Bioinformática y Biología molecular

Bioinformática

9-2-18

Elvira Mayordomo

En los periódicos

- La biotecnología, genética y bioinformática en primera plana
- Todo empezó con el descubrimiento de la estructura del DNA por Watson y Crick en 1953
- En los 90 se inició el proyecto del genoma humano y se clonó a la oveja Dolly
- En el 2000 se anunció la secuenciación completa del genoma humano
- En el 2008 comenzó el proyecto de los 1000 genomas
- Ya hemos llegado al “$1000 genome”?

Secuenciando DNA

- El objetivo es determinar una secuencia de “nucleótidos” que son las piezas que forman el DNA humano, es decir, la molécula que guarda nuestra información genética
- Desde el punto de vista informático buscamos un string hecho con las letras que representan los nucleótidos
- Conocemos métodos para leer estas secuencias desde los 80, pero con longitudes muy restringidas (hoy unos 1000 nucleótidos)
- Nos interesan moléculas de DNA con cientos de miles

Secuenciando DNA … ¿Cómo?

- Se generan muchas copias de la molécula de DNA que nos interesa
- Rompemos aleatoriamente esas copias en trozos, idealmente pequeños
- Con alta probabilidad esos trozos se solapan entre sí
- Leemos (“secuenciamos”) los trozos
- Nos quedan muchos (miles de) trozos que son subsecuencias de la que buscamos, con solapamientos
- No tenemos idea de cómo combinarlos, el orden se ha perdido
- Aquí entra la informática …

→ métodos “next generation”

Detalles con mucha importancia

- Queremos derivar modelos formales de problemas biológicos para encontrarles soluciones algorítmicas
- Pero es imposible olvidarnos del problema biológico original porque la formalización siempre es “burda”
- Todos los datos biológicos son inherentemente inexactos

Métodos computacionales en bioinformática

- Gestión de bases de datos
- Estadística
- Algorítmica

- En este curso sobre todo algorítmica. La primera parte y algo del resto de

  Algorithmic Aspects of Bioinformatics.
  Bockenhauer, Bongartz. Springer 2008

Biología molecular …¿Para qué?

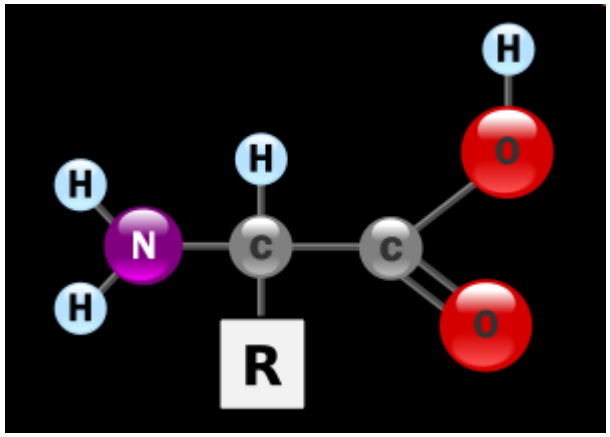
- Necesitamos conocimientos básicos de Biología molecular para poder desarrollar y evaluar modelos abstractos y técnicas para manejarlos
- Trataremos las proteínas y los ácidos nucleicos

Proteínas

- La clase de moléculas más importantes de los seres vivos
- Funciones: como encimas (catálisis de procesos metabólicos), en transmisión de señal, mecanismos de defensa, transporte de moléculas, material de construcción

Los aminoácidos forman las proteínas

- Una proteína es una cadena de aminoácidos
- Un aminoácido:



20 aminoácidos

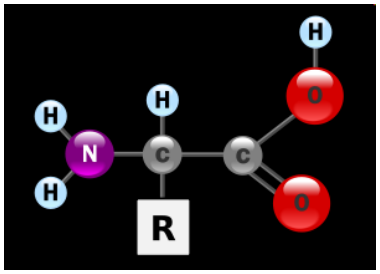
- Según R aparecen 20 aminoácidos distintos que forman parte de las proteínas

Ala A (H)	Val V (H)	Leu L (H)	Ile I (H)	Phe F (H)
Pro P (H)	Met M (H)	Ser S (P)	Thr T (P)	Cys C (P)
Trp W (H)	Tyr Y (P)	Asn N (P)	Gln Q (P)	Asp D (P)
Glu E (P)	Lys K (P)	Arg R (P)	His H (P)	Gly G (P)

Proteínas = cadenas de aminoácidos

- Los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos
- Podemos representar una proteína como una cadena leída de (H^2N a COOH)

