

*Tema 4.- Genética microbiana. Elementos genéticos bacterianos. Transferencia horizontal de material genético en microorganismos: transformación, conjugación y transducción. Elementos genéticos de los virus. Expresión de la información genética. conclusión*

## 1.- INTRODUCCIÓN

### ESTRUCTURA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Hay dos tipos de ácidos nucleicos (AN) en las células: el **ácido desoxirribonucleico (ADN)** y el **ribonucleico (ARN)**.

El ADN está formado por bases nitrogenadas de tipo **púrico (adenina y guanina)** y **pirimidínico (citosina o timina)** unidas al azúcar (**desoxirribosa**) que forma una cadena en la que se alterna con el **ácido fosfórico**. La composición del ARN se diferencia de la del ADN en que el azúcar es la **ribosa** y en que la base pirimidínica timina es substituida por el **uracilo**.

Al conjunto de una base nitrogenada, una molécula de azúcar y un grupo fosfato se le denomina **nucleótido**, y a una cadena de nucleótidos (una molécula de AN) **polinucleótido**.

Se denomina **estructura primaria** de un AN a la secuencia de sus nucleótidos. Dos cadenas de AN pueden unirse de forma no covalente mediante el establecimiento de puentes de hidrógeno entre sus bases nitrogenadas. Esta asociación se produce de forma específica de manera que se forman cuatro tipos de parejas de nucleótidos A:T, T:A, C:G y G:C. Cuando dos cadenas de AN con secuencia complementaria se asocian de la forma descrita, se forma una **doble hélice** de AN que es la forma en la que se encuentra por lo general el ADN y algunas partes de las moléculas de ARN. La estructura tridimensional de los AN se denomina **estructura secundaria**.

En las células la información genética se conserva en moléculas de ADN que se transmiten de generación en generación. Durante el ciclo celular, las moléculas de ADN de la célula se **replican** mediante la actividad de un conjunto de enzimas entre las que destaca la **ADN polimerasa** que sintetiza una molécula de ADN complementaria a la que usa como molde. La información almacenada en el ADN se transfiere al ARN en un proceso denominado **transcripción** en el que un conjunto de enzimas entre las que destaca el sistema de la **ARN polimerasa** que sintetiza una molécula de este AN complementaria a una de las cadenas de las moléculas de ADN que utiliza como molde.

Existen varios tipos de ARN en las células:

- **ARN mensajero** que resulta de la transcripción de aquellas regiones del genoma que codifican genes funcionales que van a ser traducidos en proteínas. Este tipo de ARN constituye sólo una pequeña parte del ARN celular total (en torno al 10%).
- **ARN estable** que constituye la mayor parte del ARN celular e incluye el **ARN ribómico** que forma parte de los ribosomas (orgánulos encargados de la síntesis de proteínas), el **ARN de transferencia** que participa en la síntesis de proteínas leyendo la información del ARN mensajero e insertando los aminoácidos correspondientes, y

el **ARN heterogéneo nuclear** que cumple diferentes funciones en el núcleo de las células.

## **2.- ELEMENTOS GENÉTICOS BACTERIANOS**

Se denomina **nucleoide** la zona de la bacteria donde se encuentra su material genético. En el caso de las bacterias, éste está formado generalmente por un **cromosoma** cerrado y por elementos extracromosómicos denominados **plásmidos**.

### **CROMOSOMAS BACTERIANOS**

Los cromosomas de las bacterias están formado por ADN, pequeñas cantidades de ARN y por proteínas que sirven para mantener su estructura. La longitud de los genomas bacterianos varía en torno a las 3-6 Mbp<sup>1</sup>.

Actualmente (28/3/2005) están disponibles en la base de datos los genomas de 355 especies bacterianas entre los que se encuentra un buen número de bacterias patógenas a las que hay que añadir varios genomas de protozoos y hongos patógenos. Teniendo en cuenta la velocidad de secuenciación de genomas en la actualidad, este número se incrementará de forma muy importante durante los próximos años de forma que conocer la secuencia de un microorganismo patógeno (al menos de patrones para los diferentes patógenos) será algo habitual en la mayoría de las enfermedades infecciosas comunes.

La secuenciación de los genomas de microorganismos patógenos es importante desde el punto de vista clínico porque permite:

- Identificar los factores de virulencia del patógeno y las bases moleculares de su fisiología, lo que permite diseñar agentes quimioterápicos más específicos y eficientes.
- Identificar las bases genéticas de la variabilidad de los patógenos que les permiten escapar de los sistemas de defensa inmune del organismo huésped.
- Diseñar nuevos sistemas de detección de microorganismos más sensibles y específicos al estar basados en la detección de secuencias genéticas del patógeno.

### **REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA**

En el genoma bacteriano se encuentran regiones que codifican **genes estructurales** que se transcriben y traducen en proteínas y otras regiones que codifican **genes reguladores** cuya función es controlar la expresión ordenada de los genes estructurales.

---

<sup>1</sup> Como una generalización simplista, los tamaños de los diferentes elementos genéticos son los que se indican en la siguiente tabla:

Elemento o genoma	Tamaño	
Plásmido	3x10 <sup>3</sup>	3 Kpb
Virus bacteriano (fago $\lambda$ )	50x10 <sup>3</sup>	50 Kpb
Célula procariótica ( <i>E. coli</i> )	3.5 x 10 <sup>6</sup>	3.5 Mpb
Célula eucariótica ( <i>S. cerevisiae</i> )	14 x 10 <sup>6</sup>	14 Mpb
Genoma humano	3.5x 10 <sup>9</sup>	3.5Gpb

Es decir, la relación de tamaño entre un plásmido y una célula bacteriana es de 1 a 1000, y la que hay entre una célula bacteriana y una humana es de 1 a 1000 también.

