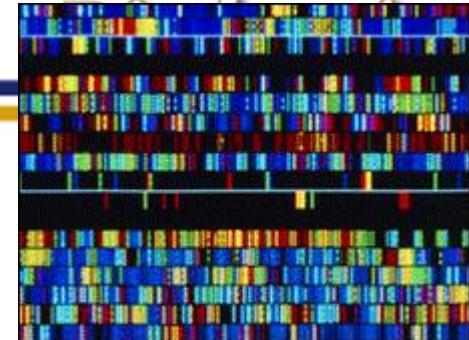


## 05. BASES DE GENÉTICA MICROBIANA.

- 05.1 Dogma central en procariotes.
- 05.2 Mutaciones espontáneas e inducidas.
- 05.3 Procesos de recombinación bacteriana, consecuencias.

# 05. BASES DE GENÉTICA MICROBIANA.

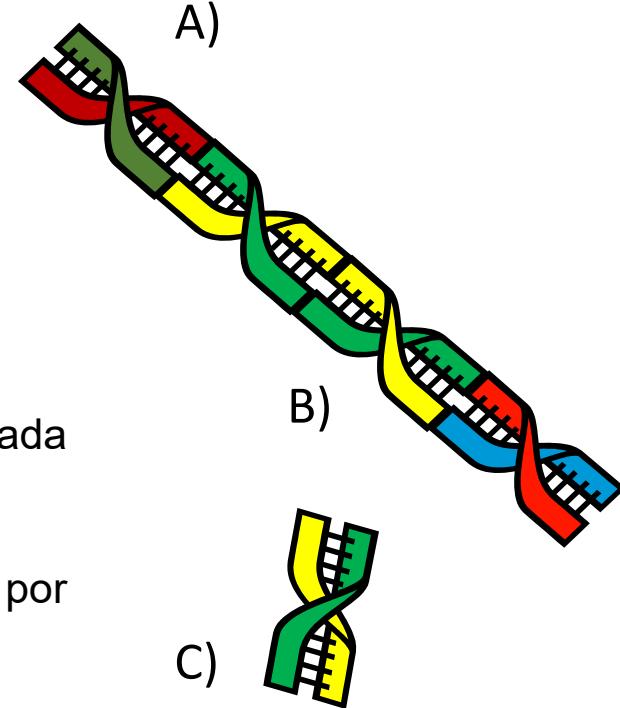


## **05.1) DOGMA CENTRAL DE LA BIOLOGÍA EN PROCARIOTES. GENOTIPO, FENOTIPO Y SUS VARIACIONES.**

- A) Genotipo: Información que está contenido en los genes.
- B) Genoma: conjunto de genes que contiene una célula.
- C) Gen: segmento de ADN que codifica para una proteína.

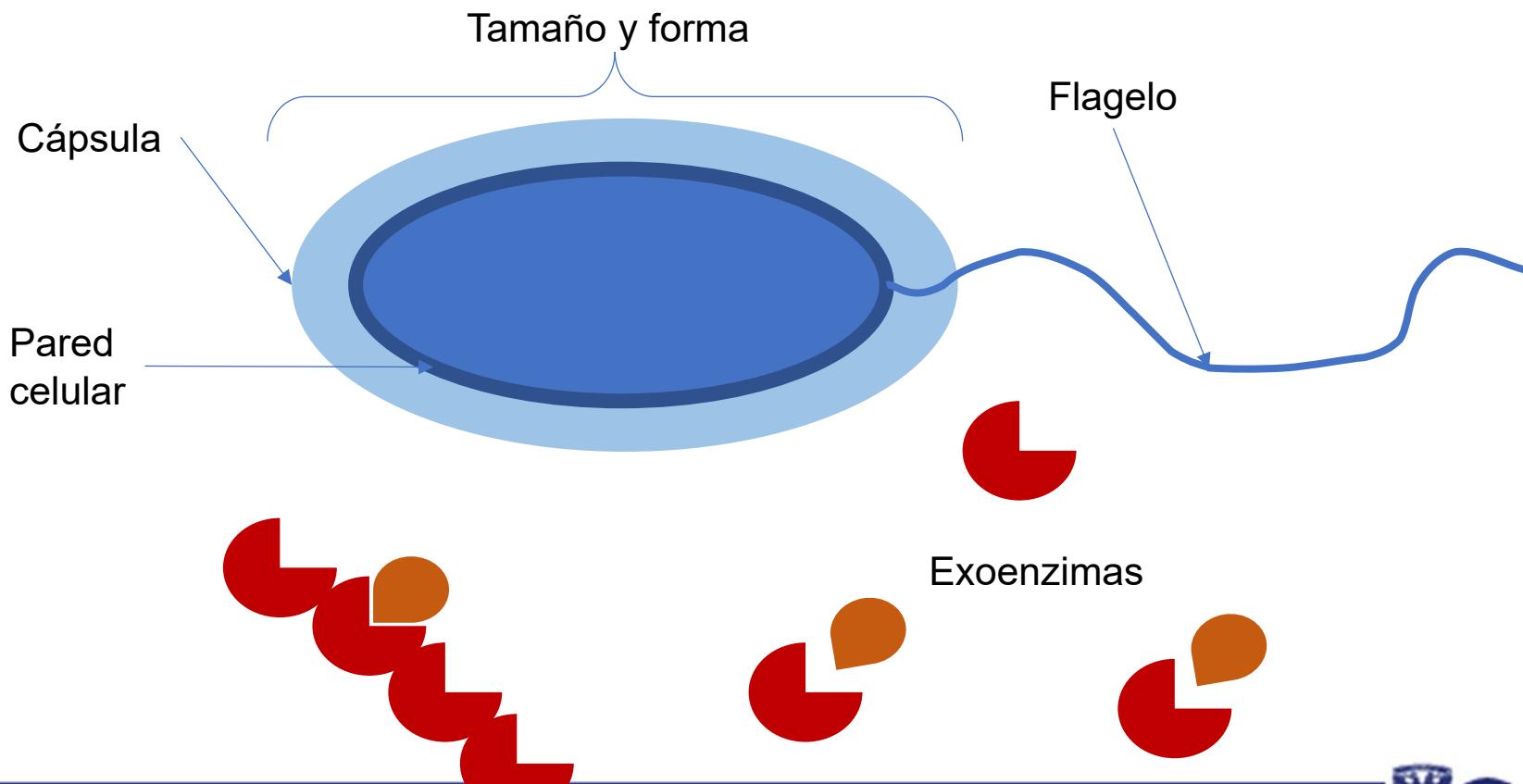
La inducción permite la expresión de un gen. Puede ser causada por sustancias químicas, físicas o la acción de otro gen.

La represión inhibe la expresión de un gen. También puede ser por causas químicas, físicas o la acción de otro gen.

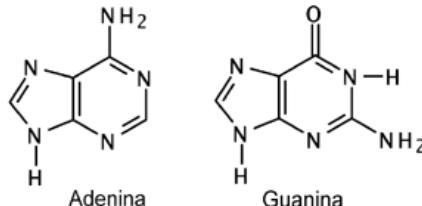


**Fenotipo:** Características que expresa el genotipo

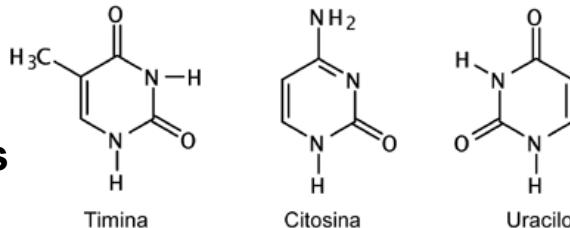
Estas características podrán expresarse si el microorganismo cuenta con la información genética. Sin embargo, aunque los genes actúen es posible que muchas características puedan ser alteradas por el entorno o por alguna función celular que esté en ese momento.



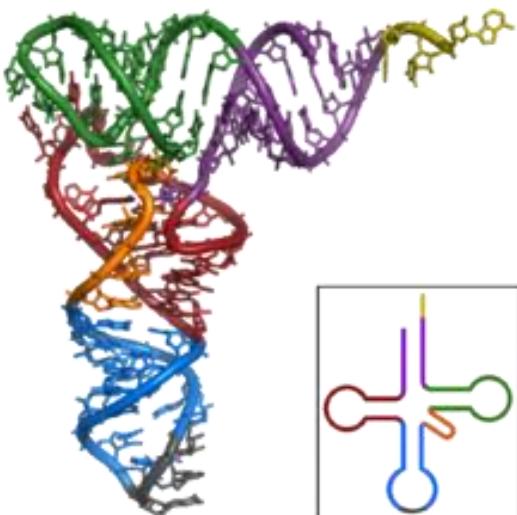
## Purinas



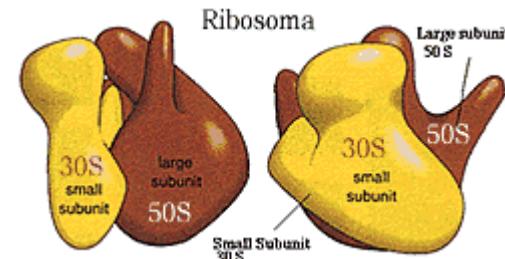
## Pirimidinas



## ARN de transferencia



## Ribosomas bacterianos (70's)

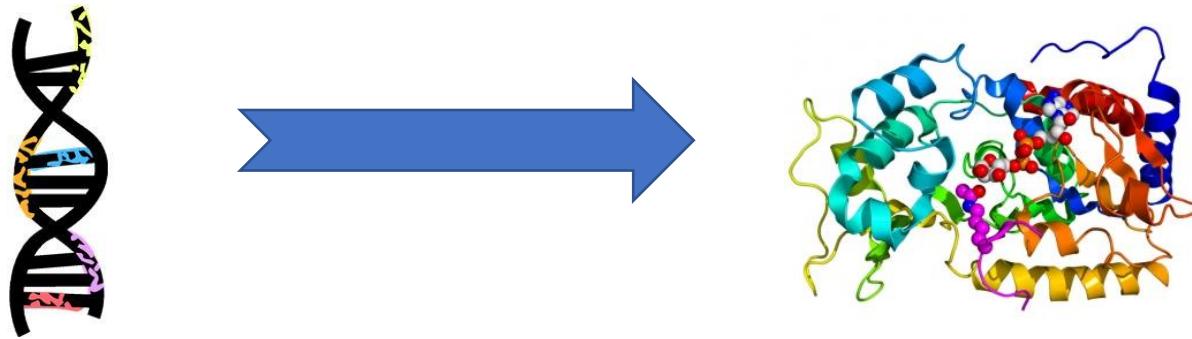


|            |   | Second Letter                  |                                |                                |                                |  |  |  |  |
|------------|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|--|--|--|
|            |   | U                              | C                              | A                              | G                              |  |  |  |  |
| 1st letter | U | UUU   Phe<br>UUC<br>UUA<br>UUG | UCU   Ser<br>UCC<br>UCA<br>UCG | UAU   Tyr<br>UAC<br>UAA<br>UAG | UGU   Cys<br>UGC<br>UGA<br>UGG |  |  |  |  |
|            | C | CUU   Leu<br>CUC<br>CUA<br>CUG | CCU   Pro<br>CCC<br>CCA<br>CCG | CAU   His<br>CAC<br>CAA<br>CAG | CGU   Arg<br>CGC<br>CGA<br>CGG |  |  |  |  |
|            | A | AUU   Ile<br>AUC<br>AUA<br>AUG | ACU   Thr<br>ACC<br>ACA<br>ACG | AAU   Asn<br>AAC<br>AAA<br>AAG | AGU   Ser<br>AGC<br>AGA<br>AGG |  |  |  |  |
|            | G | GUU   Val<br>GUC<br>GUA<br>GUG | GCU   Ala<br>GCC<br>GCA<br>GCG | GAU   Asp<br>GAC<br>GAA<br>GAG | GGU   Gly<br>GGC<br>GGA<br>GGG |  |  |  |  |
|            |   | 3rd letter                     |                                |                                |                                |  |  |  |  |

## 05.1) GENOTIPO, FENOTIPO Y SUS VARIACIONES (CONT.).

Variabilidad de la expresión del genotipo

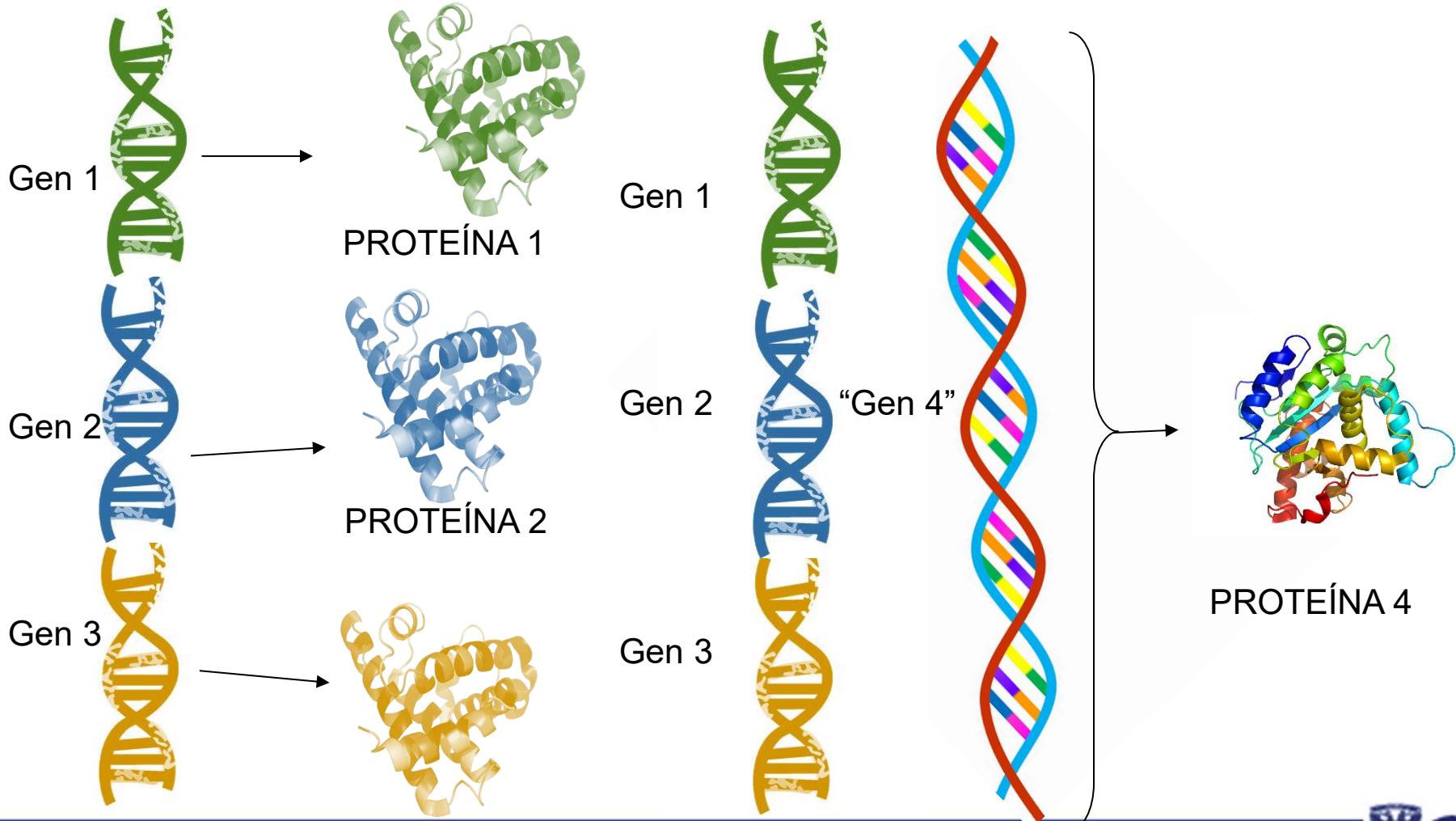
Paradigma genético tradicional: un gen codifica para una proteína.



