

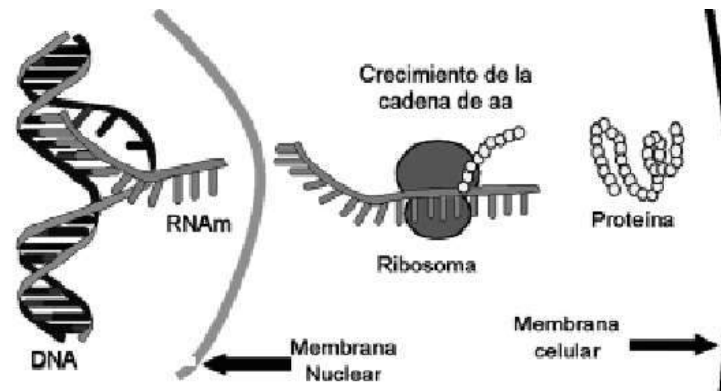
# ¿QUÉ ES BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

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

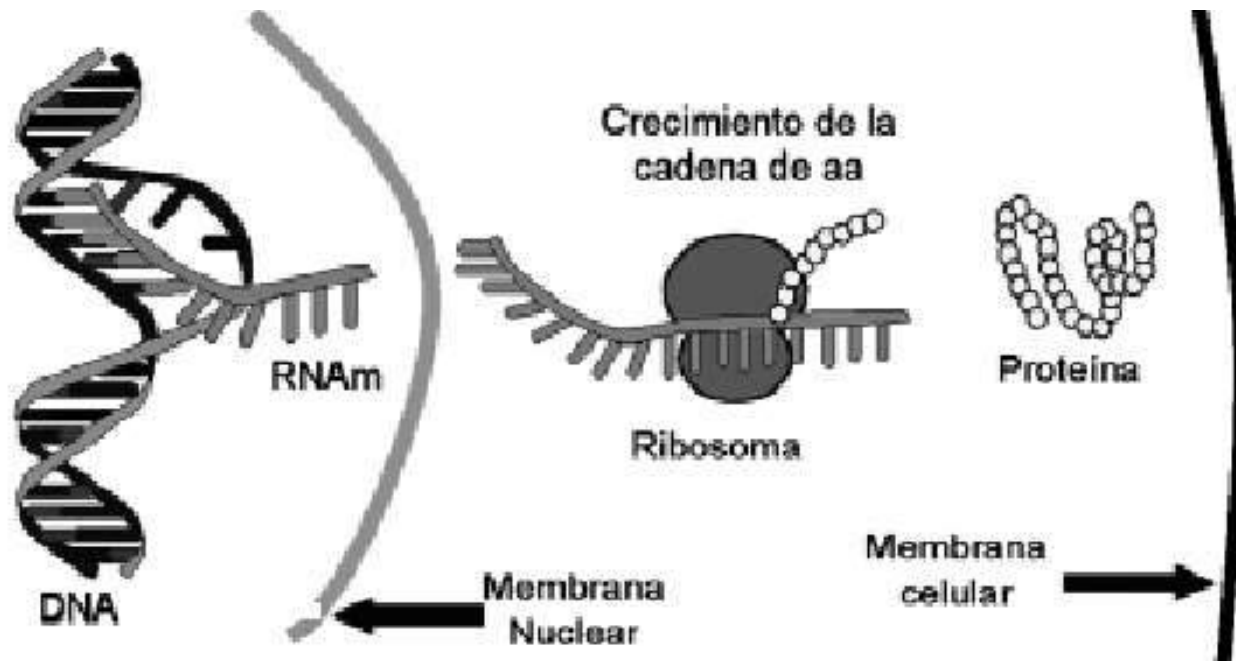
- **4000 AC Mediterráneo:** Fermentación para hacer cerveza
- **1798:** Jenner descubre la primera vacuna para viruela
- **1861:** Pasteur descubre que la fermentación se debe a bacterias
- **1866:** Teoría de herencia Mendeliana
- **1928:** Se descubre la penicilina derivada de un cultivo de un hongo