Esta **expresión génica** regulada por los genes reguladores se produce como respuesta a señales ambientales que causan la modulación (**inducción** o **represión**) de la expresión de grupos de genes que se controlan de forma simultánea (**operones**).

Según la forma de respuesta a las condiciones externas, los operones pueden ser inducibles represibles (ver más adelante).

Los sistemas de regulación de la expresión génica en eucariontes son más sofisticados, aunque en ciertos aspectos recuerdan el modelo básico del operón. En células eucarióticas, sin embargo, los genes se regulan de forma individual (no por grupos) y el ARNm transcrito debe procesarse para eliminar los intrones antes de ser exportado al exterior del núcleo celular para ser traducido.

## VARIACIONES EN LA INFORMACIÓN GENÉTICA

La información genética de una bacteria puede variar por dos mecanismos diferentes: **mutación** o cambio en la secuencia que producen cambios en la información genética; y por **transferencia horizontal de material genético** proceso por el que se comparte información genética entre dos organismos que comparten un mismo ambiente.

La variación en la información genética es una causa importante de aparición de nuevas **resistencias a antibióticos**, de variaciones en los **mecanismos de escape** de los sistemas de defensa inmunológica y de variaciones en los **factores de virulencia** del patógeno.

Las mutaciones se producen espontáneamente en el material genético de cualquier organismo con una frecuencia muy baja (en torno a  $10^{-6}$  por posición y ciclo de división celular)<sup>2</sup>. Una nueva mutación, si no confiere ninguna ventaja selectiva al organismo que la presenta, suele desaparecer de la población en unas pocas generaciones. Esta desaparición es más rápida, todavía, si la mutación es **deletérea** para el organismo que la porta. Sin embargo, si la mutación produce algún tipo de **ventaja adaptativa** para el organismo que la tiene, su frecuencia aumentará en la población hasta llegar a hacerse determinante.

Por ejemplo, una mutación que confiera **resistencia a un antibiótico** puede perderse en un entorno libre de antibióticos porque o bien no confiere ninguna ventaja al microorganismo resistente en ausencia del antibiótico o, incluso, porque puede causar al microorganismo mutado alguna deficiencia en relación con los competidores que lo lleve a la desaparición. Sin embargo, ese mismo microorganismo mutado en un ambiente en el que esté presente el antibiótico frente al que es resistente, tendrá una **ventaja selectiva** frente a los competidores de forma que se convertirá rápidamente en el dominante (o en el único) en la población. Por esto, es muy importante que los tratamientos con antibióticos se realicen correctamente de forma que se evite la selección de **cepas resistentes** que inutilizan el antibiótico en el futuro.

Puesto que muchas de estas mutaciones de resistencia se producen en **elementos genéticos transmisibles (plásmidos)** su diseminación entre diferentes poblaciones microbianas puede ser muy rápida lo que causa graves problemas con las **cepas**

---

<sup>2</sup> Es decir, se produce una célula de cada millón es portadora de una mutación en un punto dado del genoma.

**hospitalarias** que suelen ser portadoras de resistencias múltiples (por ejemplo cepas multirresistentes de *Staph. aureus*).

## **PLÁSMIDOS BACTERIANOS**

Se denominan **plásmidos** a los elementos genéticos **extracromosómicos** que pueden llevar ciertas cepas bacterianas y que codifican **información genética prescindible** para la supervivencia del microorganismo en ambientes naturales.

Los plásmidos son moléculas de ADN normalmente cerrado (aunque también los hay de ADN abierto) que se replican independientemente del cromosoma o cromosomas bacterianos.

El **tamaño de los plásmidos** es mucho menor que el de los cromosomas y puede oscilar (como ejemplo general) en torno a las 3 a 10 kbp. El **número de plásmidos** por célula es variable, y pueden coexistir varios tipos de plásmidos en la misma célula. También es variable el **número de copias** de un determinado plásmido, aunque este factor está controlado genéticamente (hay plásmidos de bajo número de copias y plásmidos de alto número de copias). Los plásmidos deben llevar entre sus genes un **origen de replicación** que permita controlar su multiplicación en la célula en la que se encuentran

Se puede utilizar el **perfil de plásmidos** de un microorganismo para identificar a qué cepa pertenece.

Cuando no se tiene evidencia de qué tipo de función realizan los genes que lleva un plásmido determinado, se dice que se trata de un **plásmido críptico**; sin embargo, en muchos casos, sí puede asignarse una función a dichos genes plasmídicos. Entre estas funciones destacan las siguientes:

1. Codificación de **factores de virulencia** en algunas especies.
  - **Plásmidos *inv*** que confieren invasividad intestinal a microorganismos enteroinvasivos
  - **Plásmidos *ent*** que codifican enterotoxinas
2. La codificación de **factores de resistencia** a antibióticos. P. ej., la producción de  $\beta$ -lactamasas plasmídicas.
3. Los plásmidos **sexuales** que confieren a la bacteria que los porta la capacidad para transferir información genética de forma horizontal mediante la **conjugación bacteriana**. Este plásmido se denomina **plásmido F** y es portador, entre otros, de los factores genéticos responsables de la producción del pelo F.)

