

Aspectos generales

Título:	BIOLOGÍA MOLECULAR
Semestre:	2025-2
Sede:	Instituto de Fisiología Celular
Horario:	Martes y Jueves de 9:00 a 12:00
No. sesiones:	30
Duración de la sesión:	3.00
Cupo total:	15
Observaciones:	Curso obligatorio para el PMDCBQ

Tutor responsable

Nombre:	BERTHA MARÍA JOSEFINA GONZÁLEZ PEDRAJO
Entidad:	Instituto de Fisiología Celular
Email:	bpedrajo@ifc.unam.mx
Teléfono:	5556 22 59 65

Métodos de evaluación

MÉTODO	CANTIDAD	PORCENTAJE
Exámenes parciales de cada tema	8	100%

Integrantes

INTEGRANTE	ROL	HORAS	ACTIVIDAD COMPLEMENTARIA
BERTHA MARÍA JOSEFINA GONZÁLEZ PEDRAJO	Responsable	12.00	
DIMITRIS GEORGELLIS	Profesor invitado (MDCBQ)	12.00	
JESÚS AGUIRRE LINARES	Profesor invitado (MDCBQ)	12.00	
LUIS DANIEL RIOS BARRERA	Profesor invitado (MDCBQ)	12.00	
LUIS DAVID ALCARAZ PERAZA	Profesor invitado (MDCBQ)	9.00	
ROBERTO CORIA ORTEGA	Profesor invitado (MDCBQ)	12.00	
FRANCISCO JAVIER DE LA MORA BRAVO	Profesor invitado (Externo)	9.00	
LAURA MARÍA ONGAY LARIOS	Profesor invitado (Externo)	12.00	
		90/90	

Introducción

Este es un curso formativo obligatorio para los alumnos de Maestría del PMDCBQ

Métodos de enseñanza: es requisito indispensable que el alumno revise los capítulos sugeridos en cada tema, previamente a la clase. La información en la sesión de clase será presentada analizando los conceptos generales y revisando con detalle los mecanismos involucrados en los procesos estudiados. Los temas serán expuestos y discutidos basándose en los libros de texto recomendados en la bibliografía y se revisarán aquellos artículos cuyos contenidos sean relevantes para enfatizar los avances más importantes en el campo. En lo posible, los profesores asignarán ejercicios a los temas correspondientes, con el objeto de fomentar la participación activa de los estudiantes en el proceso enseñanza-aprendizaje. Es muy importante que cada alumno participe activamente en clase.

Objetivos

Objetivo General: que el alumno adquiera la información necesaria para conocer, discutir y analizar la manera en que la información genética está estructurada en los organismos procariotes y eucariotes, cómo se expresa y cuáles son los mecanismos involucrados en su control.

Temario

TEMA I.**GENES Y GENOMAS**

(3 sesiones)

1. Estructura y diversidad de las células. Clasificación de los seres vivos.

a. Células procariontes, eucariontes y virus

2. Introducción. Historia de la Biología Molecular, conceptos, paradigmas y paradojas. Singularidades y generalidades.

a. La escuela estructural y la escuela informacional (Mendel, Avery, Hershey/Chase, Chargaff, Watson y Crick, Jacob y Monod).

3. Estructura y función de ácidos nucleicos y proteínas

a. Dogma central

b. Estructura del DNA

c. Tipos de RNAs (transferencia, ribosomal, mensajero y otros)

d. Proteínas (estructurales, enzimas y regulatorias).

