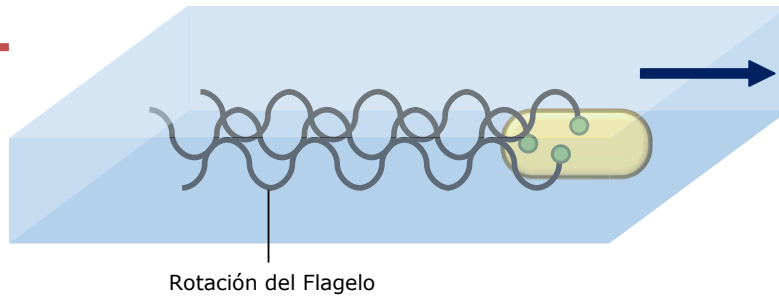


➤ *Twitching*

- Extensió, adhesió i retracció dels pili de tipus IV
- Desplaçament poblacional en superfícies sòlides

<https://www.youtube.com/watch?v=yGMSQNBDq48>

Flagel

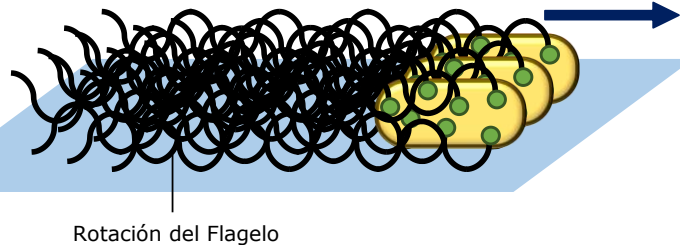


➤ *Swimming*

- Rotació flagel·lar
- Desplaçament individual en medis aquosos

Polar

Perítrica



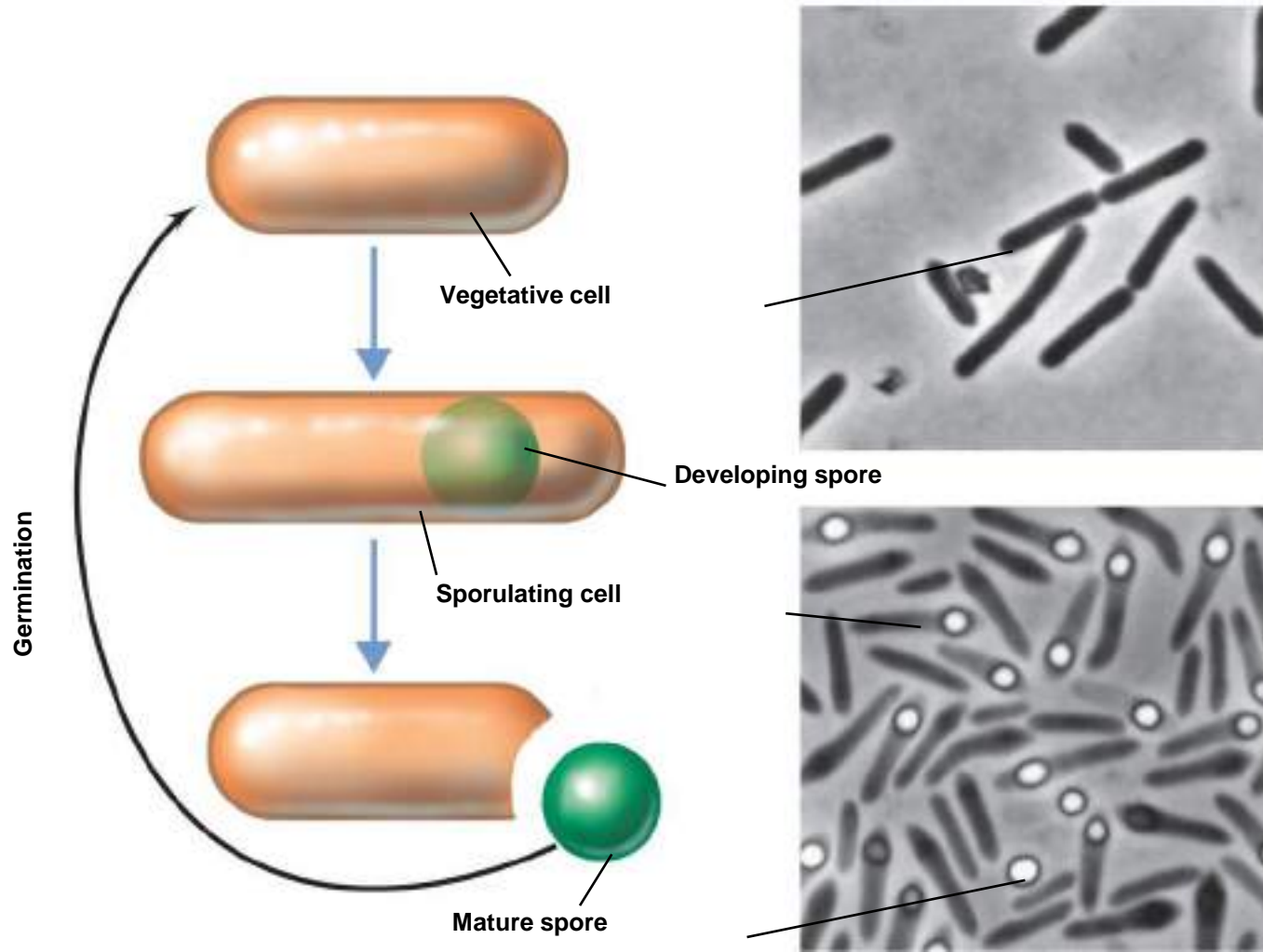
➤ *Swarming*

- Rotació flagel·lar
