

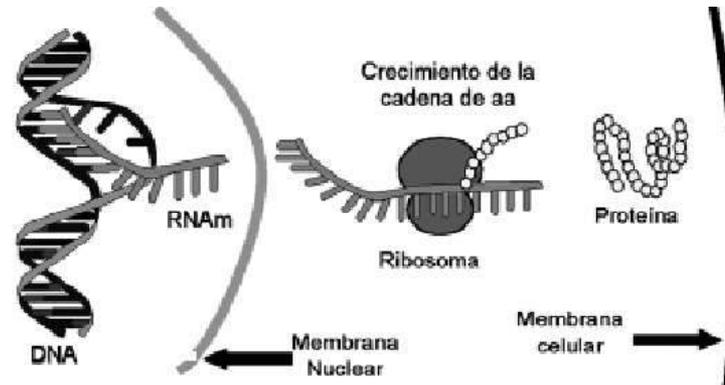
¿QUÉ ES BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

Julio A. Carrasco Vallejo
Julio 2014

Definiciones

- **Biología Molecular:**

- Estudio de los flujos de información genética en una célula



- **Bioteología:**

- Uso de sistemas u organismos vivos para generar un producto útil



Historia

Biología Molecular

- **1866:** Teoría de herencia Mendeliana
- **1940:** Una fracción ácida purificada es capaz de transformar pneumococo
- **1944:** Se demuestra que en el DNA reside la información genética
- **1953:** Doble hélice de DNA



Historia Biología Molecular

- **1960-1965:**

- El producto de ciertos genes regulan la expresión de otros
- Existencia RNA mensajero
- Código genético (codones que codifican para aminoácidos)
3 nucleótidos por 1 aminoácido

- **1970s:**

- Secuenciación DNA
- DNA recombinante, primera clonación de DNA

- **1980s:**

- Vector de clonación pBR322 en México
- PCR (polymerase chain reaction)

Historia Biotecnología

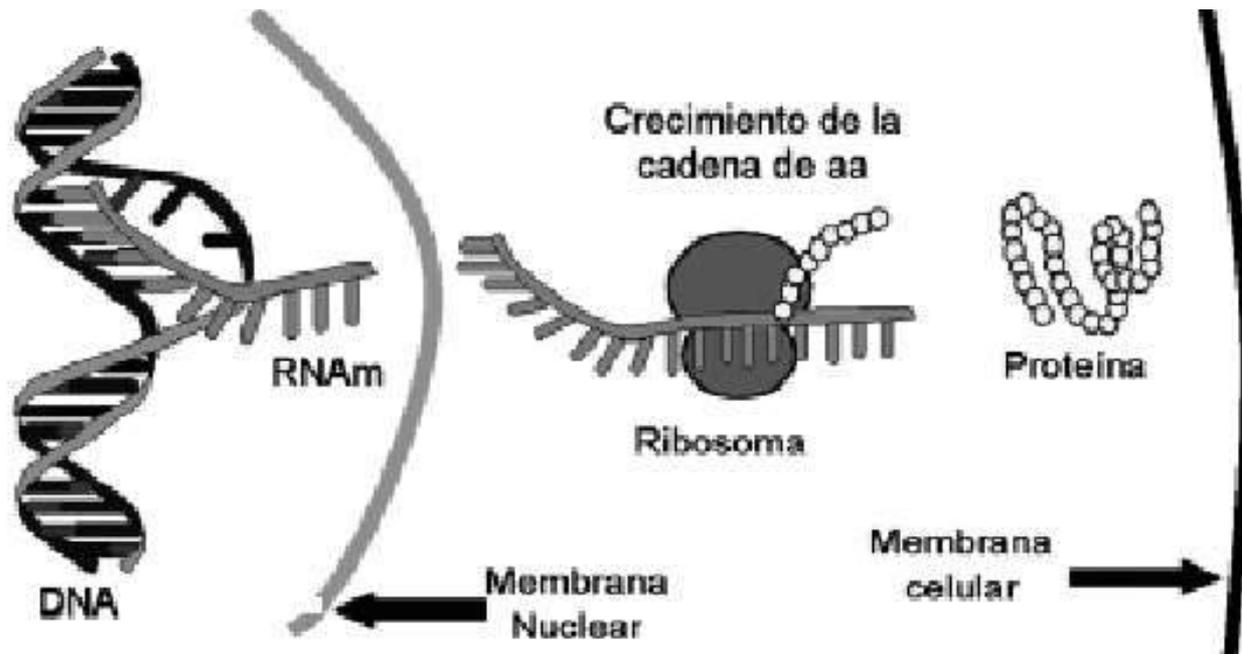
- **4000 AC Mediterráneo:** Fermentación para hacer cerveza
- **1798:** Jenner descubre la primera vacuna para viruela
- **1861:** Pasteur descubre que la fermentación se debe a bacterias
- **1866:** Teoría de herencia Mendeliana
- **1928:** Se descubre la penicilina derivada de un cultivo de un hongo



Historia Biotecnología

- **1942:** Fermentación industrial para producir penicilina
- **1975:** Producción de anticuerpos monoclonales
- **1979:** Producción de Insulina humana en bacterias
- **1980:** Producción de Interferón
- **1990s:** Aprobación de medicamentos biotecnológicos para uso humano