  VHLTPEEK …
- Esto es mucho simplificar, ignorando la estructura espacial …

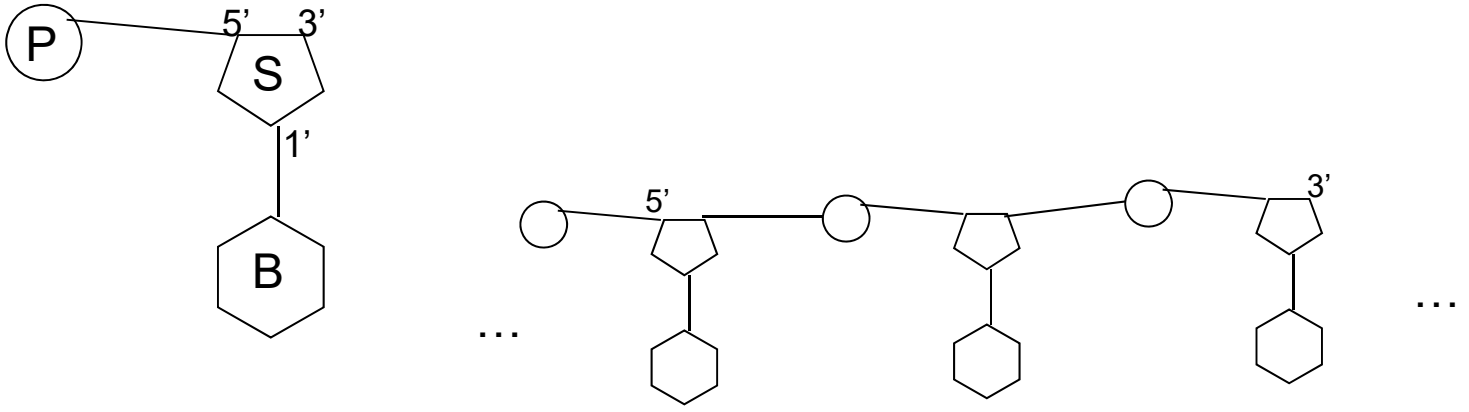


Ácidos nucleicos

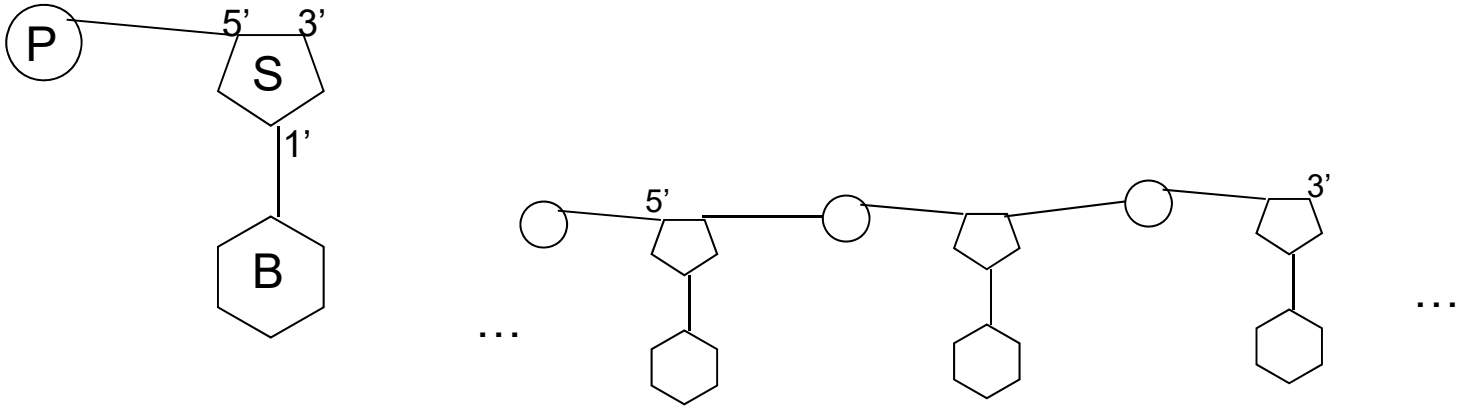
- Las moléculas más importantes después de las proteínas
- En todos los seres vivos, son las responsables de codificar y almacenar la información genética
- Permiten la transmisión de información genética de una generación a otra
- Tienen una estrecha conexión con las proteínas: los ácidos nucleicos sirven como mapas para la construcción de las proteínas

Ácido nucleico= cadena de nucleótidos

- Cada ácido nucleico está formado por nucleótidos encadenados



Ácido nucleico= cadena de nucleótidos



Cadenas …

- La B (base) caracteriza al nucleótido
- Podemos escribir un ácido nucleico como una secuencia de nucleótidos
- Gran simplificación