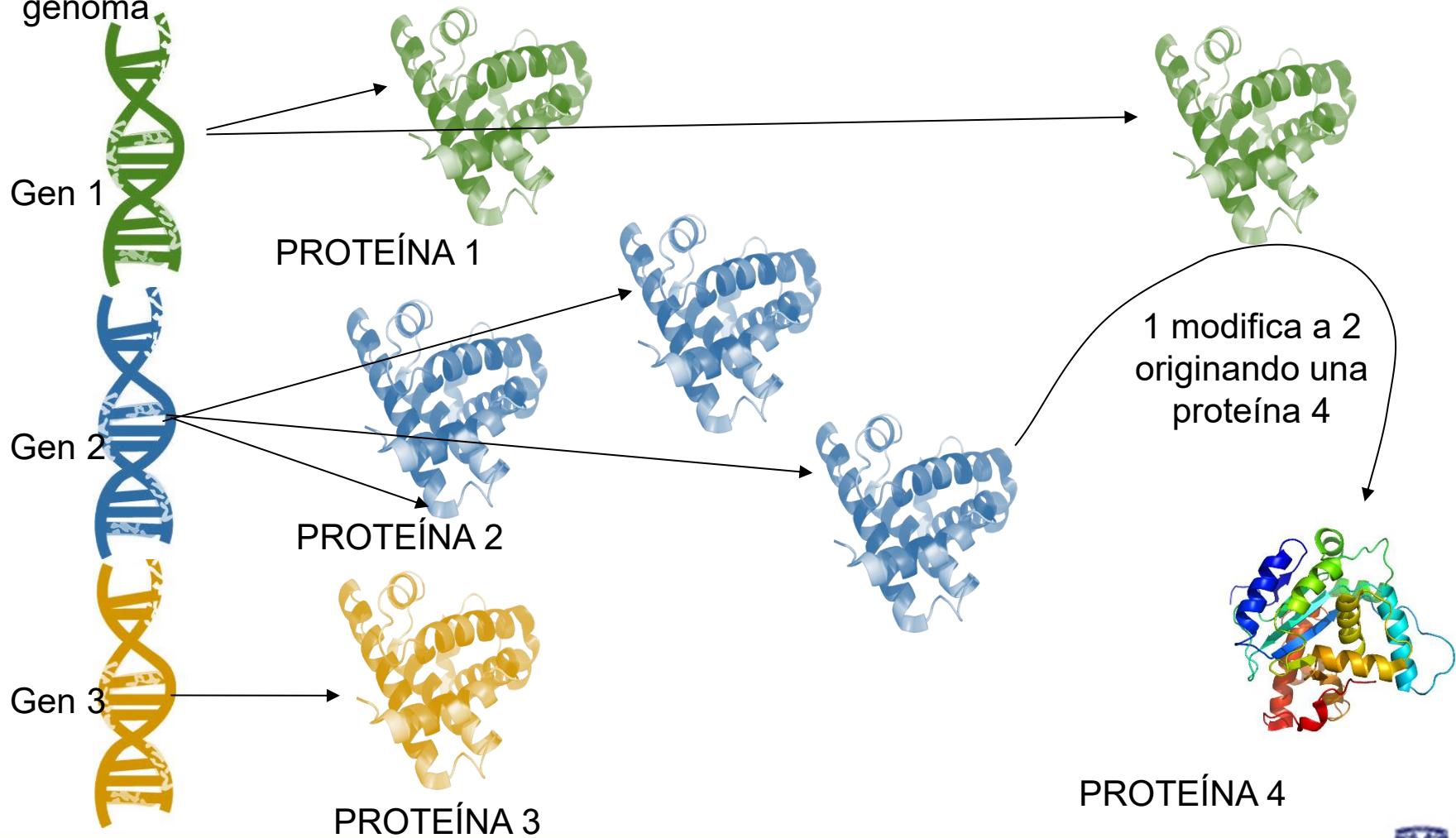
Por lo tanto, **n** genes = **n** proteínas

Sin embargo, se ha demostrado que en los microorganismos pueden codificar un número mayor de proteínas de las que aparentemente tienen en el genoma. Se plantean dos explicaciones para este fenómeno.

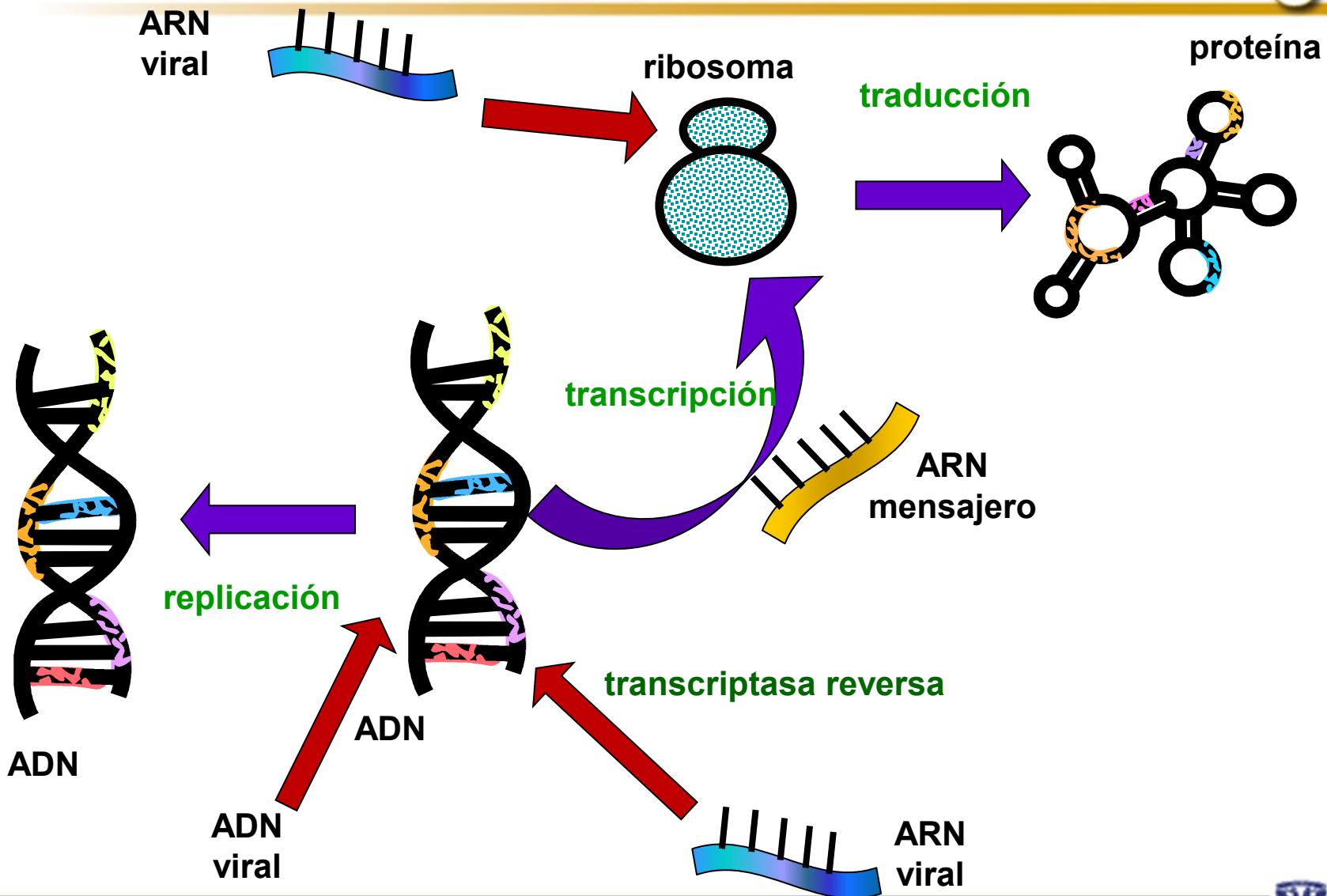
La primera establece que la lectura de un juego de genes puede sintetizar una proteína diferente a que si se lee por separado cada gen.



La segunda posibilidad establece que proteínas sintetizadas por los genes puedan ser alteradas por otras proteínas (enzimas) para dar origen a nuevas proteínas que no están codificadas en el genoma.



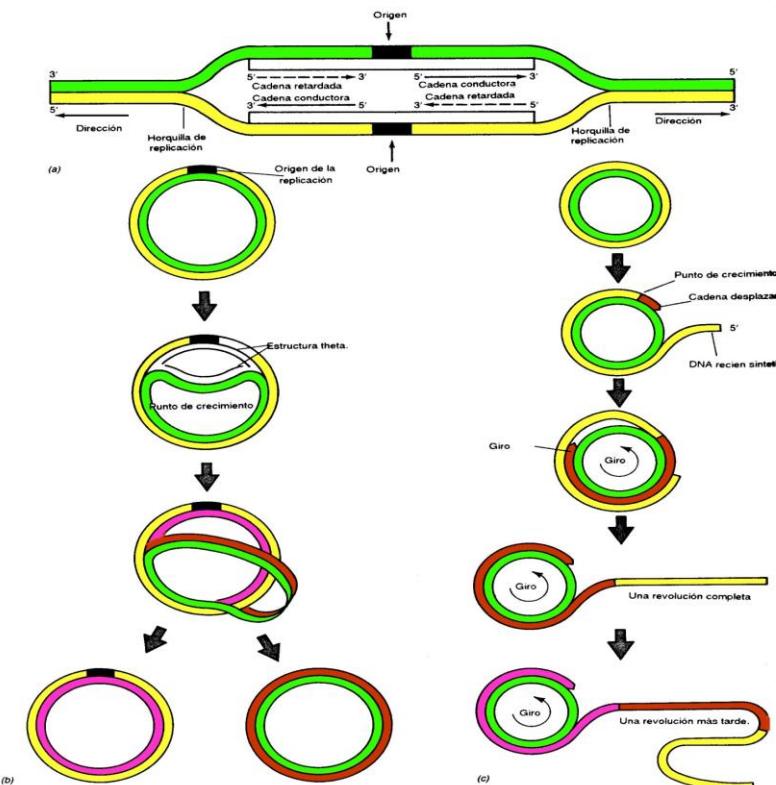
# RESUMEN DEL DOGMA CENTRAL DE LA BIOLOGÍA



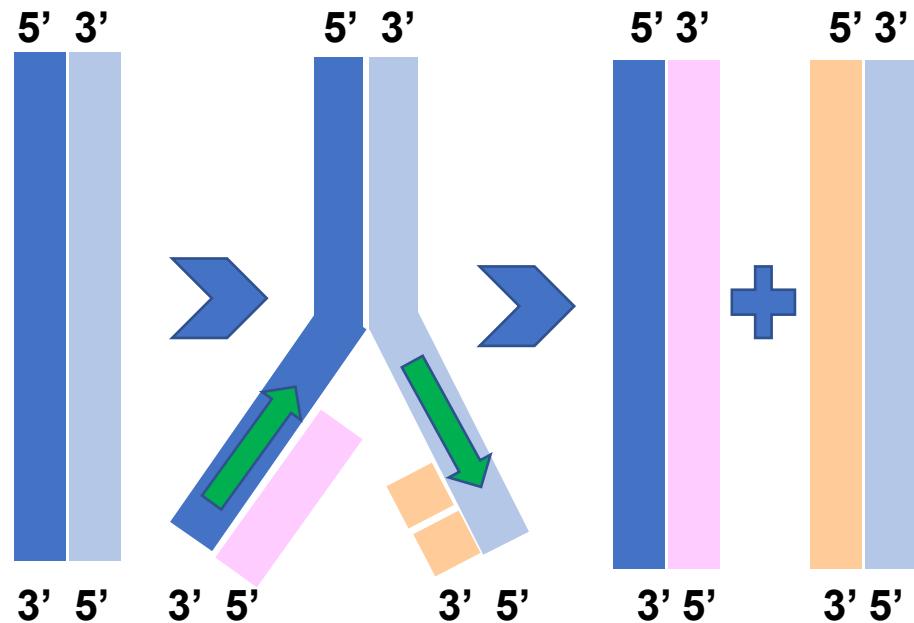
# COMPARACIÓN DE FUNCIONES DEL MATERIAL GENÉTICO

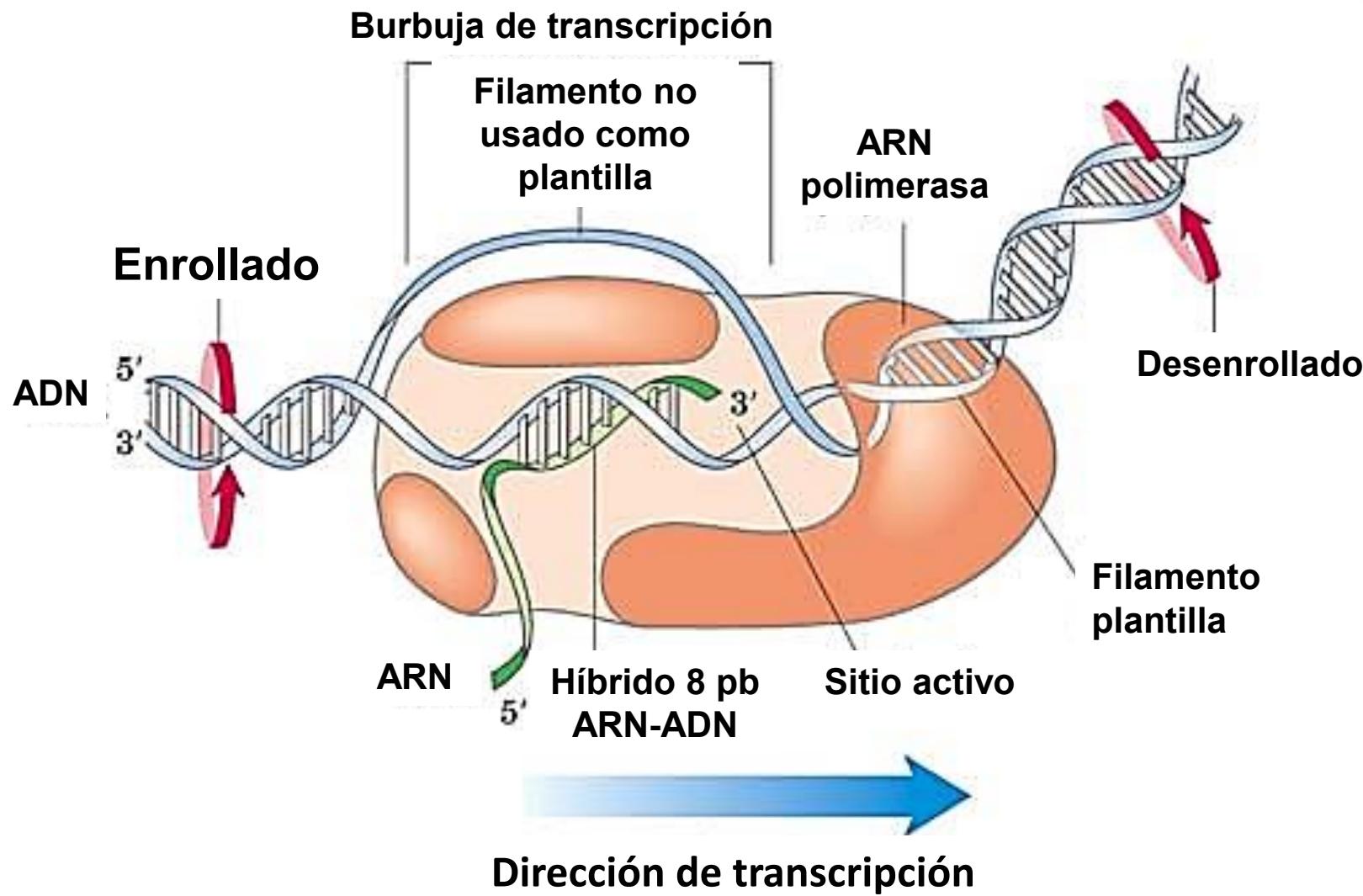
| Evento                                 | Célula procariote                               | Célula eucariote                                |
|--|---|---|
| Replicación                            | Formación de una nueva molécula de DNA.         | Formación de una nueva molécula de DNA.         |
| Transcripción                          | Paso de la información del DNA a RNA mensajero. | Paso de la información del DNA a RNA mensajero. |
| Intrones y exones                      | No tienen                                       | Presentes                                       |
| Lectura del RNA mensajero en Ribosomas | Directa   | Eliminación de intrones                         |