## **3.- TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE MATERIAL GENÉTICO EN MICROORGANISMOS**

Se denomina **transferencia horizontal de información genética** a la transmisión de material genético entre dos células que conviven en un mismo ambiente o que no están relacionadas entre sí por un vínculo de descendencia directa. A la transferencia de información genética de una célula madre a las hijas se le denomina **transferencia vertical**.

Existen tres mecanismos de transferencia horizontal de información genética: la **transformación**, la **transducción** y la **conjugación**.

## TRANSFORMACIÓN

La transformación genética consiste en la captación de material genético que esté libre en el medio por una célula bacteriana que lo incorpora posteriormente a su propio material genético y lo expresa como propio. El **material genético libre** puede proceder de diferentes orígenes tales como restos celulares de bacterias lisadas, plásmidos liberados por otras células, etc.

Para que una célula pueda tomar material genético del medio en el que se encuentra y, de esta forma, transformarse, debe encontrarse en un estado fisiológico especial denominado **competencia**. Por tanto, una célula competente es aquella que puede ser transformada genéticamente. Existen especies bacterianas que son **competentes naturales** (por ejemplo, el neumococo) y que, por tanto, siempre pueden captar ADN del medio externo; mientras que otras pueden ser **competentes inducidas** cuando se les somete a un tratamiento que les confiere esta capacidad.

Probablemente las especies competentes inducidas puedan comportarse como competentes naturales en determinadas circunstancias por lo que la característica de la competencia puede estar muy extendida entre las bacterias.

Una vez que el ADN externo ha sido introducido dentro de la célula competente, este material puede ser destruido por la célula receptora mediante sus mecanismos de **restricción** consistentes en endonucleasas que digieren el ADN extraño en sitios en los que hay una secuencia determinada. (**endonucleasas de restricción**). Estas enzimas constituyen, por tanto, un sistema por el que las células bacterianas son capaces de eliminar el material genético extraño que entra en su interior. Para evitar que las endonucleasas de restricción degraden el material genético propio, existe otro sistema enzimático denominado de **enzimas de modificación** que colocan grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) en las secuencias del ADN que reconocen las enzimas de restricción correspondientes y, de esta forma, evitan que la secuencia modificada sea degradada por ellas. Al conjunto de los dos sistemas se les conoce como **sistema de modificación /restricción** de la célula.

Si una molécula de ADN que ha entrado en una bacteria por transformación no ha sido eliminada por el sistema de modificación/restricción, puede **replicarse autónomamente** si posee un origen de replicación, puede integrarse por **recombinación** en alguno de los elementos genéticos de la bacteria o perderse al dividirse la célula. En cualquiera de los dos primeros casos, la nueva información genética se podrá expresar y, si confiere ventajas selectivas a la célula transformada, establecerse en la población.

La **eficiencia** del proceso de transformación es baja; sin embargo, dado el elevado número de microorganismos que se pueden encontrar en ciertas poblaciones bacterianas (más de 10<sup>11</sup> células por gramo de materia intestinal, por ejemplo) la transformación es un mecanismo de diseminación de información genética importante entre bacterias en ambientes clínicos y en ecosistemas humanos.

## CONJUGACIÓN

La conjugación es la **transferencia directa** de información genética desde una bacteria donadora a otra aceptora utilizando el **Pelo F** como canal de paso del material genético. Las especies de las bacterias donadora y aceptora pueden ser diferentes.

Para que una bacteria sea donadora en un proceso de conjugación debe llevar un **plásmido conjugativo** (sexual) que se suele llamar **plásmido F**. Una bacteria portadora de plásmido F, se dice que es **F<sup>+</sup>**. Una bacteria **F<sup>+</sup>** es capaz de pasar su plásmido F a otra que carezca de él (**F<sup>-</sup>**) convirtiendo a esta aceptora en una nueva célula **F<sup>+</sup>** y transmitiéndole todos los genes que se encuentren en el plásmido conjugativo F.

Puesto que cada bacteria aceptora se convierte en una nueva donadora **F<sup>+</sup>**, el proceso de conjugación es **muy eficiente** y da lugar a un cambio rápido en la población de forma que los genes presentes en el plásmido F se diseminan por toda la población.

En ciertas ocasiones, el plásmido F se puede introducir por recombinación en el cromosoma bacteriano dando lugar a una célula **Hfr**. Cuando una célula Hfr transmite información genética por conjugación a una célula aceptora **F<sup>-</sup>**, en vez de transmitir únicamente los genes contenidos en el plásmido F, transferirá la información genética presente en el cromosoma bacteriano en el que se integró el plásmido F. En este caso puede llegar a transferirse toda la información genética de la célula donadora a la aceptora.

## TRANSDUCCIÓN

La conjugación bacteriana se produce cuando un virus bacteriano (**bacteriofago**) infecta una célula bacteriana y en el momento de formar los nuevos viriones resultantes del ciclo de vida del fago, éstos incluyen en su material genético parte del material genético de la bacteria. De esta forma, cuando un fago que lleva material genético de una bacteria infecta a otra, esta pequeña cantidad de material genético de la primera bacteria se transmite horizontalmente a la segunda.

La transducción por fagos puede ser **generalizada** cuando el fago es capaz de incluir en su partícula vírica un fragmento del cualquier parte del genoma de la bacteria que infecta o **restringida** cuando sólo se incluyen ciertas secuencias determinadas en la partícula vírica.