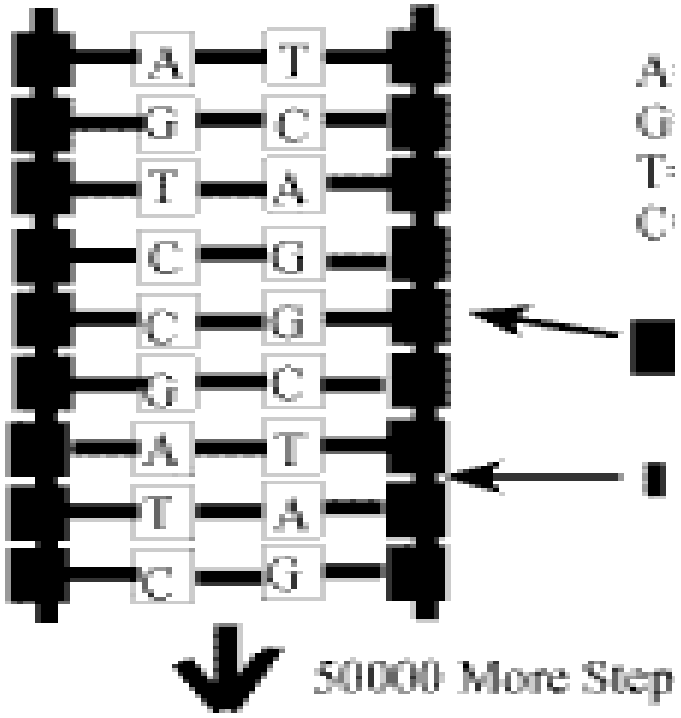
DNA y RNA

- Los dos tipos de ácidos nucleicos son DNA y RNA
- Se diferencian por los azúcares (S)
- DNA usa cuatro bases A, C, G, T
- RNA usa cuatro bases A, C, G, U

DNA

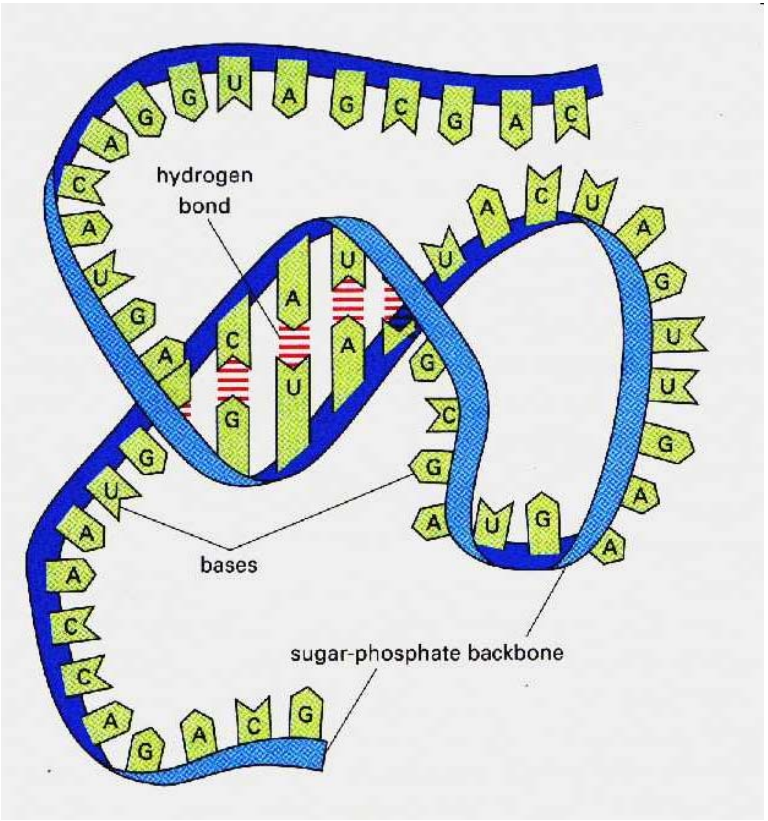
- Está formado por dos cadenas de nucleótidos
  - Complementarias (A-T y C-G)
  - Se leen en direcciones opuestas
  - En forma de hélice

DNA



RNA

- Normalmente una sola cadena
- Trozos de la misma molécula se unen con otros complementarios lo que da formas diversas



Triple estructura

- Primaria: cadena de nucleótidos
- Secundaria: describe los trozos complementarios que están unidos
- Terciaria: cómo está doblada en el espacio

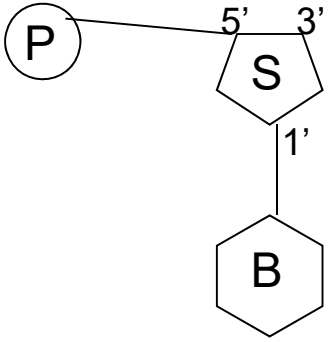
Cómo escribimos DNA

- Usamos la dirección de lectura de la cadena de “arriba” (de 5’ a 3’)

Ejemplo: s=AGACGT es:

s: 5’ …AGACGT … 3’

$\bar{s}$: 3’ …TCTGCA … 5’