- Desplaçament poblacional en superfícies semisòlides
- Diferenciació cel·lular

Eixam

LES ENDÒSPORES

Bacteris grampositius (uns 20 gèneres)
Bacillus i *Clostridium*





Formes de diferenciació en cianobacteris

Acinet. Resistència al fred i a la dessecació

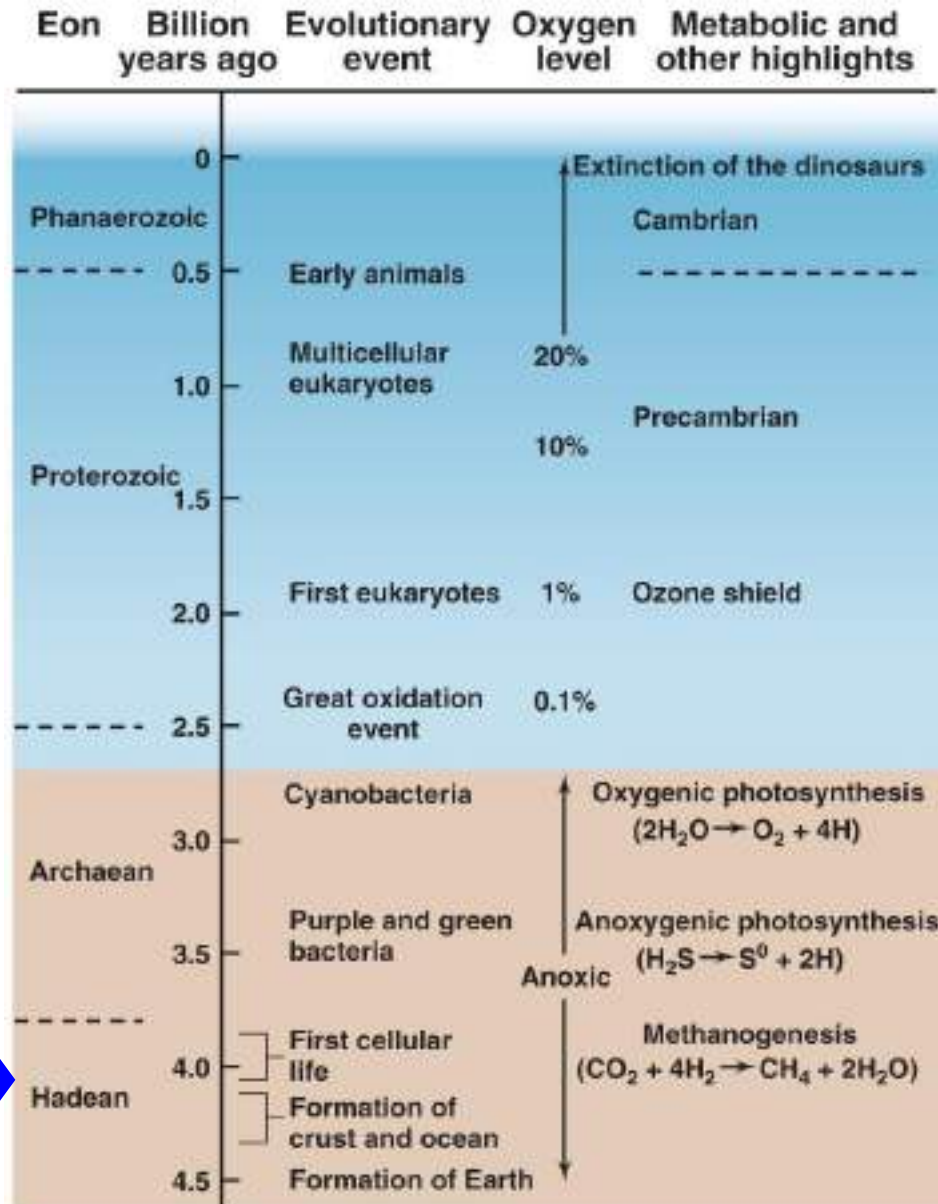
Heterocist. Fixació de nitrogen

Homogoni. Cèl·lules mòbils

Formes de dispersió, molt menys resistents a la dessecació que les endòspores.