Los fagos (de forma similar a como ocurre con otros tipos de virus) pueden desarrollar dos tipos de ciclo biológico: un **ciclo lítico** en el que se forman inmediatamente después de la infección nuevos viriones que salen de la célula infectada rompiéndola (lisis) para proseguir la infección; o un **ciclo lisogénico** en el que el material genético del fago se integra en el genoma de la bacteria infectada y se mantiene como un grupo de genes bacterianos más que se multiplica conjuntamente con el resto del material genético de la célula huésped (**lisógeno** o **fago aatemperado**). Cuando se produce un cambio en las condiciones ambientales en las que se encuentra la bacteria, el fago lisogénico puede activarse de nuevo para pasar a un ciclo lítico y reiniciar el proceso infectivo. En este momento, se puede producir la captación de material genético de la bacteria que producirá la transducción.

Ciertos fagos son portadores de factores de virulencia responsables de patologías graves; por ejemplo, la toxina diftérica está codificada en un fago presente en *Corynebacterium diphtheriae*.

#### **4.- ELEMENTOS GENÉTICOS DE LOS VIRUS**

Dentro de los virus se encuentran todas las posibilidades de utilización de los AN como vectores de la información genética: hay virus ADN, y virus de ARN. En ambos casos, el material genético puede estar presente como cadena simple o como cadena doble y en el caso de que el material genético sea de cadena simple, esta cadena puede ser la codificante (**cadena +**) o la no codificante (**cadena -**). En todos los casos, es necesario que la información genética llegue a la producción de muchas copias de la cadena de ARN mensajero (cadena +), y para esto es necesario que existan los sistemas enzimáticos correspondientes a las diferentes actividades. En ciertos casos, estas actividades enzimáticas son particulares de los ciclos biológicos víricos y, por consiguiente, dianas para la acción de agentes quimioterápicos antivirales.

Los virus pueden producir en las células eucarióticas que infectan diferentes tipos de efectos tales como la **transformación oncogénica**, **infección lítica**, **infección persistente** en la que la célula infectada libera de forma permanente nuevos viriones sin morir, e **infección latente** equivalente al ciclo lisogénico de los bacteriófagos.

#### **5.- EXPRESIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA**

##### **CICLO DEL MATERIAL GENÉTICO**

El material genético de cualquier organismo (procarionte o eucarionte) está sometido a una serie de procesos cíclicos que aseguran la realización de sus dos funciones esenciales: la transmisión entre generaciones de la información genética con fidelidad y la expresión de esa información genética con precisión para que pueda cumplir la misión para la que ha sido seleccionada. Por consiguiente, el ciclo del material genético comprende tres procesos: replicación para su transmisión en copias idénticas a la descendencia, transcripción para sintetizar el material que asegura la expresión de la información en la célula y traducción de la información genética de la forma de ácido nucleico a la forma de proteínas. Estos tres procesos ocurren independientemente de cuál sea la molécula transmisora principal de la información genética entre generaciones (ADN en la mayoría de los casos y ARN en el caso de los virus de ARN) y son similares en procariontes y en eucariontes.

##### **5.1.- Replicación**

La replicación del material genético es un proceso complejo en el que participa un gran número de proteínas que reconocen la molécula de material genético y llevan a cabo la polimerización de otras moléculas complementarias cada una de sus hebras de forma que, al final, se logra disponer de dos moléculas idénticas (salvo errores denominados mutaciones) a la inicial. El proceso presenta ciertas diferencias según el material genético que se transmite entre generaciones sea ADN o A RN y, en el primer caso, si el organismo es eucarionte o procarionte.

### *5.1.1.- Replicación del ADN procariótico*

En este proceso interviene un grupo de enzimas conocido genéricamente como ADN polimerasa. Este complejo multienzimático va incorporando nucleótidos a la cadena que se va sintetizando utilizando como molde una de las hebras de la cadena antigua. Esta polimerización se produce añadiendo nuevos nucleótidos al extremo 3' de una hebra de ADN en crecimiento. Por ello se dice que la síntesis del ADN se produce de forma que la cadena va creciendo hacia el extremo 3' (dirección 5'→3') mientras la ADN polimerasa va leyendo la hebra molde en dirección 3'→5'.

Por otra parte, para que se produzca la síntesis de ADN por la ADN polimerasa, además de la enzima que realiza la polimerización en sí, es necesario otro juego de proteínas que van desenrollando la doble hélice de ADN delante de la ADN polimerasa para permitir que ésta funcione. Estas enzimas se denominan genéticamente topoisomerasas y girasas. La acción de las topoisomerasas y girasas permite abrir la doble hélice de ADN para que entre el complejo de la ADN polimerasa y realice la polimerización.

Sin embargo, la ADN polimerasa no es capaz de iniciar la polimerización del ADN sino que solamente es capaz de continuarla. Para que la ADN polimerasa funcione es necesario que exista un extremo 3' libre al que añadir un nuevo nucleótido. ¿Quién pone ese extremo 3' libre?. En todos los casos (salvo algunas excepciones de ciertos virus) éste extremo 3' viene de una pequeña cadena de ARN que se ha sintetizado como paso inicial de la replicación del ADN. Por consiguiente, la replicación del ADN comienza con la síntesis de una pequeña molécula de ARN que luego continúa como molécula de ADN. Esta pequeña molécula de ARN se denomina cebador o primer, y es sintetizada por otro complejo multienzimático denominado ARN polimerasa.

La síntesis de ADN (replicación) va procediendo detrás de la horquilla que se forma en el punto en que se van abriendo las dos hebras de ADN molde por acción del complejo de girasas y topoisomerasas. De esta forma, la hebra que se va sintetizando es continua. Sin embargo, la hebra que se sintetiza usando como molde la complementaria de la anterior no puede ser continua porque la acción de las topoisomerasas y girasas se produce detrás del punto de origen de la transcripción. Por esto, una de las dos hebras hijas será continua y la otra discontinua. Los fragmentos de ésta última se unirán entre sí mediante la acción de otra enzima denominada ADN ligasa que une los fragmentos anteriores.

