

Mycoplasma pneumoniae: quan menut no implica simple

Verónica Lloréns Rico

El bacteri *Mycoplasma pneumoniae* és un organisme amb un dels genomes més xicotets dels éssers vius. El seu genoma està format per menys d'un milió de bases d'ADN, «lletres» que conformen el codi que conté tota la informació que necessita un organisme per a créixer, reproduir-se i poder respondre a diferents estímuls o situacions d'estrès. En comparació, el genoma humà conté més de tres mil milions de bases. Sent tan xicotet, és un model molt interessant per a poder estudiar aspectes bàsics de la biologia dels bacteris, o fins i tot d'organismes més complexos. Un d'aquests aspectes és com pot un bacteri tan aparentment simple respondre a diferents estímuls externs.

El genoma, com un llibre d'instruccions, conté tota la informació per a sostenir la vida d'un organisme. Tot i això, no totes aquestes instruccions s'han d'executar al mateix temps. Per exemple, els éssers humans estem formats per bilions de cèl·lules de diferents tipus: neurones, cèl·lules epitelials, musculars... Totes contenen el mateix genoma, però les parts que hi són actives a cada tipus de cèl·lula són diferents. Fins i tot, una mateixa cèl·lula pot activar o inactivar determinades funcions codificades al seu genoma per a poder respondre a canvis a l'entorn. Per a activar una funció concreta, com per exemple la producció d'insulina a les cèl·lules pancreàtiques, el gen (un fragment delimitat del genoma) responsable d'aquesta funció s'ha de transcriure d'ADN a ARN, el qual actua com a missatger de la informació genètica. El missatger d'ARN després es tradueix per a donar lloc a una proteïna. Les proteïnes, finalment, són les encarregades d'executar les funcions codificades al genoma.

Aquests dos processos, transcripció i traducció, són universals a tots els éssers vius i han d'estar finament controlats per a assegurar el seu correcte funcionament. És per això que a

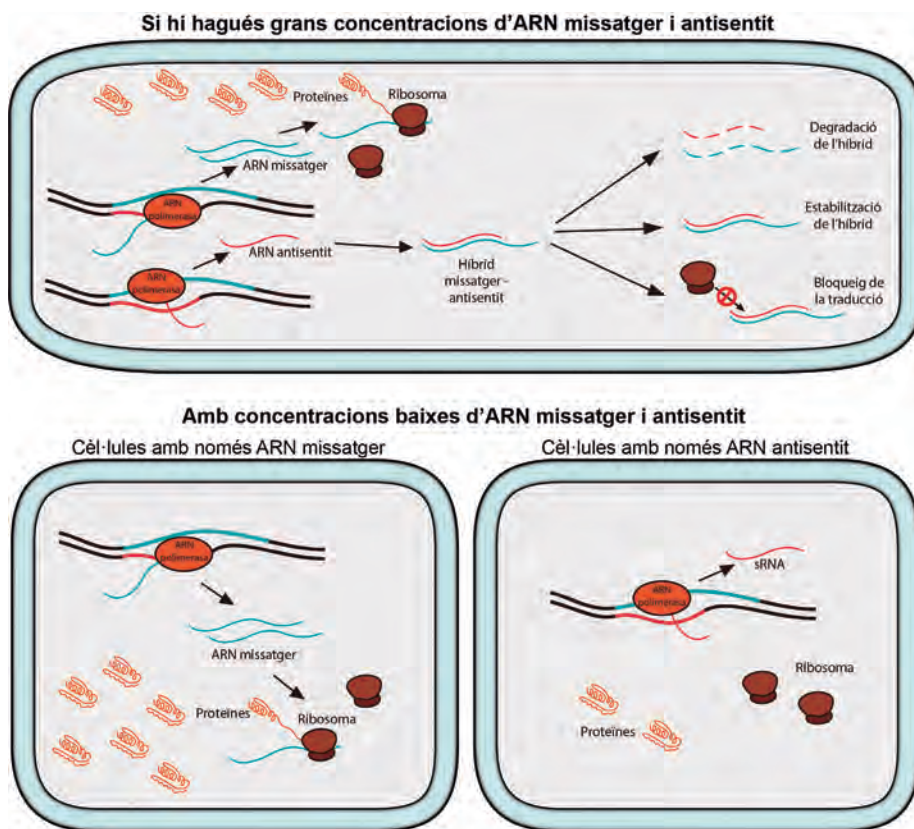
tots els organismes hi ha unes proteïnes especials, anomenades *factors de transcripció*, que controlen el pas d'ADN a ARN. Cada factor de transcripció s'especialitza en un grup de gens en concret, habitualment de funcions relacionades.

