UADY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

Streptomyces coelicolor

https://images.app.goo.gl/P2cUFtHeqYUttv1K7

Actinomicetos, fuente natural de moléculas bioactivas

Dra. Diana Yamily Escalante Réndiz

Cuerpo Académico de Biotecnología y Bioingeniería (CABB)

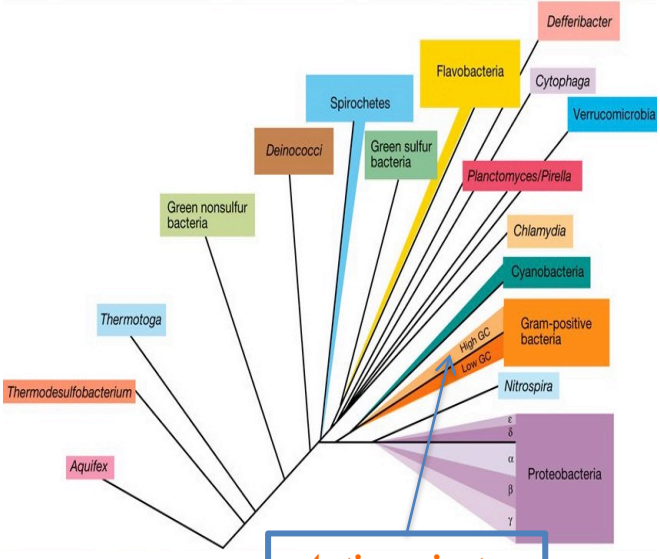
¿LOS CONOCES? ¿LOS HAS USADO?

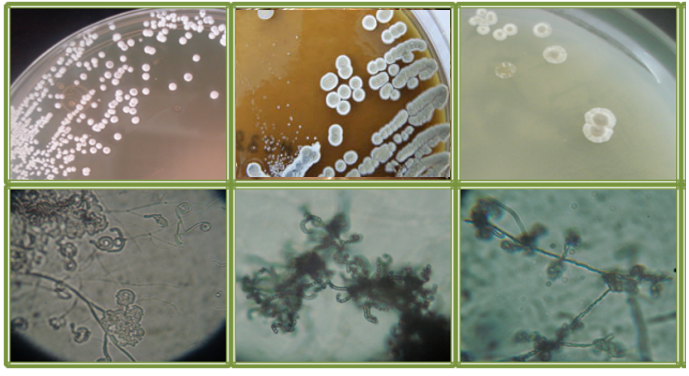
Antibacteriano

Antifúngico

Antiparasitario

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ACTINOMICETOS





- Bacterias filamentosas
- Desarrollan micelio sustrato, micelio aéreo y esporas

Actinomicetos

Dominio: Bacteria
Phylum: Actinobacteria
Clase: Actinobacteria
16 Ordenes
43 Familias
199 Géneros

- Heterótrofos o Quimioautótrofos
- >10,000 compuestos bioactivos

Batthi *et al*, 2017.

https://images.app.goo.gl/8sjGUSf2rawgpK2n6

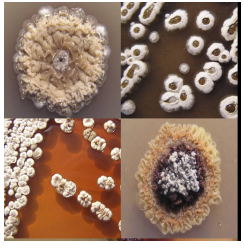
PRODUCTOS NATURALES SINTETIZADOS POR LOS ACTINOMICETOS

Pigmentos

Antimicrobianos

Enzimas

Biofungicidas (Agrícola)



Antitumorales

Biofertilizantes (Agrícola)

Probióticos (Acuacultura)

Antiparasitarios

Antioxidantes

Inmunosupresores

Genilloud, *et al*, 2017

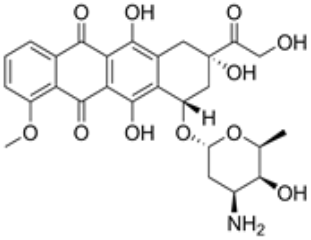
https://images.app.goo.gl/kVmKGPKbiLqX3ads5

