

RAQUEL PAES DA ROCHA

**A RESPOSTA SOS DE *Caulobacter crescentus* E RELAÇÕES  
DOS MECANISMOS DE REPARO COM A PROGRESSÃO DO  
CICLO CELULAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Microbiologia do Instituto de Ciências  
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para  
obtenção do título de Doutor em Ciências.

São Paulo  
2011

Raquel Paes da Rocha

**A resposta SOS de *Caulobacter crescentus* e relações dos mecanismos de reparo com a progressão do ciclo celular**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientação:  
Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck

São Paulo  
2011

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do  
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Rocha, Raquel Paes da.

A resposta SOS de *Caulobacter crescentus* e relação dos mecanismos de reparo de DNA com a progressão do ciclo celular / Raquel Paes da Rocha. -- São Paulo, 2011.

Orientador: Carlos Frederico Martins Menck.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Reparo de DNA em *Caulobacter crescentus*.

Versão do título para o inglês: The SOS response of *Caulobacter crescentus* and the relationship between DNA repair mechanisms and the cell cycle progression

Descritores: 1. Reparo de DNA 2. Ciclo celular 3. *Caulobacter crescentus* 4. Lesões do DNA 5. Genômica 6. Microbiologia I. Menck, Carlos Frederico Martins II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB037/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

Candidato(a): Raquel Paes da Rocha.

Título da Tese: A resposta SOS de *Caulobacter crescentus* e relação dos mecanismos de reparo de DNA com a progressão do ciclo celular.

Orientador(a): Carlos Frederico Martins Menck.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a ...../...../....., considerou

**Aprovado(a)**

**Reprovado(a)**

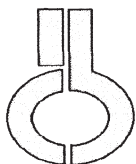
Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil  
Telefone : (55) (11) 3091-7733 - telefax : (55) (11) 3091-7438  
e-mail: [cep@icb.usp.br](mailto:cep@icb.usp.br)

*Comissão de Ética em Pesquisa*

## CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB N° 144, referente ao projeto intitulado “*Caracterização funcional de genes relacionados a resposta aos e relação do reparo de DNA com a progressão celular em caulobacter crescentus*” sob a responsabilidade de Raquel Paes da Rocha, foi analisado na presente data pela CEEA - COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL e pela CEP SH - COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS, tendo sido deliberado que o referido projeto não envolve manipulação animal ou humana que justifique uma aprovação quanto aos princípios éticos exigidos por ambas as Comissões.

São Paulo, 23 de março de 2006.

Prof. Dr. MARÍLIA C.L. SEELAENDER  
Coordenadora da CEEA - ICB/USP

Prof. Dr. LUIZ VICENTE RIZZO  
Coordenador da CEP SH - ICB/USP

## AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são sempre difíceis de começar, mas vamos lá...

Antes de tudo, eu tenho que agradecer aos meus pais, por me proporcionarem a chance de chegar tão longe... Sem vocês, com certeza, nada disso aqui existiria! Obrigada pela força, pelo apoio, pela paciência, e principalmente pelo amor e pelo companheirismo!

Queria agradecer também a minha avó Ruth, que sempre esteve por perto! Me ajudando e cuidando de mim desde que eu me conheço por gente!

E por último (last but not least, claro), queria agradecer ao meu amor, Ponê! Obrigada pela paciência, pela confiança e por estar sempre lá por mim!

Ao Prof. Carlos Menck, pela possibilidade de fazer parte desse grupo tão maravilhoso! Por toda a ajuda, todo o conhecimento e todo apoio ao longo desses mais de cinco anos de aprendizado. Obrigada por me ensinar a sempre ver o melhor lado de tudo, e pela confiança em mim e no meu trabalho!

Ao Dr. Rodrigo Galhardo, pela paciência em me ensinar praticamente tudo que eu sei hoje! Sem você, realmente, essa tese não ia existir!

A Prof. Dra. Marilis Marques, pela ajuda, pelos conselhos e pela disponibilidade de sempre me ajudar com qualquer coisa!

Aos amigos de laboratório, aqueles com os quais eu não tenho mais contato diário e àqueles que ainda estão por aqui! Vocês com certeza tornaram o dia-a-dia muito melhor! E eu fico muito feliz de saber que eu tenho em vocês pessoas para chorar no ombro ou morrer de tanto dar risada! Alice, Apuã, Andrézão, Carol Berra, Carol Quayle, Dani, Helots, Kero, Leo, Lu A, Luis, Maria Helena, Marinas, Mel, Renatinha, Ric, Ste, Tati, Val... Se eu me esqueci de alguém, vocês estão autorizados a puxar a minha orelha!