4. Organización del código genético

a. Universalidad del código genético y sus excepciones

b. Código genético degenerado y conservativo

5. Estructura de los genomas

a. Genomas procarionte, eucarionte, organelar y viral

b. Cromosomas y su estructura, centromeros, telómeros, transposones, retrotransposones, secuencias altamente repetitivas, moderadamente repetitivas y no repetitivas.

c. Topología de genomas en procariontes y eucariontes (cromatina vs. nucleóide)

6. Conceptos de gen, alelo, genotipo y fenotipo.

a. Gen como unidad funcional y gen como unidad transcripcional. Concepto mendeliano y molecular del gen

b. Regiones codificantes, no codificantes y regiones regulatorias

c. Organización transcripcional, operones, exones e intrones

d. Origen, duplicación, generación de nuevas funciones y pseudogenización

e. Transferencia horizontal de genes

f. Introducción a las modificaciones químicas en los genomas

7. Evolución molecular

a. Introducción a la evolución molecular

b. Darwinismo y la nueva síntesis

c. Homología

d. Filogenias y genealogías

e. Fuerzas evolutivas

f. Teoría neutralista

g. Reloj molecular

TEMA II.**GENÉTICA MICROBIANA**

(3 sesiones)

1. Mutaciones en bacterias

a. Definición de términos genéticos comunes (mutante, fenotipo, genotipo, etc.)

b. Análisis y significado de los experimentos de Luria-Delbrück, Newcombe, Lederberg

- c. Tipos de mutaciones
- d. Reversión versus supresión: supresores intra e intergénicos; supresores sin sentido
- e. Nomenclatura en genética bacteriana
- f. Mutantes auxotróficas, condicionales, sin sentido
- g. Obtención de la frecuencia de mutación

2. Transformación

3. Conjugación

- a. Conjugación en bacterias Gram-negativas
- b. Transferencia de marcadores cromosomales por plásmidos
- c. Conjugación en bacterias Gram-positivas
- d. Genética de la transmisión de plásmidos

4. Bacteriófagos

- a. Fagos M13
- b. Fagos lambda
- c. Fagos transductantes

TEMA III.

REPLICACIÓN, REPARACIÓN Y RECOMBINACIÓN DE DNA

(4 sesiones)

A. REPLICACIÓN DEL DNA

1. Características generales de la replicación del DNA.

- a. Mecanismo semiconservativo de la replicación.
- b. La replicación del DNA es semidiscontinua.
- c. La replicación del DNA es bidireccional.
- d. La replicación del DNA requiere de la síntesis de RNA
- e. Topología del DNA durante la replicación

Replicación en Procariontes

1. Iniciación de la Replicación en Procariontes

- a. Origen de replicación en procariontes (*OriC*)
- b. Reconocimiento del origen de replicación y proteínas involucradas
- e. Regulación de la fase de iniciación

2. Las DNA polimerasas y enzimas auxiliares

- a. Actividades de DNA polimerasa en *E. coli*.
- b. Fidelidad y procesividad de las DNA polimerasas.
- c. Función de la DNA polimerasa III en la replicación
- d. Función de la DNA polimerasa I y ligasa en la replicación.

3. Terminación de la Replicación en Procariontes.

- a. Sitios Ter y proteína TBP (Tus)

- b. Desenrollamiento y síntesis reparativa.
- c. Papel de las Topoisomerasas en la replicación

Replicación del DNA en Eucariontes

1. Iniciación de la Replicación en Eucariontes

- a. Origen de replicación. Virus SV40 y Ag-T
- b. Formación del complejo de replicación
- c. Iniciación y proteínas involucradas

2. Elongación de la Replicación en Eucariontes

- a. Las DNA polimerasas en eucariontes y enzimas auxiliares
- b. Reguladores del ciclo celular en la replicación del DNA

3. Terminación de la Replicación en Eucariontes

- a. Terminación de la replicación en cromosomas lineales. Telómeros.
- b. Telomerasa. Mecanismo.

4. Dinámica de la cromatina durante la replicación del DNA

- a. Chaperonas de histonas
- b. Replicación de la información epigenética

B. REPARACIÓN DEL DNA

1. Daño al DNA y mutación

2. Reparación del DNA

- a. Reparación directa
- b. Reparación por escisión de bases (BER)
- c. Reparación por escisión de nucleótidos (NER)
- d. Reparación de DNA desapareado ("Mismatch")

3. Sistema SOS de *Escherichia coli*

- a. Reparación sujeta a errores

4. Sistemas de reparación del DNA en eucariontes

- a. NER y función de proteínas XP
- b. Reparación de ruptura de doble cadena; recombinación homóloga y unión de extremos no homólogos (NHEJ).
- c. Función de la cromatina en la reparación del DNA.
- d. p53 y la vía de respuesta de daño al DNA.