M. pneumoniae, que de forma natural es pot trobar infectant els pulmons en humans, ha de ser capaç de respondre a canvis de temperatura, disponibilitat de nutrients, tractament amb antibiòtics, etc. No obstant això, aquest bacteri conté menys de deu factors de transcripció, mentre que altres bacteris en contenen molts més (*Escherichia coli*, un altre bacteri model al laboratori, en té més de dos-cents). De fet, inicialment es va proposar que *M.*

pneumoniae era incapaç de regular la transcripció dels seus gens a ARN, i que aquest era un procés purament atzarós. Més endavant, un estudi en profunditat de la transcripció en aquest bacteri va revelar que era capaç de coordinar respostes concretes i complexes davant diferents estímuls, de forma que aquest comportament no es podia deure a l'atzar (Güell *et al.*, 2009). Com un bacteri aparentment tan simple podia coordinar aquest tipus de respostes amb tan pocs factors de transcripció era un misteri.

Els primers sospitosos: els ARN no codificants

Més enllà dels factors de transcripció, hi ha altres entitats que poden controlar el procés



↑ Figura 1. Efectes dels ARN antisentit. Dalt, esquema dels possibles efectes dels ARN antisentit, en cas que es troben en concentració suficient a les cèl·lules. Baix, esquema del que ocorre en *M. pneumoniae*, on les concentracions d'ARN missatger i antisentit són tan baixes que en unes cèl·lules s'hi produeix només ARN missatger, que es tradueix a proteïnes, mentre que en altres cèl·lules només s'hi produeix ARN antisentit, que no es tradueix i no afecta les proteïnes ja existents (elaboració pròpia).

de transmissió d'informació d'ADN a ARN i proteïna: els denominats ARN no codificants. Aquests són fragments d'ARN que no es tradueixen a proteïnes, i poden regular l'expressió de gens per diversos mecanismes: alterant l'estabilitat dels missatgers d'ARN (fent-los més estables per a facilitar la traducció a proteïna o bé degradant-los) o controlant el reconeixement dels missatgers per part dels ribosomes, els complexos encarregats de la traducció. *M. pneumoniae* conté nombrosos ARN no codificants, la majoria dels quals són de tipus antisentit, que es transcriuen a la cadena d'ADN oposada a un determinat gen. Perquè un ARN antisentit regule l'expressió d'un gen, és necessari que s'emparelli amb l'ARN missatger d'aquest, i es forme un híbrid missatger-antisentit (vegeu la figura 1).

Vam quantificar el nombre de molècules de tots els ARN missatgers i ARN antisentit de *M. pneumoniae*, i vam descobrir que el nombre d'aquests era molt baix, especialment el nombre d'ARN antisentit. Normalment, es podia trobar un missatger d'un gen concret a una de cada deu cèl·lules de *M. pneumoniae*, i l'ARN antisentit que el complementa, només a una de cada cent cèl·lules. Sospitàvem que amb un nombre tan baix, la probabilitat de formar híbrids seria quasi inexistent. Vam validar les nostres hipòtesis amb models matemàtics i de forma experimental (Lloréns-Rico *et al.*, 2016), i vam demostrar que almenys a *M. pneumoniae* la majoria dels ARN antisentit no podien tenir funcions reguladores, ja que a nivells fisiològics es troben a molt baixes concentracions (vegeu la figura 1).

Aquesta observació s'estén a molts altres bacteris, ja que en anteriors estudis s'havia experimentat amb ARN antisentit a concentracions molt elevades que afavorien la formació dels híbrids la qual cosa no ocorria en condicions fisiològiques.