Espores: Ex. Alguns Actinomicets

Mixòspores: Mixobacteris (cossos fructífers)

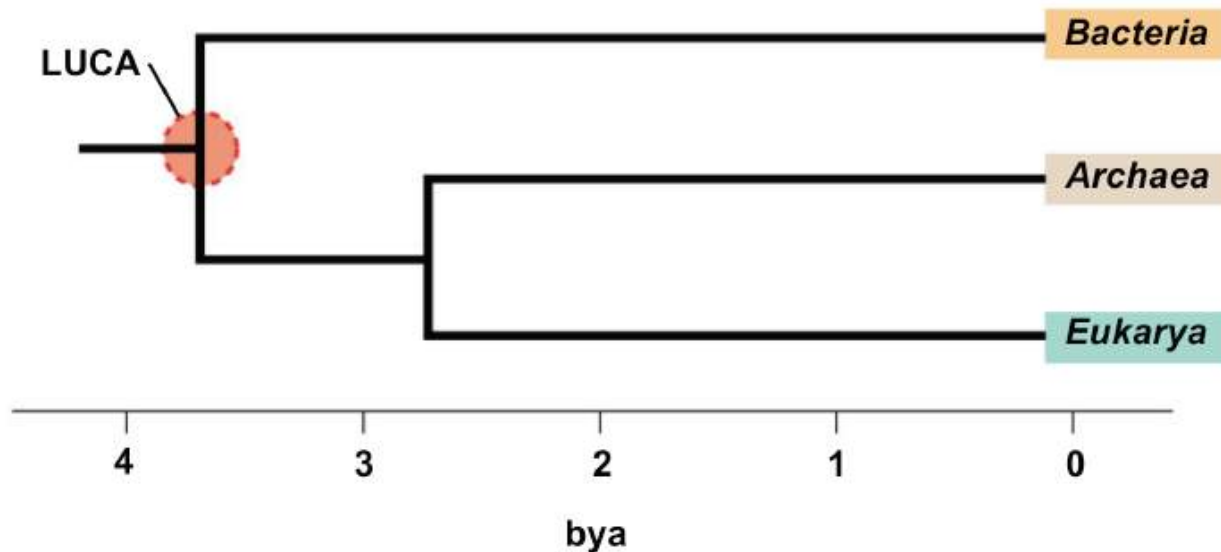


ΕΟ
ΗΑΔΕΑ

Origen de la vida cel·lular

LUCA (Last universal common ancestor)

Població de cèl·lules primitives de la qual la vida cel·lular pot haver divergit en tres Dominis



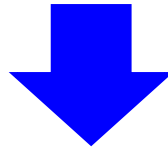
Evidències moleculars suggereixen que els ancestres dels *Bacteria* i *Archaea* van divergir fa aproximadament 4.000 milions d'anys

Com seria LUCA?

