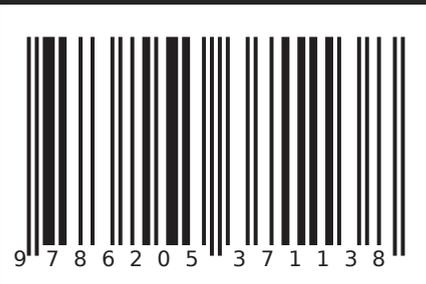


# Fundamentos de Biología Médica y Biología Molecular Médica

Biología, estudio de los seres vivos y sus procesos vitales. El campo se ocupa de todos los aspectos fisicoquímicos de la vida. La tendencia moderna hacia la investigación interdisciplinaria y la unificación del conocimiento científico y la investigación de diferentes campos ha dado como resultado una superposición significativa del campo de la biología con otras disciplinas científicas. El concepto de homeostasis de que los seres vivos mantienen un ambiente interno constante fue sugerido por primera vez en el siglo XIX por el fisiólogo francés Claude Bernard, quien afirmó que "todos los mecanismos vitales, por variados que sean, tienen un solo objeto: el de mantener constantes las condiciones de vida". La RT-PCR se puede utilizar para diagnosticar enfermedades genéticas como el síndrome de Lesch-Nyhan. Esta enfermedad genética es causada por un mal funcionamiento en el gen HPRT1 que clínicamente conduce a cálculos urinarios de ácido úrico fatales y síntomas similares a la gota. El análisis de los niveles de expresión de ARNm de HPRT1 en una madre embarazada y un feto revelará si la madre es portadora y si es probable que el feto desarrolle el síndrome de Lesch-Nyhan.



Ella es un Ph.D. en Biotecnología, con mención en microbiología, Ingeniería Genética, Genética Molecular e Ingeniería de Proteínas, investigadora, creadora, inventora y autora, docente en el Colegio Universitario de Al-Turath University college, Licenciada en Microbiología y Maestría en Biología Molecular en Microbiología de Al-Mustan.



EDICIONES  
NUESTRO CONOCIMIENTO 

Nebras Rada Mohammed

EDICIONES  
NUESTRO CONOCIMIENTO 



# Fundamentos de Biología Médica y Biología Molecular Médica

*Biología Celular y Biología Molecular Especializada*

**Nebras Rada Mohammed**

**Nebras Rada Mohammed**

**Fundamentos de Biología Médica y Biología Molecular Médica**

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

**Nebras Rada Mohammed**

# **Fundamentos de Biología Médica y Biología Molecular Médica**

**Biología Celular y Biología Molecular  
Especializada**

FOR AUTHOR USE ONLY

**ScienciaScripts**

## **Imprint**

Any brand names and product names mentioned in this book are subject to trademark, brand or patent protection and are trademarks or registered trademarks of their respective holders. The use of brand names, product names, common names, trade names, product descriptions etc. even without a particular marking in this work is in no way to be construed to mean that such names may be regarded as unrestricted in respect of trademark and brand protection legislation and could thus be used by anyone.

Cover image: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

This book is a translation from the original published under ISBN 978-620-5-50208-2.

Publisher:

Scientia Scripta

is a trademark of

Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L Publishing group  
Str. Armeneasca 28/1, office 1, Chisinau MD-2012, Republic of Moldova,  
Europe

Printed at: see last page

**ISBN: 978-620-5-37113-8**

Copyright © Nebras Rada Mohammed

Copyright © 2022 Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L  
Publishing group

FOR AUTHOR USE ONLY

**Fundamentos de Biología Médica y  
Biología Molecular Médica**

**Título secundario**

**Biología Celular y Biología Molecular  
Especializada**

**Por**

**Nebras Rada Mohammed**

**Colegio Universitario Al-Turath**

**Departamento de Ingeniería Biomédica**

**Iraq**

# Contenido

1-Biología .....	6
1-1 Tipos de células .....	65
A-Célula eucariota .....	83
B-Célula procariota .....	90
1-2 Componentes de las células procariotas .....	94
Pared de la celda A .....	98
Núcleo B .....	102
Membrana de la célula C .....	113
D- Organelos .....	139
E - Ácidos nucleicos .....	154
1-3 Referencias .....	254

## Sobre el autor



### **Nebras Rada Mohammed**

Es doctora en Biotecnología, con una microespecialización, Ingeniería Genética, Genética Molecular e Ingeniería de Proteínas, investigadora, creadora, inventora y autora, profesora en el Colegio Universitario de Al-Turath, licenciada en Microbiología y máster en Biología Molecular en Microbiología por la Universidad de Al-Mustansiriya, árbitro, residente y consultora internacional en laboratorios médicos, experta en laboratorios médicos y titular de un proyecto científico, árbitro, editor distinguido, defensor de plata de las plataformas científicas, presidente de un comité en una sociedad científica, recibiendo elogios de la propiedad intelectual internacional, el Premio a la Mejor Mujer Árabe 2020, también el Premio a la Mejor Personalidad de la Comunidad, el Premio a la Mejor Investigación 2019, también el Premio a la Mejor Investigación 2020 y un Premio Americano para la invención de 2020 por la GUIDY la Comisión Mundial de Inversiones en América.