# 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

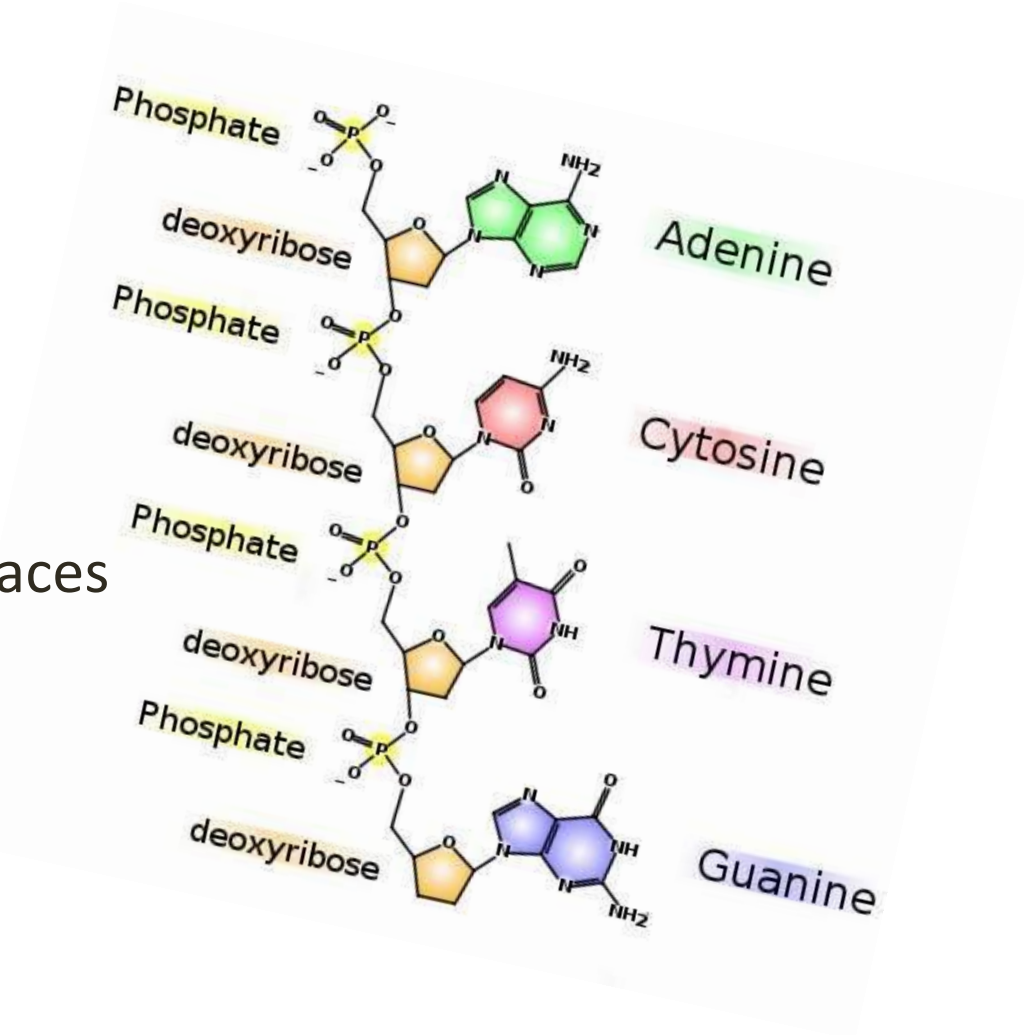


Dr. Julio A. Carrasco Vallejo  
Julio 2014

# Conceptos Fundamentales

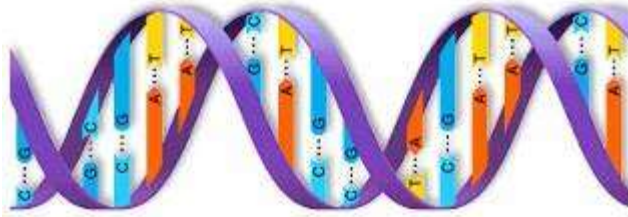
## ■ DNA:

- 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



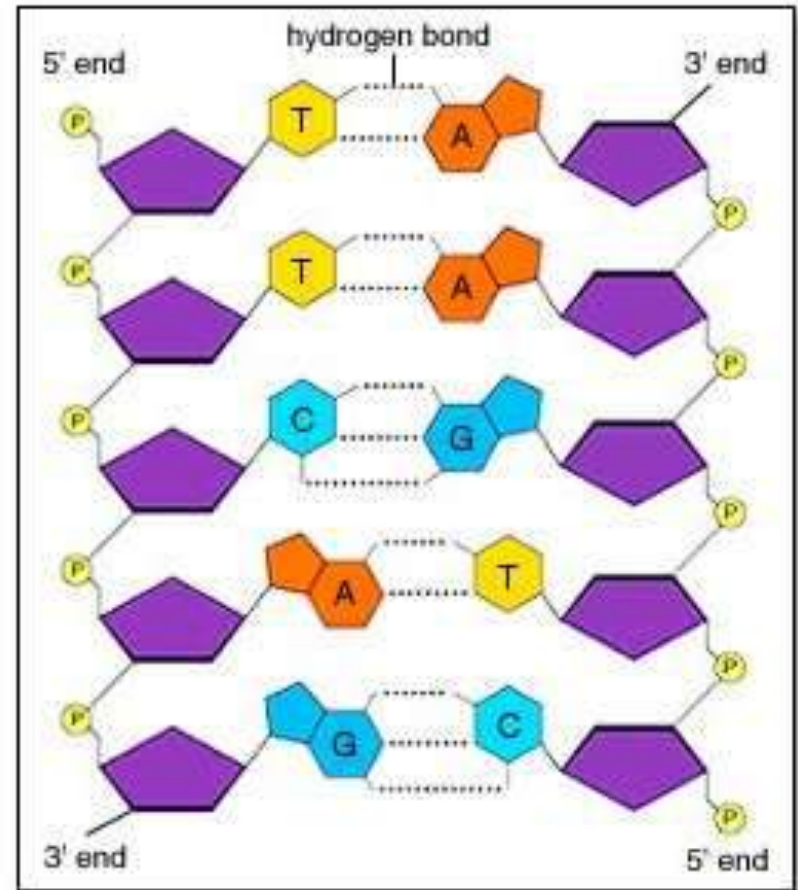


# Conceptos Fundamentales



## ■ DNA:

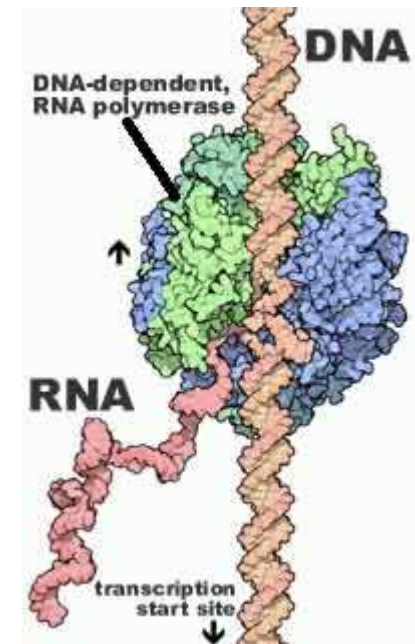
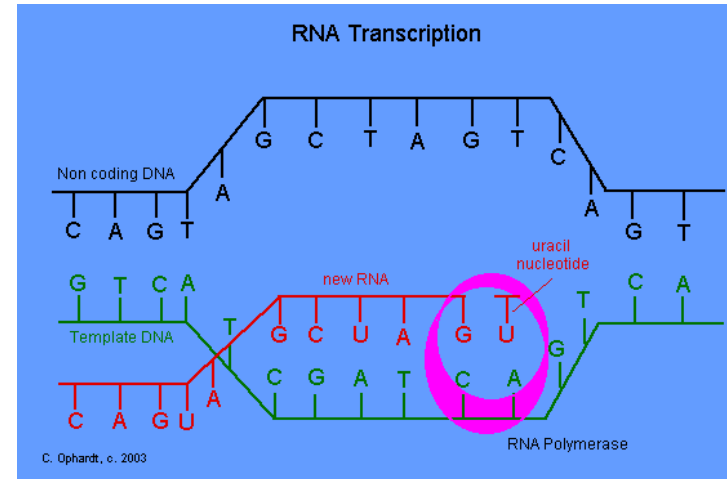
- Dos cadenas apareadas por puentes de hidrógeno entre A/T, y G/C= Estructura **CLASICA** del DNA
- Las dos cadenas se aparean en direcciones opuestas o en antiparalelo



# Conceptos Fundamentales

## ■ RNA

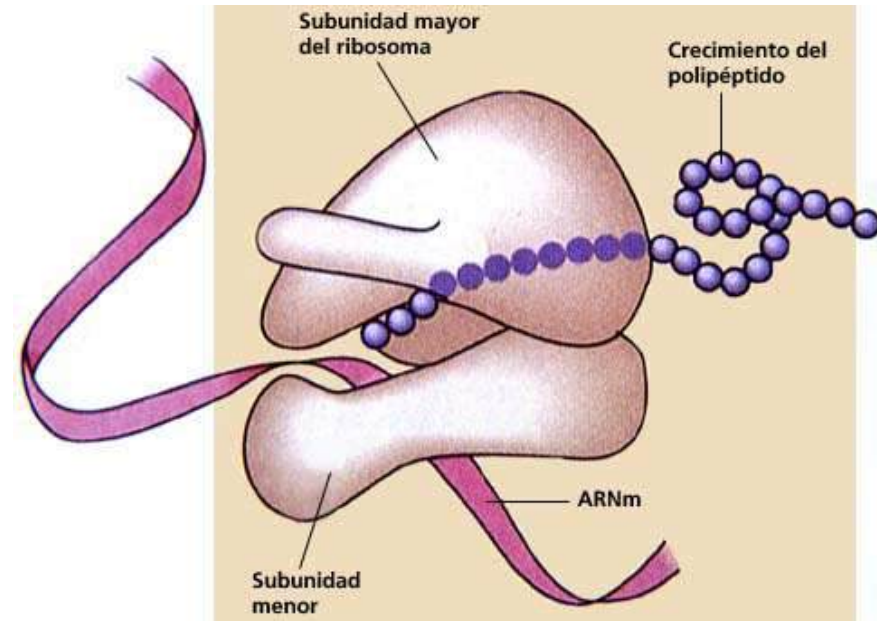
- Acido Ribonucléico
- Sintetizado a partir de DNA a través de una Polimerasa de RNA
- 4 ribonucleótidos: Adenina (A), Uracilo (U), Guanina (G) y Citosina (C)
- Nucleótidos unidos por enlaces covalentes entre el azúcar y fosfato de cada nucleótido forman una hebra
- ***Molécula típicamente de una sola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