FUENTES DE AISLAMIENTO DE LOS ACTINOMICETOS

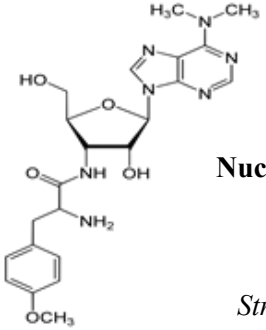
- ***Streptomyces*** **(>95%).**
- **Descomposición pared celular de plantas, hongos e insectos (humus)**
- **Olor a humedad: Geosmina**
- **Produce 80% de los antimicrobianos**

Salam *et al,* 2014; Lewin et al,. 2016

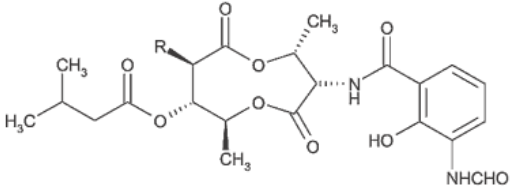
COMPUESTOS BIOACTIVOS PRODUCIDOS POR *STREPTOMYCES*



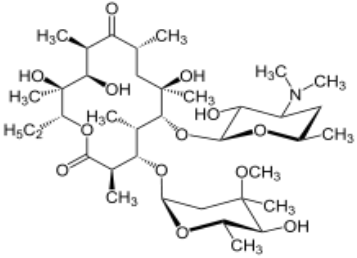
Antraciclinas: Doxorrubicina (Antitumoral)
Streptomyces peuceticus



Nucleósidos : Puromicina (Antibacteriano, Antifúngico y Antiprotozoario)
Streptomyces alboniger



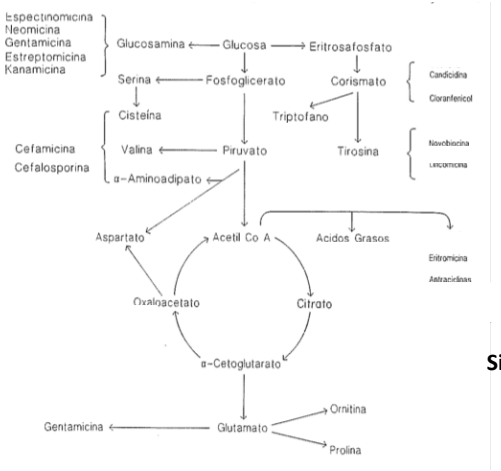
Híbrido de péptido no ribosomal y policétido Antimicina (Antifúngico)
Streptomyces S4



Macrólido: Eritromicina (Antibiótico)
Streptomyces eritherus

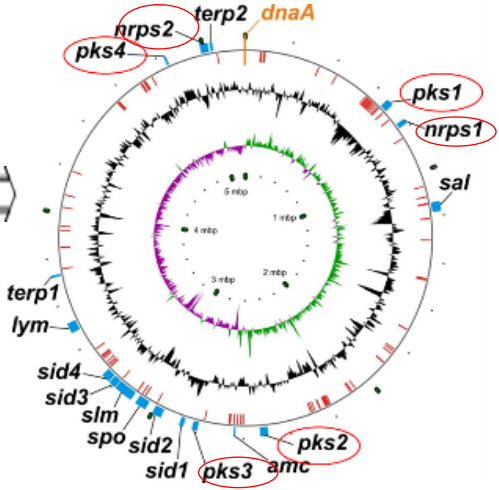
Demain., 2014

GENES BIOSINTÉTICOS QUE CODIFICAN ENZIMAS POLICÉTIDO SINTASA (PKS) Y SINTASA DE PÉPTIDOS NO RIBOSOMALES (NRPS)



Metabolismo secundario

Enzimas:
Policétido sintasa (PKS)
Sintasa de péptidos no ribosomales (NRPS)