## Prefacio

Biología, estudio de los seres vivos y sus procesos vitales. Este campo se ocupa de todos los aspectos físico-químicos de la vida. La tendencia moderna hacia la investigación interdisciplinar y la unificación de los conocimientos científicos y la investigación de diferentes campos ha dado lugar a un importante solapamiento del campo de la biología con otras disciplinas científicas.

El concepto de homeostasis, según el cual los seres vivos mantienen un entorno interno constante, fue sugerido por primera vez en el siglo XIX por el fisiólogo francés Claude Bernard, quien afirmó que "todos los mecanismos vitales, por muy variados que sean, tienen un solo objeto: el de preservar constantes las condiciones de vida".

La RT-PCR puede utilizarse para diagnosticar enfermedades genéticas como el síndrome de Lesch-Nyhan. Esta enfermedad genética está causada por un mal funcionamiento del gen HPRT1, que clínicamente da lugar a la aparición de cálculos urinarios de ácido úrico, que son mortales, y a síntomas similares a los de la gota. El análisis de los niveles de expresión de ARNm de HPRT1 en una madre embarazada y en un feto revelará si la madre es portadora y si el feto tiene probabilidades de desarrollar el síndrome de Lesch-Nyhan. Detección del cáncer Los científicos están trabajando en la utilización de la RT-PCR en la detección del

cáncer para ayudar a mejorar el pronóstico y controlar la respuesta a la terapia. Las células tumorales circulantes producen transcripciones de ARNm únicas en función del tipo de cáncer. El objetivo es determinar qué transcritos de ARNm son los mejores biomarcadores para un tipo de célula cancerosa concreto y analizar después sus niveles de expresión con la RT-PCR.

FOR AUTHOR USE ONLY

# **Bienvenido a la biología**

## **1-Biología**

Biología, estudio de los seres vivos y sus procesos vitales. Este campo se ocupa de todos los aspectos físico-químicos de la vida. La tendencia moderna hacia la investigación interdisciplinar y la unificación de los conocimientos científicos y la investigación de diferentes campos ha dado lugar a un importante solapamiento del campo de la biología con otras disciplinas científicas. Los principios modernos de otros campos -la química, la medicina y la física, por ejemplo- se integran con los de la biología en áreas como la bioquímica, la biomedicina y la biofísica.

La biología se subdivide en ramas separadas para facilitar su estudio, aunque todas las subdivisiones están interrelacionadas por principios básicos. Así, aunque se acostumbra a separar el estudio de las plantas (botánica) del de los animales (zoología), y el de la estructura de los organismos (morfología) del de la función (fisiología), todos los seres vivos tienen en común ciertos fenómenos biológicos, por ejemplo, los diversos medios de reproducción, la división celular y la transmisión del material genético.

La biología es el estudio científico de la vida. Es una ciencia natural de amplio alcance, pero tiene varios temas unificadores que la unen

como un campo único y coherente. Por ejemplo, todos los organismos están formados por células que procesan la información hereditaria codificada en los genes, que puede transmitirse a las generaciones futuras. Otro tema importante es la evolución, que explica la unidad y la diversidad de la vida. Por último, todos los organismos necesitan energía para moverse, crecer y reproducirse, así como para regular su propio entorno interno.

Los biólogos pueden estudiar la vida en múltiples niveles de organización. Desde la biología molecular de una célula hasta la anatomía y fisiología de plantas y animales, pasando por la evolución de las poblaciones. De ahí que existan múltiples subdisciplinas dentro de la biología, cada una de ellas definida por la naturaleza de sus preguntas de investigación y las herramientas que utilizan. Al igual que otros científicos, los biólogos utilizan el método científico para hacer observaciones, plantear preguntas, generar hipótesis, realizar experimentos y formar conclusiones sobre el mundo que les rodea.

La vida en la Tierra, que surgió hace más de 3.700 millones de años, es inmensamente diversa. Los biólogos han tratado de estudiar y clasificar las distintas formas de vida, desde los organismos procariotas, como las arqueas y las bacterias, hasta los eucariotas, como los protistas, los hongos, las plantas y los animales. Estos diversos organismos contribuyen a la

biodiversidad de un ecosistema, donde desempeñan funciones especializadas en el ciclo de los nutrientes y la energía.