DNA, RNA Y PROTEÍNAS

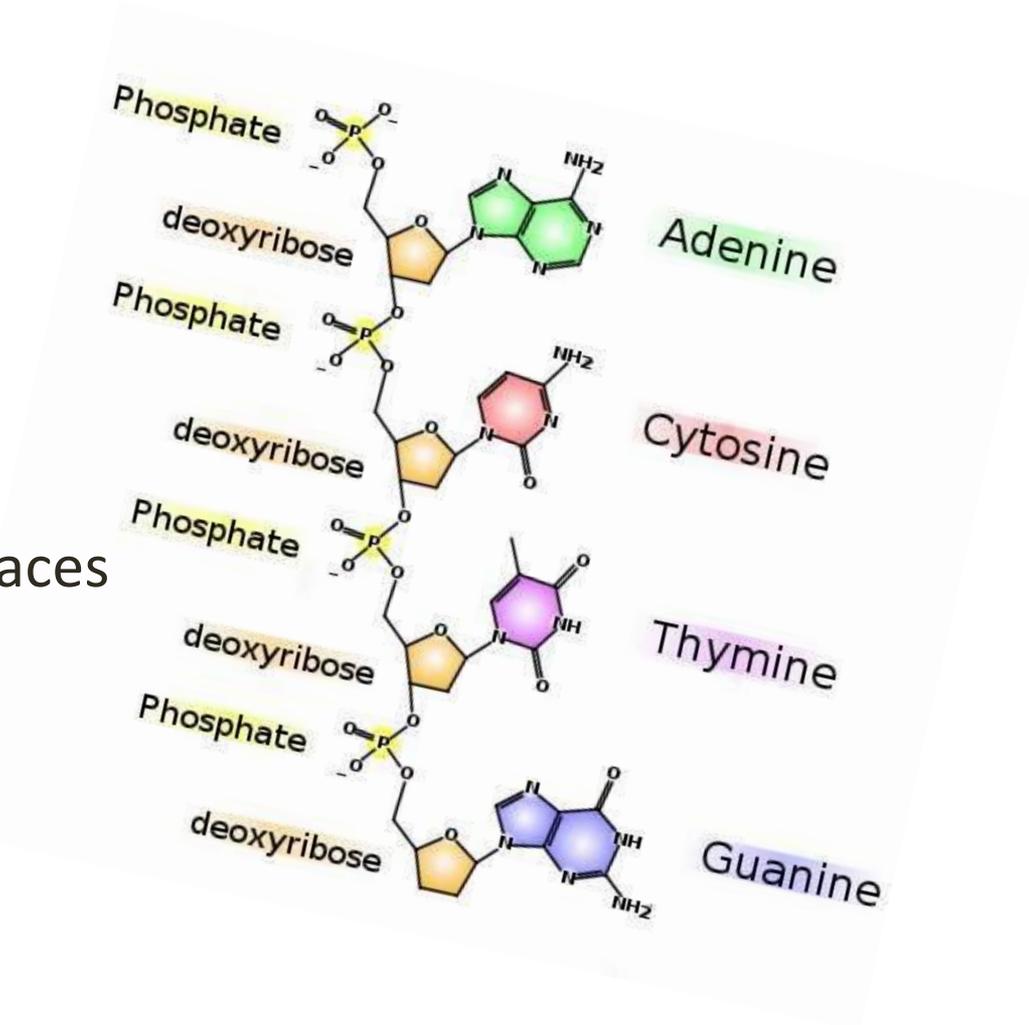


Dr. Julio A. Carrasco Vallejo
Julio 2014

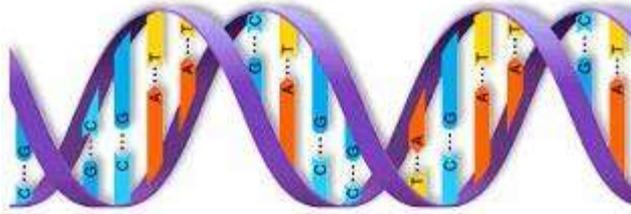
Conceptos Fundamentales

■ DNA:

- Acido Desoxiribonucleico
- 4 nucleótidos: Adenina (A), Timina (T), Guanina (G) y Citosina (C)
- Nucleótidos unidos por enlaces covalentes entre azúcar y fosfato de cada nucleótido, forman **UNA** hebra de DNA

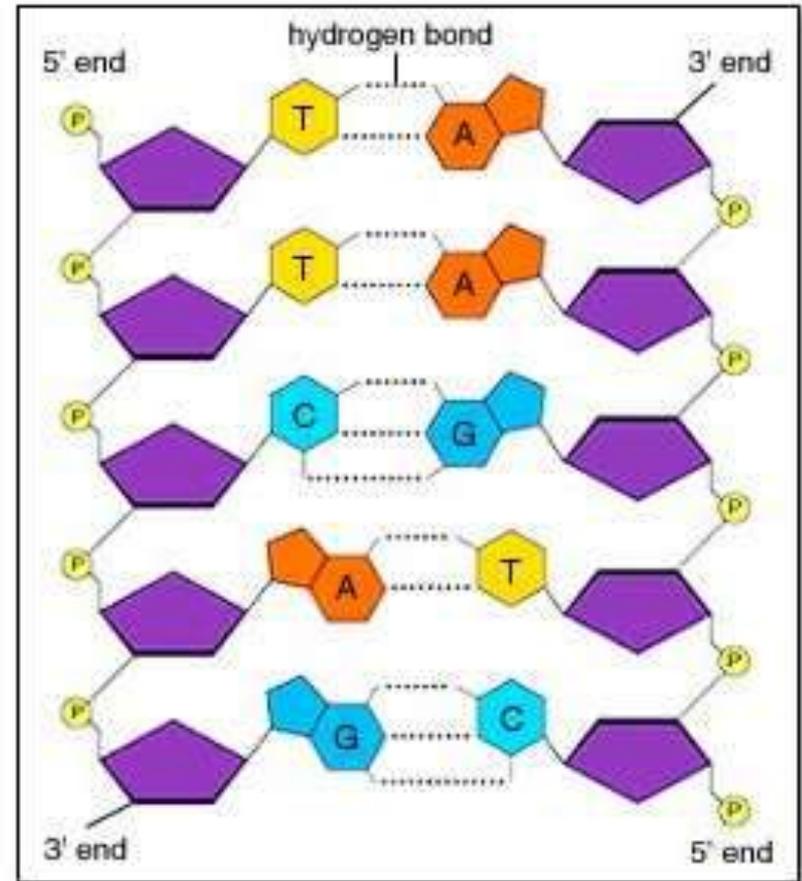


Conceptos Fundamentales



■ DNA:

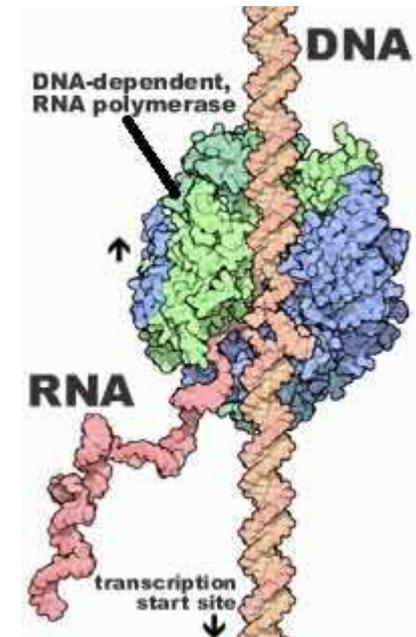
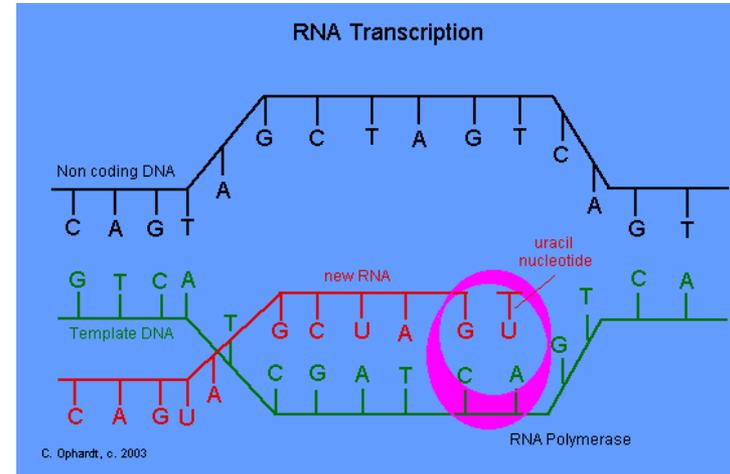
- Dos cadenas apareadas por puentes de hidrógeno entre A/T, y G/C= Estructura **CLASICA** del DNA
- Las dos cadenas se aparean en direcciones opuestas o en antiparalelo



Conceptos Fundamentales

■ RNA

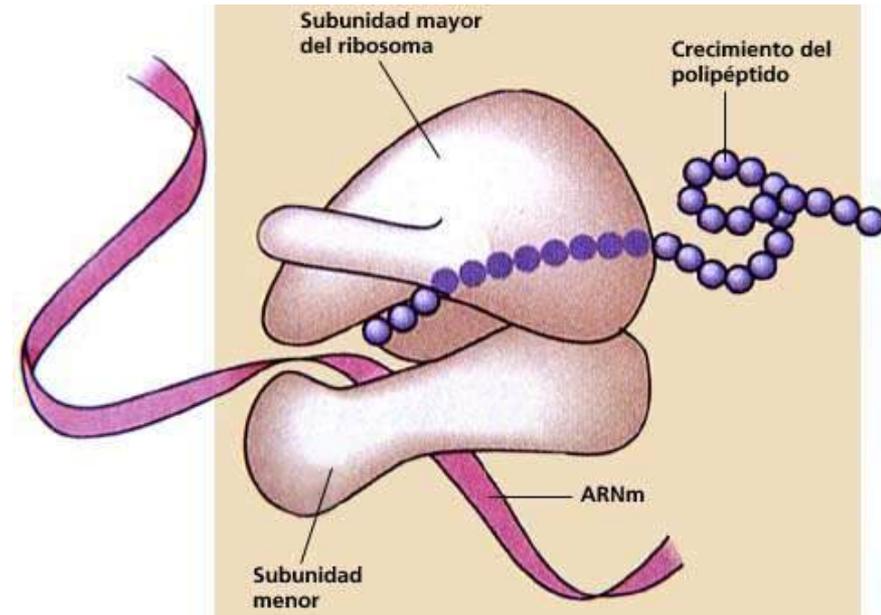
- Acido Ribonucléico
- Sintetizado a partir de DNA a través de una Polimerasa de RNA
- 4 ribonucleótidos: Adenina (A), Uracilo (U), Guanina (G) y Citosina (C)
- Nucleótidos unidos por enlaces covalentes entre el azúcar y fosfato de cada nucleótido forman una hebra
- ***Molécula típicamente de una sola cadena***



Conceptos Fundamentales

■ RNA

- Funciones biológicas activas:
 - RNA mensajero: Molde para síntesis de proteínas
 - RNA transferencia: Acarreador de aminoácidos para síntesis de proteínas
 - RNAs con actividad catalítica
 - RNA reguladores: RNA de interferencia o snRNAs



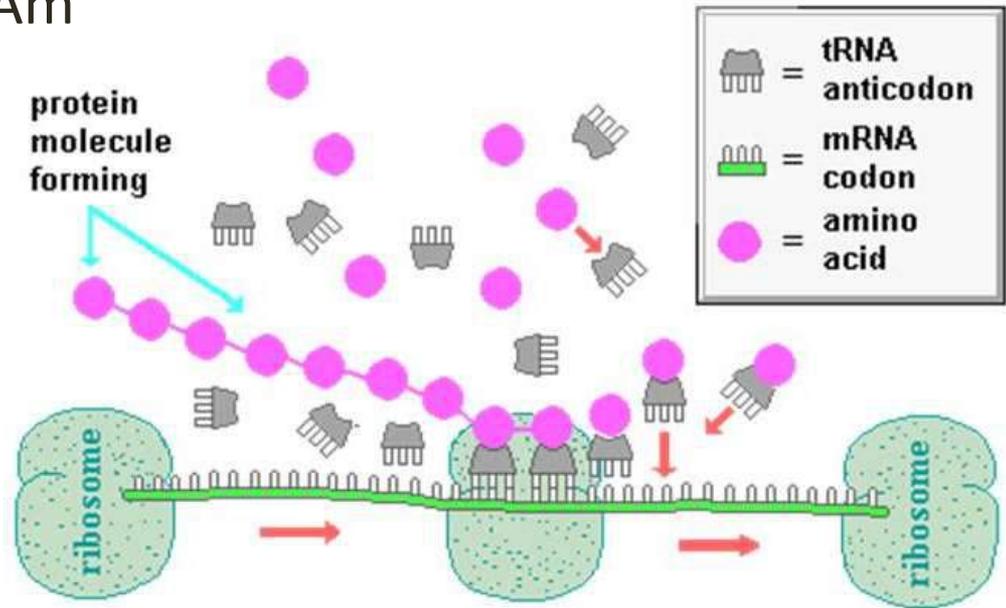
Conceptos Fundamentales

■ Proteínas:

- Cadenas largas de aminoácidos (al menos 20 residuos)
- Generadas a partir de RNAm

■ Funciones biológicas:

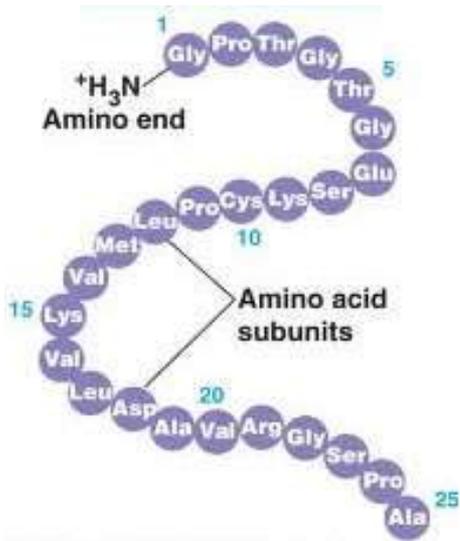
- Enzimas
- Toxinas
- Transporte



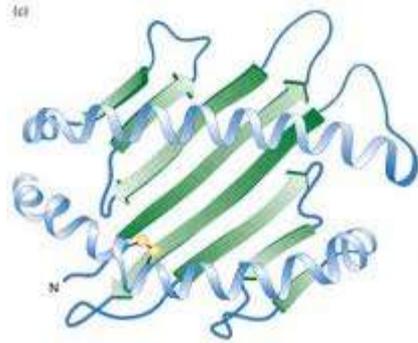
■ Modificaciones post-traduccionales:

- Metilación
- Fosforilación
- Glicosilación

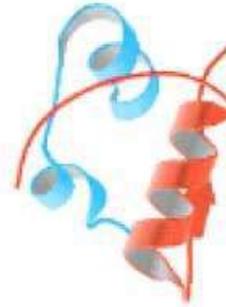
Estructura de las proteínas



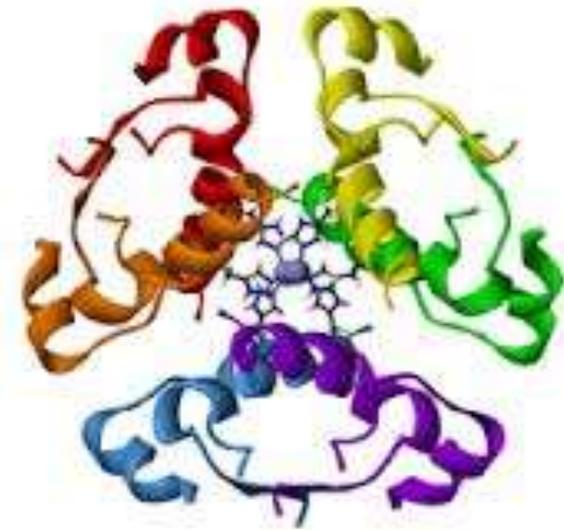
Primaria
Cadena de aminoácidos



Secundaria
Hélices Alfa y Beta Plegadas



Terciaria
Plegamiento Monómero



Cuaternaria
Dímeros,
Trímeros,
Tetrámeros

Modificaciones postraduccionales

- Posible impacto en la actividad biológica
- Glicosilación
 - Adición de azúcares (uno o varios)
- Metilación
 - Adición de grupos CH₃
- Fosforilación
 - Adición de grupos PO₄

¿QUÉ ES EXPRESIÓN GENÉTICA?

Julio A. Carrasco Vallejo

Julio 2014

- ¿Qué es y cómo se expresa un gene?
- ¿Cómo es la estructura general de un gene?
- Del DNA a la Proteína

¿Qué es un gene?

- GENOMA: Material genético de un organismo
- Gene:
 - Contiene la información de un organismo y es capaz pasar sus rasgos genéticos a la siguiente generación
 - Región del genoma que corresponde a una unidad hereditaria asociada a regiones reguladoras
 - Región transcribible que codifica para un producto difusible ya sea una proteína o un RNA

¿Cómo se expresa un gene?

Transcripción

Traducción

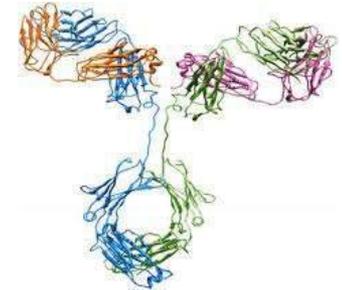
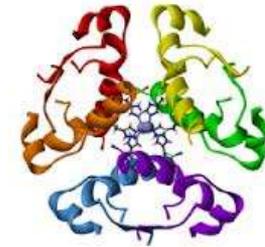
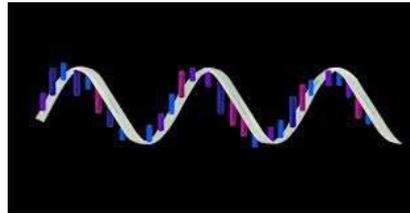
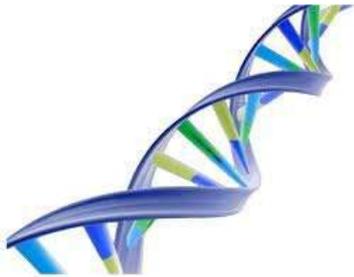
DNA