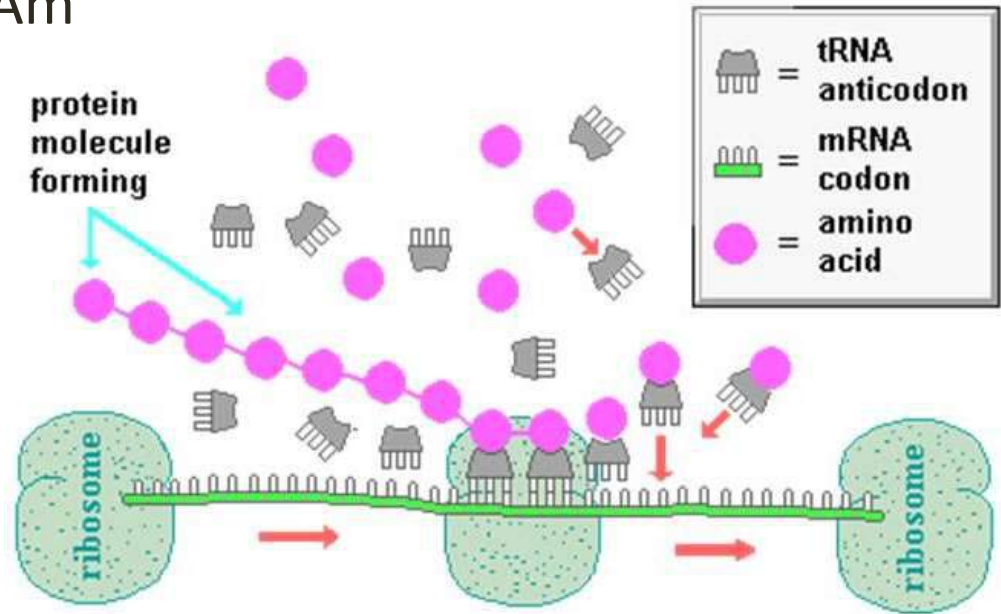
# Conceptos Fundamentales

## ■ Proteínas:

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

### ■ Funciones biológicas:

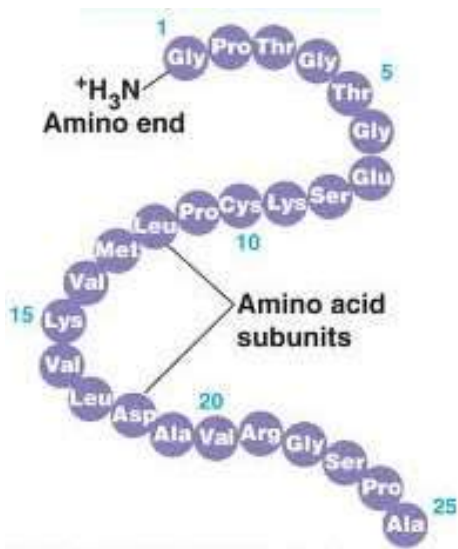
- Enzimas
- Toxinas
- Transporte



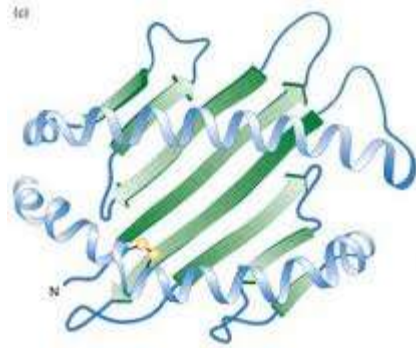
### ■ Modificaciones post-traduccionales:

- Metilación
- Fosforilación
- Glicosilación

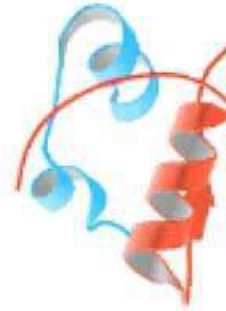
# Estructura de las proteínas



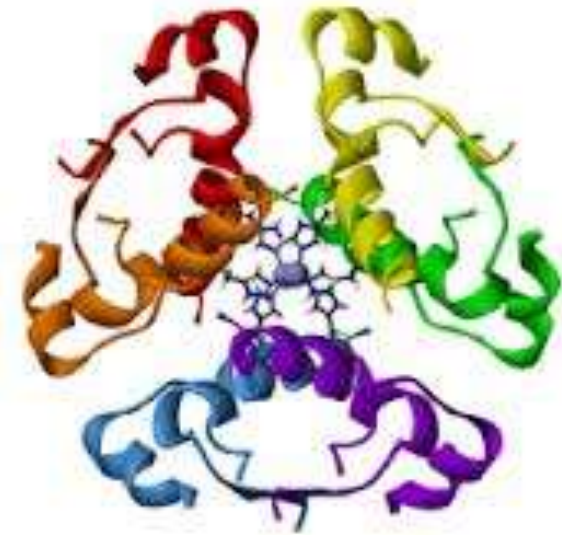
**Primaria**  
Cadena de aminoácidos



**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 CH<sub>3</sub>
- Fosforilación
  - Adición de grupos PO<sub>4</sub>

# ¿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?

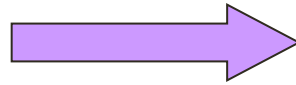
- GENOMA: Material genético de un organismo
- Gene:
  - Contiene la información de un organismo y es capaz pasar sus rasgos genéticos a la siguiente generación
  - Región del genoma que corresponde a una unidad hereditaria asociada a regiones reguladoras
  - Región transcribible que codifica para un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