La biología suele plantearse a partir de niveles que tratan de las unidades fundamentales de la vida. En el nivel de la biología molecular, por ejemplo, la vida se considera una manifestación de las transformaciones químicas y energéticas que se producen entre los numerosos componentes químicos que componen un organismo. Gracias al desarrollo de instrumentos y técnicas de laboratorio cada vez más potentes y precisos, es posible comprender y definir con gran precisión y exactitud no sólo la organización fisicoquímica final (ultraestructura) de las moléculas de la materia viva, sino también la forma en que ésta se reproduce a nivel molecular. El auge de la genómica a finales del siglo XX y principios del XXI ha sido especialmente crucial para estos avances.

La biología celular es el estudio de las células, las unidades fundamentales de estructura y función de los organismos vivos. Las células se observaron por primera vez en el siglo XVII, cuando se inventó el microscopio compuesto. Antes de esa fecha, el organismo individual se estudiaba como un todo en un campo conocido como biología organísmica; esa área de investigación sigue siendo un componente importante de las ciencias biológicas. La biología de poblaciones se ocupa de los grupos o poblaciones de organismos que habitan en una zona o región determinada. En

este nivel se incluyen los estudios sobre el papel que desempeñan determinados tipos de plantas y animales en las complejas y autoperpetuantes interrelaciones que existen entre el mundo viviente y el no viviente, así como los estudios sobre los controles que mantienen esas relaciones de forma natural. Estos niveles generales -moléculas, células, organismos completos y poblaciones- pueden subdividirse para su estudio, dando lugar a especializaciones como la morfología, la taxonomía, la biofísica, la bioquímica, la genética, la epigenética y la ecología. Un campo de la biología puede ocuparse especialmente de la investigación de un tipo de ser vivo, por ejemplo, el estudio de las aves en la ornitología, el estudio de los peces en la ictiología o el estudio de los microorganismos en la microbiología.

### **Etimología**

La biología deriva de las palabras griegas antiguas βίος romanizada bíos que significa 'vida' y -λογία; romanizada -logía que significa 'rama de estudio' o 'hablar'. La combinación de estos términos da lugar a la palabra griega βιολογία romanizada biología, que significa "biología". A pesar de ello, el término βιολογία en su conjunto no existía en el griego antiguo. Los primeros en tomarlo prestado fueron el inglés y el francés (biologie). Históricamente existía otro término para designar la biología en inglés, lifelore; hoy en día apenas se utiliza.

La forma latina del término apareció por primera vez en 1736 cuando el científico sueco Carl Linnaeus (Carl von Linné) utilizó *biologi* en su *Bibliotheca Botanica*. Volvió a utilizarse en 1766 en una obra titulada *Philosophiae naturalis sive physicae: tomus III, continens geologian, biologian, phytologian generalis*, de Michael Christoph Hanov, discípulo de Christian Wolff. El primer uso en alemán, *Biologie*, fue en una traducción de 1771 de la obra de Linneo. En 1797, Theodor Georg August Roose utilizó el término en el prefacio de un libro, *Grundzüge der Lehre van der Lebenskraft*. Karl Friedrich Burdach utilizó el término en 1800 en un sentido más restringido al estudio del ser humano desde una perspectiva morfológica, fisiológica y psicológica (*Propädeutik zum Studien der gesammten Heilkunst*). El término adquirió su uso moderno con el tratado en seis volúmenes *Biologie, oder Philosophie der lebenden Natur* (1802-22) de Gottfried Reinhold Treviranus, que anunció.

## **Historia**

Las primeras raíces de la ciencia, que incluían la medicina, se remontan al antiguo Egipto y Mesopotamia, entre los años 3000 y 1200 antes de Cristo. Sus aportaciones se introdujeron posteriormente en la filosofía natural griega de la antigüedad clásica y le dieron forma. Filósofos de la antigua Grecia como Aristóteles (384-322 a.C.) contribuyeron ampliamente al desarrollo del conocimiento biológico. Sus obras, como la *Historia de los*

animales, fueron especialmente importantes porque revelaron sus inclinaciones naturalistas, y posteriormente trabajos más empíricos que se centraron en la causalidad biológica y la diversidad de la vida. El sucesor de Aristóteles en el Liceo, Teofrasto, escribió una serie de libros sobre botánica que sobrevivieron como la contribución más importante de la antigüedad a las ciencias vegetales, incluso hasta la Edad Media. Entre los eruditos del mundo islámico medieval que escribieron sobre biología se encuentran al-Jahiz (781-869), Al-Dīnawarī (828-896), que escribió sobre botánica, y Rhazes (865-925), que escribió sobre anatomía y fisiología. La medicina fue especialmente estudiada por los eruditos islámicos que trabajaban en las tradiciones filosóficas griegas, mientras que la historia natural se basó en gran medida en el pensamiento aristotélico, especialmente al defender una jerarquía fija de la vida.