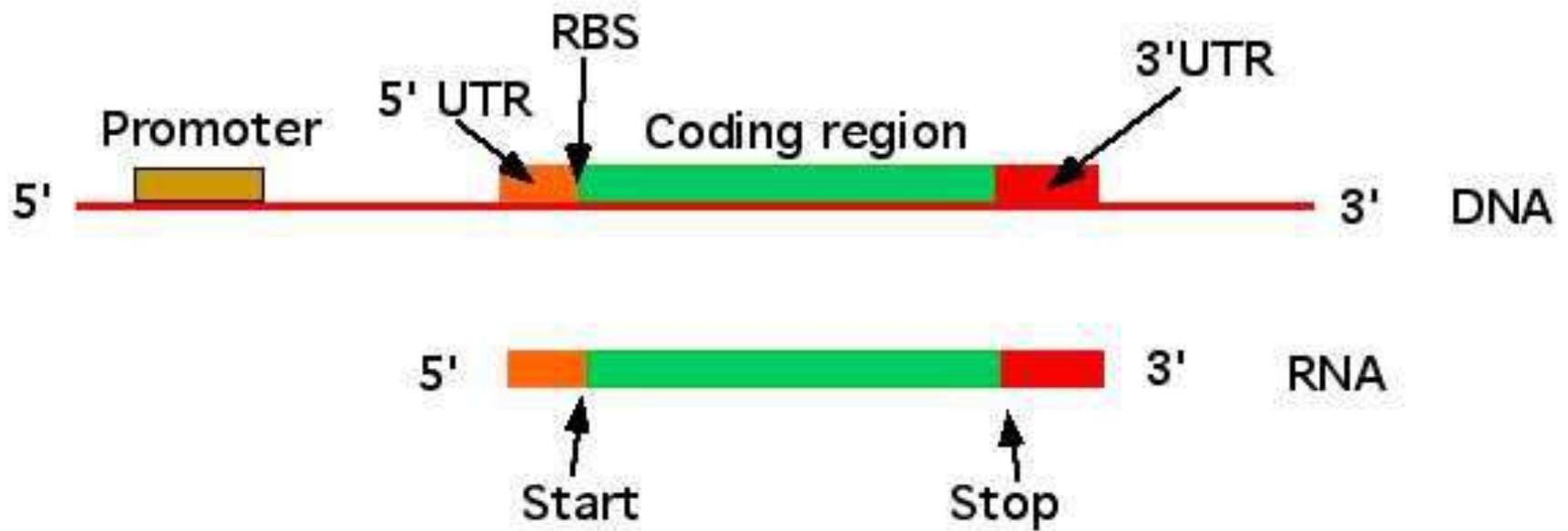
RNA



Proteína



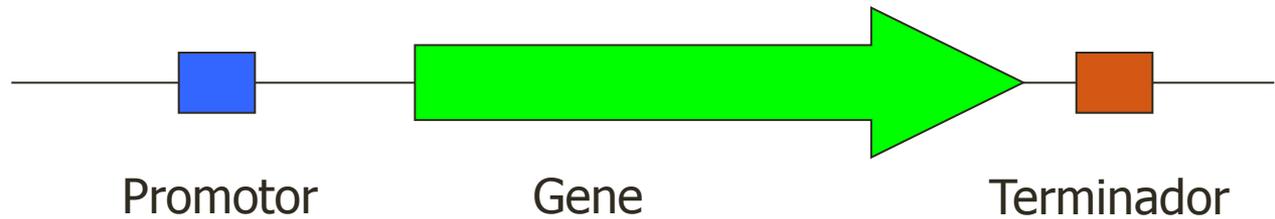
Estructura General de un Gene



Expresión Genética

Del DNA a la Proteína

DNA



Promotor

Gene

Terminador

Transcripción



RNAm



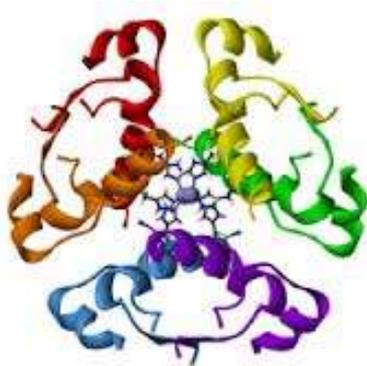
Expresión Genética

RNAm

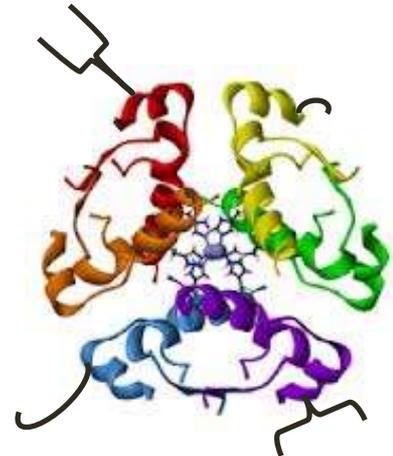


Traducción

Proteína

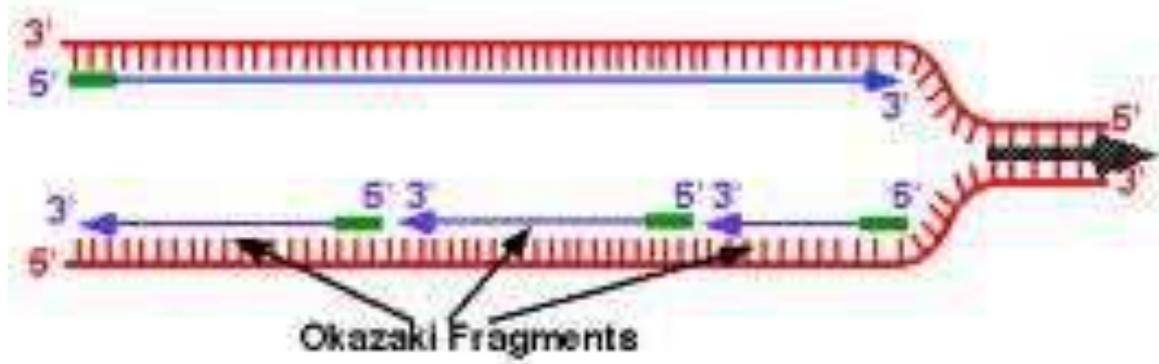
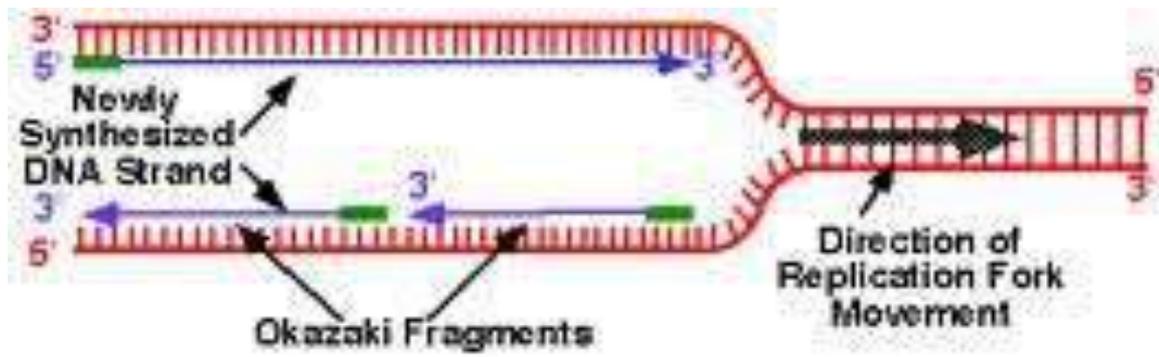


