Biología Molecular y Celular. Volumen I

Técnicas y fundamentos

Biología Molecular y Celular. Volumen I

Técnicas y fundamentos

Juan Peragón Sánchez y M.ª Ángeles Peinado Herreros (eds.)

UJA EDITORIAL

Biología Molecular y Celular. Volumen 1, Técnicas y fundamentos / Juan Peragón Sánchez y Mª Ángeles Peinado Herreros (eds.) -- Jaén : Editorial Universidad de Jaén, 2019. -- (Ciencias Experimentales. Avances recientes ; 1)

208 p. ; 17 x 24 cm
ISBN 978-84-9159-208-2
1. Ciencias de la Salud I. Peragón Sánchez, Juan , ed.lit. II. Peinado Herreros, María de los Ángeles, ed.lit. III. Jaén. Editorial Universidad de Jaén, ed.
577.2

Esta obra ha superado la fase previa de evaluación externa realizada por pares mediante el sistema de doble ciego

Colección: Ciencias Experimentales
Directora: M.ª Ángeles Peinado Herreros
Serie: *Avances recientes, 1*

© Autores
© Universidad de Jaén
Primera edición, marzo 2019
ISBN: 978-84-9159-208-2
Depósito Legal: J-134-2019

Edita
Editorial de la Universidad de Jaén
Vicerrectorado de Proyección de la Cultura y Deportes
Campus Las Lagunillas, Edificio Biblioteca
23071 Jaén (España)
Teléfono 953 212 355
web: editorial.ujaen.es

editorial@ujaen.es

Diseño y maquetación
Yerro Servicios Editoriales

Imprme
Gráficas «La Paz» de Torredonjimeno, S. L.

Impreso en España/*Printed in Spain*

«Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, www.cedro.org) si necesita fotocopiar, escanear o hacer copias digitales de algún fragmento de esta obra».

Contenido

Prólogo 9

Localización y análisis de moléculas o estructuras celulares mediante distintos tipos de microscopía 11

Introducción 13
Técnicas inmunohistoquímicas 13
Estructura de un anticuerpo 15
Métodos inmunohistoquímicos para microscopía óptica 16
Métodos directos 17
Métodos indirectos 18
Tipos de marcaje utilizado 20
Inmunotinción múltiple 22
Inmunohistoquímica para microscopía electrónica 24
Marcaje con oro coloidal 25
Inmunotinción múltiple 25
Métodos inmunohistoquímicos de uso general en microscopía electrónica 26
Técnicas autorradiográficas 31
Histoquímica de lectinas 32
Cuantifiación de la expresión de las moléculas localizadas al microscopio 33
Realización de medidas morfométricas 35
Realización de medidas densitométricas 37
Cuantificación de la colocalización 38
Puntos más importantes del capítulo 39
Bibliografía 40

Integración y análisis de datos mediante biología de sistemas 43

Introducción 44
Biología de sistemas, un enfoque interdisciplinar 44
Microarrays 46
Análisis de datos de expresión bajo un enfoque de biología de sistemas 48

Bases de datos analizadas 48
Herramientas para el tratamiento de los datos 49
Preprocesamiento y normalización 50
Análisis exploratorio 52
Análisis estadístico para la detección de genes diferencialmente expresados 56
Análisis funcional y construcción de redes 58
Ejemplo de aplicación 60
Análisis de datos de microarrays 60
Construcción de redes 64
Limitaciones del uso de microarrays 65
Perspectivas futuras 67
Conclusiones 68
Referencias 68

Subunidades comunes de las RNA polimerasas eucariotas 73
Introducción 74
Rpb5 77
Rpb6 79
Rpb8 82
Rpb10 82
Rpb12 84
Bibliografía 85

Papel funcional de ARN no codificantes en el desarrollo y la patología cardiovascular 93
Introducción 94
Papel funcional de los microRNAs en la especificación y determinación cardiogénica 99
Expresión diferencial de microRNAs en la maduración ventricular 101
Papel señalizador de los microRNAs en la valvulogénesis cardiaca y en la diferenciación del epicardio 102
MicroRNAs en cardiopatías arritmogénicas 103
Conclusiones y perspectivas 105
Bibliografía 106