C. RECOMBINACIÓN DEL DNA

1. Tipos de recombinación y función de la recombinación

2. Recombinación homóloga

en procariontes.

3. Vía de RecBCD

4. Recombinación homóloga

en eucariontes.

5. Recombinación sitio específica: fago lambda

Transposones

1. Retrovirus.

- Tipos de elementos móviles y mecanismos generales de transposición
- Transposones de DNA simples y compuestos. Transposición replicativa y no replicativa.
- Transposones bacterianos TnA y Tn10 y de plantas Ac-Ds.
- Transposición en genomas eucariontes (disgénesis híbrida). Retrovirus y ciclo de vida.

2. Rearreglos genómicos.

- Semejanzas y diferencias entre retrovirus y retrotransposones.
- Tipos y familias de retroelementos.
- Replicación e inserción de retroelementos tipo LTR y LINE.

TEMA IV.

TRANSCRIPCIÓN Y PROCESAMIENTO POSTRANSKRIPCIONAL

(4 sesiones)

1. RNA Polimerasa procarionte, estructura y función.

- Reconocimiento de promotores.
 - Estructura de promotores
- Unión, inicio, elongación y terminación de la transcripción.
 - Factor sigma.
 - Transcripción abortiva.
 - Factor Rho (terminación intrínseca y extrínseca).

2. RNA Polimerasas eucariontes (estructura y funciones).

- PolI, PolII y PolIII.
- CTD.
- Promotores, TATA box, *enhancers* y *silencers*.
- Factores transcripcionales.

3. RNA mensajero (estructura y procesamiento).

- RNAm procarionte vs. RNAm eucarionte.
- Procesamiento en eucariontes:
 - Capping*.
 - Poliadenilación.
 - Splicing*.
 - Splicesosoma* (RNAs pequeños nucleares).
 - Procesamiento intrones tipo I.
 - Procesamiento intrones tipo II.
 - Procesamiento alternativo
 - Procesamiento atípico (independiente

de *spliceosoma*)

vi) *Trans-splicing*.

4. RNA ribosomal (estructura y procesamiento).

- a. Cistrones ribosomales.
- b. Vía de procesamiento.
- c. Modificaciones postranscripcionales
(RNAs pequeños nucleolares).

5. RNA de transcripción (estructura y procesamiento).

- a. Precursores de RNA de transcripción
(RNasa P).
- b. Modificaciones postranscripcionales.
- c. *Splicing* (maduración de tRNA, ligasas de tRNA).

6. Edición de RNA

- a. Metilación.
- b. Uridinación.
- c. Cambio de nucleótidos
(postranscripcional).

7. Decaimiento y degradación de RNA.

8. RNAs regulatorios no codificantes.

- i) Los microRNAs.
- ii) siRNAs.
- iii) RNAs pequeños en el control de
la cromatina.
- iv) Otros RNAs pequeños en
eucariontes.
- v) RNAs largos no codificantes.

TEMA V.

TRADUCCIÓN

(4 sesiones)

1. La maquinaria de síntesis de proteínas en procariontes y eucariontes

- a. El RNA de transferencia.
- b. El código genético. Complementariedad codón-anticodón. Hipótesis del bamboleo.
- c. Aminoacil RNAt sintetasas. Fidelidad de la traducción.
- d. El RNA mensajero en procariontes. Secuencia Shine-Dalgarno.
- e. El RNA mensajero en eucariontes. Estructura 5'Cap y cola de poliA. Regiones no traducibles. Secuencia Kozac.
- f. El RNA ribosomal. Estructura y dominios.

- g. Proteínas ribosomales.
- h. Subunidades ribosomales. Ribosomas. Poliribosomas.