## RESUMO

Rocha RP. A resposta SOS de *Caulobacter crescentus* e relação dos mecanismos de reparo de DNA com a progressão do ciclo celular. [Tese (Doutorado em Microbiologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

*Caulobacter crescentus* pertence ao grupo das proteobactérias alfa e apresenta uma característica distinta de diferenciação celular a cada ciclo de divisão, rara entre as bactérias. Estratégias que visem ao acoplamento entre o monitoramento da integridade do material genético, como mecanismos de reparo de DNA, e a progressão do ciclo celular devem, portanto, existir neste organismo. Estudos sobre mecanismos de reparo em bactérias sempre indicam como uma via importante àquela representada pela resposta SOS, uma complexa e ampla resposta celular frente a estresses genotóxicos. Dentro deste contexto, este trabalho visou aprofundar o conhecimento atual sobre os mecanismos de reparo em *C. crescentus*, bem como suas possíveis implicações para a progressão do ciclo celular. Caracterizamos a resposta SOS deste organismo através da construção de um mutante para o repressor desta, LexA. Neste trabalho identificamos 44 genes que são parte deste regulon. Vários destes coincidem com outras bactérias que já foram estudadas, mas muitos ainda não foram descritos como parte do regulon. Curiosamente, identificamos alguns genes (*dnaB* e a JAL CC\_2433) que são regulados positivamente por LexA. Dedicamos também parte de nossos esforços para caracterizar funcionalmente alguns dos genes do regulon, como CC\_2272 (que codifica uma proteína da família das endonucleases III) e CC\_2433, descrito acima. A cepa deficiente em LexA apresentou morfologia filamentosa, e por esse motivo, buscamos também desvendar quais seriam os fatores genéticos responsáveis por esta morfologia; até o momento, no entanto, temos apenas uma hipótese de como a filamentação deva ocorrer na ausência de LexA. Neste trabalho também investigamos os processos de controle do ciclo celular após a introdução de danos na molécula de DNA pela luz UVC, em mutantes deficientes para diferentes vias de reparo. Estes experimentos nos mostraram que as células procariontes também possuem mecanismos para acoplar a progressão do ciclo celular a integridade do material genético, seja através de

mecanismos canônicos de pontos de checagem (*checkpoint*) ou não. Este trabalho abre, portanto, novas e excitantes possibilidades no campo da biologia bacteriana.

Palavras-chave: Reparo de DNA. Ciclo celular. *Caulobacter crescentus*. Lesões ao DNA. Genômica. Microbiologia.



## ABSTRACT

Rocha RP. The SOS response of *Caulobacter crescentus* and the relationship between DNA repair mechanisms and the cell cycle progression. [Ph. D. Thesis (Microbiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

*Caulobacter crescentus*, belonging to the group alphaproteobacteria, displays the distinctive feature of cell differentiation after each cell division, rare among bacteria. Several mechanisms of transcriptional and post-translation control are involved in ensuring the correct control and coordination of the process. Thus, strategies involved in monitoring the coupling of genetic material integrity, such as DNA repair mechanisms and cell-cycle-progression, must exist. Studies of these repair mechanisms in bacteria always indicate SOS response as being one of the most important, due to its complex and broad cellular response to genotoxic stress. In this context, the aim was to expand current knowledge on DNA repair mechanisms in *C. crescentus*, as well as the possible implications this could have on cell-cycle-progression. Thus, SOS response in this organism was characterized through the establishment of a mutant strain of its repressor, LexA. 44 genes that are part of the regulon were identified. Several are regulated in other bacteria, although some have not, as yet, been described as part of the regulon itself. Interestingly, certain genes (*dnaB* and the ORF CC\_2433) that are up-regulated by LexA, were also identified. Part of our efforts were dedicated to functionally characterizing certain genes of this regulon, such as CC\_2272, which encodes an endonuclease III family protein, and CC\_2433, described above. An attempt was made to discover which of the genetic factors induced filamentous morphology in the LexA deficient strain. As yet, there is only a hypothesis of how this could possibly occur in the absence of LexA. Cell-cycle-control processes, following UVC induced DNA damage in mutant strains deficient in DNA repair pathways, were investigated. It was shown that prokaryotic cells also possess mechanisms for coupling cell-cycle-progression towards genetic material integrity, by way of canonical checkpoints or not. Thus, this work opens up new and exciting possibilities in the field of bacterial biology.

Keywords: DNA Repair. Cell cycle. *Caulobacter crescentus*. DNA lesions. Genomics. Microbiology.

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