## Replicación en procariotes

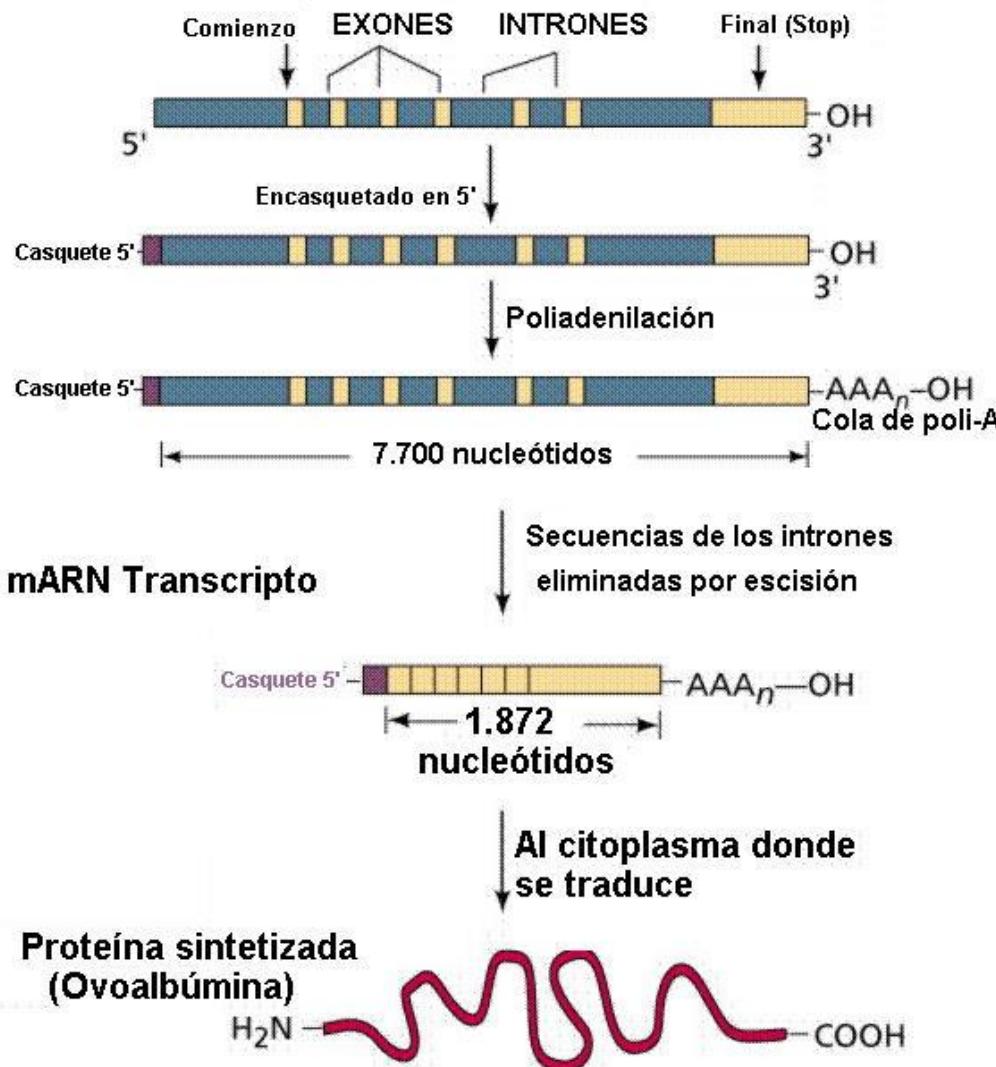


## Replicación en eucariotes, en el punto de replicación

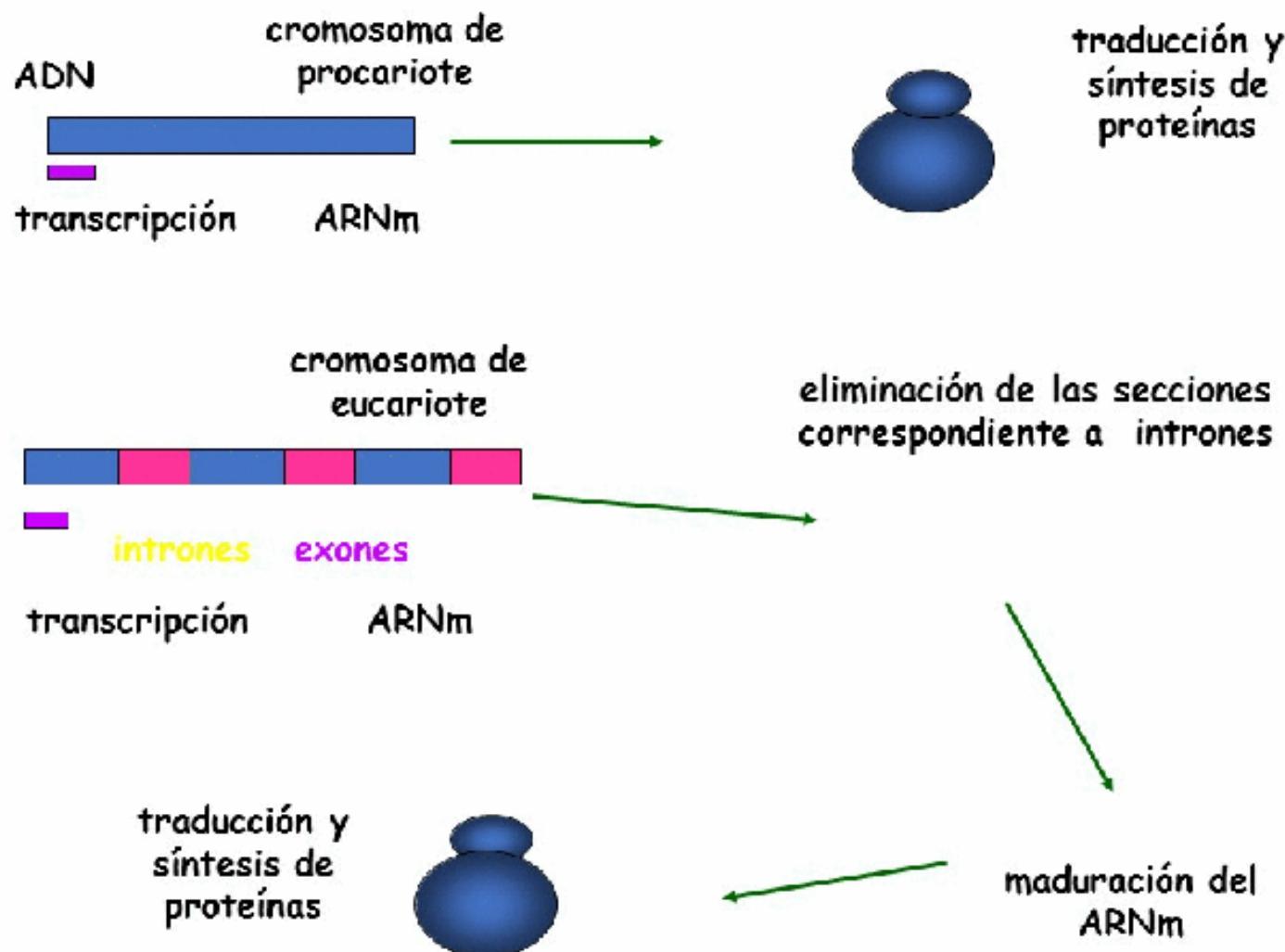




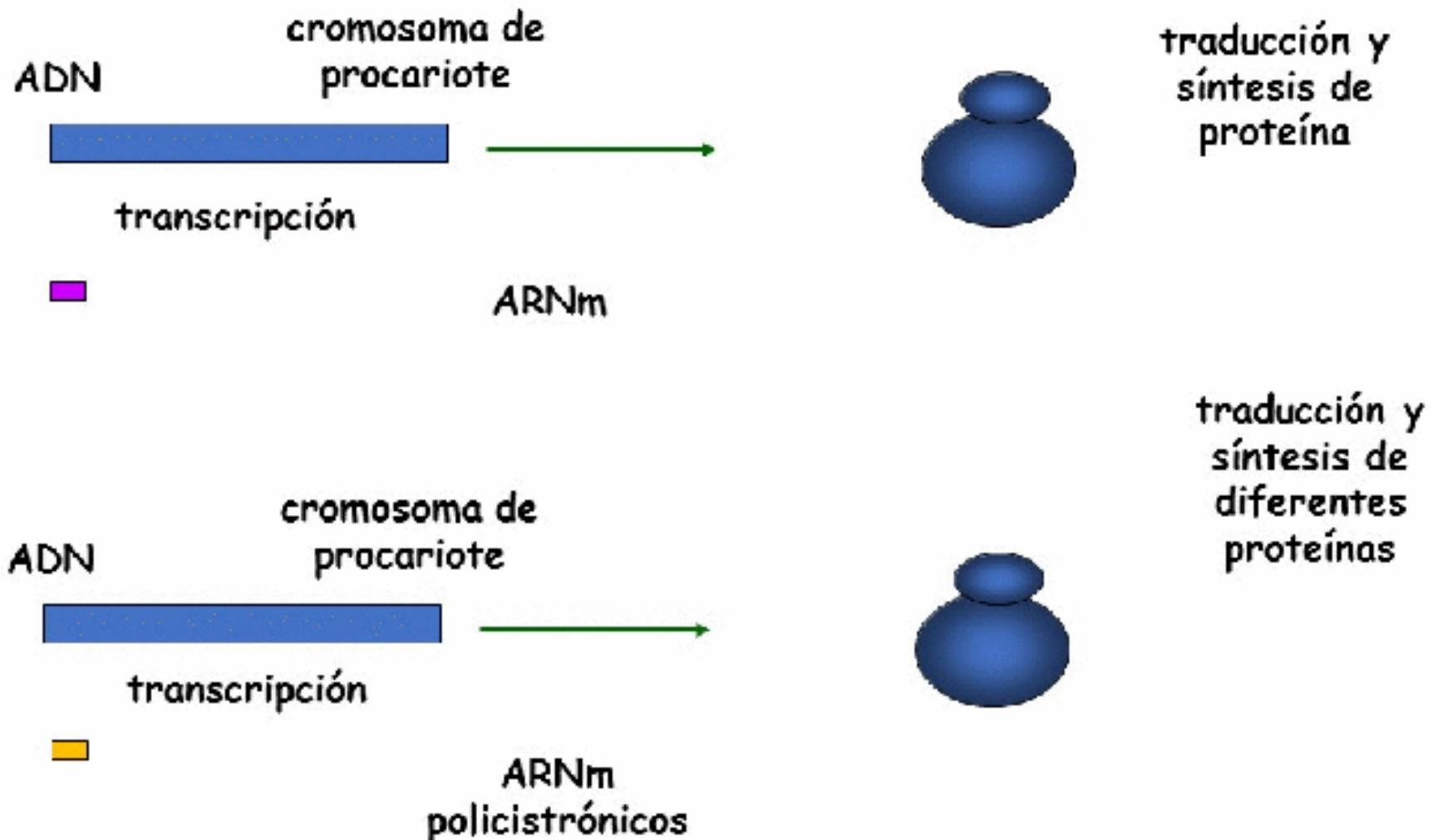
# MADURACIÓN DE ARNm EN EUCARIOTES



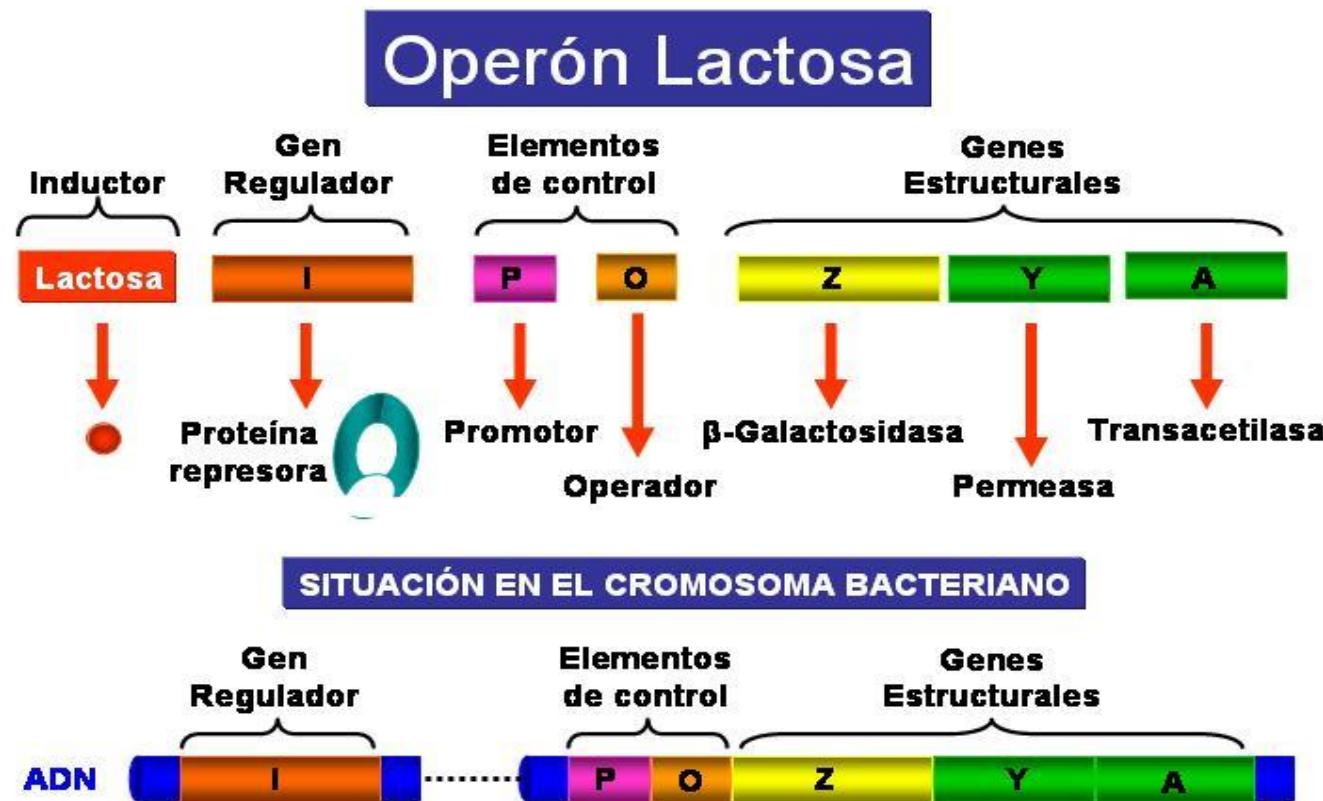
# COMPARACIÓN DEL ARNm EN PROCARIOTES Y EUCA RIOTES