Genes biosintéticos
Genoma de *S. coelicolor*

Zhang *et al.*, 2020

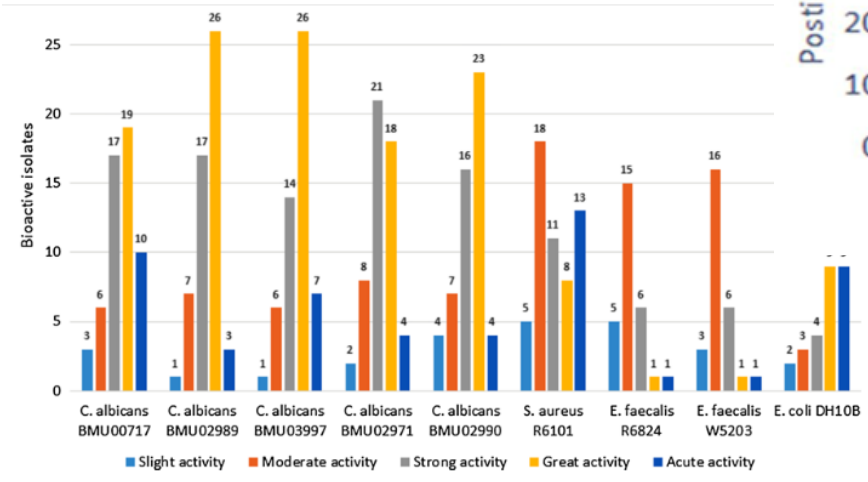
GENES PKS Y NRPS PARA LA BIOPROSPECCIÓN DE ACTINOMICETOS

Arch Microbiol (2015) 197:299–309
DOI 10.1007/s00203-014-1059-y

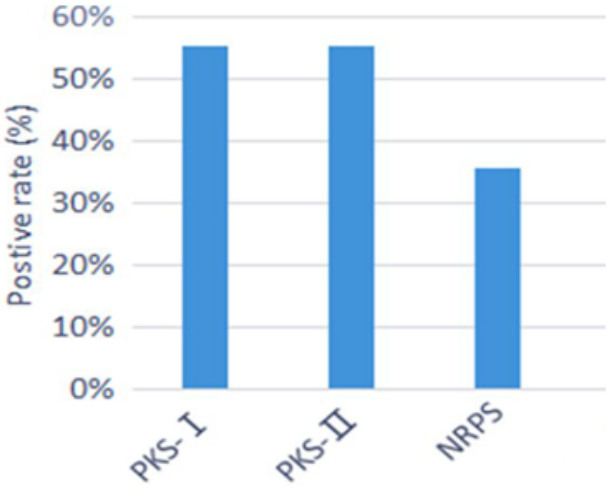
ORIGINAL PAPER

Diversity and bioprospecting of culturable actinomycetes from marine sediment of the Yellow Sea, China

Zhi-Qiang Xiong · Qiao-Xia Liu · Zhao-Long Pan · Na Zhao · Zhi-Xiang Feng · Yong Wang



Actividad antimicrobiana de 154 aislamientos bioactivos



45 aislamientos bioactivos

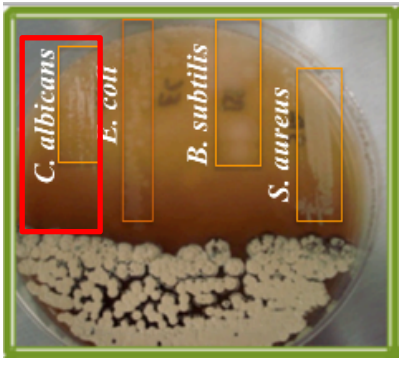
PKS I: Macrólidos.
PKS II: Policétidos aromáticos.
NRPS: Péptidos no ribosomales