Longitudes

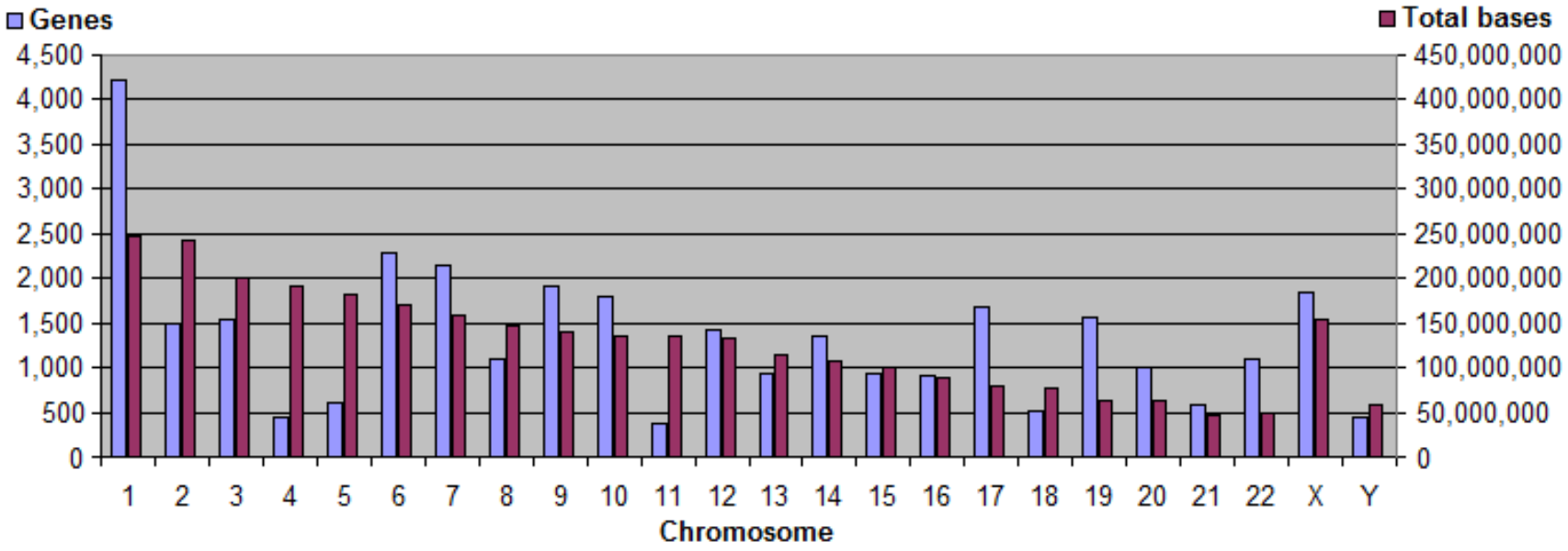
- Se mide la longitud en pares de bases (bp)
- Se usan las unidades kbp (1000 bp) y mbp (1000 kbp)

- AGACGT tiene 6 bp
- También se usan para RNA

Información hereditaria

- Una región de DNA que codifica una proteína se llama **gen**
- Una molécula de DNA que tiene varios genes se llama **cromosoma**
- Los cromosomas suelen aparecer en pares: **cromosomas homólogos** (uno materno y uno paterno)
- Las células humanas tienen 46 cromosomas
- Toda la información hereditaria de una célula se llama **genoma**

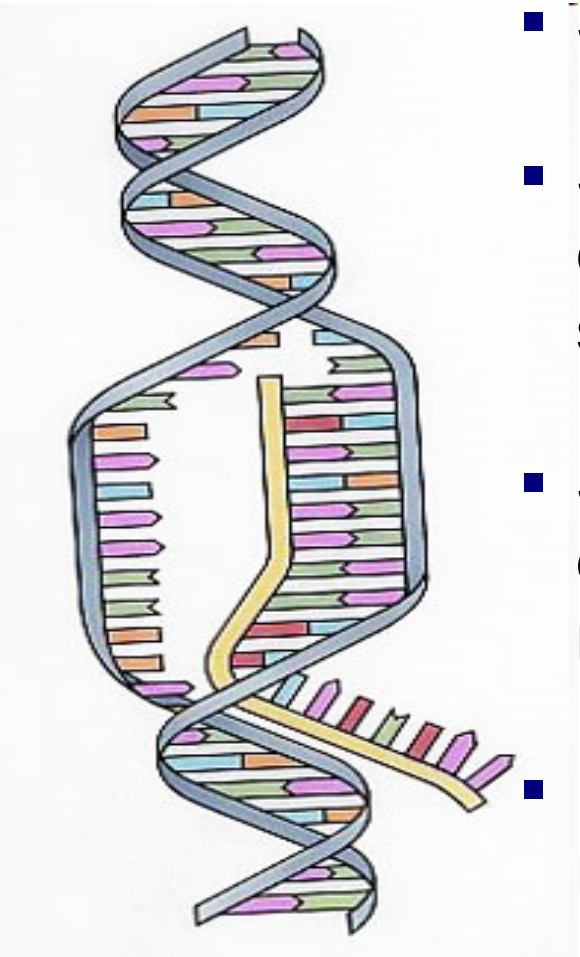
23 pares de cromosomas humanos



Síntesis de proteínas

- El DNA está en el núcleo y las proteínas se sintetizan fuera (en los ribosomas)
- Hay dos pasos: copia y traducción