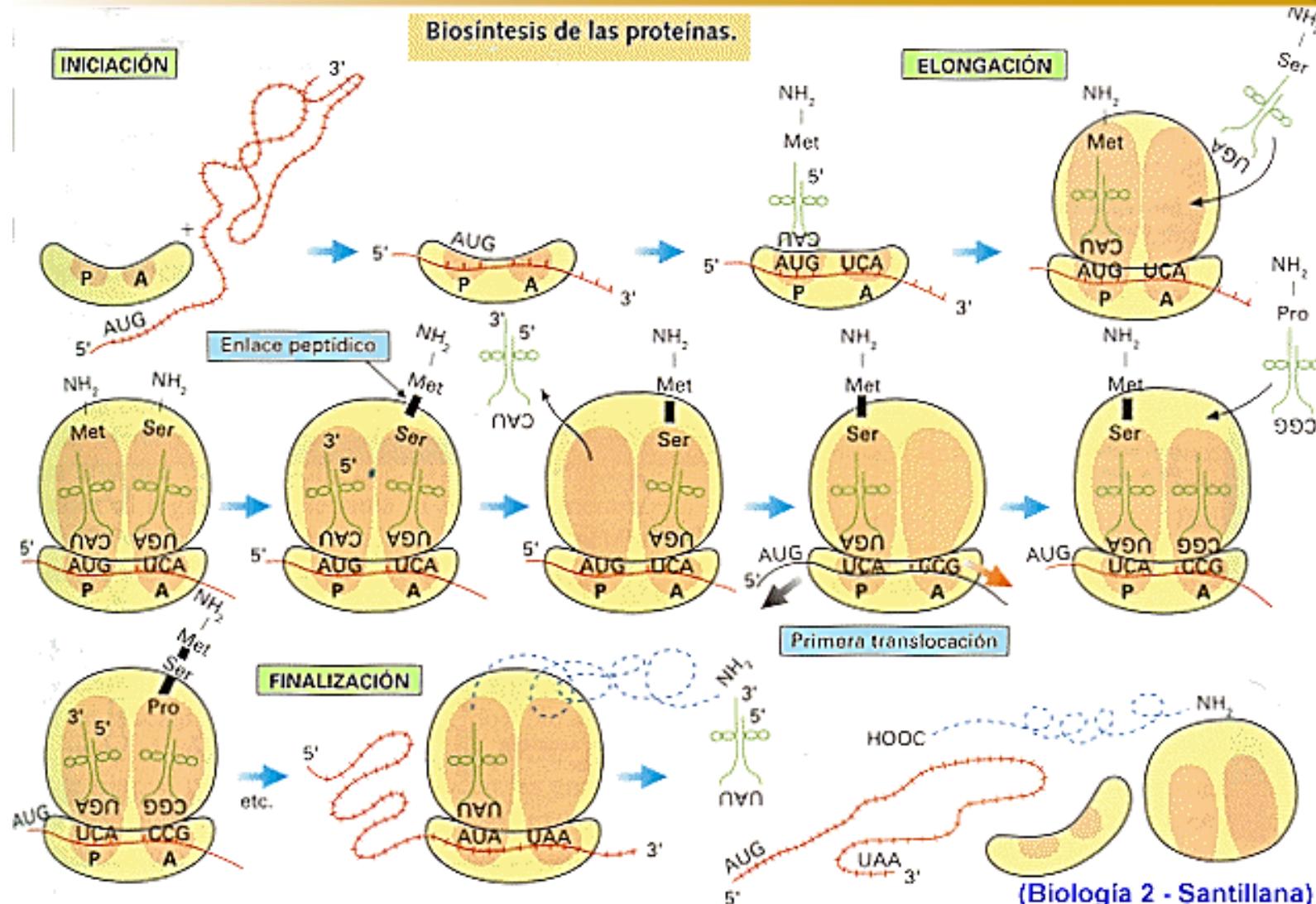


# ARNm POLICISTRÓNICO

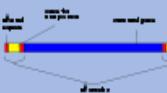
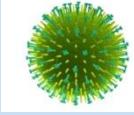


Grupo de genes estructurales cuya expresión está regulada por los mismos elementos de control (promotor y operador) y genes reguladores. Están compuestos por promotor (P), el operador (O), el gen regulador (i), proteína reguladora, inductor.



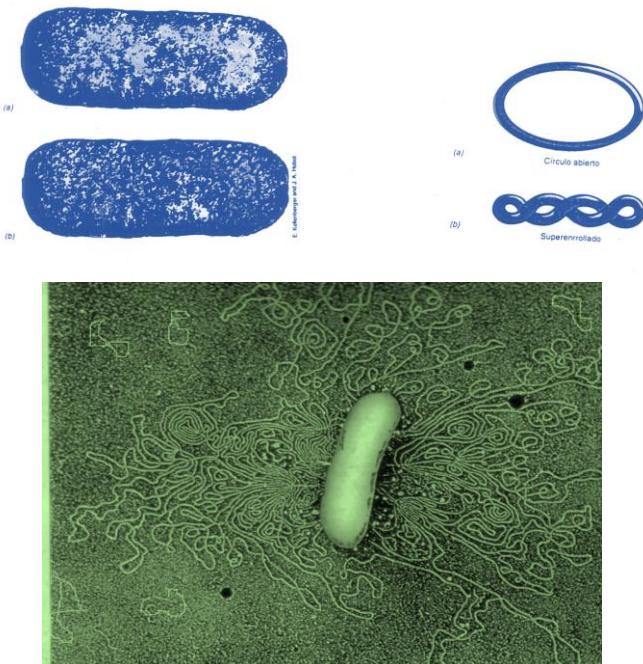


# CLASES DE ELEMENTOS GENÉTICOS CELULARES

| Tipo de material   | Célula procariote   | Célula eucariote  |
|--|---|---|
| Cromosoma                     | Muy largo, normalmente circular, DNA bicatenario, algunos procariotes tienen proteínas tipo histonas. | Muy largo, lineal, DNA bicatenario, presencia de histonas para empaquetar |
| Plásmido                      | Corto, normalmente circular   | “Equivalente”, corto lineal, DNA bicatenario                              |
| Mitochondria y/o cloroplasto  | No tienen   | DNA circular, longitud intermedia   |
| Elemento transponible        | DNA bicatenario, dentro de otro DNA   | DNA bicatenario, dentro de otro DNA                                       |
| Virus                       | DNA o RNA bi o monocatenario  | DNA o RNA bi o monocatenario  |

## Cromosoma de procariotes

Nucleoide de procariotes (amarillo) y material cromosomal cerrado (abierto e hiper-enrollado)



Material genético de *Escherichia coli*. Se aprecia la molécula del cromosoma y los plásmidos.

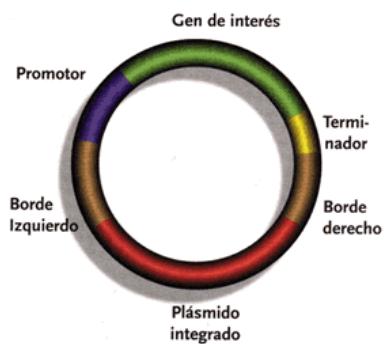
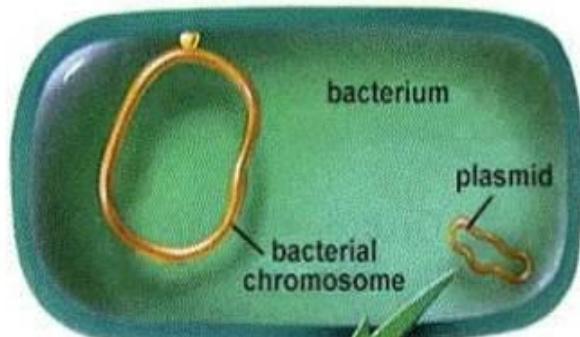
## Cromosoma de eucariotes

Núcleo y material cromosomal hiper-enrollado con histonas

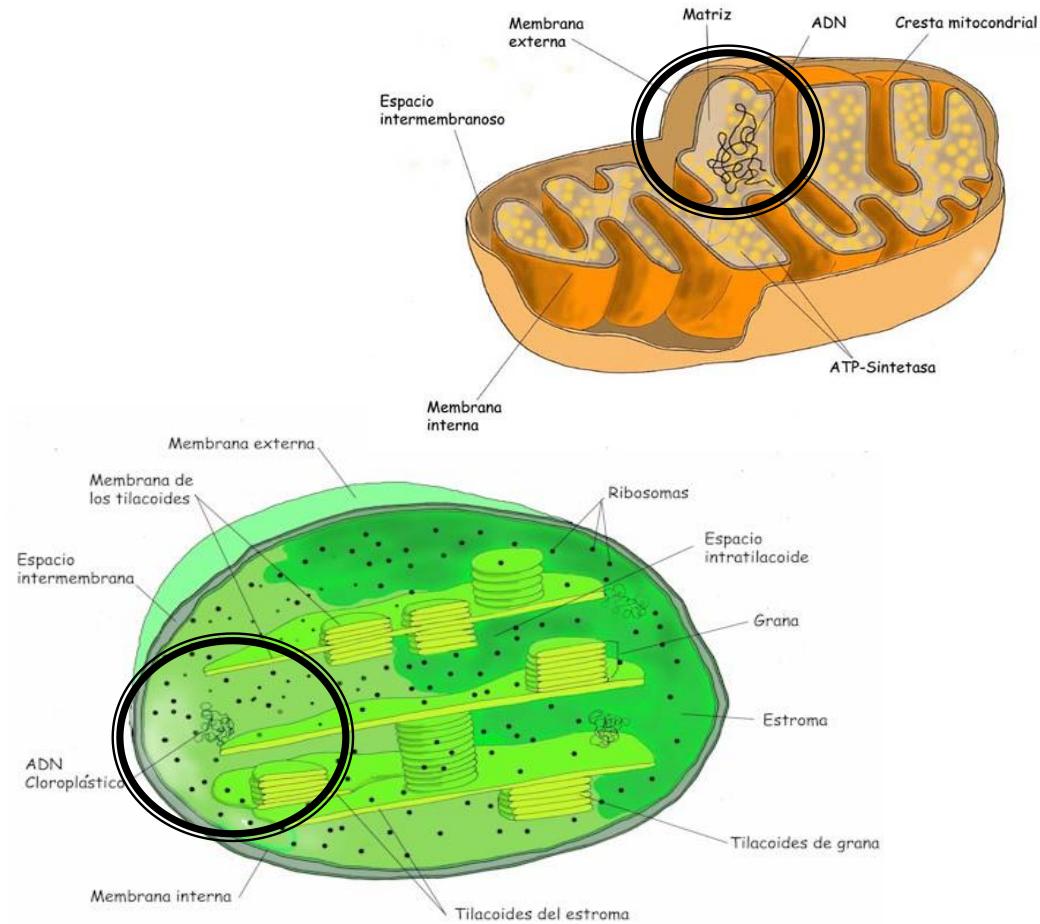


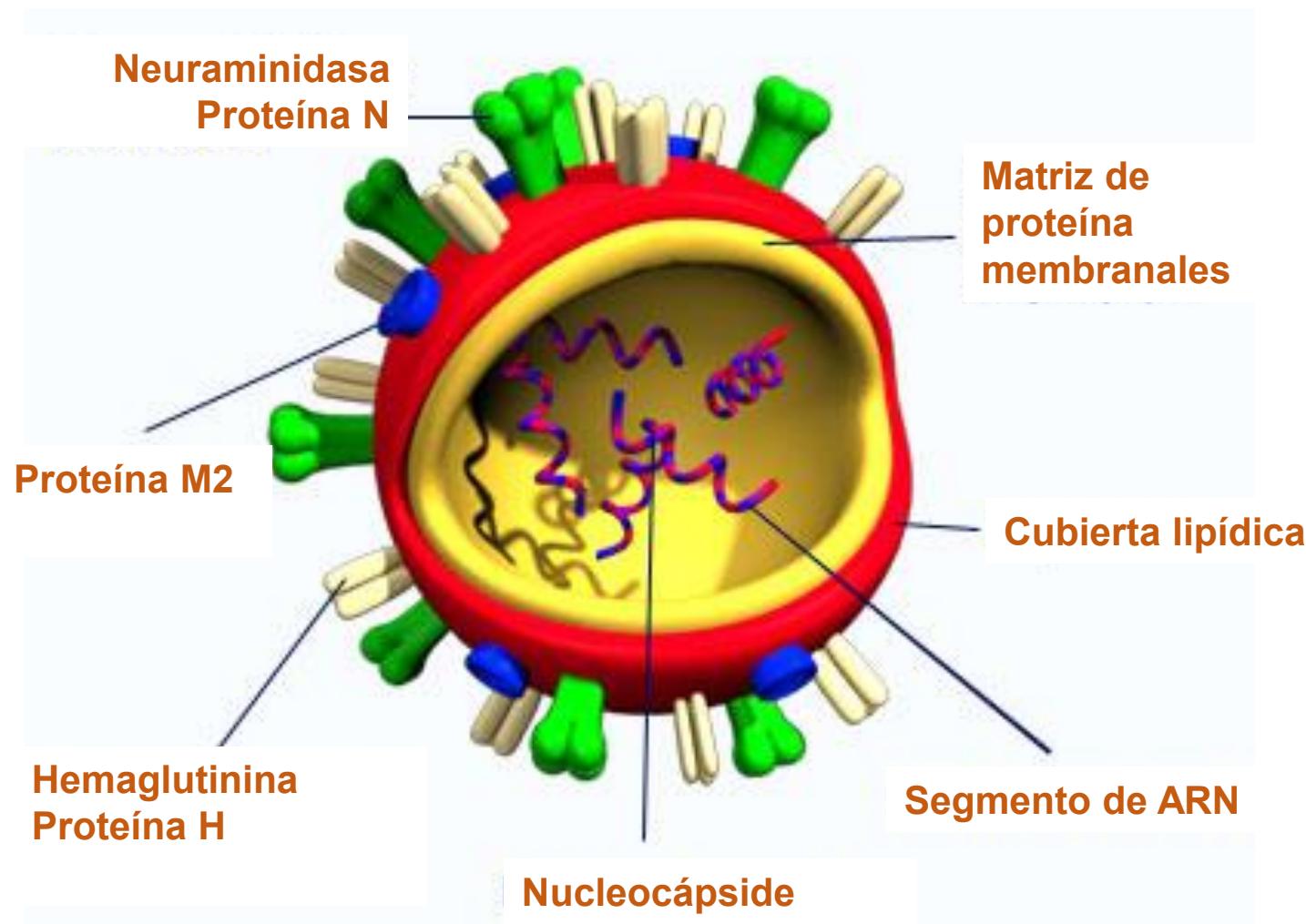
Célula con cromosomas visibles.