# ¿Cómo se expresa un gene?

**Transcripción**

**Traducción**

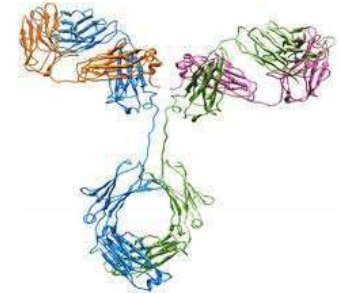
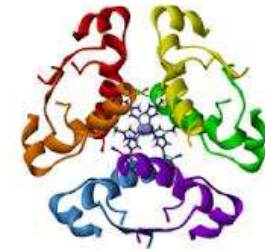
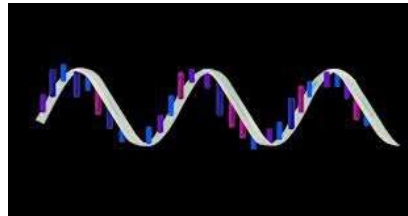
DNA



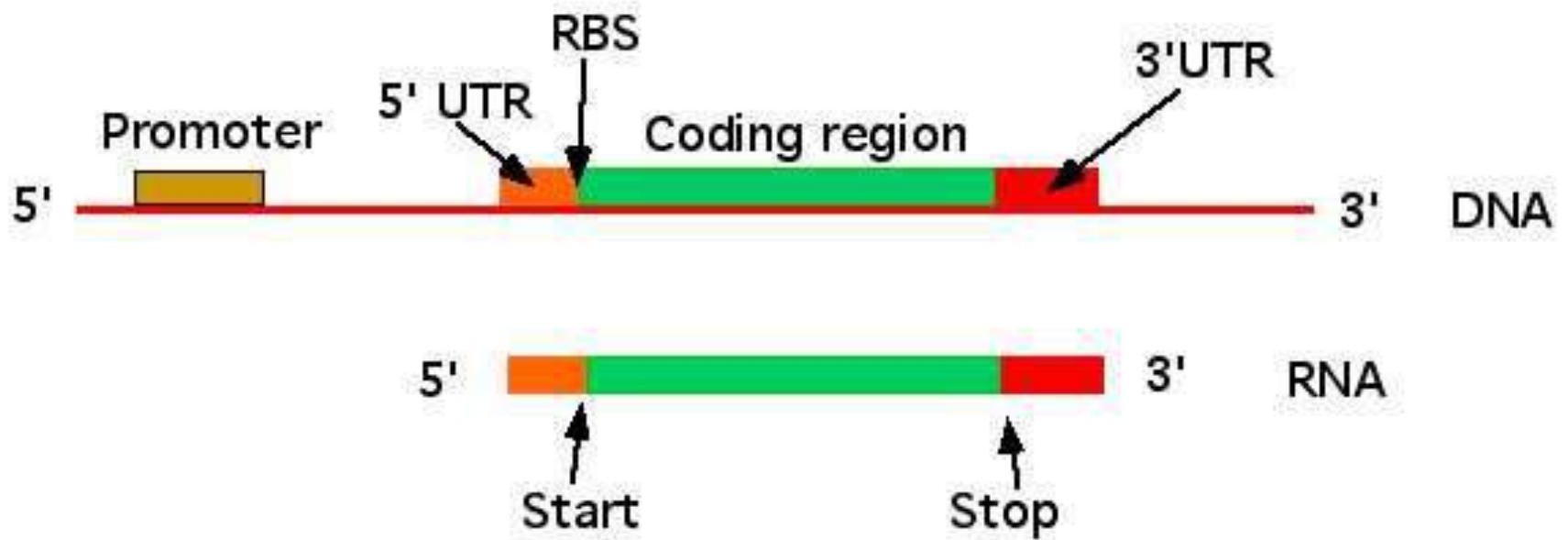
RNA



Proteína



# Estructura General de un Gene



# Expresión Genética

Del DNA a la Proteína

DNA



RNAm



**Transcripción**



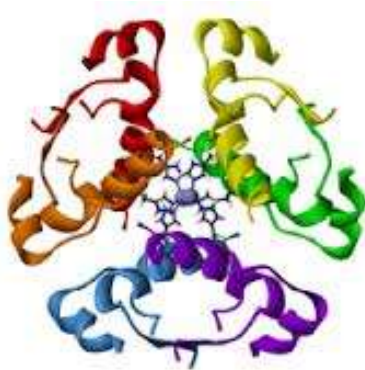
# Expresión Genética

RNAm

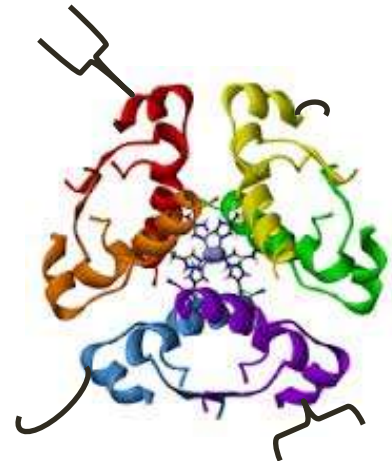


**Traducción**

Proteína

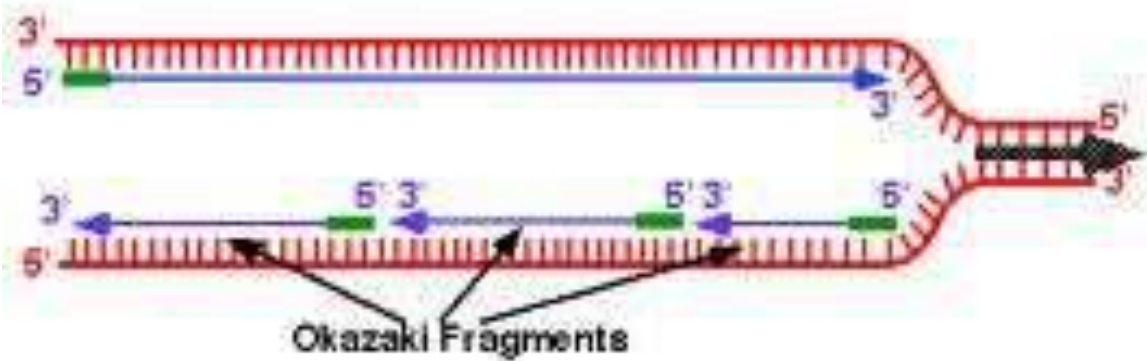
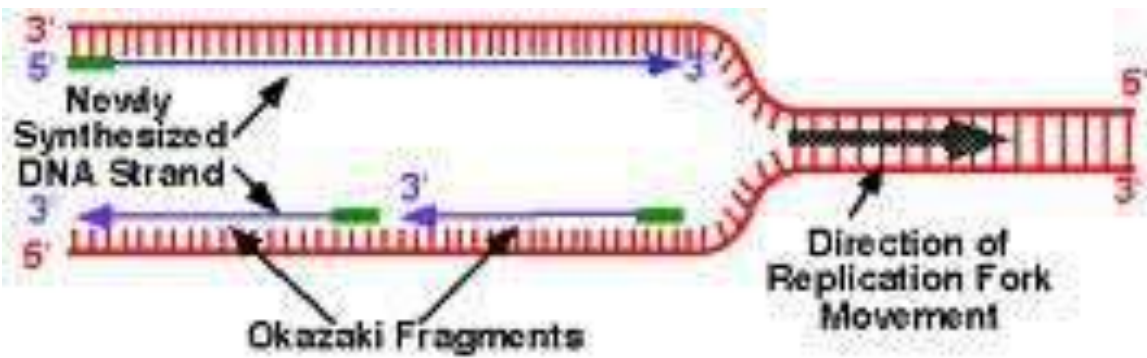