Transcripción o copia

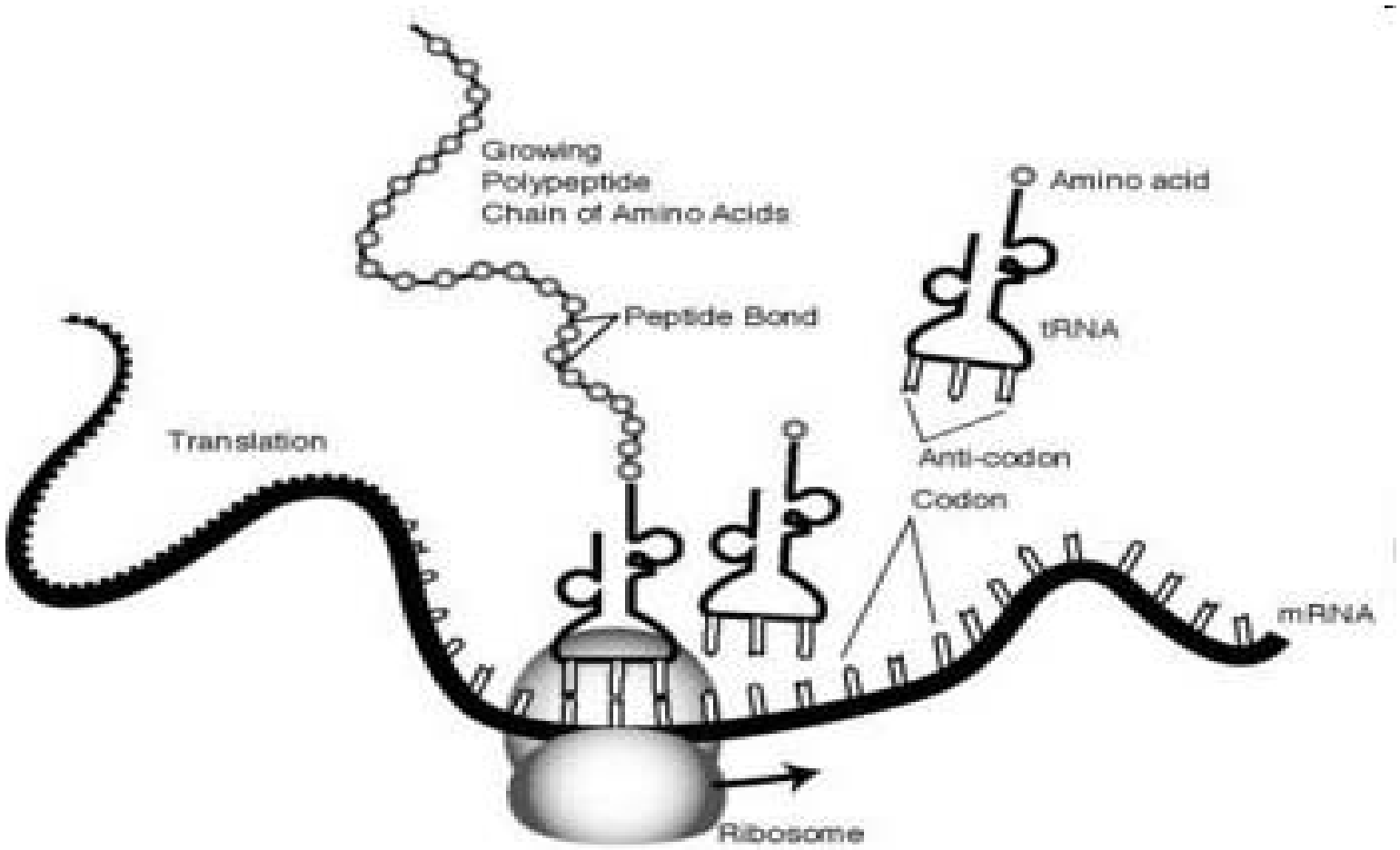


- Se separan las dos copias de DNA
- Se sintetiza una copia complementaria de RNA (amarillo) sustituyendo T por U
- Sólo se copian algunas zonas (los exones) y no los intrones (¿no relevantes?)
- El resultado es el mRNA (RNA mensajero)

Traducción

- La información del mRNA se convierte en una secuencia de aminoácidos
- Un codón son 3 bases. Cada codón codifica un aminoácido
- También hay codones que codifican STOP

Traducción


Growing
Polypeptide
Chain of Amino Acids
Amino acid
Peptide Bond
tRNA
Translation
Anti-codon
Codon
mRNA
Ribosome

Codón-aminoácido

First Position	Second Position: U code	U Amio Acid	C code	C Amio Acid	A code	A Amio Acid	G code	G Amio Acid	Third Position
U	UUU	phe	UCU	ser	UAU	tyr	UGU	cys	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	leu	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP	A
	UUG		UCG		UAG	STOP	UGG	trp	G
C	CUU	leu	CCU	pro	CAU	his	CGU	arg	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	gln	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	ile	ACU	thr	AAU	asn	AGU	ser	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	lys	AGA	arg	A
	AUG	met	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	val	GCU	ala	GAU	asp	GGU	gly	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