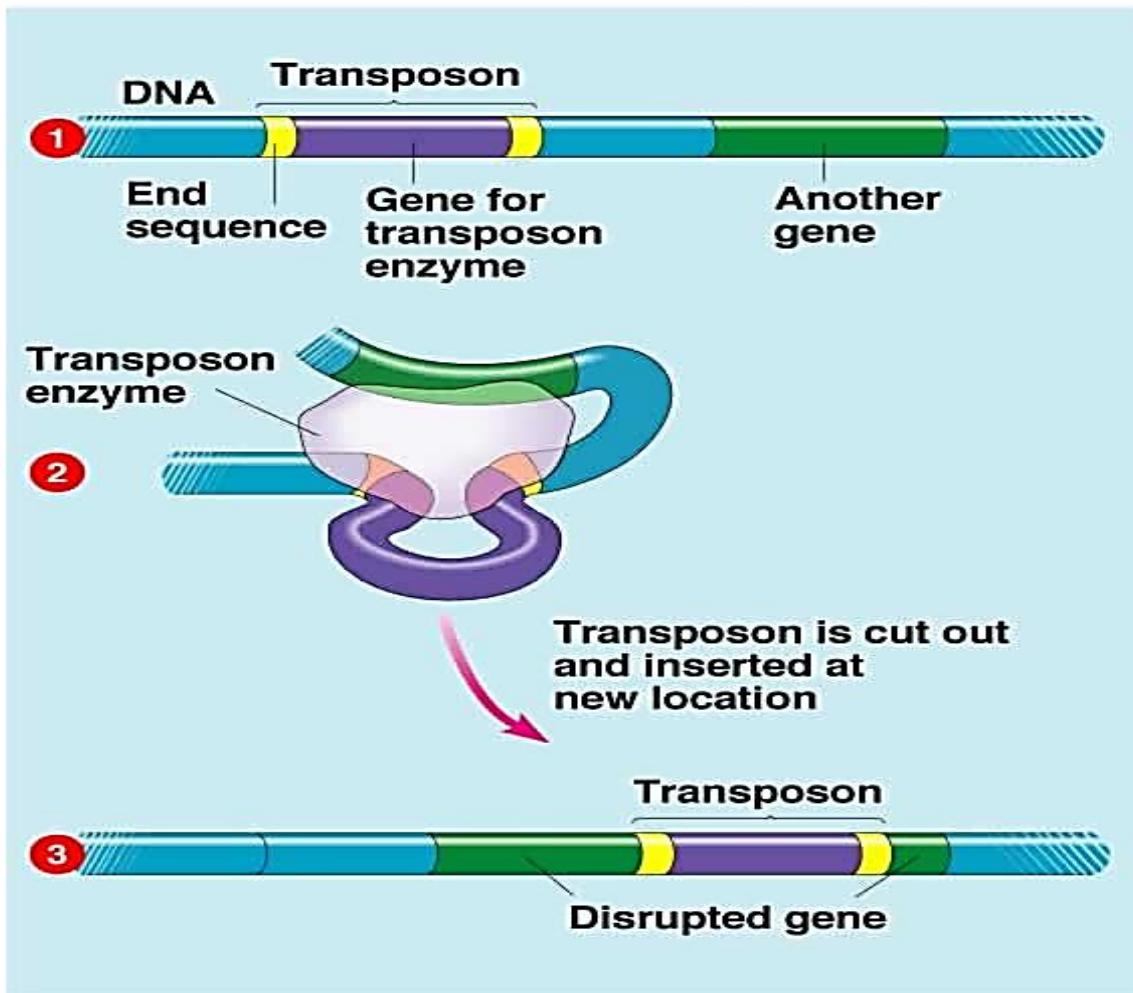
## Plásmido (procariotes)



## Otro material en eucariotes





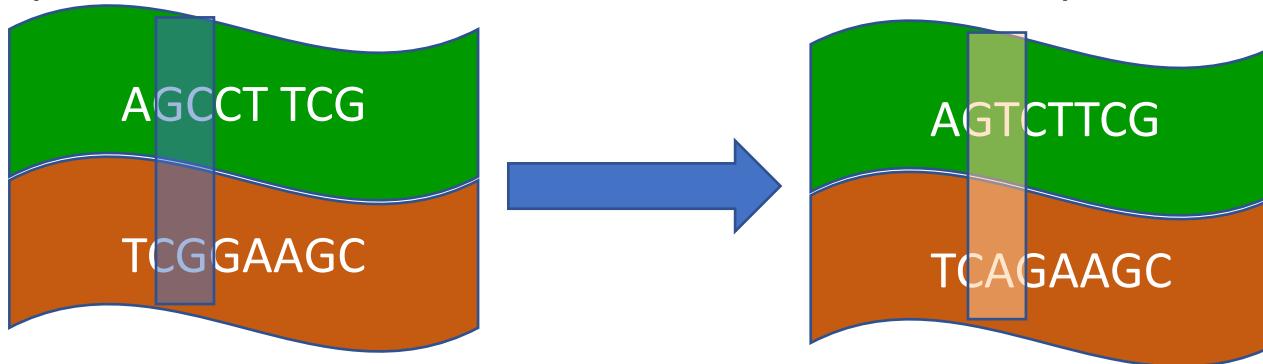


©Addison Wesley Longman, Inc.

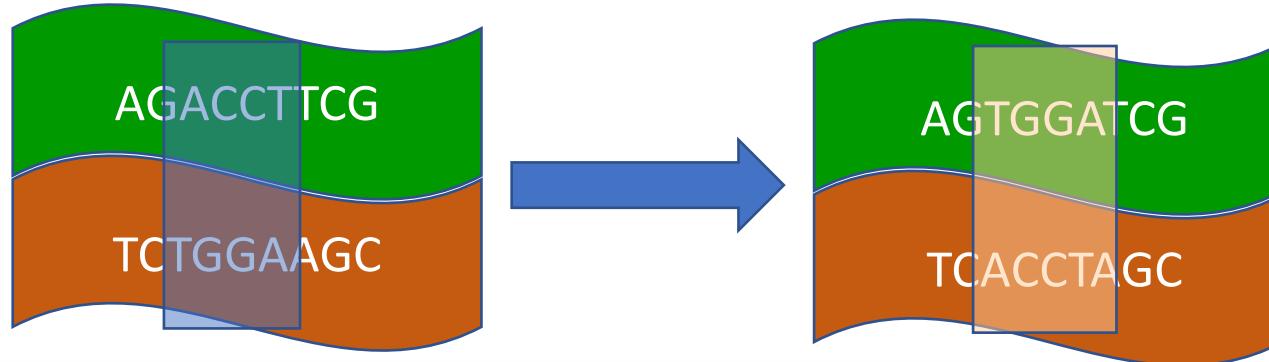
## 05.2) MUTACIONES ESPONTÁNEAS E INDUCIDAS.

La variación de la información genética en el gen debido al cambio en la secuencia de las bases nitrogenadas del ADN se considera una mutación.

Pueden ser puntuales cuando solamente se cambia un nucleótido por otro,

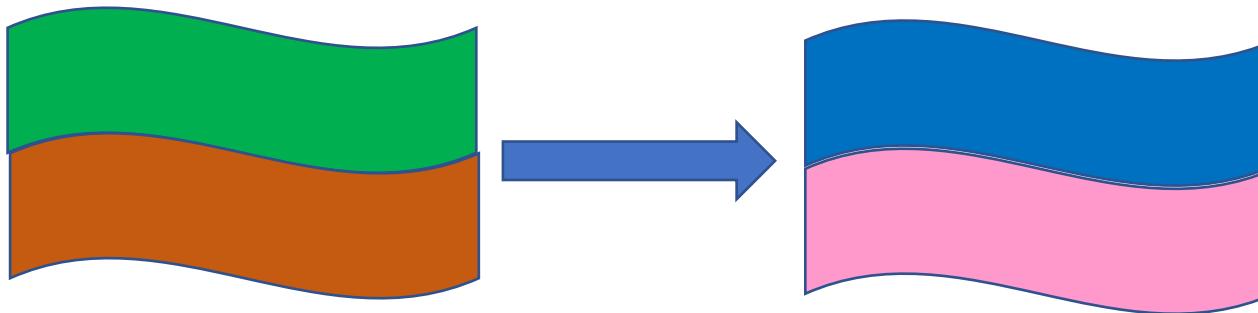


o pueden ser en bloque o gran escala si el cambio es de varios nucleótidos al mismo tiempo.

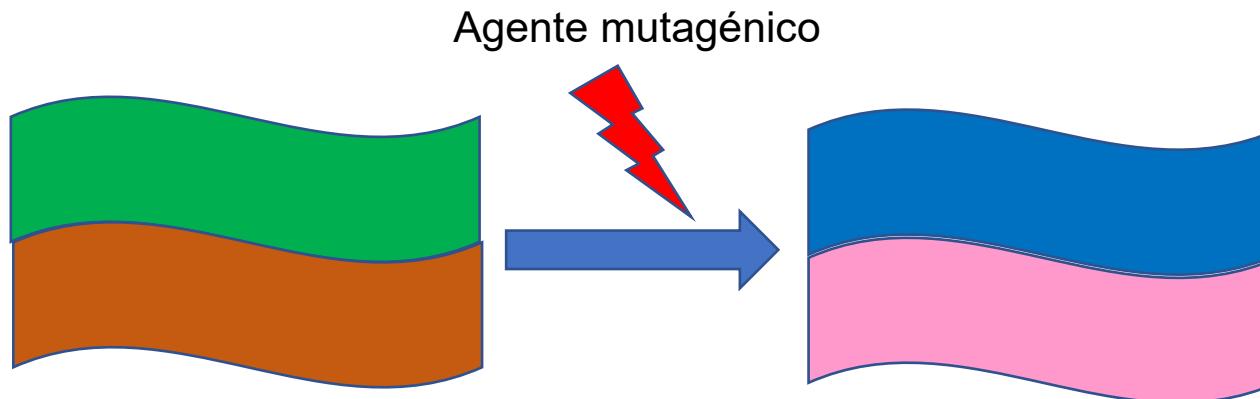


## 05.2) MUTACIONES ESPONTÁNEAS E INDUCIDAS. (CONTINUACIÓN)

Se considera una mutación espontánea cuando al momento de la replicación se cambia la secuencia de bases nitrogenadas, durante el proceso de copia y replicación del ADN.

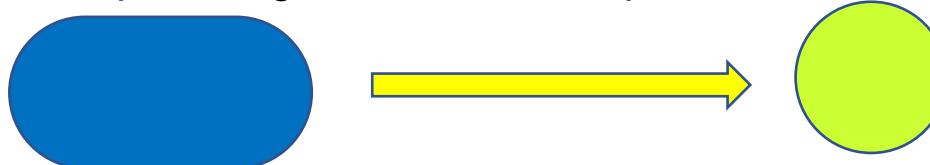


Las mutaciones inducidas son aquellas en las cuales se altera la secuencia de los genes, mediante la acción de agentes químicos o físicos, ya sea de manera natural o artificial.

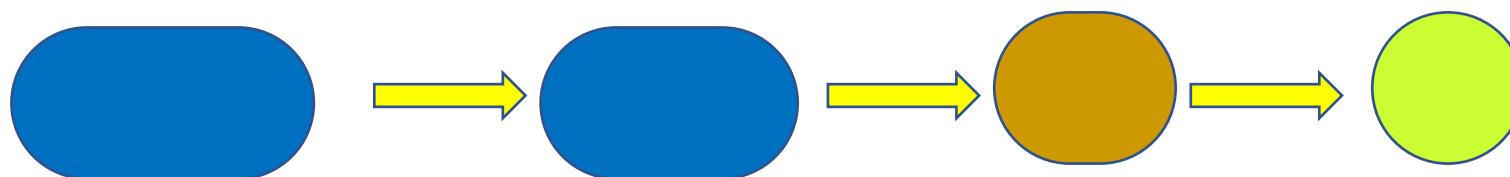


# ESTABILIDAD DE LAS MUTACIONES

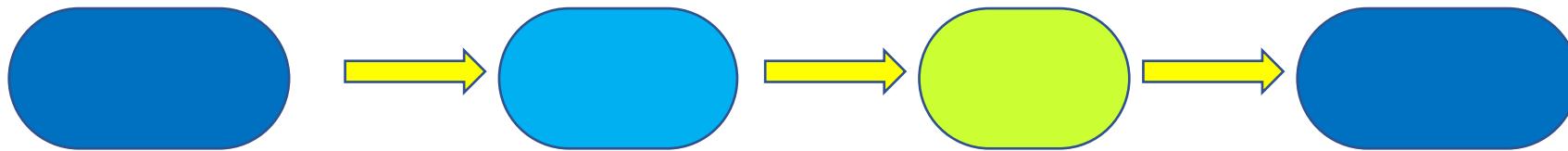
Ambos tipos de mutación a la larga pueden producir cepas diferentes a la original y si la mutación no se pierde se pueden generar nuevas especies de individuos.