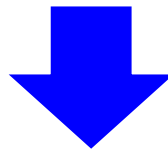
Atmosfera anòxica → anaerobiosi

CO₂ font de carboni → autotròfia

H₂ (H₂S) font d'energia → quimiolitotròfia



La **fotosíntesi anoxigènica** tindria també un paper rellevant

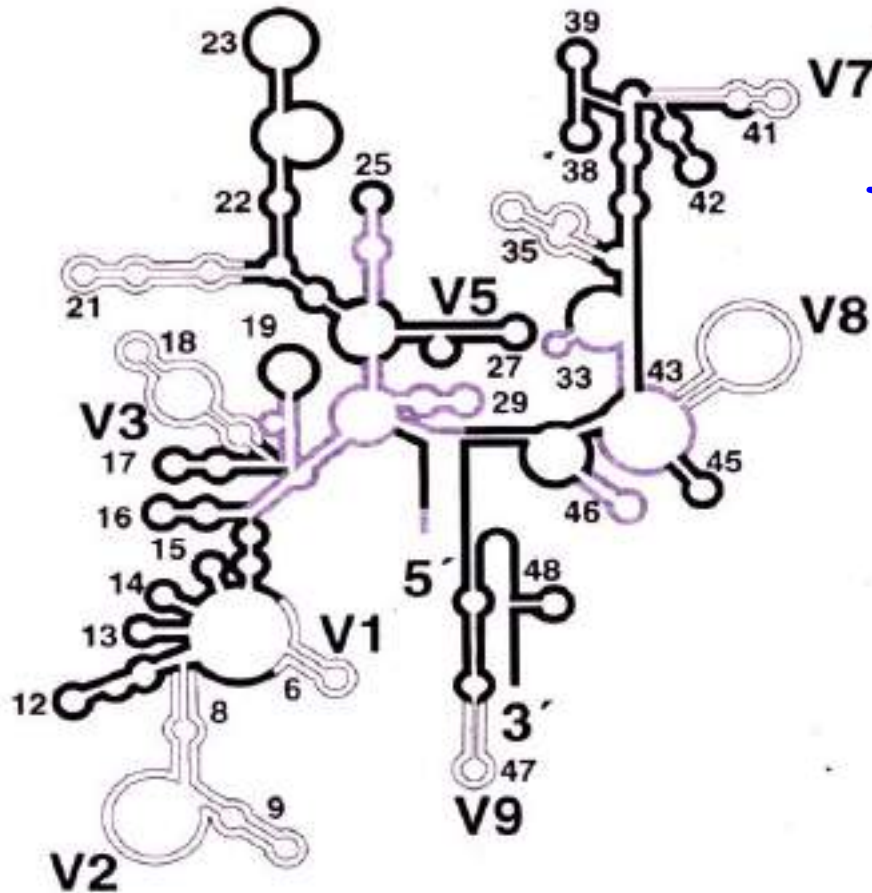


Les primeres formes de metabolisme quimiolitotròfic hauria produït grans quantitats de compostos orgànics

A partir d'aquesta matèria orgànica sorgiria el metabolisme quimioorganotròfic

Anàlisi Filogenètic

Relació evolutiva. Cronòmetres moleculars (RNA 16S en procariotes i RNA 18S en eucariotes), i comparació de certs gens conservats



The Ribosomal Database Project (RDP)

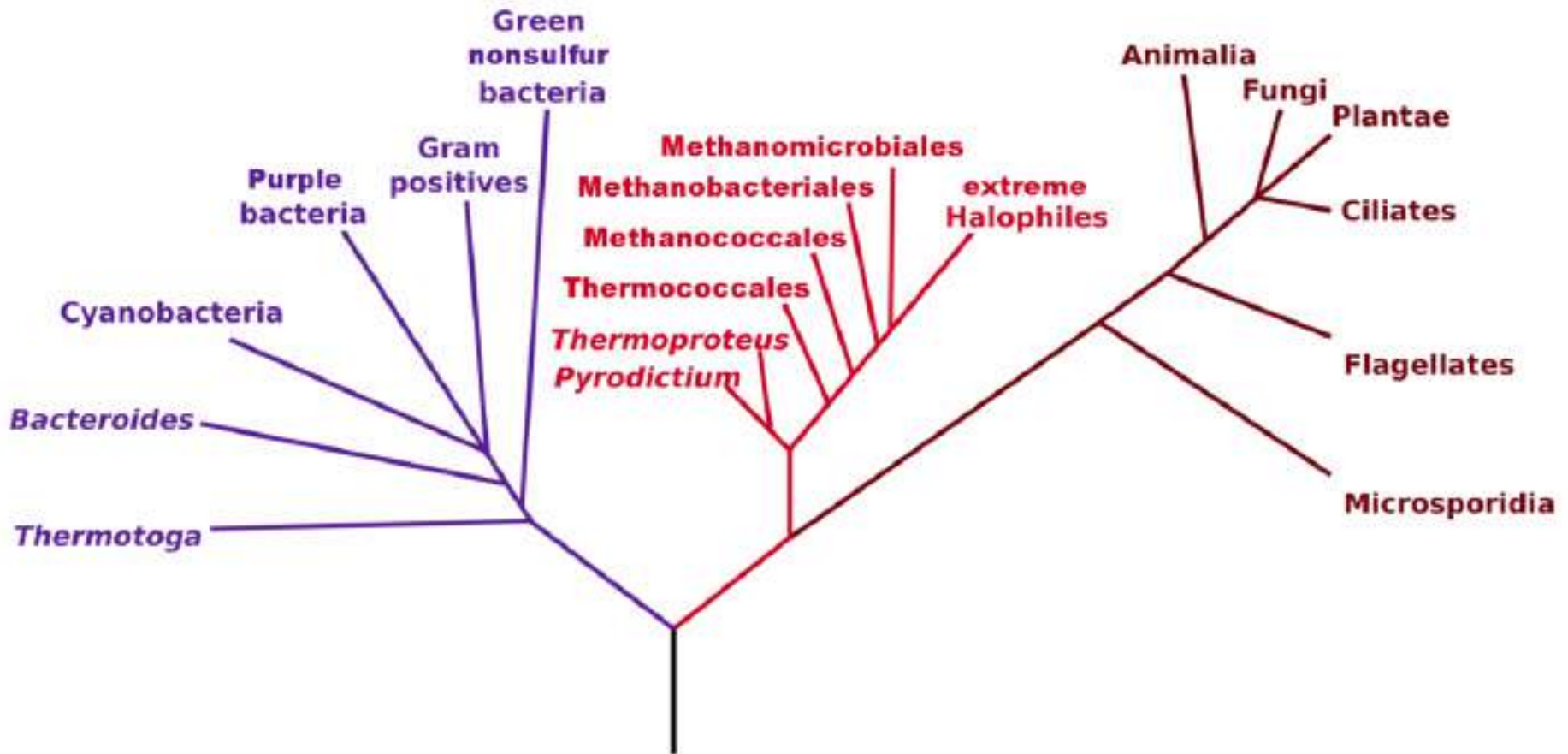
The degree of conservation is indicated as follows: double lines, variable and hypervariable; grey lines, highly conserved. The major variable regions are numbered V1 to V9.