En las bacterias, cuyo material genético es cerrado, no tiene extremos, sólo existe un origen de replicación del ADN en cada molécula de ADN. Esto es válido para los plásmidos y para los cromosomas bacterianos. Asimismo, esto se cumple también en el ADN de los orgánulos celulares procarióticos presentes en las células eucarióticas.

### *5.1.2.- Replicación del ADN eucariótico.*

La replicación del ADN eucariótico es esencialmente igual a la del procariótico aunque presenta ciertas diferencias los cromosomas eucarióticos son abiertos, en lugar de cerrados, y el número de orígenes de transcripción es múltiple en cada cromosoma en lugar de tener uno solo por cromosoma.

## 5.2.- *Transcripción*

Es el proceso por el que se transmite la información contenida en el ADN al ARN. Este proceso se lleva a cabo por la ARN polimerasa que utiliza como molde una de las dos hebras del ADN, la denominada hebra codificante. Durante el proceso de transcripción se reconoce un sitio específico de la molécula de ADN en el que se van a unir las enzimas del complejo de ARN polimerasa. Este sitio específico se denomina promotor del gen y permite que se produzca la transcripción. Genes sin promotores no pueden ser transcritos aunque un promotor puede servir en procariontes para transcribir varios genes seguidos que forman lo que se denomina un operón.

En células procarióticas existe una serie de proteínas que pueden unirse a la ARN polimerasa controlando a qué promotores se puede unir ésta y regulando así la expresión génica. Estas proteínas se denominan factores sigma. En células eucarióticas la unión de la ARN polimerasa a un promotor o a otro viene regulada por la unión de otras muchas proteínas que, de alguna forma, dirigen la unión de la polimerasa al promotor conveniente.

No todas las moléculas de ARN que se sintetizan en una célula van a ser traducidas en proteínas. La gran mayoría de las moléculas de ARN tienen otras funciones estructurales o enzimáticas diferentes de la transmisión de la información genética. Son las moléculas de ARN transferente (que sirve para activar los aminoácidos de manera que puedan ser polimerizados en proteínas) y las de ARN ribosomal que sirven para que estos orgánulos celulares puedan desarrollar su función. Constantemente se van encontrando nuevas moléculas de ARN con función diferente a la de transmisión de la información genética. En cualquier caso, éstas moléculas especiales de ARN son sintetizadas por un procedimiento de transcripción similar al descrito aunque el complejo enzimático de la ARN polimerasa pueda ser algo diferente.

### 5.2.1.- *Transcripción en los virus*

Dentro de los virus se pueden encontrar especies con material genético basado en ADN y otras en ARN, tanto de cadena simple como doble. La transcripción del material genético vírico depende de cuál su naturaleza.

- Material genético es **ADN de doble cadena** (dsDNA, virus de clase I como son los **herpesvirus**) la transcripción ocurre como se ha descrito en eucariontes. Este es el caso de
- Si es **ADN de cadena simple** (ssDNA, virus de clase II) se sintetiza un intermediario de dsDNA y este se transcribe como se ha descrito para eucariontes.
- Si el material genético es **ARN bicatenario** (dsRNA, virus de clase III como son los **reovirus**, grupo en el que se encuentran los **rotavirus**) se produce la transcripción usando una RNA polimerasa vírica específica<sup>3</sup>.
- Si es **ARN de cadena simple** (ssRNA) y esta cadena puede ser leída directamente (cadena codificante) por el ribosoma (**ssRNA+**, virus de clase IV como el **poliovirus**) el propio virus puede servir inicialmente como ARN mensajero.
- Si se trata de un ssRNA cuya cadena no es la codificante sino su complementaria (**ssRNA-**, virus de clase V como el **virus de la gripe**) se produce una

---

<sup>3</sup> Las RNA polimerasas sintetizan ARN, la peculiaridad de las descritas aquí es que leen ARN para sintetizar nuevo ARN, mientras que las ARN polimerasas eucarióticas normales leen ADN para sintetizar ARN.

transcripción mediante RNA polimerasa lectora de ARN (caso similar al de los virus del grupo III).

- Hay virus con genoma de ssRNA<sup>+</sup> que se replican usando un intermediario de ADN (virus de clase VI como los **retrovirus** entre los que se encuentra el **HIV**). La síntesis del ADN en este caso se realiza por una **transcriptasa reversa** que lee ARN para sintetizar ADN. Este ADN es posteriormente transcrito normalmente.
- Por último, hay virus de dsDNA, similares a los del grupo I, en los que el ADN vírico se replica mediante un intermediario de ARN [virus de clase VII como el **virus de la hepatitis B (VHB)**].

### 5.3.- Traducción

Es el proceso por el que la información genética contenida en el ADN y transcrita en una ARN mensajero va a ser utilizada para sintetizar una proteína. El proceso se lleva a cabo en los ribosomas.

Para que un ribosoma pueda reconocer una ARN mensajero y utilizarlo para sintetizar una proteína, el ARN tiene que contener, además de la serie de nucleótidos que llevan la secuencia de la proteína, otras secuencias que permitan al ribosoma unirse al ARN, saber dónde ha de iniciarse la traducción de la secuencia (el denominado codón de iniciación), saber dónde debe terminar la traducción (codón de terminación) y saber en qué punto de la molécula de ARN mensajero deben separarse éste y el ribosoma.