Aminoácido-codón

Inverse table

Ala/A	GCU, GCC, GCA, GCG	**Leu/L**	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
Arg/R	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	**Lys/K**	AAA, AAG
Asn/N	AAU, AAC	**Met/M**	AUG
Asp/D	GAU, GAC	**Phe/F**	UUU, UUC
Cys/C	UGU, UGC	**Pro/P**	CCU, CCC, CCA, CCG
Gln/Q	CAA, CAG	**Ser/S**	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Glu/E	GAA, GAG	**Thr/T**	ACU, ACC, ACA, ACG
Gly/G	GGU, GGC, GGA, GGG	**Trp/W**	UGG
His/H	CAU, CAC	**Tyr/Y**	UAU, UAC
Ile/I	AUU, AUC, AUA	**Val/V**	GUU, GUC, GUA, GUG
START	AUG	**STOP**	UAG, UGA, UAA

Algunos datos …

- En los humanos el DNA cromosómico es de 3.000 millones de bp (pares de bases)
- Contiene relativamente poca información (10-20%)
- Se dice que se ha secuenciado el DNA de un individuo cuando se conocen las zonas que se consideran relevantes (genes y otras)
- También hay DNA mitocondrial …

Técnicas experimentales

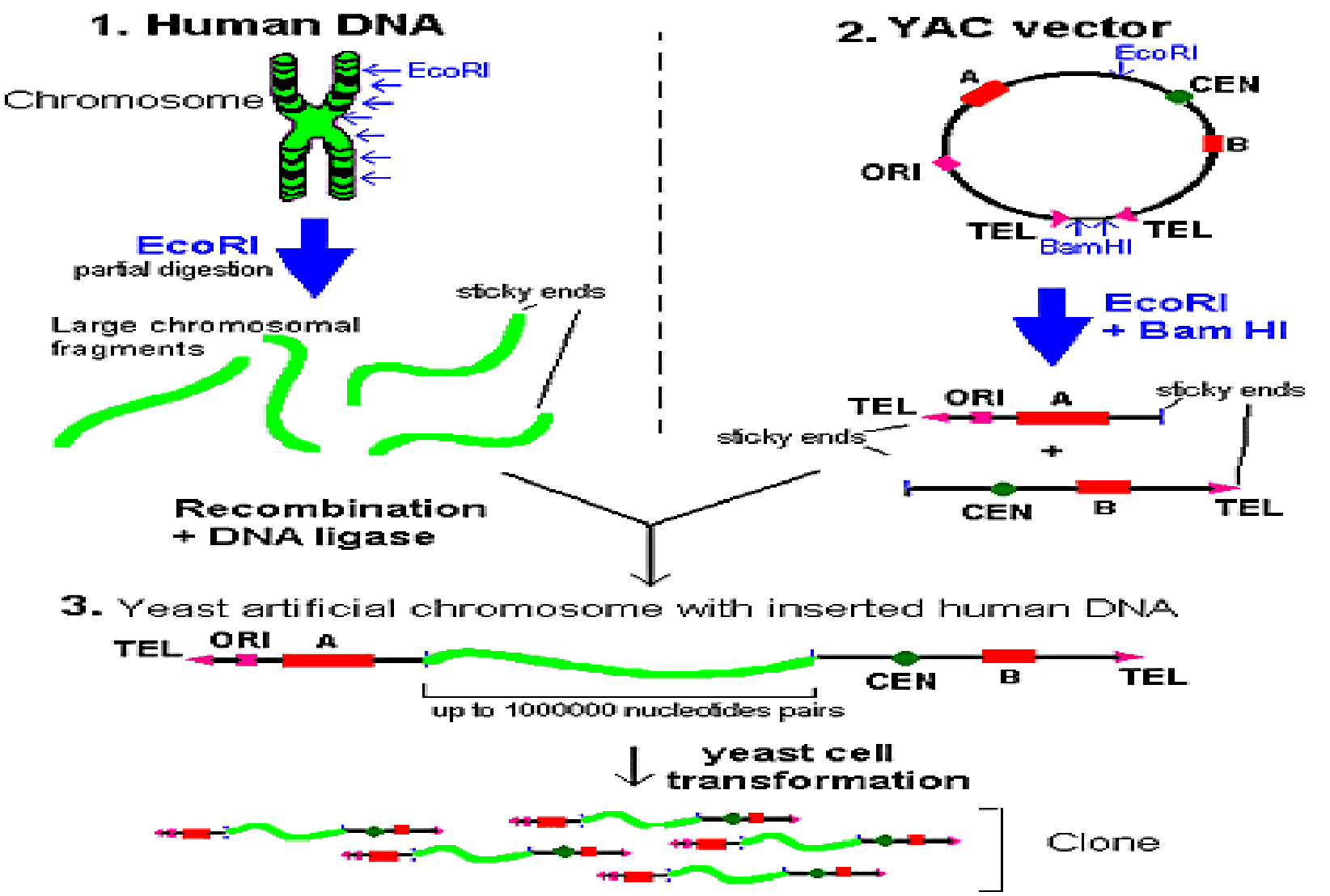
- Leer la sección 2.4

Técnicas experimentales

- "Denaturation": separar las dos hebras del DNA por calor
- Hibridización: asociar bases complementarias o hebras complementarias
- Se puede cortar una doble hebra por un sitio concreto (encimas de restricción)
- Se pueden reunificar después los trozos (ligasa)