La biología comenzó a desarrollarse y crecer rápidamente con la espectacular mejora del microscopio por parte de Anton van Leeuwenhoek. Fue entonces cuando los estudiosos descubrieron los espermatozoides, las bacterias, los infusorios y la diversidad de la vida microscópica. Las investigaciones de Jan Swammerdam suscitaron un nuevo interés por la entomología y ayudaron a desarrollar las técnicas básicas de disección y tinción microscópica.

Los avances en microscopía también tuvieron un profundo impacto en el pensamiento biológico. A principios del siglo XIX,

varios biólogos señalaron la importancia central de la célula. Luego, en 1838, Schleiden y Schwann empezaron a promover las ideas ahora universales que incluyen:

- (1) La unidad básica de los organismos es la célula.
- (2) Que las células individuales tienen todas las características de la vida, aunque se opusieron a la idea de que.
- (3) Todas las células proceden de la división de otras células. Sin embargo, gracias a los trabajos de Robert Remak y Rudolf Virchow, en la década de 1860 la mayoría de los biólogos aceptaban los tres principios de lo que se conoce como teoría celular.

Mientras tanto, la taxonomía y la clasificación se convirtieron en el centro de atención de los historiadores naturales. Carl Linnaeus publicó en 1735 una taxonomía básica para el mundo natural (cuyas variaciones se han utilizado desde entonces), y en la década de 1750 introdujo nombres científicos para todas sus especies. Georges-Louis Leclerc, Conde de Buffon, consideraba las especies como categorías artificiales y las formas vivas como maleables, sugiriendo incluso la posibilidad de una descendencia común. Aunque se opuso a la evolución, Buffon es una figura clave en la historia del pensamiento evolutivo; su obra influyó en las teorías evolutivas de Lamarck y Darwin.



**Figura (1): En 1842, Charles Darwin escribió su primer esbozo de El origen de las especies.**

El pensamiento evolutivo serio se originó con los trabajos de Jean-Baptiste Lamarck, que fue el primero en presentar una teoría coherente de la evolución. Postuló que la evolución era el resultado de la tensión ambiental sobre las propiedades de los animales, lo que significaba que cuanto más frecuente y rigurosamente se utilizara un órgano, más complejo y eficiente se volvería, adaptando así al animal a su entorno. Lamarck creía que estos rasgos adquiridos podían transmitirse a la descendencia del animal, que los desarrollaría y perfeccionaría. Sin embargo, fue el naturalista británico Charles Darwin quien, combinando el enfoque biogeográfico de Humboldt, la geología uniformista de Lyell, los escritos de Malthus sobre el crecimiento de la población y sus propios conocimientos morfológicos y amplias observaciones naturales, forjó una teoría evolutiva más exitosa basada en la

selección natural; razonamientos y pruebas similares llevaron a Alfred Russel Wallace a llegar independientemente a las mismas conclusiones. La teoría de la evolución por selección natural de Darwin se extendió rápidamente por la comunidad científica y pronto se convirtió en un axioma central de la ciencia de la biología, que se desarrollaba rápidamente.

Las bases de la genética moderna se iniciaron con los trabajos de Gregor Mendel, que presentó su trabajo "Versuche über Pflanzenhybriden" ("Experimentos sobre la hibridación de plantas") en 1865,<sup>[30]</sup> que esbozó los principios de la herencia biológica y sirvió de base para la genética moderna. Sin embargo, la importancia de su trabajo no se hizo realidad hasta principios del siglo XX, cuando la evolución se convirtió en una teoría unificada, ya que la síntesis moderna conciliaba la evolución darwiniana con la genética clásica. En los años 40 y principios de los 50, una serie de experimentos de Alfred Hershey y Martha Chase señalaron que el ADN era el componente de los cromosomas que contenía las unidades portadoras de rasgos que se habían dado a conocer como genes. La atención prestada a nuevos tipos de organismos modelo, como los virus y las bacterias, junto con el descubrimiento de la estructura doblemente helicoidal del ADN por James Watson y Francis Crick en 1953, marcaron la transición a la era de la genética molecular. Desde los años 50 hasta la actualidad, la biología se ha ampliado enormemente en el ámbito molecular. El código genético

fue descifrado por Har Gobind Khorana, Robert W. Holley y Marshall Warren Nirenberg después de que se comprendiera que el ADN contiene codones. Finalmente, en 1990 se puso en marcha el Proyecto Genoma Humano con el objetivo de cartografiar el genoma humano en general. Este proyecto se completó esencialmente en 2003, y todavía se publican más análisis. El Proyecto Genoma Humano fue el primer paso de un esfuerzo globalizado por incorporar el conocimiento acumulado de la biología a una definición funcional y molecular del cuerpo humano y de los cuerpos de otros organismos.