Los ribosomas de las células procarióticas son diferentes de los de las células eucarióticas como puede comprobarse por su diferente susceptibilidad a antibióticos ribosomales. Por otra parte, la traducción en células procarióticas ocurre simultáneamente a la transcripción del gen, mientras que en las células eucarióticas, la traducción se produce sólo una vez que el ARN mensajero ha llegado al citoplasma y a la zona donde se encuentran los ribosomas, por lo que nunca es simultánea con la transcripción.

La traducción del mensaje genético desde el ARNm hasta una proteína no es suficiente, en algunos casos, para que se exprese correctamente. Es necesario que el polipéptido que se va sintetizando por el ribosoma se pliegue de forma adecuada para que pueda desarrollar su función biológica correctamente; sin embargo, en muchos casos esto no ocurre de una manera completamente espontánea: es necesario el concurso de un grupo de proteínas esenciales denominadas chaperoninas (anglicismo que viene a significar proteínas tutoras o, si se quiere, tutorinas) que ayudan al péptido naciente a adquirir la configuración tridimensional correcta. Estas proteínas son muy importantes, por otra parte, para corregir errores pequeños que se produzcan en proteínas maduras y que causan su inactivación o bajada de rendimiento.

#### 5.3.1.- *Modificaciones del ARN mensajero*

Tiene que producirse una serie de modificaciones en el ARN mensajero para que pueda ser traducido correctamente. En las células eucarióticas las moléculas de ARN deben ser trasladadas del núcleo, donde ocurre la transcripción, al citoplasma, donde ocurre la traducción. Por otra parte, los genes de organismos eucarióticos suelen tener fragmentos que no se traducen pero sí se transcriben, son los denominados intrones por contraposición a los exones o secuencias del ARN que van a ser traducidas. Cuando se transcribe un ARN eucariótico éste es una secuencia de intrones y exones que debe ser

procesada para eliminar los intrones y dejar sólo los exones colocados ordenadamente. Esta eliminación selectiva de intrones se denomina técnicamente procesamiento o splicing, y ocurre en el núcleo. En los genes procarióticos no existen (salvo alguna excepción muy rara en un grupo especial de arqueobacterias) intrones y, por lo tanto, no hay procesamiento.

Además de la eliminación de los intrones, los ARN mensajeros eucarióticos deben ser modificados en sus extremos 5' y 3' mediante la adición de las estructuras conocidas como CAP y cola de poliadenina, respectivamente.

#### 5.4.- *Aplicaciones biotecnológicas*

Los procesos y sistemas enzimáticos involucrados en la transmisión y expresión de la información genética entre generaciones pueden ser aislados y utilizados en la Biotecnología para lograr la expresión y manipulación de información genética por microorganismos e, incluso, por organismos superiores. Como ejemplo citaremos dos aplicaciones derivadas de las propiedades y enzimas involucradas en la replicación del ADN.

##### 5.4.1.- *Detección de secuencias de ADN o ARN mediante hibridación de ácidos nucleicos.*

Estas técnicas están basadas en la especificidad de la unión de hebras de ácidos nucleicos con secuencias complementarias. Dependiendo de la perfección del acoplamiento de las dos secuencias (del grado de complementariedad) la unión entre las dos cadenas será más o menos fuerte. Esto significa que podrá resistir temperaturas más elevadas cuando la complementariedad es más alta o se separarán las hebras (se producirá la fusión) cuando la complementariedad es demasiado baja. En cualquier caso, las hebras se mantendrán unidas o no dependiendo del binomio grado de complementariedad-temperatura.

La especificidad de la unión de hebras nos permite detectar la presencia de secuencias en una molécula, o en una mezcla de moléculas, de ácido nucleico (ADN o ARN) usando como sonda una molécula con secuencia complementaria y convenientemente marcada para facilitar su detección. Estos procedimientos se utilizan en hibridación *in situ*, experimentos de Southern (detección de secuencias de ADN) o en experimentos de Northern (detección de secuencias de ARN).

##### 5.4.2.- *Amplificación de secuencias de ácidos nucleicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa*

En esta técnica se utiliza la capacidad de la ADN polimerasa de sintetizar ADN a partir de una secuencia cebadora determinada. En ella se usan dos cebadores que flanqueen una secuencia de ADN que se quiere detectar o de la que se desea disponer de un gran número de copias; estos cebadores deben servir para iniciar la síntesis de ADN en cada una de las dos hebras del fragmento que se quiere amplificar y, por consiguiente, deben estar (orientados hacia el interior de la secuencia que se quiere amplificar. Mediante la adición de ADN polimerasa y de los cofactores y substratos necesarios es posible realizar la síntesis de la molécula de ADN flanqueada por los dos cebadores *in vitro*. Si, además, se realizan varios procesos de síntesis de ADN usando los mismos cebadores en procesos consecutivos el número de copias de la molécula, de

ADN que se quiere amplificar aumentará exponencialmente permitiendo disponer de grandes cantidades de la misma.

En la práctica, esta reacción de polimerización se lleva a cabo con la ADN polimerasa de una bacteria termófila (*Thermus aquaticus* u otras similares) capaz de resistir múltiples ciclos a elevada temperatura (Taq-polimerasa). La técnica también se puede utilizar para detectar ARN siempre y cuando se realice un paso previo de transcripción reversa del mismo.