Xlong *et al*., 2015

ACTINOMICETOS AISLADOS DE SUELOS DE CAMPECHE Y TABASCO Y SU ACTIVIDAD ANTI-*Candida*

Características del sitio de aislamiento	Clave	Actividad contra *C. albicans* Medio ISP2
Nombre		**Croos-streak**
Calakmul, Campeche	S1A-03	+
	S1A-33	+
	S1A-38	+++
	S1A-39	+
	S1A-61	+
	S1A-65	+
	S1A-66	+
	S1A-70	+++
	S1A-72	+
	S1A-75	+++
	S1A-77B	+
	S1A-87	+
Florida, Tabasco	S2A-04	+++
Puyacatengo, Tabasco	S3A-03	+++
	S3A-05	+++
	S3A-09	+++
Cocona, Tabasco	S6A-01	+++
	S6A-03	+++

(+) 2 a 5 mm; (++) 6 a 10 mm; (+++) mayor o igual 11 a 15 mm.



Técnica Cross-streak

De la Rosa, com. Pers, 2016 (UJAT)

Candida albicans

- Patógeno oportunista (Infecciones superficiales y sistémicas)
- Hongo levaduriforme (**C. P. Robin** en **1853,** *Oidium albicans*)
- Tratamientos: Polienos, Azoles y Equinocandinas
- Resistente a antifúngicos (Anfotericina B, Fluconazol etc.)

Onicomicosis

Colonias

Características microscópicas

Sardi *et al.*, 2013

UADY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN ANTI-CANDIDA DE ACTINOMICETOS AISLADOS DE SUELOS TROPICALES MEXICANOS

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN ANTI-CANDIDA DE ACTINOMICETOS AISLADOS DE SUELOS TROPICALES MEXICANOS

Artículo publicado en la revista:
Journal of Enviromental Research and Public Health. Fecha de publicación: 30 de mayo de 2019

International Journal of
Environmental Research and Public Health

MDPI

Article

Molecular Identification of Selected *Streptomyces* Strains Isolated from Mexican Tropical Soils and their Anti-*Candida* Activity

Diana Escalante-Réndiz [1], Susana de-la-Rosa-García [2], Raúl Tapia-Tussell [3], Jesús Martín [4], Fernando Reyes [4], Francisca Vicente [4] and Marcela Gamboa-Angulo [1,*]

ORIGEN DE LAS CEPAS EN ESTUDIO

Clave "x	Origen	Características fisicoquímicas	Municipio/estado
S1A-33 S1A-38 S1A-39 S1A-61 SIA-65 S1A-66 S1A-75 S1A-77B S1A-87	Calakmul 18º 32' 53.6" N 18º 56' 23.4" O	pH 7.8 Temperatura 33.2 ºC	Calakmul, Campeche
S2A-04	Florida 17º 27.8' 33" N 99º 45' 99" O	pH 4.2 Temperatura 27 ºC	Tacotalpa, Tabasco
S3A-03 S3A-05 S3A-09	Puyacatengo 17º 31' 34.2" N 92º 55' 31" O	pH 5.9 Temperatura 28 ºC	Teapa Tabasco
S6A-01 S6A-03	Cocona 17º 33' 46.6 N 92º 55' 31" O	pH 5.05 Temperatura 28 ºC	