Phylogenetic Tree of Life

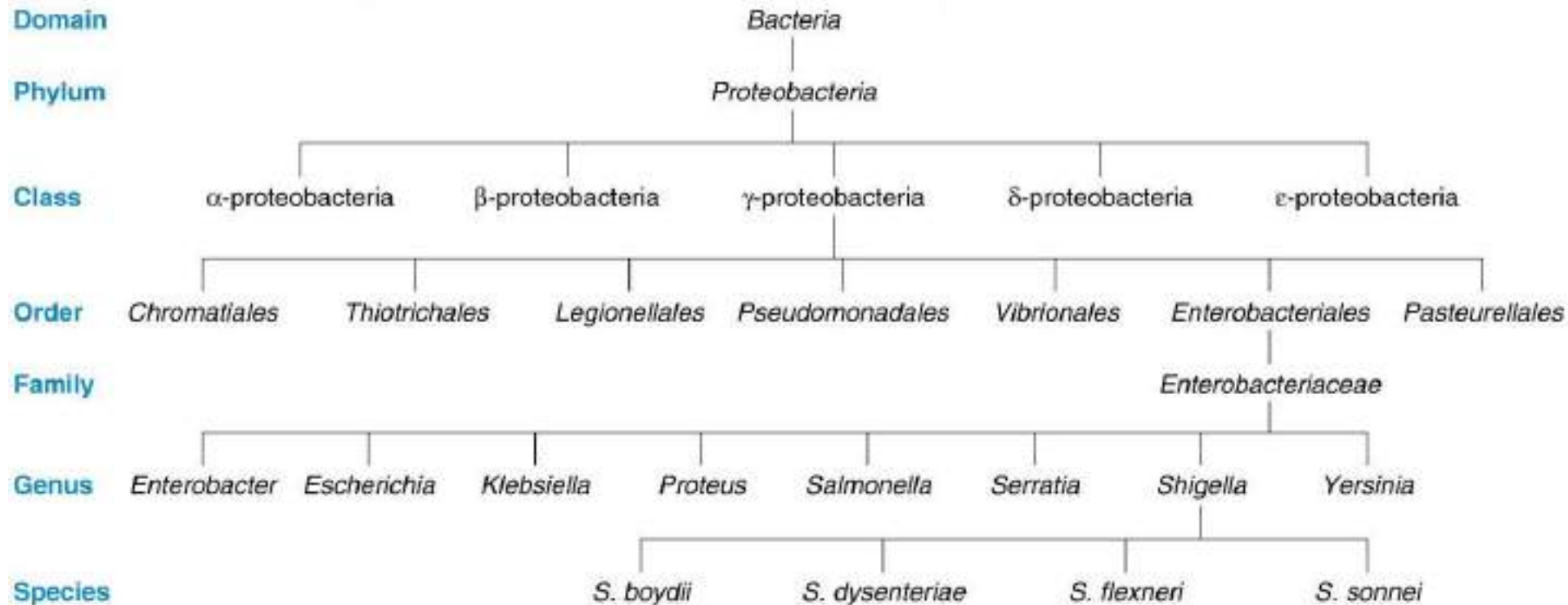
Bacteria

Archaea

Eucarya