2. El mecanismo de síntesis de proteínas.

- a. Factores de traducción en procariontes
- b. Factores de traducción en eucariontes
- c. Pasos en el inicio de la traducción.
- d. El modelo de escrutinio del AUG en eucariontes.
- e. Traducción cap-dependiente vs. Traducción cap independiente. Sitios de entrada interna del ribosoma (IRES).
- f. Relevancia del modelo de círculo cerrado para la traducción del RNAm eucarionte.
- g. Elongación de la traducción
- h. Terminación de la traducción
- i. Gasto energético de la traducción
- j. Eficiencia de la traducción
- k. Traducción en organelo.

3. Modificaciones co- y post-traduccionales de proteínas

- a. Papel del ribosoma en el plegamiento de proteínas
- b. Relación traducción-proteasoma
- c. Modificaciones de aminoácidos
- d. Direccionamiento de proteínas

4. Regulación de la traducción

- a. Regulación en procariontes
- b. Regulación en eucariontes
- c. Regulación por RNAs no codificantes
- d. Estabilidad y localización del RNA mensajero
- e. Antibióticos que afectan la traducción

TEMA VI.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN PROCARIOTES

(4 sesiones)

1. Modelo clásico de regulación transcripcional.

- a. El operón *lac* de *E. coli* como paradigma de regulación en bacterias
- b. El concepto de operón
- c. Regulación negativa
- d. Estructura del operón *lac*. Catabolismo
- e. El represor LacI y el operador
- d. Modelo del operón de Jacob y Monod
- e. Actualización de la regulación del operón *lac*
- f. Regulación positiva sobre el operón *lac*: represión catabólica.

g. La proteína CAP (CRP) y el AMP cíclico.

2. Otros sistemas de regulación en *E. coli*:

variantes del modelo del operón.

- a. El operón *gal* con dos represores
- b. Regulación positiva
- c. El operón *ara* y su regulador dual
- d. Familias de reguladores transcripcionales
- e. Sistemas de dos componentes

3. Atenuación

- a. El operón *trp*: represor y correpresor
- b. Estructura del operón *trp*. Anabolismo
- c. Regulación por terminación de la transcripción: atenuación en *E. coli* y *B. subtilis*
- d. Riboswitches

4. Sistemas de regulación global

- a. Represión Catabólica. Sistema PTS.
- b. Exclusión del inductor. Promotores clase I y clase II.
- c. Factores sigma (Asimilación de nitrógeno, sigma 54; Regulación por choque térmico, sigma H)
- d. Regulación por segundos mensajeros
- e. Regulación por proteínas asociadas al nucleóide
- f. Regulación por RNAs pequeños
- g. Regulación por modificaciones en el DNA
- h. Regulación por "Quorum sensing"

TEMA VII.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN EUCARIOTES

(4 Sesiones)

1. Compartimentos nucleares

- a. Características generales del genoma eucarionte
- b. Territorios cromosomales
- c. Disposición radial de los cromosomas
- d. Heterocromatina y Eucromatina
- e. Centros y telómeros
- f. Periferia y lámina nuclear
- g. DamID y LADs
- h. Nucleolo
- i. Fábricas transcripcionales
 - ii) Translocaciones
- j. Polycomb bodies

2. Polimerasas e Iniciación de la transcripción.

- a. Las RNA polimerasas de eucariontes.

- b. Los promotores de las diferentes RNA polimerasas.
- c. La maquinaria basal para la RNA polimerasa II.
- d. Transcripción y reparación.

3. Epigenética y epigenómica

- a. Definición de epigenética
- b. El genoma en cromatina
- c. Procesos de regulación epigenética
- d. Metilación de DNA
- e. Modificaciones postraduccionales de histonas (Acetilación-desacetilación, Metilación, fosforilación y ubiquitinación)
- f. Variantes de histonas
- g. Complejos Polycomb y Trithorax
- h. RNAs no codificantes

4. Estrategias experimentales para estudiar el epigenoma

- a. Secuenciación por bisulfito de sodio
- b. MeDIP y MeDIPseq
- c. ChIP y ChIPseq
- d. ENCODE y secuenciación masiva de nueva generación

5. Elementos de regulación a distancia

- a. Relación entre el aumento en el tamaño genómico y la aparición evolutiva de elementos de regulación
- b. Promotores
- c. *Enhancers-Silencers*
- d. LCR
- e. *Insulators*

6. Organización tridimensional del genoma eucariote

- a. Introducción a herramientas de estudio de conformación cromosomal (del 3C al HiC)
- b. HiC
- c. Compartimentos A y B
- d. Dominios topológicamente asociados (TADs)
- e. Asas de cromatina

TEMA VIII.