Actinomicetos totales:15

Calakmul, Campeche: 9

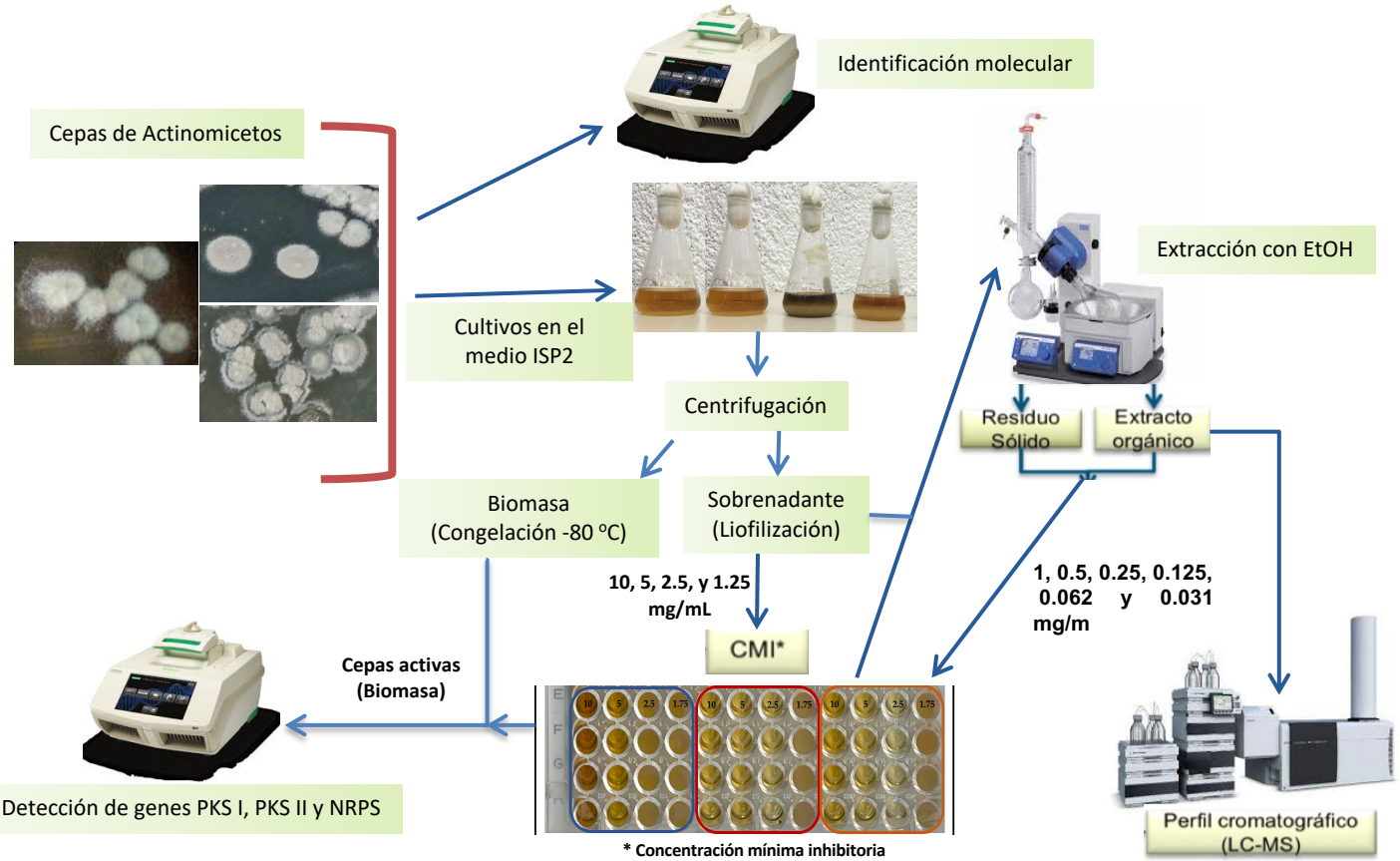
Florida,Tabasco: 1

Puyacatengo, Tabasco: 3

Cocona, Tabasco: 2

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



* Concentración mínima inhibitoria

UADY UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS ACTINOMICETOS MEDIANTE EL GEN 16s ARNr

Clave	Lugar de aislamiento	Identificación molecular	Número de accesión (GenBank)	% de identidad
S1A-33	Calakmul, Campeche	*Streptomyces griseochromogenes*	AJ399491	99
S1A-38		*Streptomyces resistomycificus*	AJ399472	99
S1A-39		*Streptomyces griseochromogenes*	AJ399491	99
S1A-61		*Streptomyces resistomycificus*	AJ399472	99
S1A-65		*Streptomyces griseochromogenes*	AJ399491	99
S1A-66		*Streptomyces resistomycificus*	AJ399472	99
S1A-75		*Streptomyces catenulae*	FJ486481	99
S1A-77B		*Streptomyces resistomycificus*	AJ399472	99
S1A-87		*Amycolatopsis xylanica*	FJ529702	97
S2A-04	Florida, Tabasco	*Streptomyces parvisporogenes*	AJ7813481	100
S3A-03		*Streptomyces angustmyceticus*	AB184817	99
S3A-05	Puyacatengo, Tabasco	*Streptomyces manipurensis*	JN560156	100
S3A-09		*Streptomyces manipurensis*	NR118275	100
S6A-01	Cocona, Tabasco	*Streptomyces libani*	HQ244464	99
S6A-03		*Streptomyces angustmyceticus*	AB184816	100