**Modificaciones  
Postraduccionales**



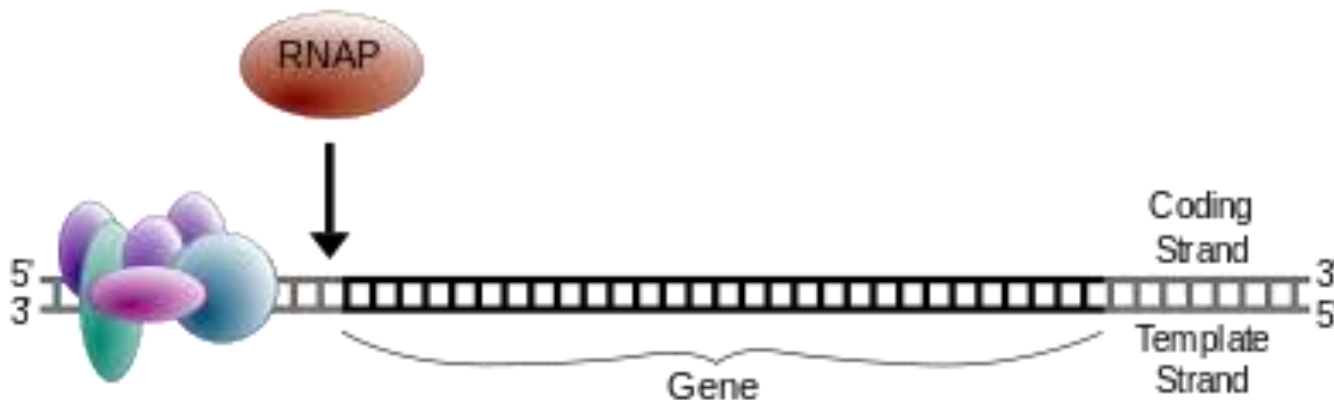
# Replicación de DNA

- 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

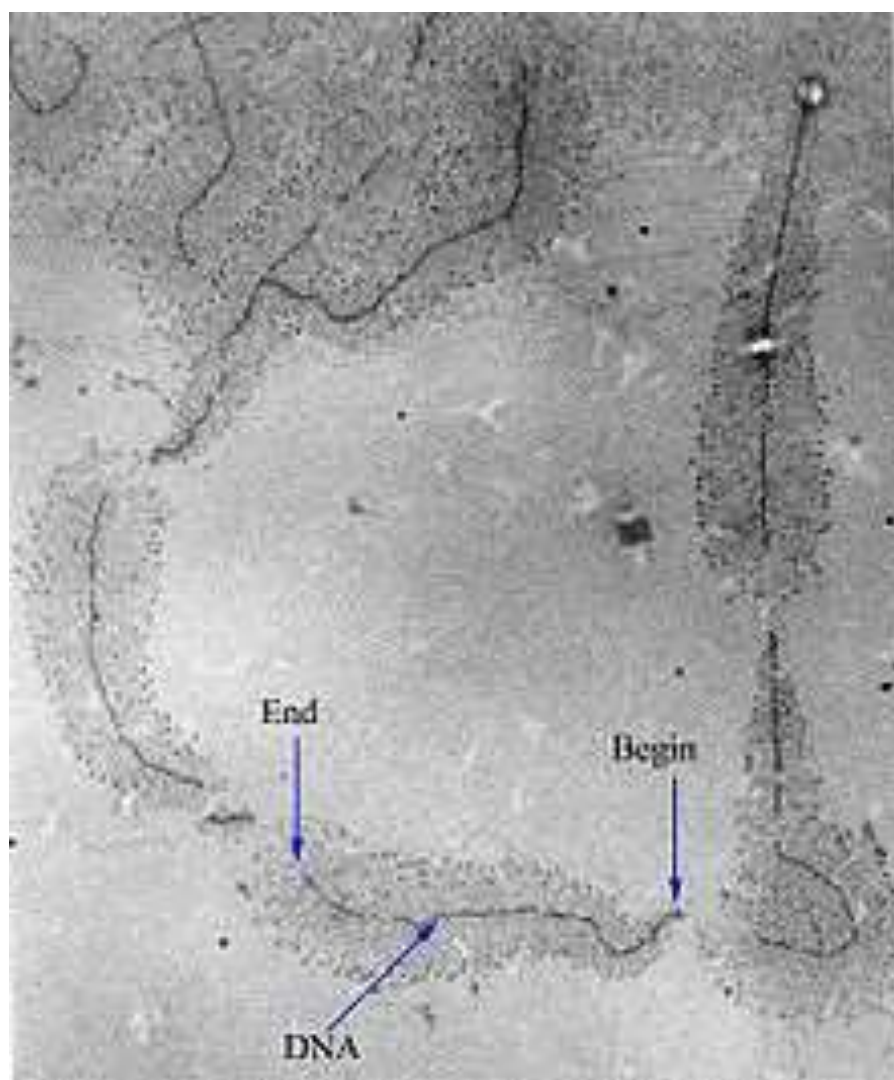


# Transcripción

- 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 desnaturaliza (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)