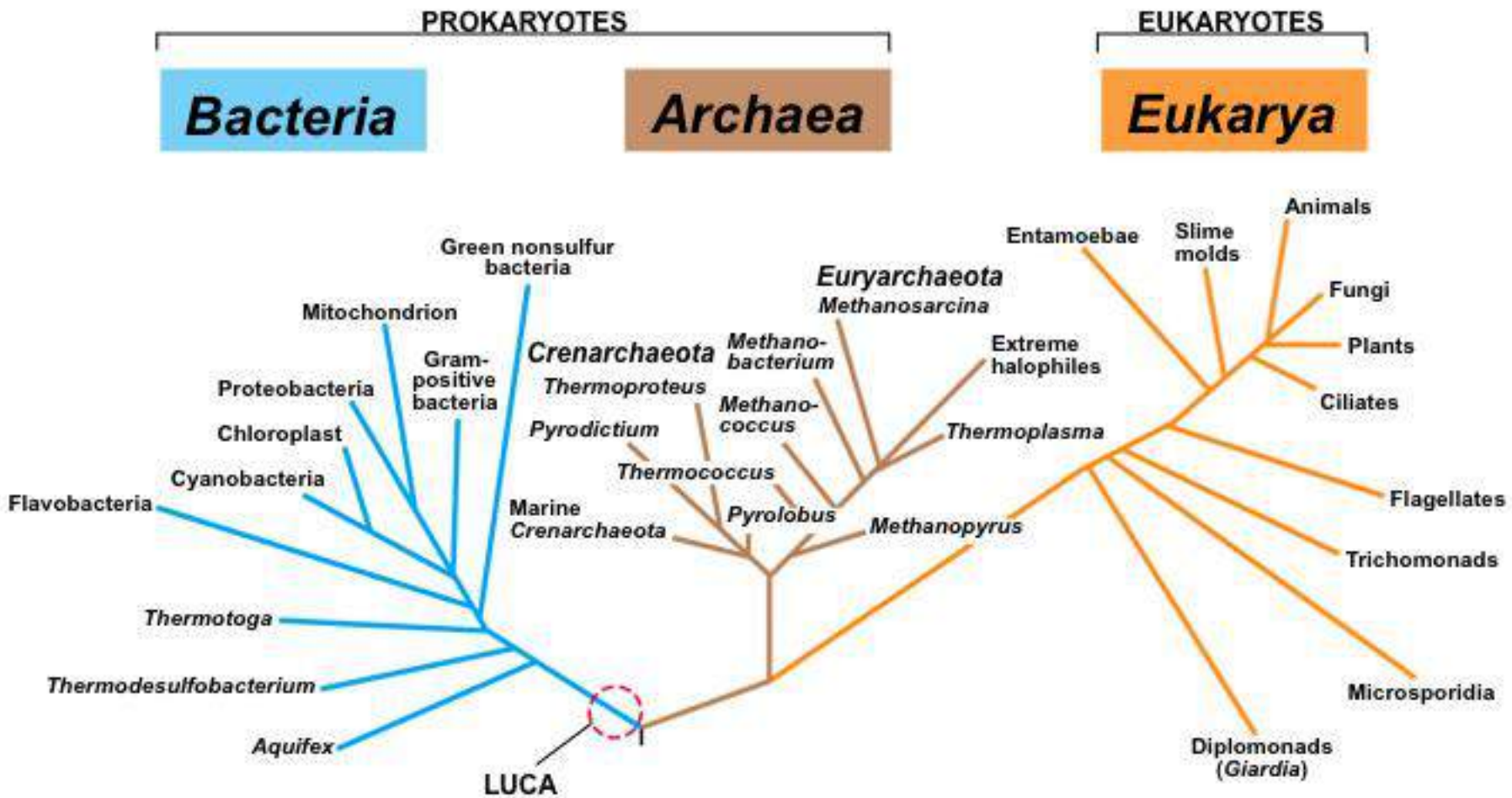


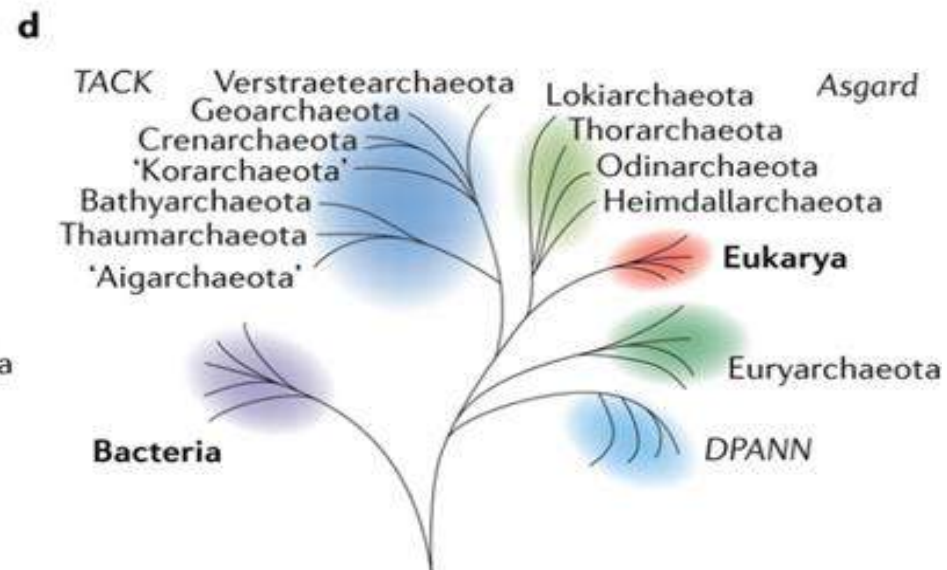
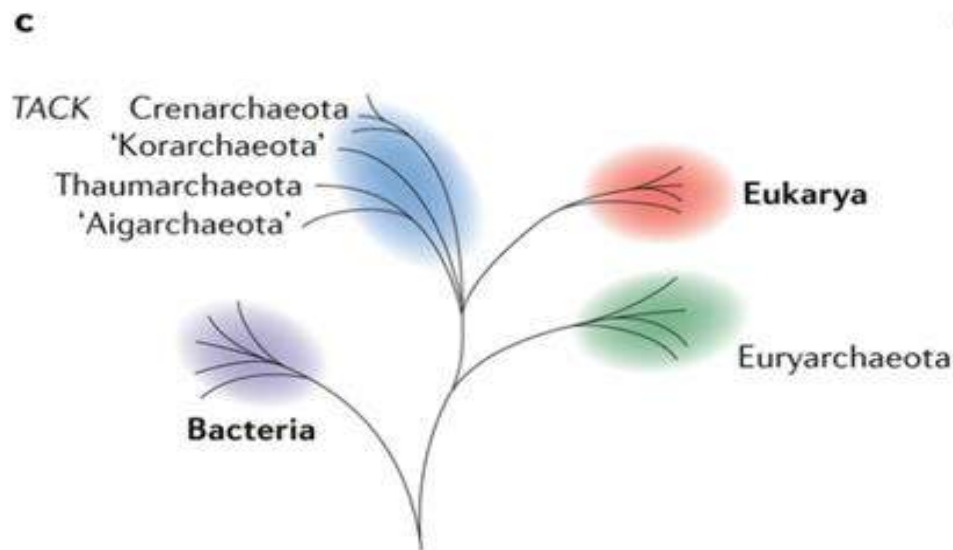