L'ordre dels operons sí que altera el producte

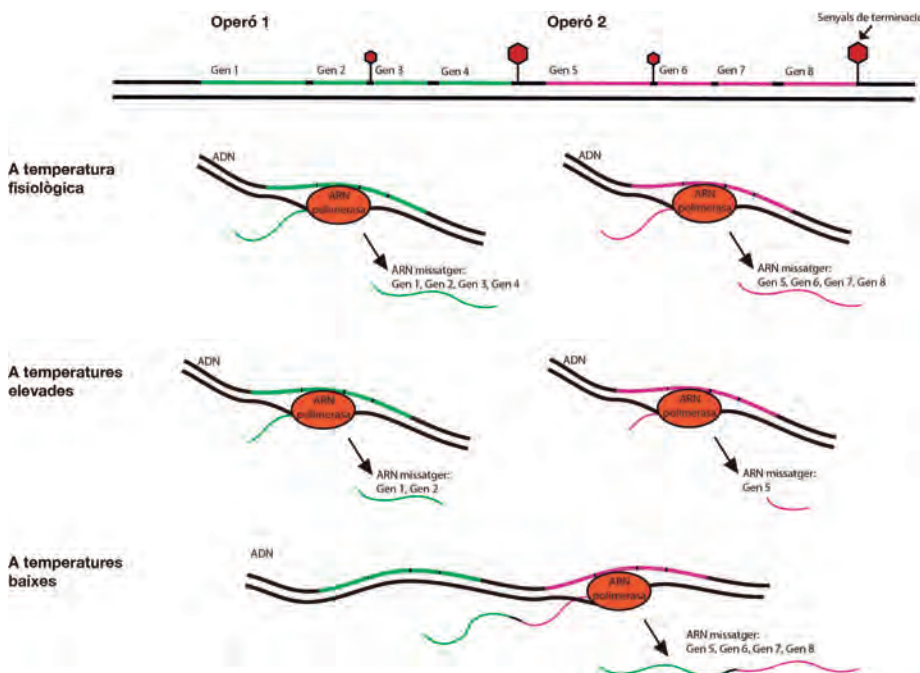
Als bacteris, l'ordre dels gens al genoma no és trivial. Normalment, gens amb les mateixes

funcions s'agrupen per tal que un sol factor de transcripció controle la transcripció de tots junts en bloc. Aquests blocs s'anomenen operons.

L'extensió dels operons normalment està delimitada per senyals d'iniciació de la transcripció, als quals s'uneixen la proteïna ARN-polimerasa i els factors de transcripció per a iniciar la producció d'ARN, i senyals de terminació de la transcripció. Tradicionalment, els operons es consideraven entitats fixes, però els primers estudis globals de transcripció en bacteris, incloent *M. pneumoniae*, revelaren que els operons tenien un comportament dinàmic i que la seua extensió podia variar en funció de les condicions.

Fent servir *M. pneumoniae*, vam descobrir que la temperatura juga un paper essencial. A

temperatures altes, causants d'estress per a *M. pneumoniae*, la proteïna ARN-polimerasa és menys processiva, detecta senyals de terminació fins i tot dèbils, i els operons són més curts. Pel contrari, en condicions per davall de la temperatura fisiològica, la polimerasa és més processiva, és a dir, més propensa a ignorar senyals de terminació. Açò dona lloc a molècules d'ARN més llargues, que comprenen més d'un operó, i amb menys factors de transcripció es poden activar més gens a la vegada (vegeu la figura 2). D'aquesta forma, l'ordre no només dels gens sinó dels operons és determinant per al control de l'expressió de determinades funcions (Junier *et al.*, 2016). De fet, estudis recents determinaren que aquesta organització afecta el genoma sencer, que es pot dividir en grans dominis on la expressió de gens és altament coordinada (Trussart *et al.*, 2017).