ACTIVIDAD ANTI-*Candida* DE LOS ACTINOMICETOS EN ESTUDIO

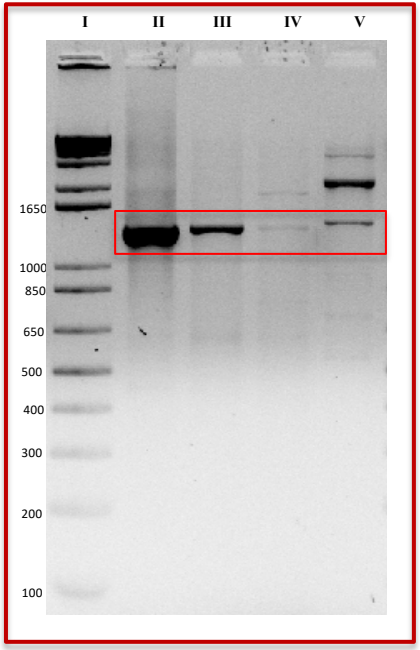
Actinomiceto	CMI (mg/mL)		
	SN Liofilizado	Extracto etanólico	Residuo sólido
S. griseochromogenes SIA-33	>10	NE	NE
S. resistomycificus S1A-38	>10	NE	NE
S. griseochromogenes S1A-39	>10	NE	NE
S. resistomycificus S1A-61	>10	NE	NE
S. griseochromogenes S1A-65	>10	NE	NE
S. resistomycificus S1A-66	>10	NE	NE
S. catenulae S1A-75	>10	NE	NE
S. resistomycificus S1A-77B	>10	NE	NE
A. xylanica S1A-87	>10	NE	NE
S. parvisporogenes S2A-04	5	0.5	>1
S. angustumyceticus S3A-03	>10	NE	NE
S. manipurensis S3A-05	2.5	>1	>1
S. manipurensis S3A-09	2.5	>1	>1
S. libani S6A-01	>10	NE	NE
S. angustmyceticus S6A-03	>10	NE	NE

Nimaichand *et al*., 2012; Elkholy *et al*., 2018; Kulkarni-Almeida *et al.,* (2011