**Modificaciones
Postraduccionales**



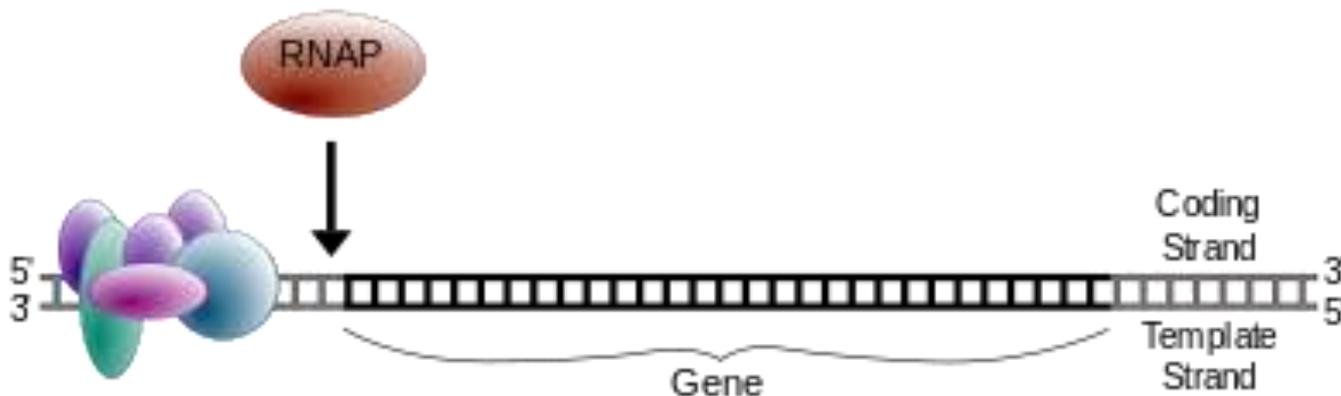
Replicación de DNA

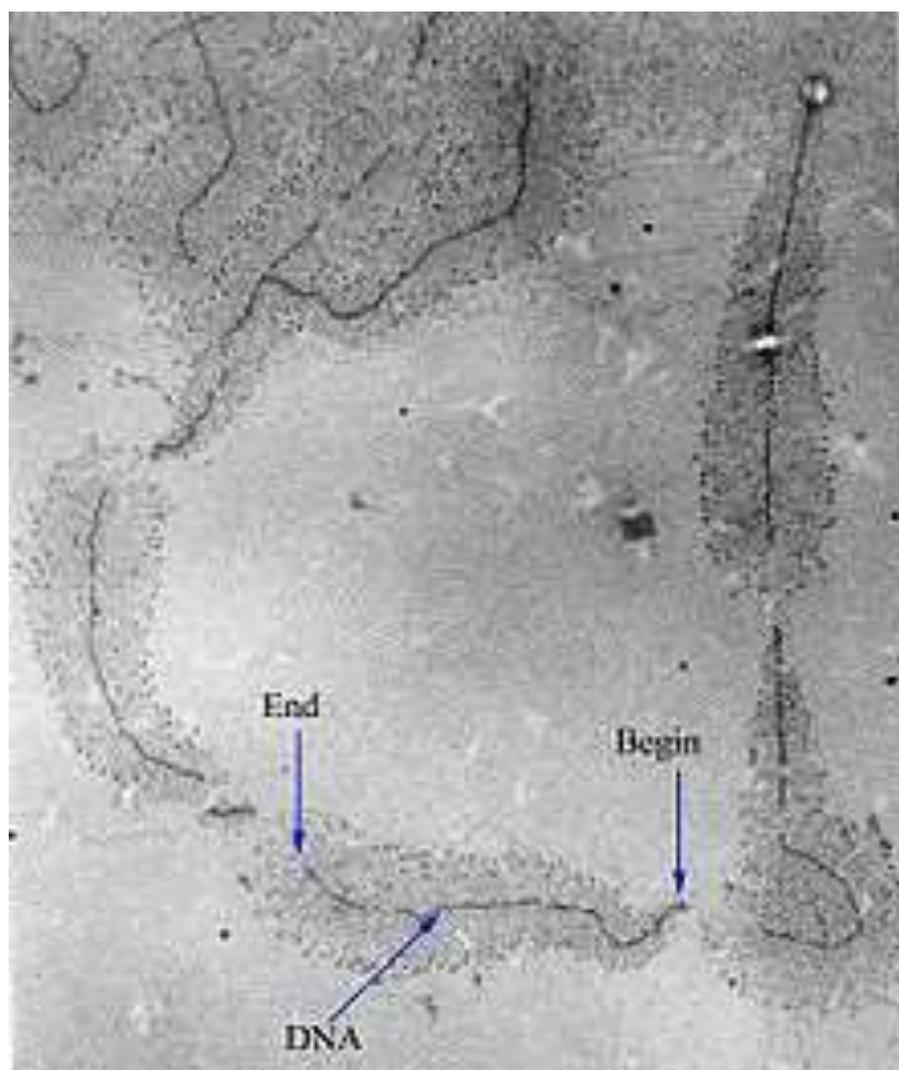
- Replicación es el proceso para generar dos copias idénticas a partir de una sola molécula de DNA
- Proceso:
 - DNA polimerasa se localiza en un sitio definido llamado origen de replicación
 - DNA se desnaturaliza (se abre la doble hélice)
 - Una molécula pequeña de RNA llamada primer se une a la cadena a replicar.
 - La DNA polimerasa inicia la replicación a partir del primer y avanza añadiendo nucleótidos complementarios