↑ Figura 2. Efecte de la temperatura i l'ordre dels operons. La figura representa dos operons amb senyals de terminació forts (hexàgons grans) al final de cada operó i senyals dèbils (hexàgons menuts) dins dels operons. A temperatures fisiològiques, l'ARN-polimerasa reconeix els senyals de terminació forts, de forma que cada ARN missatger conté els gens d'un sol operó. A temperatures altes, la polimerasa detecta senyals de terminació dèbils, i els operons resultants són més curts. A temperatures baixes, la polimerasa és més processiva i pot ometre senyals de terminació forts, i en resulten superoperons molt llargs (elaboració pròpia).

Mycoplasma pneumoniae: quan menut no implica simple

Altres mecanismes

Hi ha altres mecanismes de regulació que, tot i que s'havien descrit prèviament en altres organismes, han estat validats a *M. pneumoniae*. Un d'aquests és el control de la iniciació de la transcripció. Les bases o lletres que componen les molècules d'ARN han d'estar disponibles en el moment de començar la producció de missatgers. A *M. pneumoniae*, la seqüència dels ARN missatgers relacionats amb creixement comença normalment per dues bases GC (guanósina i citosina). Aquestes es troben en gran concentració dins de la cèl·lula quan el bacteri creix de forma exponencial, però no quan el creixement s'estanca. Així, quan s'arriba a la fase estacionària, com que aquestes bases no estan disponibles per a començar la

producció d'ARN de gens relacionats amb el creixement, aquestes funcions s'inactiven de forma molt senzilla i sense necessitat de factors de transcripció.

Altres mecanismes de regulació estudiats en altres organismes impliquen la iniciació de la transcripció o la degradació de les molècules d'ARN (Miravet-Verde *et al.*, 2017).

Com reconstruïm el puzzle

Amb tots aquests mecanismes en ment, és clar que *M. pneumoniae* no és un organisme senzill, tot i tenir un genoma xicotet i tan sols deu factors de transcripció. Per això, fent servir tots els experiments que s'havien dut a terme al laboratori durant més de deu anys,

vam construir un model estadístic que quantificava la importància de cada mecanisme de regulació per a, així, poder entendre millor com funciona aquest bacteri. Vam poder descobrir que a *M. pneumoniae* el regulador més potent és l'organització del genoma en grans dominis, seguida de factors de transcripció i altres proteïnes i, finalment, altres elements com la concentració de nucleòtids a la cèl·lula.

Aquests descobriments tenen implicacions no només per a entendre un dels processos més bàsics de la biologia, sinó també a l'hora de modificar i «enginyeritzar» aquest bacteri per a obtenir-ne aplicacions biomèdiques, com l'obtenció de vacunes a mida.

Bibliografia

- GÜELL, M. [et al.] (2009). «Transcriptome complexity in a genome-reduced bacterium». *Science*, 326 (5957): 1268-1271.
- JUNIER, I. [et al.] (2016). «Insights into the mechanisms of basal coordination of transcription using a genome-reduced bacterium». *Cell Systems*, 2 (6): 391-401.
- LLORENS-RICO, V. [et al.] (2016). «Bacterial antisense RNAs are mainly the product of transcriptional noise». *Science Advances*, 2 (3): e1501363.
- MIRAVET-VERDE, S., [et al.] (2017). «Alternative transcriptional regulation in genome-reduced bacteria». *Current opinion in microbiology*, 39: 89-95.
- TRUSSART, M. [et al.] (2017). «Defined chromosome structure in the genome-reduced bacterium *Mycoplasma pneumoniae*». *Nature communications*, 8: 14665.



Verónica Lloréns Rico (València, 1989) és llicenciada en biotecnologia per la Universitat Politècnica de València (2011). Posteriorment va obtenir un màster en biofísica per la *Universitat Autònoma de Madrid* i va iniciar el seu treball doctoral al Centre de Regulació Genòmica de Barcelona. L'any 2016 va defensar a la Universitat Pompeu Fabra la

seua tesi doctoral, centrada en la regulació de la transcripció en el bacteri model *Mycoplasma pneumoniae*, i hi va obtenir un Premi Extraordinari de Doctorat i el Premi al Jove Investigador de la SCB. Actualment investiga respostes transcripcionals dels bacteris de la flora intestinal a la Universitat Catòlica de Lovaina (Lovaina, Bèlgica).