La evolución se apoya en las mutaciones, cuando son espontáneas el proceso evolutivo lleva mucho tiempo, pero las características se vuelven más permanentes,

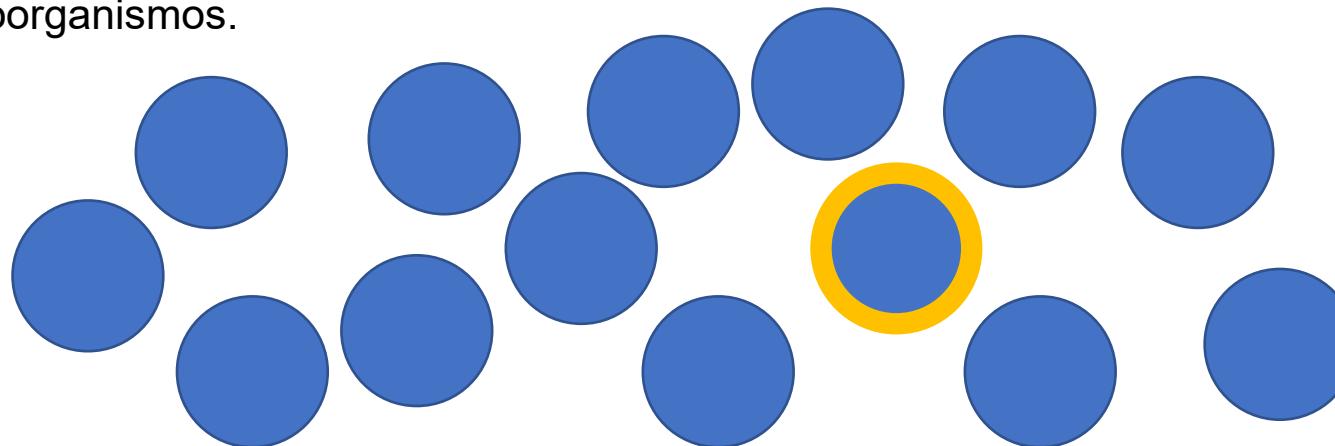


en cambio, cuando la mutación es inducida se pueden presentar muchas características nuevas, pero es posible que no sean estables y en pocas generaciones los organismos pierdan muchas de esas características.

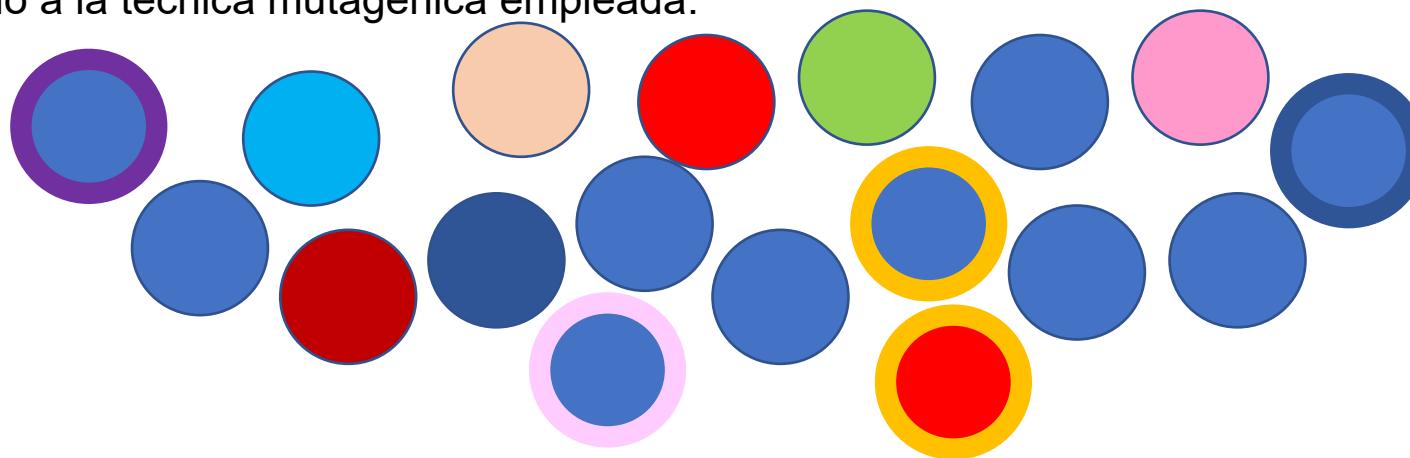


# FRECUENCIA DE LAS MUTACIONES

Se ha estimado que las mutaciones espontáneas ocurren una por cada millón de generaciones de microorganismos.



En cambio, las mutaciones inducidas pueden presentarse varias en cada generación, de acuerdo a la técnica mutagénica empleada.



# RESULTADOS DE LAS MUTACIONES

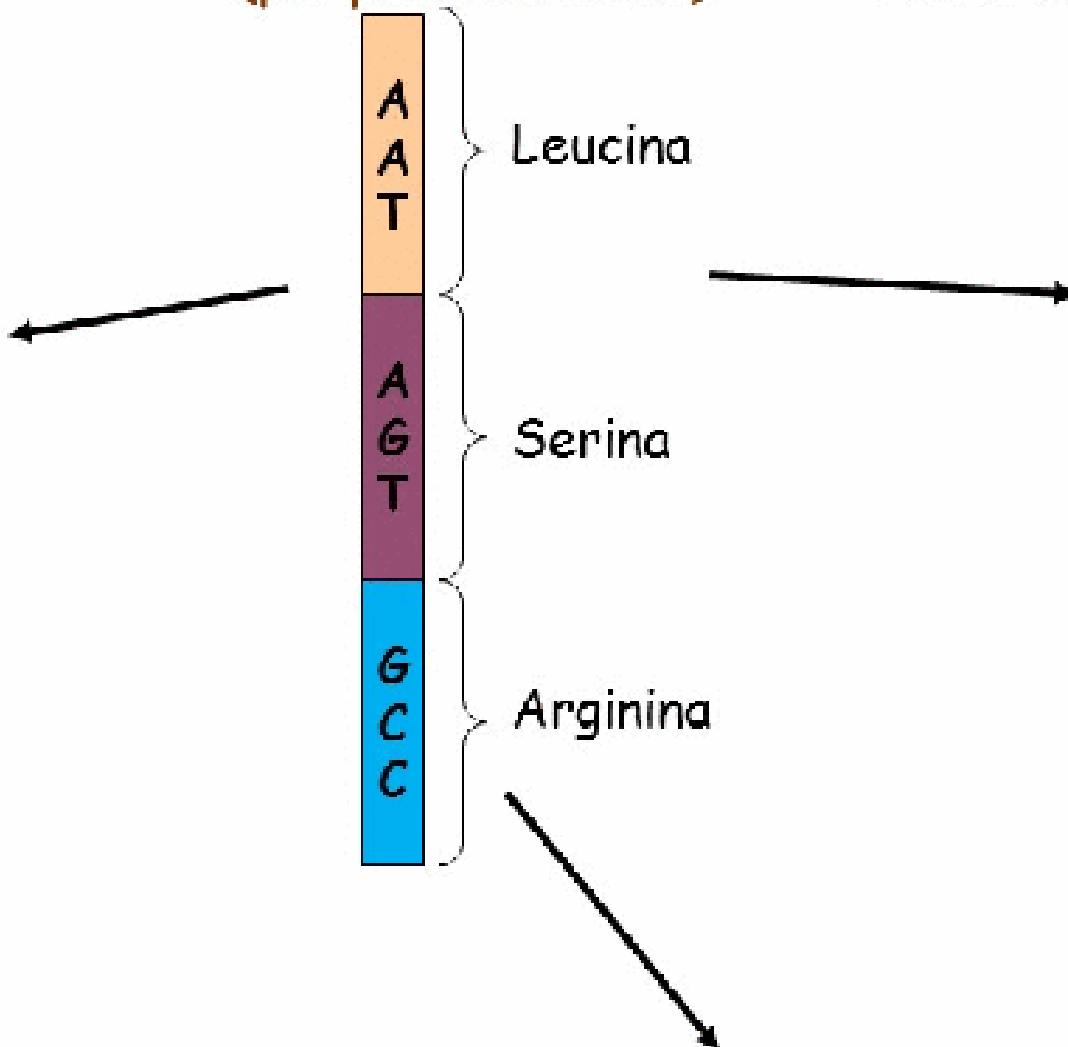
| Replicación del ADN |              | Transcripción y traducción | Inserción de aminoácido        | Resultado                     |
|---------------------|--------------|----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| ADN                 | SIN MUTACIÓN | UAC<br>Codón tirosina      | Proteína normal                | No hay mutación               |
|                     | MUTACIÓN     | AAC<br>Codón asparagina    | Proteína alterada (defectuosa) | Mutación de cambio de sentido |
|                     |              | UAG<br>Codón de parada     | Proteína incompleta            | Mutación sin sentido          |
|                     |              | UAU<br>Codón tirosina      | Proteína normal                | Mutación silenciosa           |

Según la severidad de las mutaciones (cantidad y lugar) se pueden tener mutaciones letales, benéficas o neutras.

La célula puede tener mecanismos para reparar el daño, como por ejemplo la fotorreactivación.

## MUTACIONES PUNTUALES (por pares de bases)

Inserción



Sustitución

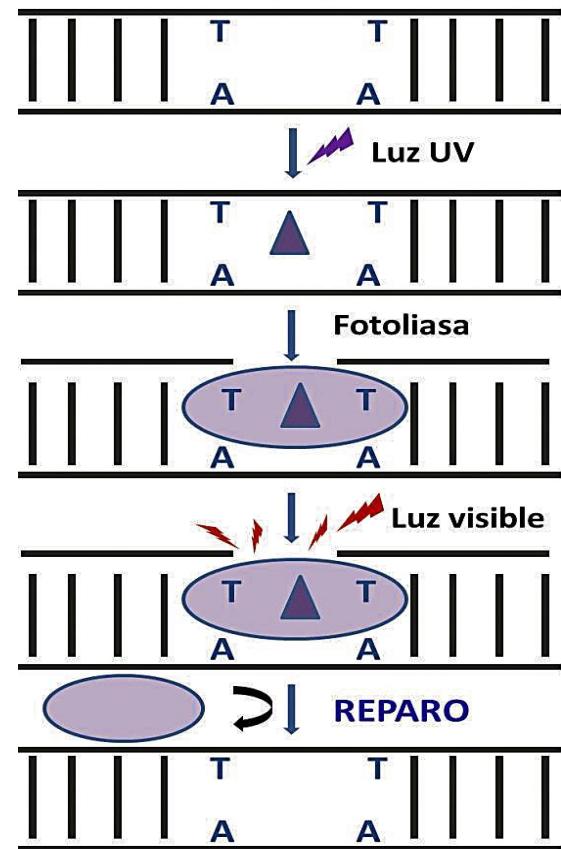
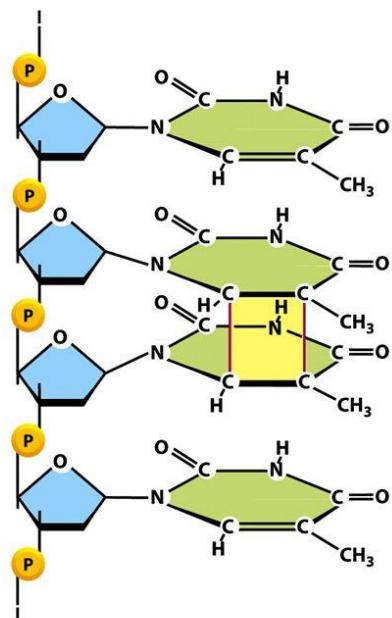
Supresión

# REPARACIÓN DE MUTACIONES

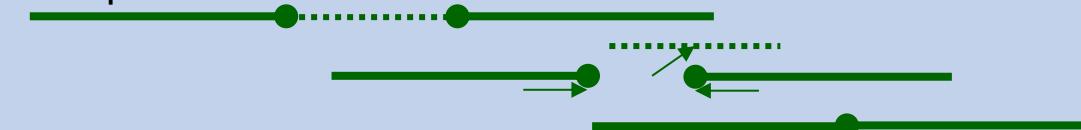
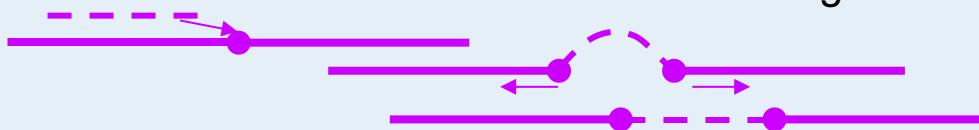
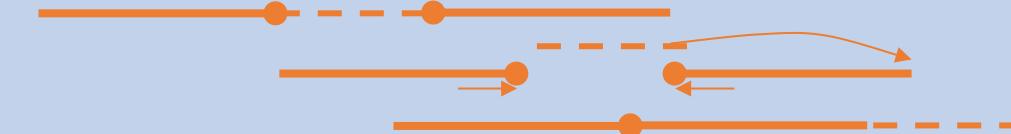
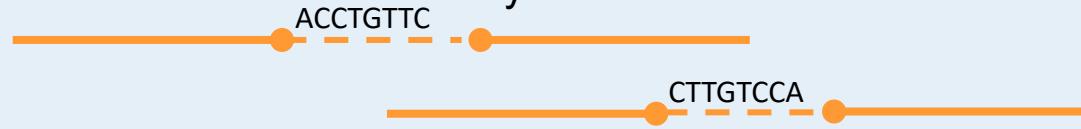
La célula puede tener mecanismos para reparar el daño, como por ejemplo la fotorreactivación.

## Dímeros de timina

Exposición a radiaciones ultravioletas



# MUTACIONES CON CAMBIO EN BLOQUE DE PARES DE BASES

| Tipo de mutación | Características   |
|------------------|---|
| Deleción         | Eliminación de una secuencia de pares nitrogenadas que involucran genes completos o parte de ellos.<br> |
| Inserción        | Al introducir una secuencia de nucleótidos se alteran los genes al cambiarla.<br>                       |
| Traslocación     | Situación cuando se cambia una secuencia de bases nitrogenadas de un cromosoma al mismo o a otro.<br>  |
| Inversión        | Cuando la secuencia es invertida y se tiene una nueva codificación.<br>                               |

# AGENTES MUTAGÉNICOS:

Aquellos que favorecen la mutación, principalmente al momento de la reparación del daño.

| Agente   | Acción   | Resultado  |
|--|--|--|
| <b>Análogos de bases</b><br>5-Bromouracilo<br>2-Aminopurina  | <ul style="list-style-type: none"><li>Incorporada como T, falso, apareamiento ocasional con G</li><li>Incorporada como A; falso apareamiento con C</li></ul> | AT → CG, a veces GC → AT<br>AT → GC, a veces GC → AT |
| <b>Compuestos que reaccionan con DNA</b><br>Ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ )<br>Hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) | <ul style="list-style-type: none"><li>Desamina A y C</li><li>Reacciona con C</li></ul>   | AT → GC y GC → AT<br>GC → AT                         |

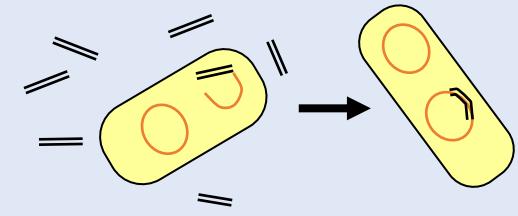
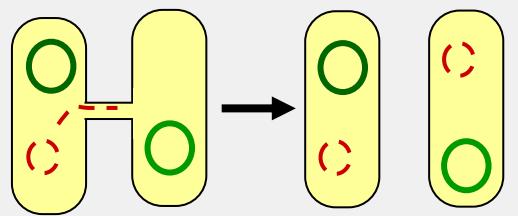
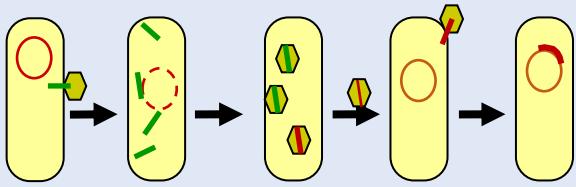
# AGENTES MUTAGÉNICOS:

Continuación.

| Agente   | Acción   | Resultado   |
|--|--|---|
| <b>Agentes alquilantes</b><br>Monofuncionales (etil metano sulfonato)<br>Bifuncionales (mostazas, nitrogenadas, mitomicína, nitrosoguanidina)<br>Colorantes intercalantes (acridinas, bromuro de etidio) | <ul style="list-style-type: none"><li>·Introduce metilo en G; falso apareamiento con T</li><li>·Entrecruzamiento de las cadenas de DNA, región cortada por DNasa</li><li>·Inserción entre dos pares de bases</li></ul> | <p>GC → AT</p> <p>Mutaciones puntuales y delecciones</p> <p>Microinserciones y microdelecciones</p>         |
| <b>Radiación</b><br>Ultravioleta<br>Radiación ionizante (por ejemplo, rayos X)   | <ul style="list-style-type: none"><li>·Formación de dímeros de pirimidina</li><li>·Ataque de radicales libres en el DNA, con rotura de cadena</li></ul>  | <p>La reparación puede originar error o delección</p> <p>La reparación puede originar error o delección</p> |

## 05.3) PROCESOS DE RECOMBINACIÓN BACTERIANA Y SUS CONSECUENCIAS.

La información genética puede ser transferida o intercambiada entre diferentes organismos, dando características nuevas a los individuos que la reciben (individuo a individuo). Es un proceso de transmisión horizontal.

| Tipo de intercambio          | Características de la transmisión horizontal de información genética  |
|------------------------------|---|
| A) Transformación            | <p>El material genético de una célula destruida queda libre y puede ser introducida por otra célula, que la incorpora a su cromosoma.</p>  |
| B) Conjugación (procariotes) | <p>Por medio del pili F se forma un puente citoplásmico, a través de este pasa el plásmido.</p>    |
| C) Transducción por fago     | <p>En general los virus ayudan a transferir la información genética entre individuos.</p>    |

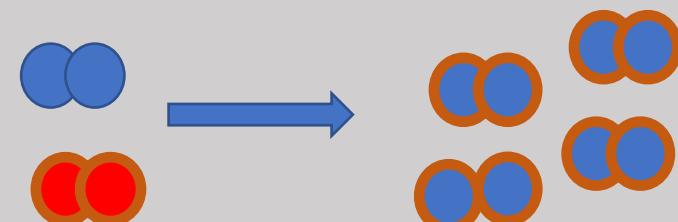
## 05.3) PROCESOS DE RECOMBINACIÓN BACTERIANA Y SUS CONSECUENCIAS. (CONT.)

En eucariotes el proceso de transmisión es vertical.

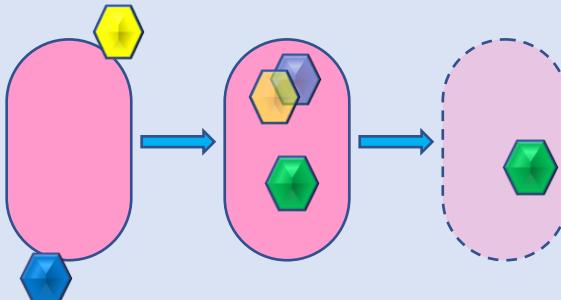
| Tipo de intercambio         | Características de transmisión vertical en eucariotes  |
|-----------------------------|--|
| D) Conjugación (eucariotes) | <p>Las células se fusionan y los cromosomas intercambian segmentos de material genético, acrecentando el acervo. Después se divide la célula, dando origen a nuevas células. Hay división meiótica y mitótica.</p> |
| E) Reproducción sexual      | <p>Hay fusión de gametos que complementan la información genética del individuo. Los gametos se originan de una división meiótica.</p>   |

Esto permite la aparición de nuevas cepas de individuos en tiempos muy cortos, lo que también les concede una ventaja evolutiva.

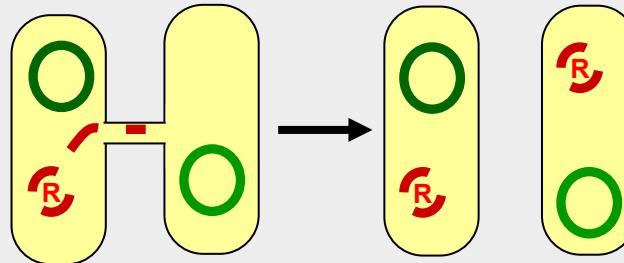
Cuando neumococos vivos sin cápsula y neumococos muertos con cápsula fueron inyectados en la misma mezcla causaron la muerte del ratón, por lo tanto, los vivos tomaron fragmentos del ADN de los muertos, obteniendo la capacidad de producir cápsula volviéndose patógenos. No tuvieron que esperar la evolución para volver a crear cápsula.



Se cree que el virus H1, N5, que es patógeno al humano, se formó de unirse dos cepas virales que sólo afectaban a aves (H1, N3 y H2, N5) cuando algún grupo de animales tuvo una infección simultánea se recombinaron genes.

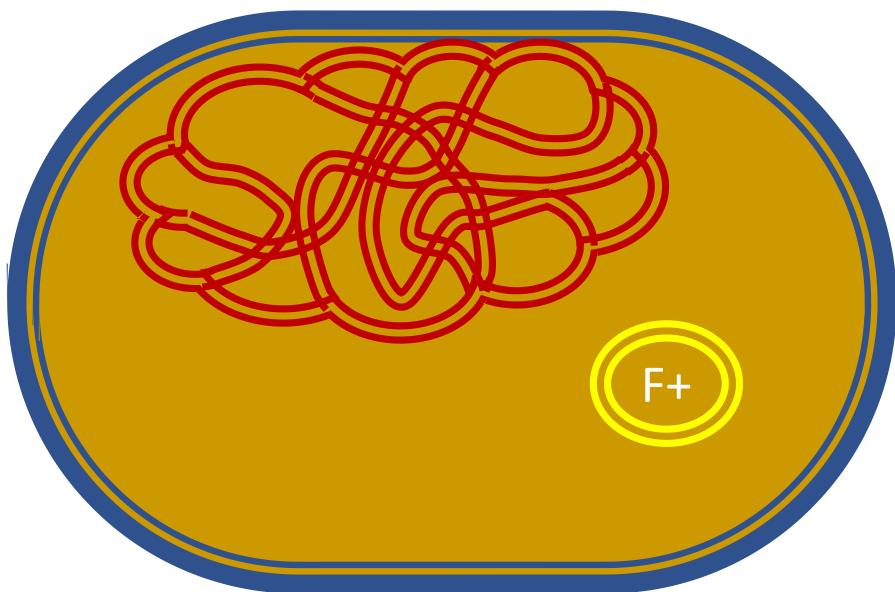


Hay muchos mecanismos que hacen que los microorganismos puedan soportar la acción de antibióticos, en algún momento evolutivo una cepa cambió para poder resistir la acción de estos compuestos y es capaz de transmitir rápidamente esta información a otros individuos para que también sean resistentes.

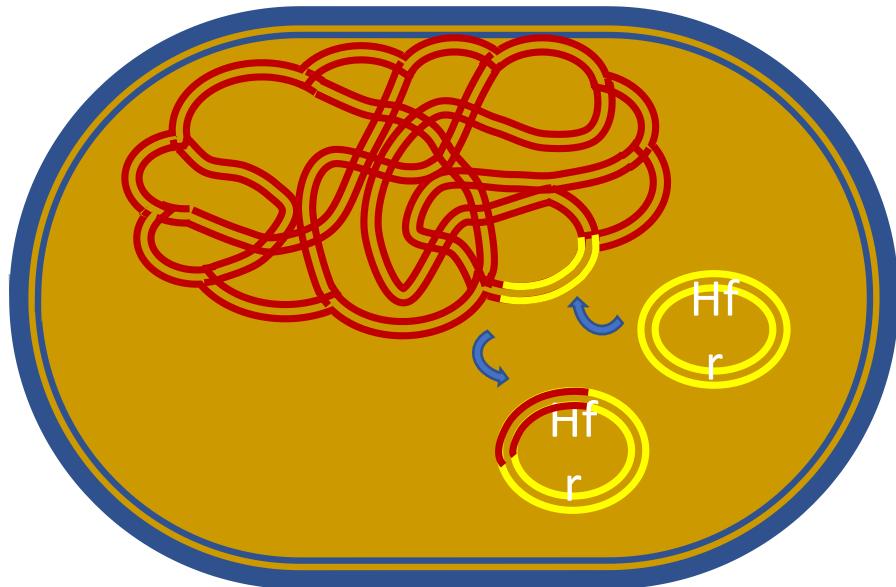


# FRECUENCIA DE RECOMBINACIÓN:

Movimiento de ADN entre Cromosomas y Plásmidos

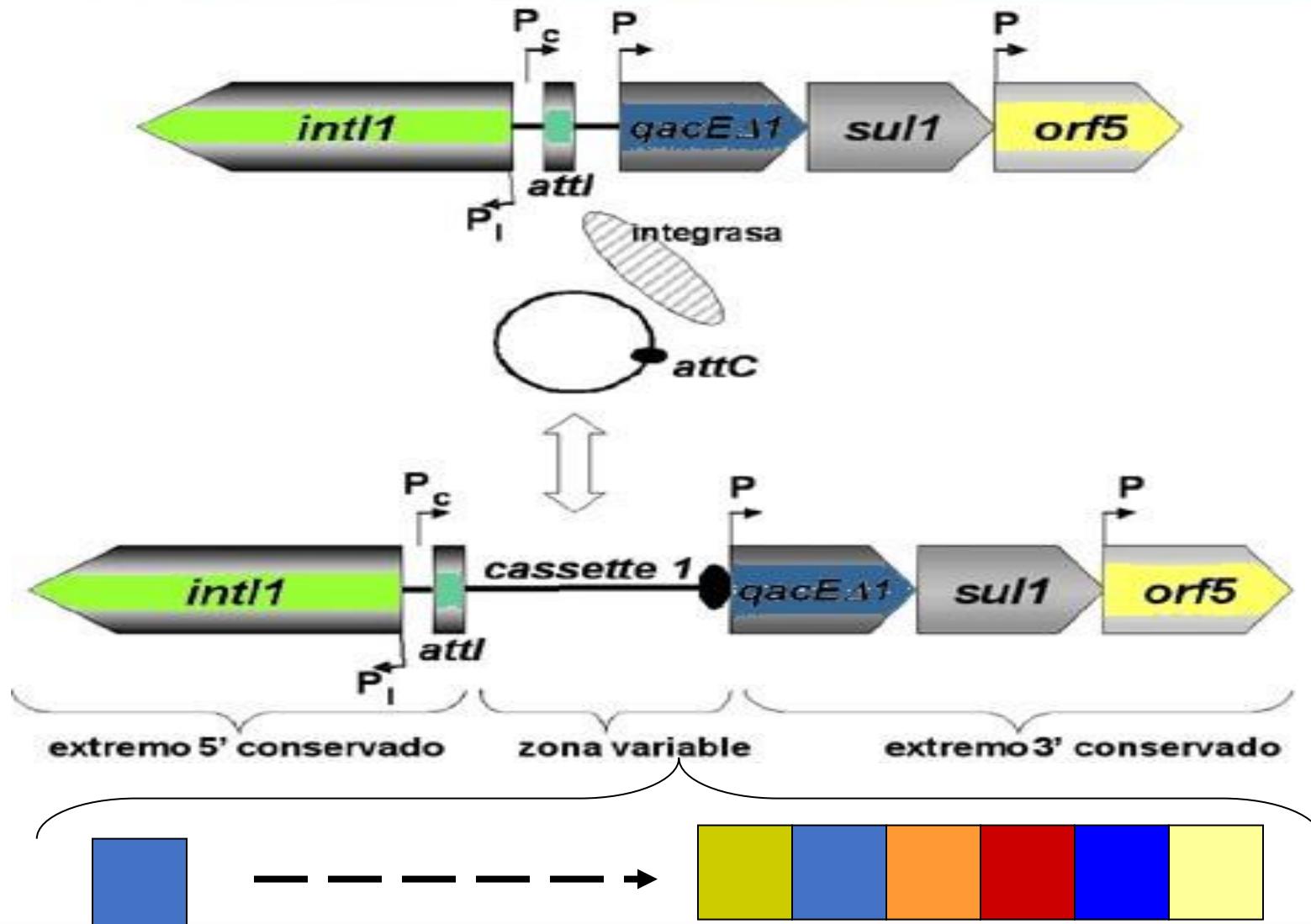


Célula con plásmido F+, generalmente sólo la información del plásmido pasa a otra célula, también puede integrarse al cromosoma.



Célula Hfr, también tiene información en el plásmido para conjugación F+, pero puede recombinarse con el cromosoma y pasar más información a otra célula

# CASETE DE RESISTENCIA EN PROCARIOTES

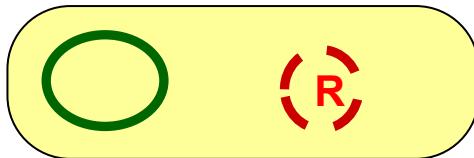


# TRANSFERENCIA DE INFORMACIÓN GENÉTICA: CONJUGACIÓN

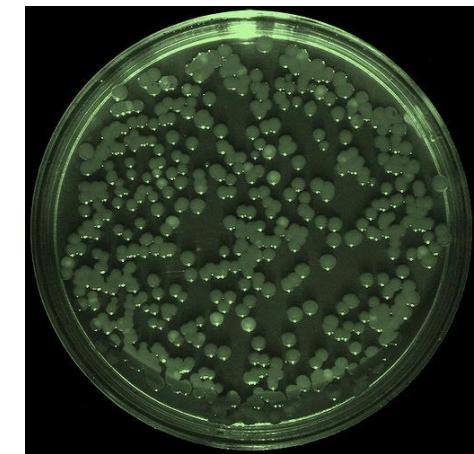
Célula A, sensible a ampicilina, auxótrofa a niacina, resistente a rifampicina: Amp<sup>S</sup>, Rif<sup>R</sup>, auxótrofa a niacina



Célula B, resistente a ampicilina, protótrofa, sensible a rifampicina, pigmento verde fluorescente: Amp<sup>R</sup>, Rif<sup>S</sup>, pigmento verde.



Célula C: Amp<sup>R</sup>, Rif<sup>R</sup>, protótrofa, pigmento verde.



Medio de cultivo mínimo, sin factores de crecimiento, con ampicilina y rifampicina.

Crece C y no crecen A y B

El área de desarrollo de sofisticados procedimientos para el aislamiento, manipulación y expresión de material genético.

Tiene aplicaciones tanto en la investigación básica como en la aplicada. En investigación básica, las técnicas de ingeniería genética se usan para estudiar los mecanismos de la replicación y expresión genética en procariotes, eucariotas y virus. Algunos de los más importantes descubrimientos básicos de la genética molecular se han realizado utilizando técnicas de ingeniería genética.