El óxido nítrico como modulador del estrés celular en sistemas animales..... 123

La molécula de óxido nítrico 124

Fuentes enzimáticas de NO en sistemas animales: óxido nítrico sintasa 124

Especies de nitrógeno reactivo 126

Generación enzimática y papel fisiológico del NO en sistemas animales 128

Óxido nítrico sintasa neuronal 128

Óxido nítrico sintasa inducible.....128

Óxido nítrico sintasa endotelial.....129

Señalización por NO 130

Modificaciones post-traduccionales en proteínas: nitración y S-nitrosilación 130

Modificaciones por NO en lípidos: ácidos grasos nitrados 130

RNS y estrés celular 133

Relación entre nitración y daño celular.....135

NO y enfermedades neurodegenerativas 135

NO y cáncer 136

NO y enfermedades cardiovasculares.....139

Conclusiones y perspectivas.....140

Summary points.....147

Lista de abreviaturas.....148

Bibliografía.....150

Biología y métodos de detección de la verticilosis del olivo 163

Introducción 164

Relevancia y sintomatología de la verticilosis del olivo.....166

Biología de *Verticillium dahliae* 168

El agente causal: taxonomía, características generales y huéspedes 168

Ciclo de vida de Verticillium dahliae 169

Morfológica y fisiológica de aislados de Verticillium dahliae *que infectan olivo* 170

Diversidad genética y patogénica en Verticillium dahliae.....171

Diversidad genética y molecular: correlación con especificidad de huésped, virulencia y distribución geográfica 173

Interaccicón planta-patógeno durante la infección 178
Tolerancia/susceptibilidad a la infección 182
Métodos diagnósticos 188
Basados en cultivos celulares 189
Basados en la PCR 189
Bibliografía 190

Relación de autores 207

Prólogo

Juan Peragón Sánchez, M.ª Ángeles Peinado Herreros
Editores

La investigación que se realiza actualmente en las áreas de Biología Molecular y Celular está orientada a la resolución de los principales problemas sanitarios de nuestra sociedad y a la obtención de nuevas herramientas tecnológicas con proyección en el ámbito farmacéutico-sanitario, agrícola, ganadero, industrial y ambiental.

El objetivo de esta obra es doble. En primer lugar, difundir la investigación que se realiza en estos campos en nuestra universidad y entidades colaboradoras y, en segundo, escribir un texto que pueda servir como obra de referencia para los alumnos del Máster Universitario en Biotecnología y Biomedicina por la Universidad de Jaén.

Concretamente, este volumen está dedicado a describir técnicas y fundamentos de biología molecular y celular en los que la contribución particular de los integrantes de los grupos de investigación implicados en dicho máster es muy destacada.

En el primer capítulo se describen las técnicas de microscopía más actuales y su uso como herramientas para localizar y analizar moléculas o estructuras celulares. El Dr. Juan Ángel Pedrosa Raya y sus colaboradores describen las técnicas inmunocitoquímicas a microscopía óptica, de fluorescencia, confocal y a microscopía electrónica y sus aplicaciones.

En el segundo capítulo se describen las herramientas de bioinformática que se utilizan para el análisis de datos procedentes de tecnologías de análisis masivo de proteínas o ácidos nucleicos. El Dr. Francisco Esteban Ruiz y sus colaboradores describen los principales programas informáticos utilizados, con ejemplos concretos que permiten entender la Biología de Sistemas como herramienta de integración y diagnóstico.

En el tercer capítulo, el Dr. Francisco Navarro Gómez y sus colaboradores explican la estructura y función de las subunidades comunes, presentes en las ARN polimerasas de células eucariotas. Estas enzimas son las responsables de la transcripción de la información genética, y en la regulación de su actividad descansa, en gran medida, la regulación de la expresión génica.

En el cuarto capítulo, el Dr. Diego Franco Jaime y sus colaboradores se centran en la descripción de los microARNs y su función durante la cardiogénesis. Son ARNs pequeños no codificantes que regulan la expresión génica de múltiples procesos biológicos en diferentes órganos y tejidos. En este trabajo se describen los microARNs implicados en las diferentes etapas del desarrollo cardiaco y en patologías asociadas.

A continuación, en el quinto capítulo, el Dr. Juan Bautista Barroso Albarracín y colaboradores describen la función del óxido nítrico como modulador del estrés celular y su contribución a la generación y regulación de procesos de carácter patológico en sistemas animales. El óxido nítrico, además de estar implicado en sistemas de señalización celular, puede originar modificaciones funcionales de proteínas y de otras moléculas implicadas en múltiples procesos celulares.

Por último, en el sexto capítulo, el Dr. Francisco Luque Vázquez y colaboradores describen la biología y métodos de detección temprana de la verticilosis del olivo, una de las principales enfermedades que actualmente afecta a este cultivo. Se describe el agente que la produce, la interacción entre el hongo y la planta, aquellos factores asociados a la tolerancia o susceptibilidad varietal a esta enfermedad, así como los métodos de diagnóstico más novedosos.

Como editores de esta obra esperamos que sea útil a los objetivos propuestos, subrayando muy especialmente la contribución de los grupos de investigación de la universidad de jaén al conocimiento y difusión de la ciencia, en un campo de tanto interés y actualidad como es el de la biología molecular y celular.