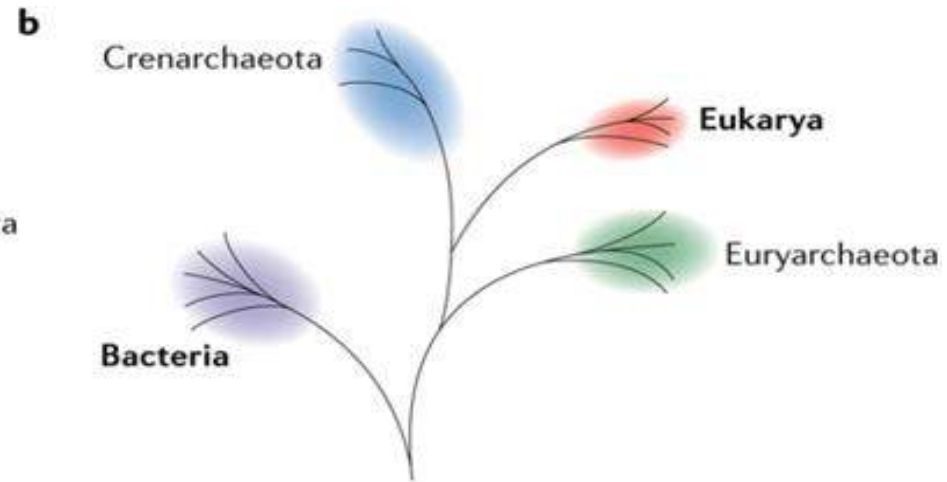
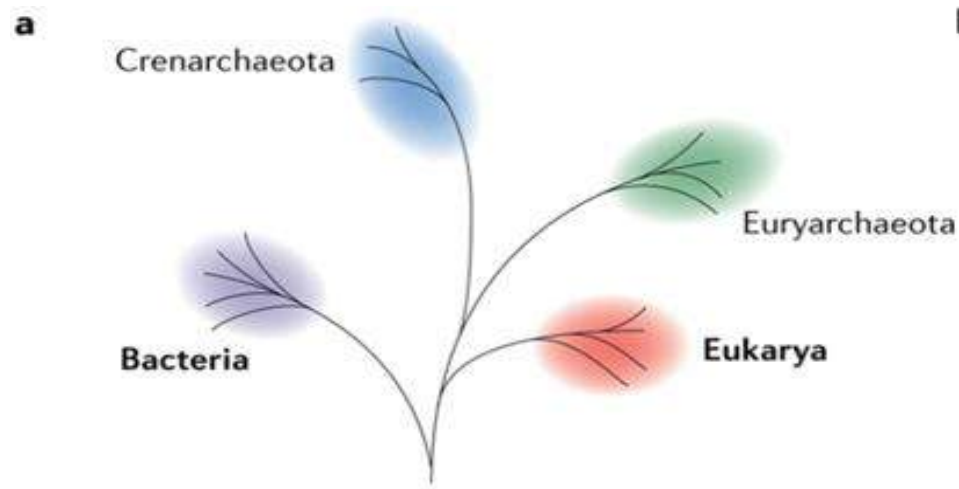
Rangs taxonòmics i noms