## **6. CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA**

La transmisión de la información genética entre generaciones y la expresión en forma de proteínas de dicha información genética no son suficientes para permitir que el programa de desarrollo de un organismo se lleve a cabo correctamente. Es necesario, además, asegurar que los genes que constituyen la información genética transmitida se expresen en momentos adecuados cronológica o espacialmente (procesos de desarrollo) o como respuesta a cambios en las condiciones ambientales en las que se encuentra la célula o el individuo. Por otra parte, las respuestas al ambiente o los procesos de desarrollo no suelen producirse como con secuencia de la activación de un único gen en un momento, sitio o condición determinado, sino que suele ser necesaria la expresión coordinada de un conjunto de ellos para que tenga lugar el efecto. Estos dos hechos hacen que el control de la expresión génica sea central en el proceso de la biología molecular de los seres vivos.

El modo de regulación de la expresión génica más frecuente en procariontes se conoce con el nombre de **Modelo del Operón** que explica, como veremos, la expresión coordinada de genes. Por otra parte, veremos a continuación cuál es el proceso por el que llega al material genético la información ambiental o de desarrollo que permita la expresión coordinada; estudiaremos el proceso de transducción de la señal.

### **MODELO DEL OPERÓN**

La expresión de un grupo de secuencias codificantes de diferentes péptidos cuya presencia debe ser coordinada se logra colocando todas las secuencias bajo el control de un mismo promotor.

La transcripción de todas estas secuencias darán lugar a un ARN mensajero de gran tamaño que codifica todos los genes contenidos en el operón (ARN policistrónico) de forma que siempre se podrán traducir coordinadamente las diferentes proteínas del operón. La cantidad de cada una de las proteínas del operón que se produce como consecuencia de la traducción no siempre es equimolecular porque existen elementos de regulación de la traducción que provocan la separación del ribosoma y el ARNm en ciertos momentos controlando así más finamente la coordinación de la expresión.

¿Cómo se regula de la expresión génica?. Entre el promotor del operón y el inicio del primer gen estructural del fragmento policistrónico existe una secuencia de ADN denominada Operador. A esta secuencia se puede unir una proteína denominada Regulador de forma que cuando se encuentra unido el regulador a la secuencia del operador impide el paso de la ARN polimerasa en su trayecto de transcripción del ADN para sintetizar el ARN policistrónico. Por consiguiente, la regulación de la expresión se

logra mediante un impedimento físico de la actividad de la ARN polimerasa causado por la unión de una proteína al ADN.

Existen dos clases de operones según sea su respuesta a las condiciones ambientales: los operones inducibles y los operones represibles.

### 6.1.- *Operón inducible*

Es aquél en el que como consecuencia de la presencia de una molécula inductora se produce la expresión de los genes del operón. El ejemplo más clásico es el del **Operón de la lactosa** que regula la síntesis de las proteínas que permiten el metabolismo de la lactosa por las bacterias.

Cuando una bacteria se encuentra en un ambiente donde puede disponer de lactosa los genes que hacen posible la utilización de este azúcar por la bacteria se inducen. Estos genes, agrupados en el Operón de la lactosa, están constitutivamente reprimidos porque a la región del operador del operón se ha unido una proteína inhibidora que impide el paso de la ARN polimerasa. Cuando hay lactosa en el medio de crecimiento alguna molécula de este azúcar puede llegar al interior de la célula usando alguno de los sistemas de transporte presentes en la membrana bacteriana para azúcares. Una vez en el interior de la célula, la lactosa puede unirse a la proteína inhibidora unida a la región reguladora del operón de la lactosa de suerte que, cuando la lactosa está unida, la proteína inhibidora se separa de la región operadora permitiendo el paso de la ARN polimerasa y la transcripción de los genes correspondientes.

Cuando desaparece la lactosa del medio la proteína inhibidora queda de nuevo libre de forma que puede volver a unirse al fragmento operador del operón impidiendo, de nuevo, la transcripción de los genes que lo forman.

El resultado de este proceso es que, como respuesta a la presencia de lactosa en el medio, se induce la expresión de los genes que permiten su catabolismo. Este sistema es extremadamente sensible porque la acción de las enzimas que permiten el paso de la lactosa a través de la membrana (transportadoras de lactosa) permite que la concentración intracelular de lactosa sea suficientemente alta hasta el momento en el que la concentración extracelular es ya tan baja que no puede utilizarse el azúcar eficientemente.

### 6.2.- *Operón represible*

En otros casos es necesario que la expresión de ciertos genes se detenga tan pronto como sea metabólicamente posible, porque su actividad no sea necesaria, para lograr una mayor economía de la energía celular. Es el caso, por ejemplo, de los operones de la arginina y del triptófano. Estudiaremos con más detalle el primero de ellos.

Si la cantidad de arginina presente en las proteínas que se encuentran en el medio en que crece una bacteria es suficientemente alta como para satisfacer las necesidades bacterianas de este aminoácido, no es necesario que la bacteria lo sintetice sino que, simplemente, lo asimila del medio de crecimiento. Ahora bien, si la cantidad de arginina exógena no fuera suficiente, las bacterias pueden sintetizarla a partir de otros precursores mediante el concurso de una serie de enzimas codificadas en el operón de la arginina.

De nuevo, nos encontramos con un operón y a su secuencia operadora se une una proteína represora específica. Sin embargo, en este caso la proteína represora se mantiene unida siempre que a ella se encuentre unida, a su vez, una molécula de arginina o de un análogo de arginina. Cuando la concentración celular de arginina desciende por debajo de unos niveles críticos (que vienen determinados por la constante de afinidad de la molécula represora por la arginina o su análogo) el represor se separa de la arginina y queda inactivo separándose, también, de la secuencia operadora y permitiendo la transcripción de los genes que codifican las proteínas de síntesis endógena de arginina.