Duplicación de DNA: cloning

- Para los experimentos una sola molécula de DNA no es suficiente, es necesario un gran número de copias idénticas
- Cloning: se inserta el fragmento a copiar en un organismo “host” (anfitrión) , se replica con la reproducción natural y luego se vuelve a extraer
- Los “host” son muy variados, pueden copiar desde 15-50 kbp (bacteria) a varios millones (inserción de cromosomas artificiales)



Cloning into a Yeast Artificial Chromosome (YAC)

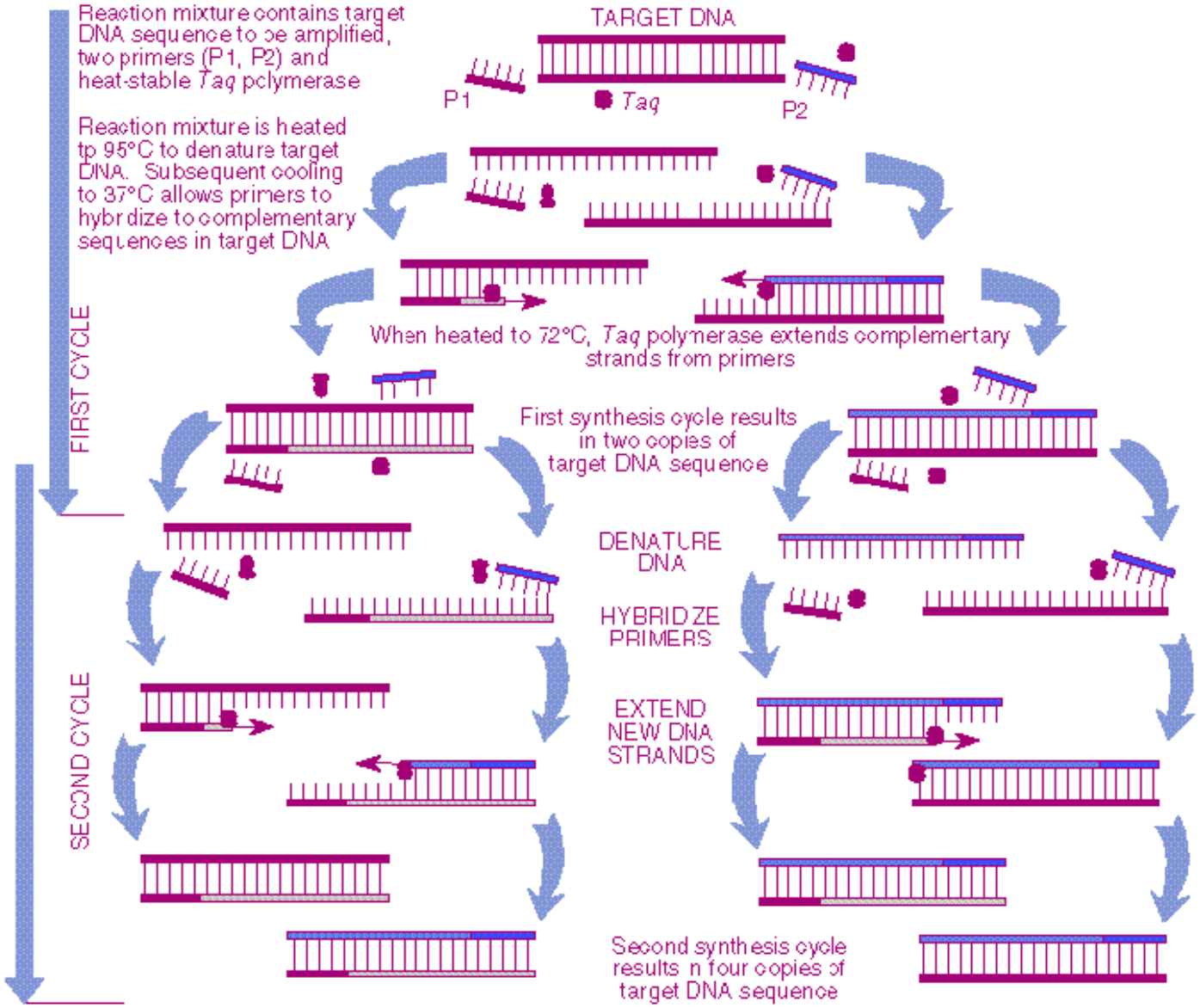
Problemas del cloning

- Contaminación con el DNA del host
- Pérdida de fragmentos completos, cuando la inserción tiene efectos letales en el host
- Dos fragmentos no consecutivos pueden unirse en la clonación (clon quimérico)

Duplicación de DNA: PCR

- Polymerase chain reaction
- Necesitamos conocer un fragmento inicial y otro final
- En cada paso duplica el número de copias
- Los errores al principio son muy peligrosos …

DNA Amplification Using Polymerase Chain Reaction



Source: *DNA Science*, see Fig. 13.