L'arbre evolutiu

Els procariotes estan dividits en 2 dominis i més de 34 filums
Es coneixen més de 10.000 espècies





TACK, superfílum d'arqueus acronim de *Thaumarchaeota* (ara *Nitrososphaerota*), *Aigarchaeota*, *Crenarchaeota* (ara *Thermoproteota*) i *Korarchaeota*,

El nom del superfílum **Asgard** es refereix al recinte dels déus (mitologia nòrdica) i fa referència al nom de diferents gèneres amb nom derivat de deus nòdics. El primer va ser *Lokiarchaeum*, identificat el 2015 en una mostra de sediments a 15 km de la font hidrotermal Castell de Loki, a l'oceà Àrtic (mar de Groenlàndia), al sediment del fons marí a 2.352 metres de fondària, 0,3°C i sense senyals de vida eucariota

Característica estructural	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eukarya</i>
Citoesquelet	X	X	X
Mesosoma			
Lípids de membrana	Éster	Éter	Éster
Membrana cel·lular monocapa lipídica		X	
Peptidglicà en la paret cel·lular	X		
Capes S (SLP)	X	X ^c	
Flagel	X ^a		
Archaelum		X ^a	
Pili	X	X ^b	
PHA	X	X	
Vesícules de gas	X	X	
Grànuls de sofre	X		

^a, similars però no homòlegs

^b, se semblen als sistemes de secreció tipus II i als pili tipus IV

^c, poden ser la paret de la cèl·lula

Característica estructural	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eukarya</i>
Magnetosomes	X		X
Acidocalcisomes	X	X	X
Glicògen	X	X	X
Orgànuls fototròfia (clorofil·les i bacterioclorofil·les)	X		X
Endòspores	X		

Característica fisiològica/metabòlica	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eukarya</i>
Fotosíntesi basada en clorofil·les (bacterioclorofil·les)	X		X
Fotosíntesi basada en “bacteriorodopsina”		X	
Quimiolitotròfia (Compostos reduïts de S, H ₂ , NH ₃ , Fe ²⁺)	X	X	
Nitrificació	X	X	
Fixació de nitrogen	X	X	
Creixement a temperatura superior a 70°C	X	X	
Creixement a temperatura superior a 100°C		X	

Característica genètica	Bacteria	Archaea	Eukarya
Regió nuclear però sense membrana nuclear	X ^a	X ^a	
Cromosoma cccDNA	X	X	
Cromosoma lineal	X		X
Plasmidis	X	X	X
Megaplasmidis	X	X	
Número de cromosomes diferents	1 o més d'un	1 o més d'un	Més d'un
Histones	X	X	
Operó	X	X	
Transcripció i traducció acoblada	X	X	
Ribosomes 70S	X	X	
Transcripció i traducció acoblada	X	X	
Unitats transcripcionals policistròniques	X	X	

^a, alguns presenten compartimentalitzacions amb els cromosomes

**MOLTES GRÀCIES PER LA
VOSTRA ATENCIÓ**

montserrat.llagostera@uab.cat