El efecto final es la expresión de los genes del operón como respuesta a los niveles de arginina presentes en la célula.

### **MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL**

Se conocen con este nombre los mecanismos que permiten a las células sentir condiciones exteriores (ambientales o señales de desarrollo) y activar como consecuencia de ello la expresión de algunos genes u operones. Los dos ejemplos de operón descritos anteriormente responden a las condiciones ambientales de concentración de lactosa y arginina, respectivamente; sin embargo, no se consideran incluidos dentro de los mecanismos de transducción de señal porque la detección del estado ambiental no se realiza a través de la membrana bacteriana sino que se produce directamente por interacción del inductor con el represor modulando su unión al operador.

En el caso de los sistemas de transducción de señal, un complejo de proteínas de membrana recibe la señal externa. Para ello, este complejo ha de tener una proteína, al menos, dirigida hacia el exterior de la célula de manera que actúe como receptor de la señal. Como consecuencia de la detección de la señal (lo que, en términos bioquímicos suele significar "cuando se ha unido el receptor de membrana la molécula que actúa como inductor") se produce un cambio conformacional en la molécula del receptor; cambio que, a su vez, causa otros en las otras proteínas del complejo de membrana con las que interacciona. Como consecuencia de estos cambios estructurales el complejo de proteínas, por su cara interna, es capaz de modificar químicamente proteínas citoplásmicas activando o inactivando así su función como represores de operones o genes (esto suele ocurrir mediante procesos de fosforilación) o bien sintetiza moléculas que son inductores que regulan la actividad de represores presentes en la célula (estas moléculas inductoras son lo que se suele denominar colectivamente "segundos mensajeros").

Los sistemas de transducción de señal son muy importantes porque de ellos depende gran parte del control de la expresión génica y porque son manipulables genéticamente de forma que podemos utilizarlos para provocar la expresión génica usando señales inductoras diferentes de las que normalmente las controlan en la naturaleza pero que son poco manejables en procesos industriales biotecnológicos.

## **REQUERIMIENTOS ESTRUCTURALES PARA LA EXPORTACIÓN DE PROTEÍNAS**

Si se desea utilizar el potencial de los microorganismos como productores de proteínas en la industria es necesario, además de proceder al clonaje de los genes codificantes de las proteínas de interés y de estudiar y manipular el control de la expresión de los genes correspondientes, conocer cómo se puede lograr que la proteína se localice en una fracción del cultivo donde sea más fácil proceder a su purificación. En la mayoría de los casos es interesante que la proteína se exporte al exterior de la célula y para ello hay que conocer el mecanismo por el que esto ocurre.

Las proteínas sintetizadas en las células están destinadas, como norma, a quedarse en el citoplasma celular. Para que una proteína se integre en la membrana celular o para que la atraviese y sea exportada al exterior, es necesario que la proteína contenga unas señales que dirijan este proceso. Estas señales son componentes de la secuencia de aminoácidos de la propia proteína que se localizan en el extremo amino-terminal (el primero que se sintetiza por el ribosoma) del péptido nascente.

Existen varios tipos de señales: unas son las señales de exportación que sirven para que el péptido que va sintetizándose sea exportado al exterior de la membrana citoplásmica. Estas señales son secuencias que se insertan y atraviesan la membrana plasmática y, una vez que se ha conseguido el paso del péptido nascente al exterior celular, son eliminadas mediante una enzima denominada peptidasa señal (signal peptidase, en inglés). Si no funciona la peptidasa señal, la proteína queda unida por su extremo aminoterminal a la membrana citoplásmica.

Otro tipo de señales sirven para que la proteína se ancle en la membrana celular: son secuencias que están diseñadas para quedarse atrapadas en la bicapa lipídica de la membrana celular de manera que las proteínas que las contienen pasan a ser proteínas integrales de membrana y no pueden purificarse con métodos convencionales.

Por último, en los organismos eucarióticos se puede producir otro procesamiento adicional de las proteínas: la glicosilación, consistente en la adición ordenada de cadenas polisacáridicas a los péptidos nascentes. La presencia de estas modificaciones polisacáridicas es esencial para la función de muchas proteínas eucarióticas. La adición de las cadenas de azúcar se produce en el Aparato de Golgi y tiene lugar en proteínas que contienen una secuencia de dos tipos de señales: una que las dirige hacia dicho orgánulo celular (especializado en modificación de las proteínas y su posterior secreción al medio extracelular) y una segunda señal que indica en qué posiciones de la secuencia de la proteína va a producirse la unión del polisacárido.

## **7.- CONCLUSIÓN**

Desde el punto de vista biológico, la expresión de la información genética de un organismo y su transmisión entre generaciones es un proceso complejo en el que interviene un gran número de proteínas y de mecanismos. Estos mecanismos aseguran la fidelidad de la copia de la información desde el ADN al ARN para asegurar la expresión, y del ADN a una nueva molécula de ADN para asegurar la transmisión. Sin embargo, además de la traducción del ARN por los ribosomas, para que se produzca una correcta expresión del mensaje genético ha de estar controlado el momento de dicha

expresión, ha de asegurarse que el mensaje (proteína) adquiriera la conformación correcta para su funcionamiento y se coloque en el lugar celular correspondiente.

Desde el punto de vista biotecnológico, todos estos procesos son manipulables para poder conseguir la expresión artificial de proteínas de interés industrial en procesos llevados a cabo por microorganismos.