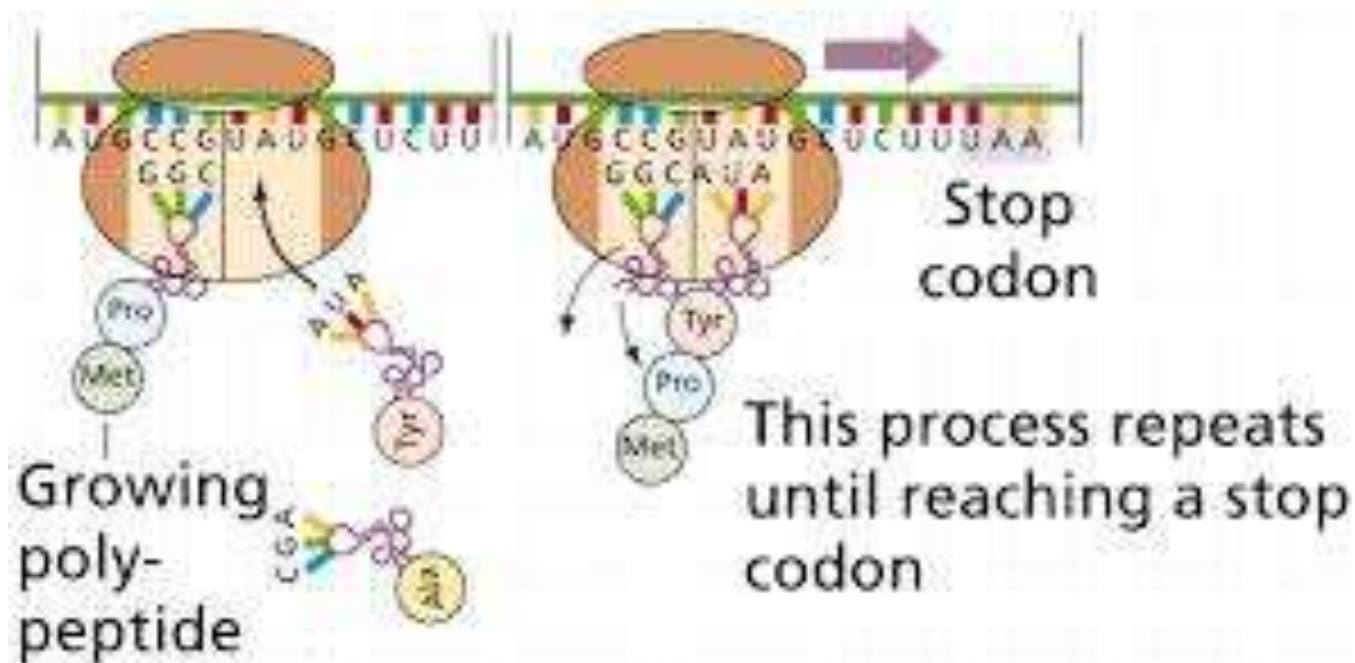




# Traducción

- 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

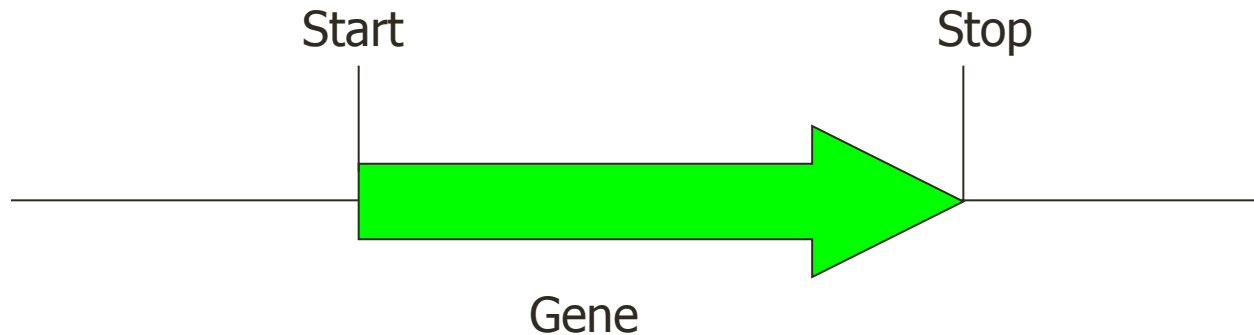
Enzimas que digieren DNA de doble cadena en una secuencia específica

- 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