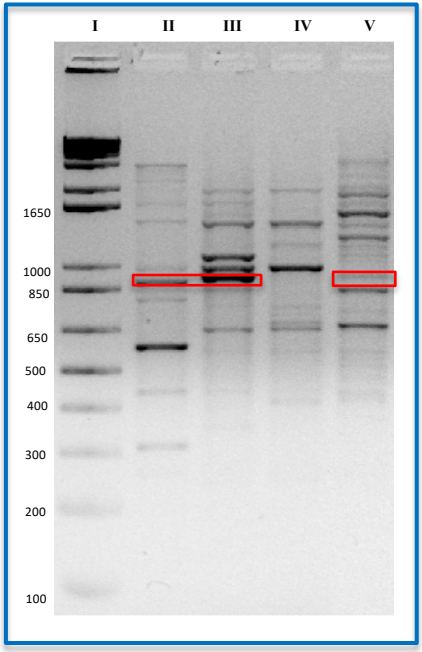
SN: Sobrenadante. NE: No evaluado

PRESENCIA DE LOS GENES PKS I, PKS II Y NRPS EN LAS CEPAS DE *Streptomyces sp* EN ESTUDIO

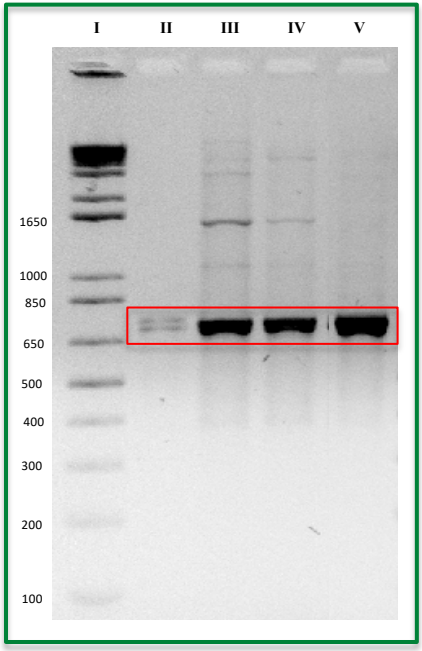
PKS I
Amplicón: 1200-1400 pb



PKS II
Amplicón: 800-900 pb



NRPS
Amplicón: 700 pb



I: Marcador de peso molecular 1 kb

II: *S. parvisporogenes* (S2A-04)

III: *S. manipurensis* (S3A-05)

IV: *S. manipurensis* (S3A-09)

V: *S. coelicolor* (control +)

GENES PKS I, PKS II Y NRPS EN LAS CEPAS ACTIVAS DE *Streptomyces sp*

Cepas	Tipo de Genes		
	PKS-I	PKS-II	NRPS
S. parvisporogenes (S2A-04)	+	+	+
S. manipurensis (S3A-05)	+	+	+
S. manipurensis (S3A-09)	+	–	+

+ Gen presente – Gen no presente

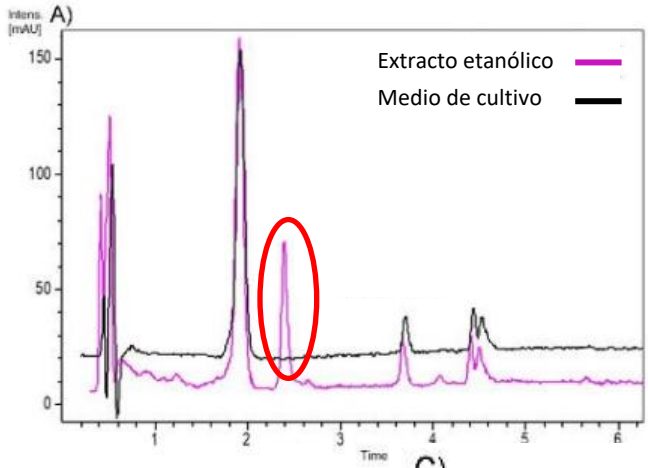
PA 616

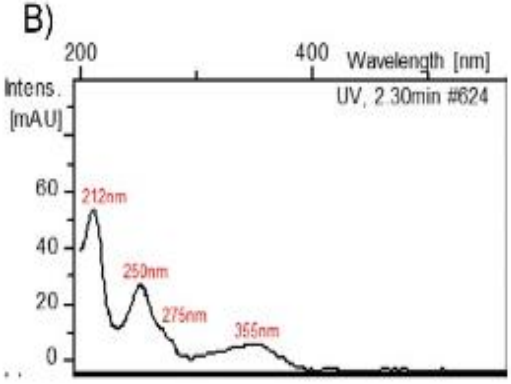
Actividad antifúngica

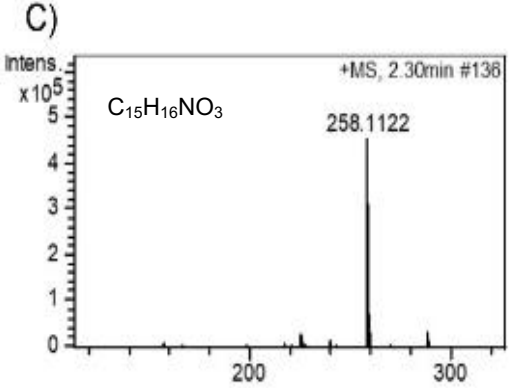
Salam *et al*., 2017; Hamilton-Miller *et al*., 1973; Hamilton-Miller *et al*., 1973