Transcripción

- Primer paso en la expresión genética donde un segmento de DNA es transcrito a RNA
- Pasos
 - RNA polimerasa se localiza en la región promotora del gene
 - DNA se desnatura (se abre la doble hélice)
 - RNA polimerasa avanza sobre el DNA generando una cadena de RNA
 - RNA polimerasa termina la transcripción en regiones terminadoras
 - RNA es procesado para adquirir su función biológica (RNA o proteína)

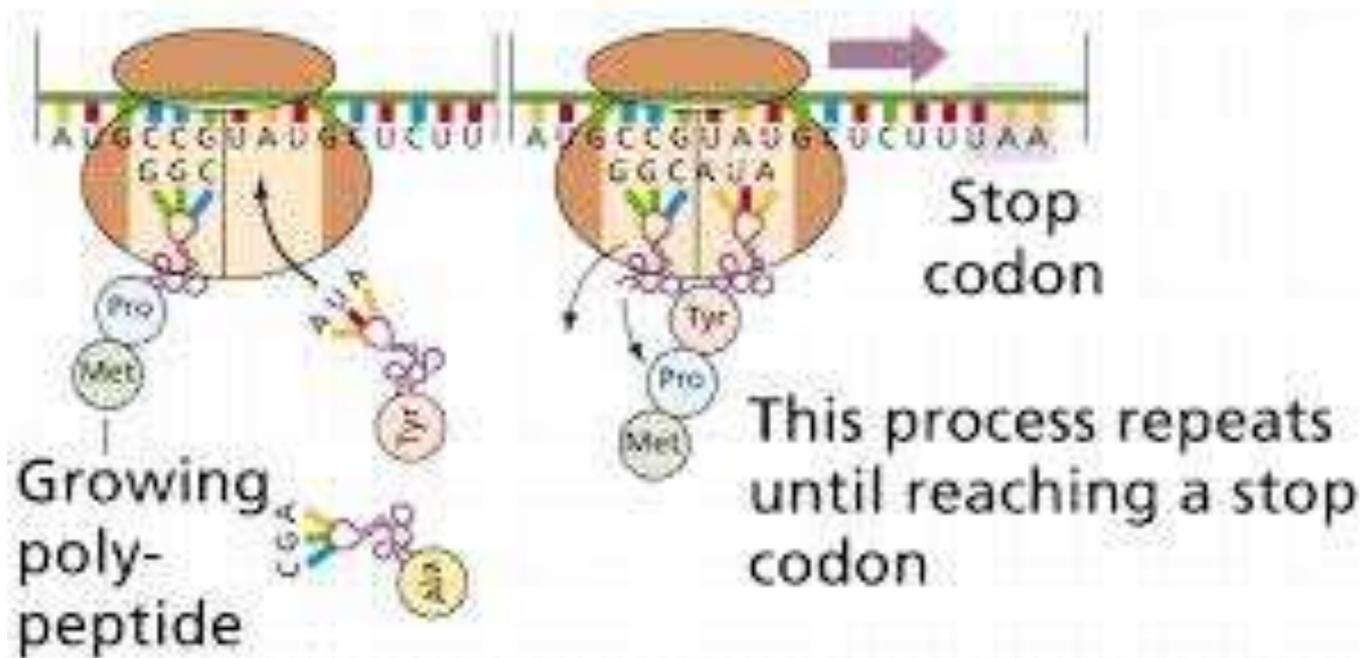




Traducción

- Proceso donde a partir de una molécula de RNA se sintetiza una proteína mediante un ribosoma
- Pasos
 - RNA se une al ribosoma
 - El ribosoma lee la molécula de RNA
 - Un aminoácido es adicionado cada vez que se leen 3 nucleótidos del RNA 1 aa = 3 nucleótidos (codón)
 - El primer aminoácido adicionado siempre es Metionina (Start codon)
 - Una vez terminada la lectura el ribosoma se separa (Stop codon)

Elongation continues



CONCEPTOS GENERALES DE INGENIERÍA GENÉTICA

Generalidades

- Organismo Genéticamente Modificado

Cualquier organismo cuyo material genético ha sido alterado:

- cambios en un gen, gen de más, gen de menos, etc

- Organismo transgénico

Aquel que ha recibido material genético de otra especie

Generalidades

- Clonación:

- Introducir un fragmento/inserto de DNA en un vector de expresión
- Construcción: vector con inserto

- Enzimas de restricción

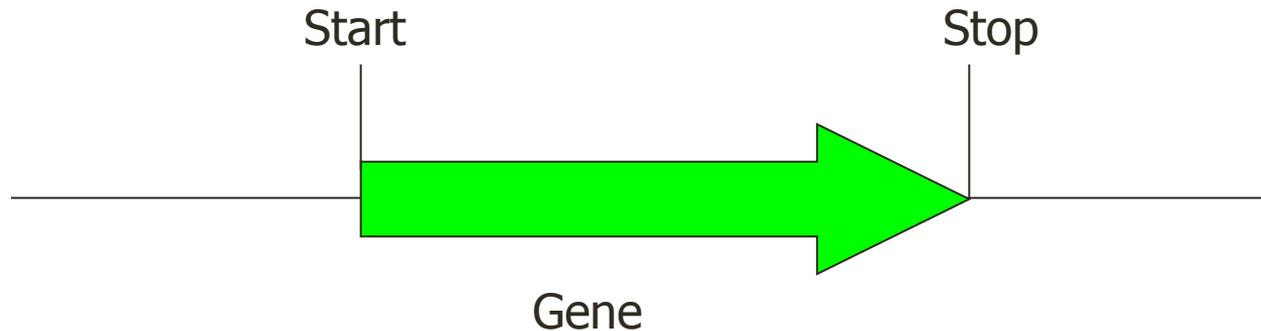
Enzimas que digieren DNA de doble cadena en una secuencia específica