Gel electrophoresis

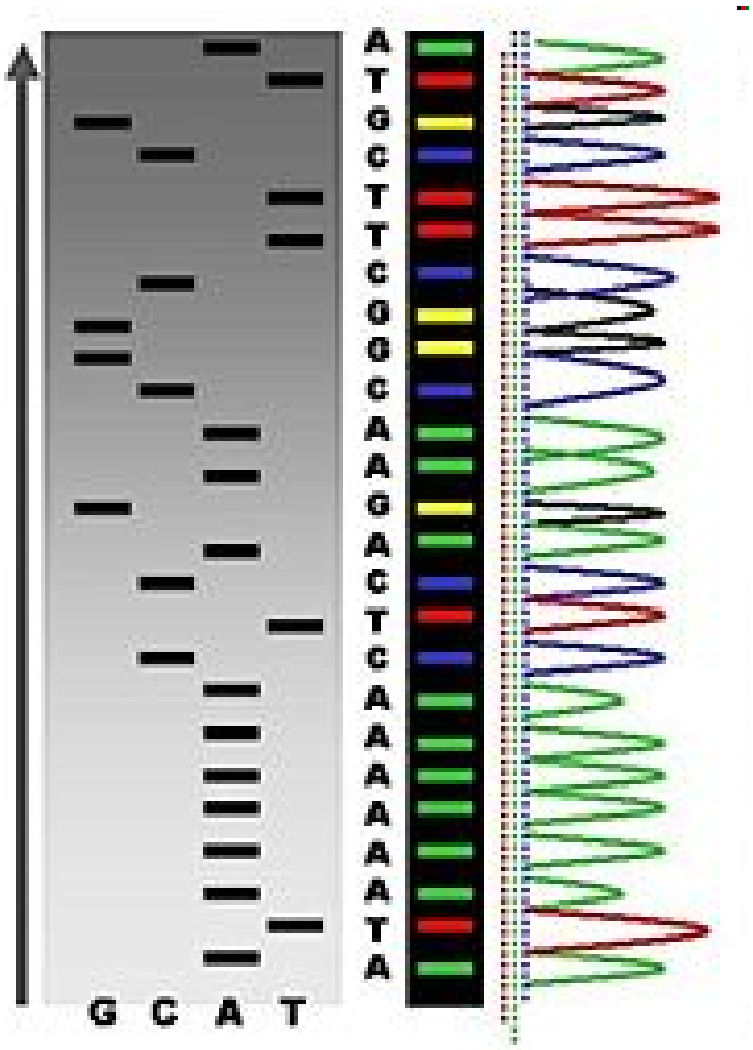
- Se trata de separar los fragmentos por tamaño
- Se meten en gel y se aplica un campo eléctrico, la velocidad es inversamente proporcional al tamaño
- Se separan así por longitudes
- Usando trozos de referencia se puede usar para medir la longitud

Secuenciar DNA: chain termination method

- El “chain termination method” se basa en el anterior (gel electrophoresis)
- Tenemos un fragmento de DNA desconocido s, hacemos muchas copias
- Paso 1: conseguir que haya 4 tubos de ensayo A, C, G, T cada uno conteniendo los prefijos de s que terminan en A (C,G,T)

chain termination method (2)

- Paso 2: Colocamos los cuatro tubos de ensayo en paralelo y ordenamos por longitud como antes …



Chain termination method (3)

- Sólo sirve para fragmentos de hasta 1000 bp (más da demasiados errores)
- Puede dar errores de lectura del resultado (llamados errores de secuenciación):
  - Inserción
  - Borrado
  - Sustitución

Experimentos de hibridización

- Para averiguar si un fragmento desconocido s contiene una secuencia t
- Sintetizamos t’ la complementaria de t
- Testeamos si s y t’ se unen (hibridizan)

DNA chips

- Para hacer varios experimentos de hibridización en paralelo
- Si queremos saber si s contiene t_1, …, t_n:
  - Colocamos t'_1, …, t'_n en sitios fijos (DNA chip)
  - Hacemos copias etiquetadas de s
  - Dejamos que se unan al chip
  - Lavamos las copias de s sueltas y averiguamos las posiciones de hibridización con las etiquetas

DNA chips: errores

- Falsos positivos
- Falsos negativos

- Se pueden usar los DNA chips para RNA

  …

Premios nóbel

- Watson, Crick y Wilkins por el descubrimiento de la estructura del DNA, Medicina 1962
- Mullis por el método PCR, Química 1993

El próximo tema …

- Comparando DNA: Alineamiento