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

(4 sesiones)

A. Generación de DNA recombinante

1. Clonación molecular.

1. Enzimas de restricción y otras enzimas involucradas en la clonación tradicional de DNA.
2. Vectores de clonación (derivados de plásmidos, derivados de fagos Lambda, vectores lanzadera).
3. PCR y RT-PCR como alternativas a la clonación.
4. Clonación empleando recombinasas.

2. Construcción y análisis de genotecas

- a. Estrategias generales en la construcción de bibliotecas genómicas y de cDNA
- b. Vectores para la construcción de genotecas: fagos, bacterias, BACs, YACs, Lentivirus.
- c. Escrutinio de bibliotecas empleando sondas de ácidos nucleicos o anticuerpos
- d. Identificación, análisis y secuenciación del DNA clonado

3. Transgénesis: Introducción de material genético en otro organismo.

- a. Transformación en bacterias (electroporación, química)
- b. Transducción
- c. Transfección de células eucariontes (lipofección, electroporación en animales; bombardeo, *Agrobacterium tumefaciens* en plantas).
- d. Vectores de expresión: diferentes tipos de promotores (constitutivos, tejido específicos, inducibles)

B. Aplicación de la tecnología de DNA recombinante

1. Producción de proteínas recombinantes

- a. Sistemas de expresión: bacterias, hongos (*Pichia pastoris*), células de insecto (*baculovirus*), de mamífero (*HEK293*)
- b. Promotores/sistemas empleados para controlar la inducción de proteínas recombinantes
- c. Etiquetas para purificación por afinidad (His, GST, epítopes) y etiquetas de solubilidad (MBP, Trx, Nus)

2. Estudio de la expresión genética

- a. Detección específica de mRNA: Northern blot y qRT-PCR (transcripción reversa acoplada a PCR cuantitativo)
- b. Análisis de transcriptoma: *Microarrays*, RNA seq
- c. Detección e identificación de proteínas: Western blot, proteómica
- d. Regulación de la expresión genética: genes reporteros para medir actividad de promotores
- e. Interacciones proteína-ácidos nucleicos
- f. Proteínas fluorescentes: herramientas para la localización subcelular y otros usos

3. Estudio de la función de productos génicos

- a. Mutagénesis dirigida y mutagénesis al azar (PCR, transposones)
- b. Inhibición de la expresión específica por interferencia de RNA
- c. Mutaciones nulas por recombinación homóloga (Gene targeting knockout)
- d. Edición de genes (CRISPR-Cas9)

4. Aplicaciones de la secuenciación de siguiente generación

- a. Técnicas de secuenciación masiva
- b. Genómica.
- c. Metagenómica.

Bibliografía

Literatura general de consulta

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K y Walter P. 2014. Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing Co. Sexta edición
- Berg P y Singer M. 1991. Genes and Genomes: A Changing Perspective. University Science Books. Blackwell Scientific Publications.
- Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, Amon A y Scott MP. 2012. Molecular Cell Biology. W.H. Freeman. Séptima edición.
- Kornberg A y Baker TA. 1992. DNA replication. Segunda edición. WH Freeman & Co.
- Krebs JE, Goldstein ES y Kilpatrick ST. 2012. Lewin's GENES XI. Jones & Bartlett Learning.
- Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M y Losick R. 2013. Molecular Biology of the gene. Séptima edición. Benjamin Cummings.
- Snyder L, Peters JE, Henkin TM, Champness W. 2013. Molecular Genetics of Bacteria. Cuarta edición. ASM Press.