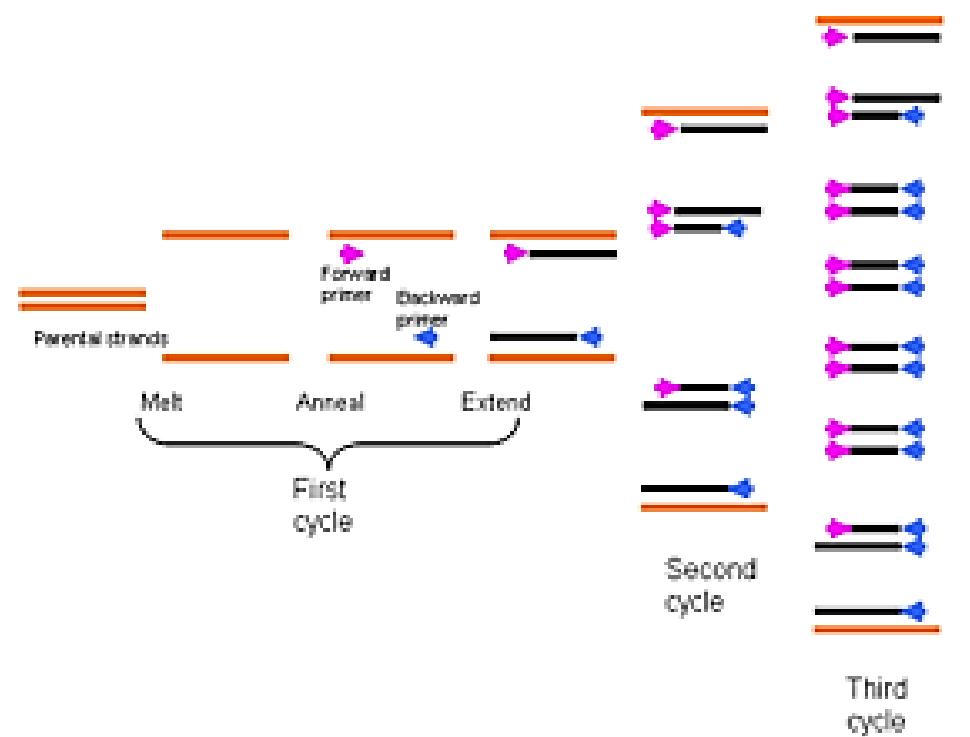


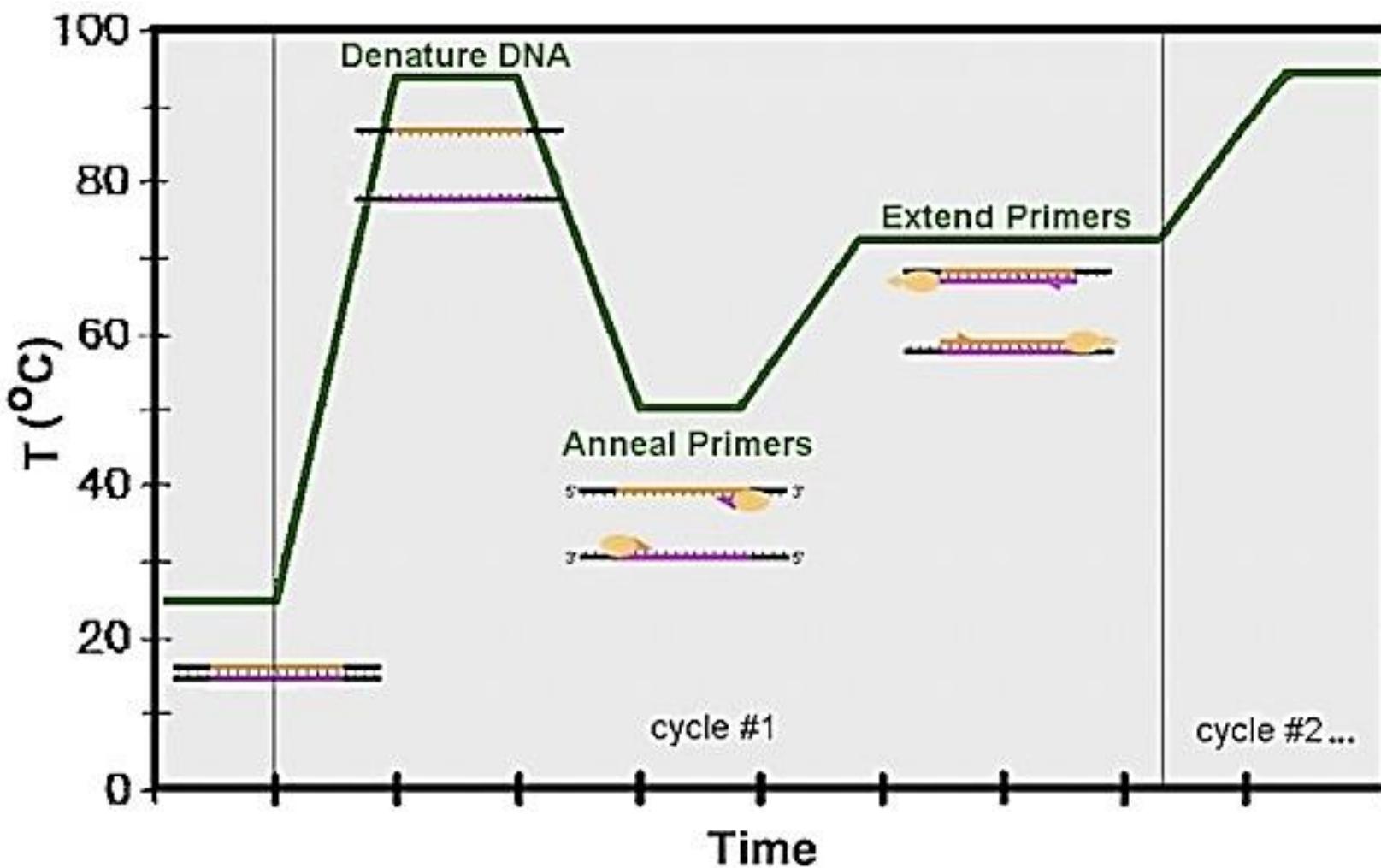
En cuanto a la investigación aplicada, ha permitido el desarrollo de cultivos microbianos capaces de fabricar productos valiosos como la insulina humana, la hormona humana del crecimiento, interferón, vacunas y enzimas industriales.



# PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA

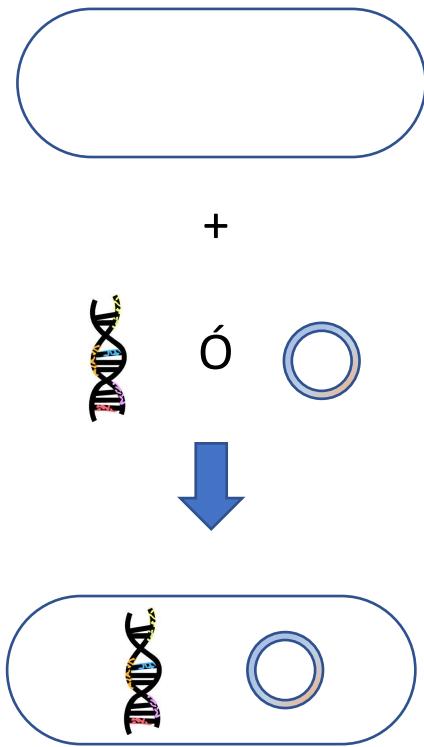
La PCR es una técnica válida para diferentes aplicaciones médicas que requieran una concentración alta de un fragmento concreto del ADN: para identificar anomalías en la secuencia de nucleótidos que apunten a posibles patologías, para identificar a un individuo o averiguar su parentesco con otros ya que el patrón de nucleótidos del ADN es característico de cada individuo o para detectar la presencia de ADN de microorganismos útil en el diagnóstico de infecciones o para probar la eficacia de un tratamiento.



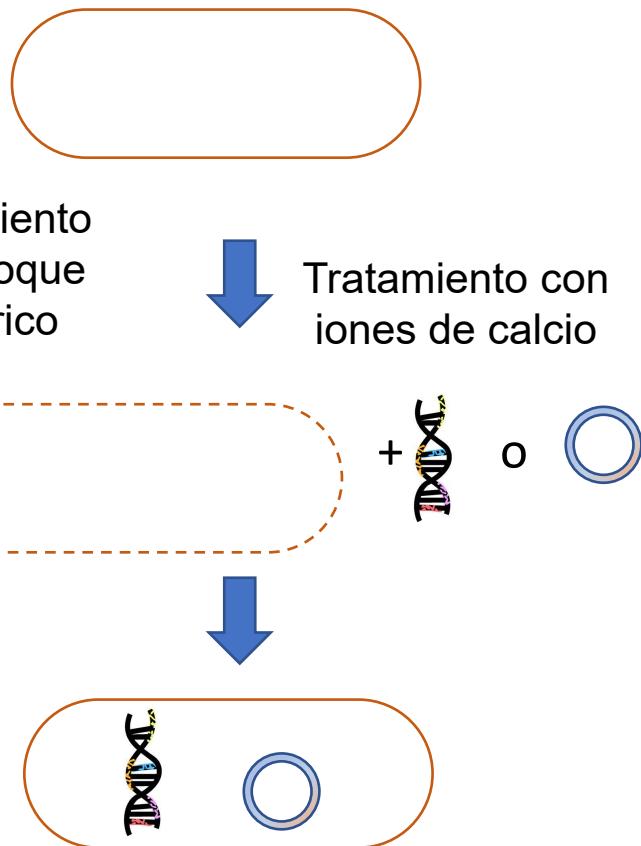


# TRANSFORMACIÓN MICROBIANA

Células naturalmente competentes: aquellas que cuentan con los mecanismos para introducir segmentos de ADN para su posterior incorporación al cromosoma o su expresión en plásmidos.

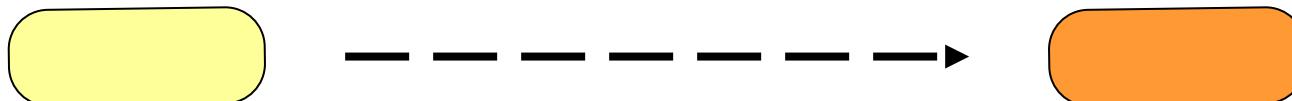


Células modificadas para ser competentes: aquellas que, sin ser naturalmente competentes, se les prepara para que puedan recibir ADN externo y lo puedan expresar.

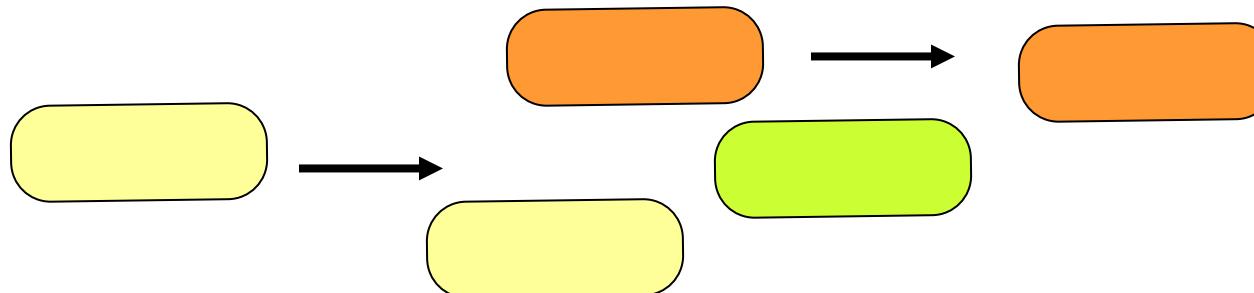


# COMPARACIÓN ENTRE PROCESOS DE OBTENCIÓN DE ORGANISMOS CON NUEVAS CARACTERÍSTICAS.

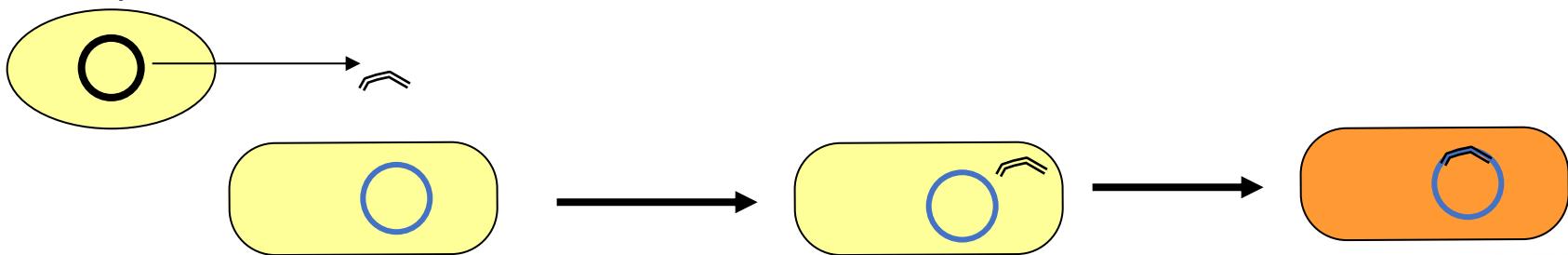
a) Selección de cepas productoras. Se verifica producción y se separan las mejores productoras.



b) Uso de agentes mutagénicos. Se aplica luz UV o un agente químico y posteriormente se verifica la nueva cepa productora y se aísla.

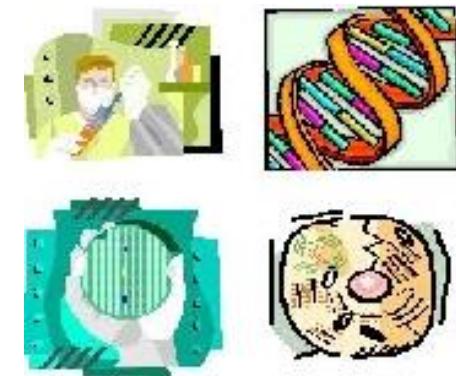


c) Se busca un microorganismo con un gen productor y se transfiere a otro organismo para volverlo productor.



Es la utilización de microorganismos para la producción de metabolitos de interés como enzimas, hormonas, ácidos orgánicos, biomasa, alcoholes, etcétera.

Mucho de la biosíntesis se basa en la bioconversión de un sustrato en un producto de interés.



Por ejemplo, la sacarosa o azúcar de caña puede ser bioconvertida en etanol por levaduras.

La misma levadura puede realizar la bioconversión del azúcar en materia orgánica o biomasa cuando el propósito es producir levadura de cerveza como complemento alimenticio.

La ingeniería genética apoya a la biosíntesis al poder obtener cepas productoras mejoradas o con otras propiedades de producción.

Características y limitantes de las cepas productoras:

- ❖ **Producir la sustancia de interés.**
- ❖ **Ser estable genéticamente y poder manipularse genéticamente.**
- ❖ **No debe ser dañino a personas, animales y el medio ambiente.**
- ❖ Mantenerse largo tiempo en laboratorio y en producción.
- ❖ Si se requiere debe ser un cultivo axénico.
- ❖ Debe crecer en cultivos a gran escala.
- ❖ Tener una forma de reproducción que permita su inoculación fácilmente.
- ❖ El sustrato en el que desarrolle debe ser barato y de fácil adquisición.
- ❖ Debe poderse separar fácilmente del medio de cultivo.