METABOLITO DETECTADO EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE *S. parvisporogenes* POR LC-MS

(A) Cromatograma LC-UV (210 nm) del extracto etanólico y del medio de cultivo sin crecimiento



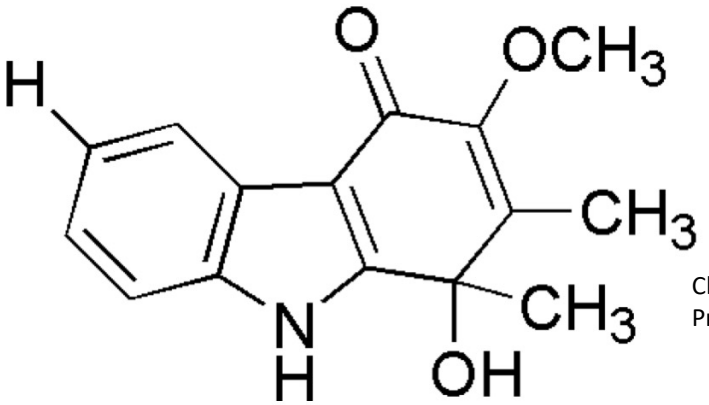




(B) Espectro de ultravioleta

(C) Espectro de HRMS del pico mayoritario a 2.30 min

ESTRUCTURA DE CARBAZOMICINA G IDENTIFICADA EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE *S. parvisporogenes*



Chapman & Hall Dictionary of Natural Products

- **Alcaloide carbazólico**
- ***Streptoverticillum ehimense* (Nakamura)**
- **Actividad contra *Trycophyton***
- **Derivado del triptófano (núcleo carbazol), piruvato y el acetato**
- **PKS II (policétidos aromáticos)**

Kaneda *et al.*, 1990; Herberth *et al.*, 2003

CONCLUSIONES

1. El 93% de las cepas identificadas molecularmente pertenecen al género *Streptomyces*, correspondientes a siete especies diferentes.
2. Las cepas *S. manipurensis* se reportan por primera vez para Latinoamérica y es el primer registro de una cepa de *S. parvisporogenes* obtenida en México.
3. *S. parvisporogenes* (S2A-04) y las dos cepas de *S. manipurensis* (S3A-05 y S3A-09) son las que poseen actividad anti-*Candida*.
4. La presencia de los genes PKS y NRPS en las cepas activas, indica la existencia en sus genomas de un potencial biosintético de naturaleza policétida y péptidos no ribosomales
5. El metabolito carbazomicina G se identificó como el componente principal del extracto etanólico de *S. parvisporogenes* (S2A-04).
6. Los actinomicetos de suelos tropicales mexicanos constituyen una fuente importante en la búsqueda para productos alternativos contra la cándida

PERSPECTIVAS

Los resultados de la presente contribución proporcionan la evidencia de la microflora de las regiones tropicales de México, los cuales deben continuar siendo explorados.

La cepa *S. parvisporogenes* S2A-04 debe continuar siendo estudiada para aislar el metabolito carbazomicina G, purificarlo y corroborar su actividad anti-*Candida*.

De igual manera, el resultado de la pérdida de la actividad de los extractos etanólicos de las cepas de *S. manipurensis* da la premisa de realizar estudios más amplios para corroborar si la actividad es dada por proteínas o enzimas quitinasas o gluconasas.

La presencia de los genes PKS y NRPS en el genoma de las cepas proporciona el conocimiento para realizar el análisis de su expresión génica, utilizando primers específicos, con la finalidad de determinar el gen o los genes involucrados en la síntesis de los metabolitos activos para mejorar su producción.

UADY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

"*Messieurs, c'est les microbes qui auront le dernier mot*" (Señores, son los microbios los que tendrán la última palabra)

Luis Pasteur

Gracias por su atención