- Nucleasa: cualquier enzima que digiere ácidos nucleicos (DNA y RNA)
- DNAsa: enzima que solo digiere DNA
- RNAsa: enzima que solo digiere RNA

PROCESO DE CLONACIÓN

Diseño del gene y Vector de Expresión

- Proteína a expresar
 - Estructura del marco de lectura del gene



- Solo secuencia codificante
- Codon de Inicio/Start (ATG) y Paro/Stop(TAA, TAG TGA)
- 3 bases = 1 Codón = 1 aminoácido

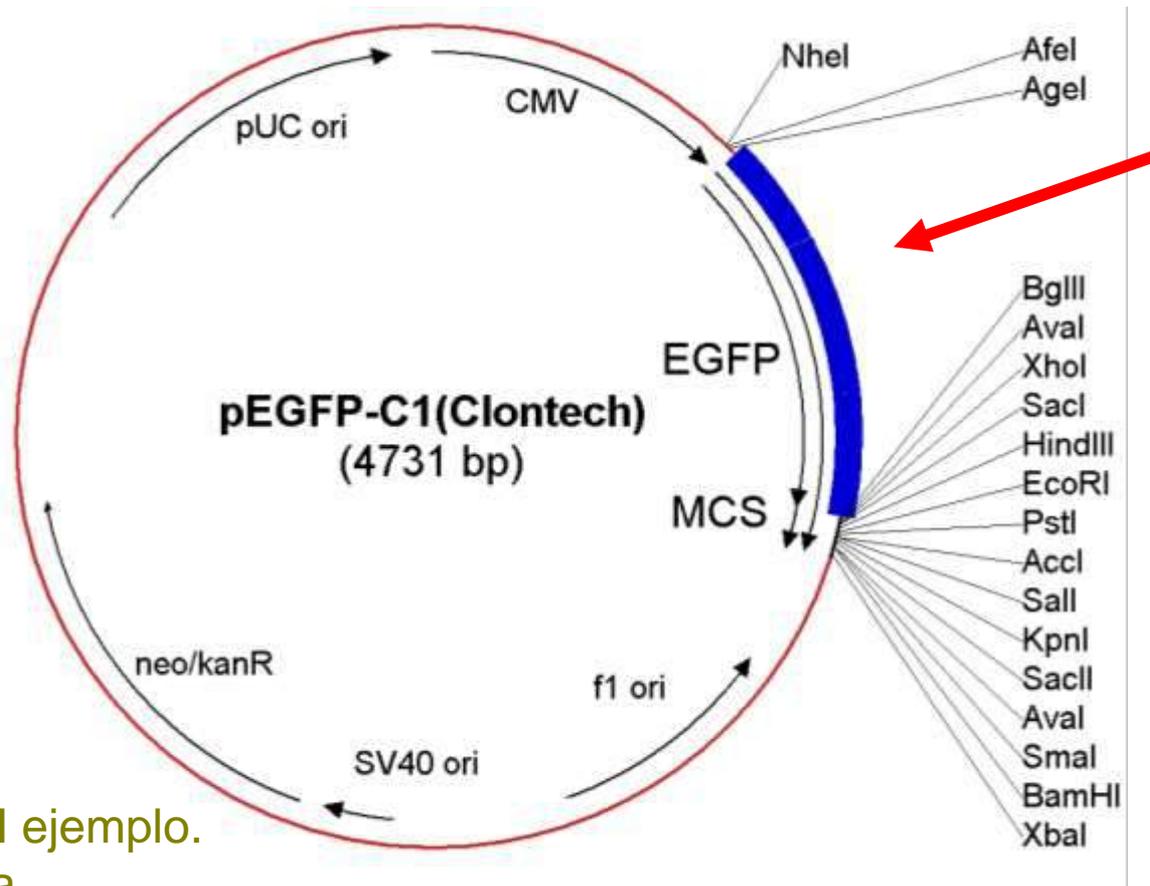
Diseño del gene y Vector de Expresión

- Sistema de expresión
 - Vector: sistema de transporte del gene a expresar (plásmido o virus)
 - Origen de replicación
 - Sitios de clonación
 - Sitios de inserción al genoma del huesped (si aplica)
 - Promotor adecuado
 - Terminador
 - Insulators (si aplica)

Diseño del gene y Vector de Expresión

Sistema de expresión

PROMOTOR
adecuado



SELECCIÓN ejemplo.
Resistencia a
antibióticos

Diseño del gene y Vector de Expresión

- Selección
 - Marcadores de resistencia a un compuesto o antibiótico
- Sitios de inserción
 - Secuencia específica para integración en el genoma
 - Integración aleatoria
- Expresión Eficiente
 - Promotor
 - Insulators

Introducción de DNA a una célula

- Introducción de DNA exógeno a una célula
 - Transformación: introducción de DNA en bacterias
 - Transfección: introducción de DNA en plantas y animales
 - Transducción introducción de DNA mediante vectores virales
- **Electroporación**
 - Por choque eléctrico, apertura de poros en membrana celular y se introduce DNA
- **Gene gun (biobalística)**
 - Partículas de oro o tungsteno, recubiertas de DNA y disparadas a embriones o células jóvenes
- **Transformación con bacterias**
 - Algunas bacterias pueden introducir DNA a plantas en proceso de infección

CONCEPTOS ADICIONALES

Inducción de cambios genéticos

Mutagénesis: técnicas para para inducir cambios genéticos

- Al azar

- Luz UV o químicos mutagénicos
- No es posible predecir el tipo de mutación

- Dirigida

- A través de oligonucleótidos se diseña la mutante deseada y se genera un cambio en un gene
- Diseño de genes sintéticos *in vitro*
- Usualmente cambios de aminoácidos, no genes completos

Inserción de genes y Knock out

■ Plásmidos

- Transforma/Transfecta un plásmido incapaz de replicarse
- Selecciona este plásmido mediante un marcador (resistencia a un compuesto)
- Organismos seleccionados contienen el gene de interés en el genoma

■ Transposones

- Elementos móviles de DNA
- Transforma/transfecta el elemento transponible
- Se induce la transposición o movimiento en el genoma
- Se selecciona el cambio deseado (inserción o eliminación de un gene)

GRACIAS !!!