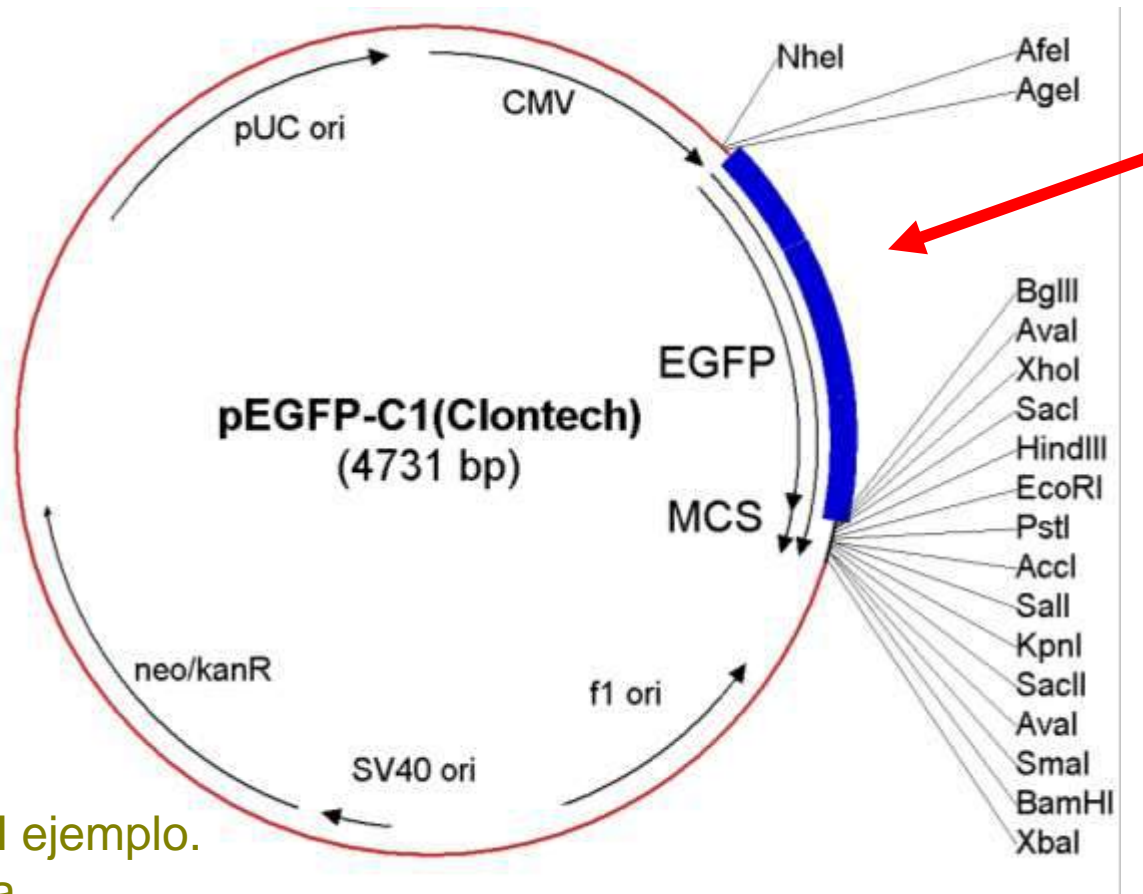
# Diseño del gene y Vector de Expresión

- 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



Espacio para insertar gen de interés

**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 !!!**