

Biología Molecular y Celular. Volumen I

Técnicas y fundamentos



Biología Molecular y Celular.  
Volumen I

Técnicas y fundamentos

Juan Peragón Sánchez y M.<sup>a</sup> Ángeles Peinado Herreros (eds.)



Biología Molecular y Celular. Volumen 1, Técnicas y fundamentos / Juan Peragón Sánchez y M<sup>a</sup> 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

I. 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.<sup>a</sup> 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](http://editorial.ujaen.es)



[editorial@ujaen.es](mailto:editorial@ujaen.es)

DISEÑO Y MAQUETACIÓN  
Yerro Servicios Editoriales

IMPRESO

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](http://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
<i>Estructura de un anticuerpo</i> .....	15
Métodos inmunohistoquímicos para microscopía óptica .....	16
<i>Métodos directos</i> .....	17
<i>Métodos indirectos</i> .....	18
<i>Tipos de marcaje utilizado</i> .....	20
<i>Inmunotinción múltiple</i> .....	22
Inmunohistoquímica para microscopía electrónica .....	24
<i>Marcaje con oro coloidal</i> .....	25
<i>Inmunotinción múltiple</i> .....	25
<i>Métodos inmunohistoquímicos de uso general en microscopía electrónica</i> .....	26
<i>Técnicas autorradiográficas</i> .....	31
Histoquímica de lectinas .....	32
Cuantificación de la expresión de las moléculas localizadas al microscopio .....	33
<i>Realización de medidas morfométricas</i> .....	35
<i>Realización de medidas densitométricas</i> .....	37
<i>Cuantificación de la colocalización</i> .....	38
<i>Puntos más importantes del capítulo</i> .....	39
Bibliografía .....	40
Integración y análisis de datos mediante biología de sistemas .....	43
Introducción .....	44
<i>Biología de sistemas, un enfoque interdisciplinar</i> .....	44
Microarrays .....	46
Análisis de datos de expresión bajo un enfoque de biología de sistemas .....	48

<i>Bases de datos analizadas</i> .....	48
<i>Herramientas para el tratamiento de los datos</i> .....	49
<i>Preprocesamiento y normalización</i> .....	50
<i>Análisis exploratorio</i> .....	52
<i>Análisis estadístico para la detección de genes diferencialmente expresados</i> .....	56
<i>Análisis funcional y construcción de redes</i> .....	58
Ejemplo de aplicación .....	60
<i>Análisis de datos de microarrays</i> .....	60
<i>Construcción de redes</i> .....	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
<i>Óxido nítrico sintasa neuronal</i> .....	128
<i>Óxido nítrico sintasa inducible</i> .....	128
<i>Óxido nítrico sintasa endotelial</i> .....	129
Señalización por NO .....	130
<i>Modificaciones post-traduccionales en proteínas: nitración y S-nitrosilación</i> .....	130
<i>Modificaciones por NO en lípidos: ácidos grasos nitrados</i> .....	130
RNS y estrés celular .....	133
<i>Relación entre nitración y daño celular</i> .....	135
<i>NO y enfermedades neurodegenerativas</i> .....	135
<i>NO y cáncer</i> .....	136
<i>NO y enfermedades cardiovasculares</i> .....	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 <i>Verticillium dahliae</i> .....	168
<i>El agente causal: taxonomía, características generales y huéspedes</i> .....	168
<i>Ciclo de vida de Verticillium dahliae</i> .....	169
<i>Morfológica y fisiológica de aislados de Verticillium dahliae que infectan olivo</i> .....	170
<i>Diversidad genética y patogénica en Verticillium dahliae</i> .....	171
<i>Diversidad genética y molecular: correlación con especificidad de huésped, virulencia y distribución geográfica</i> .....	173

Interacción planta-patógeno durante la infección .....	178
Tolerancia/susceptibilidad a la infección .....	182
Métodos diagnósticos .....	188
<i>Basados en cultivos celulares</i> .....	189
<i>Basados en la PCR</i> .....	189
Bibliografía.....	190
Relación de autores.....	207

# Prólogo

*Juan Peragón Sánchez, M.<sup>a</sup> 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 Albaracín 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.