## **Conceptos básicos de biología**

### **Principios biológicos**

#### **Homeostasis**

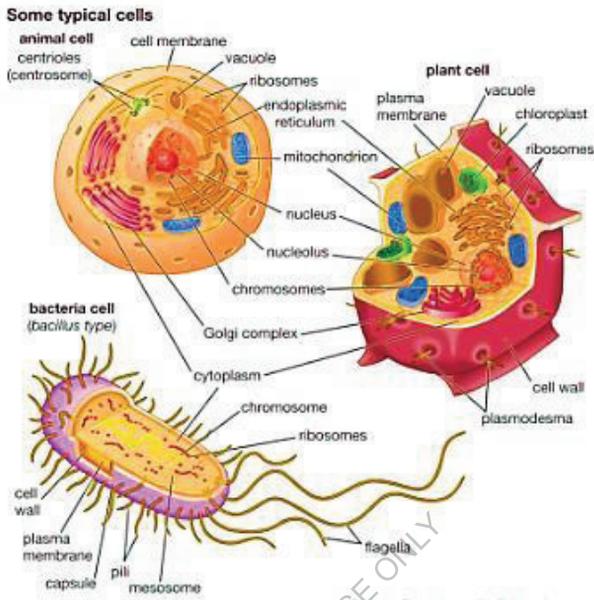
El concepto de homeostasis, según el cual los seres vivos mantienen un entorno interno constante, fue sugerido por primera vez en el siglo XIX por el fisiólogo francés Claude Bernard, quien afirmó que "todos los mecanismos vitales, por muy variados que sean, tienen un solo objeto: el de preservar constantes las condiciones de vida".

Tal y como la concibió originalmente Bernard, la homeostasis se aplicaba a la lucha de un solo organismo por sobrevivir. El

concepto se amplió posteriormente para incluir cualquier sistema biológico, desde la célula hasta la biosfera entera, todas las zonas de la Tierra habitadas por seres vivos.

## **Unidad**

Todos los organismos vivos, independientemente de su singularidad, tienen ciertas características biológicas, químicas y físicas en común. Todos, por ejemplo, están compuestos por unidades básicas conocidas como células y por las mismas sustancias químicas, que, cuando se analizan, presentan notables similitudes, incluso en organismos tan dispares como las bacterias y los seres humanos. Además, dado que la acción de cualquier organismo está determinada por la forma en que interactúan sus células y dado que todas las células interactúan de forma muy parecida, el funcionamiento básico de todos los organismos también es similar.



**Figura (2): Las células animales y las células vegetales contienen orgánulos unidos a la membrana, incluido un núcleo distinto. En cambio, las células bacterianas no contienen orgánulos.**

No sólo hay unidad de sustancia viva básica y funcionamiento, sino también unidad de origen de todos los seres vivos. Según una teoría propuesta en 1855 por el patólogo alemán Rudolf Virchow, "todas las células vivas surgen de células vivas preexistentes". Esa teoría parece ser cierta para todos los seres vivos en la actualidad en las condiciones ambientales existentes. Sin embargo, si la vida se originó en la Tierra más de una vez en el pasado, el hecho de que todos los organismos tengan la misma estructura básica,

composición y función parece indicar que sólo un tipo original tuvo éxito.

Un origen común de la vida explicaría por qué en los seres humanos o en las bacterias y en todas las formas de vida intermedias, la misma sustancia química, el ácido desoxirribonucleico (ADN), en forma de genes, explica la capacidad de toda la materia viva de replicarse exactamente y de transmitir la información genética de padres a hijos. Además, los mecanismos de esa transmisión siguen un patrón que es el mismo en todos los organismos.

Cada vez que se produce un cambio en un gen (una mutación), se produce un cambio de algún tipo en el organismo que lo contiene. Este fenómeno universal es el que da lugar a las diferencias (variaciones) en las poblaciones de organismos de las que la naturaleza selecciona para la supervivencia a los que mejor pueden hacer frente a las condiciones cambiantes del entorno.

## **Evolución**

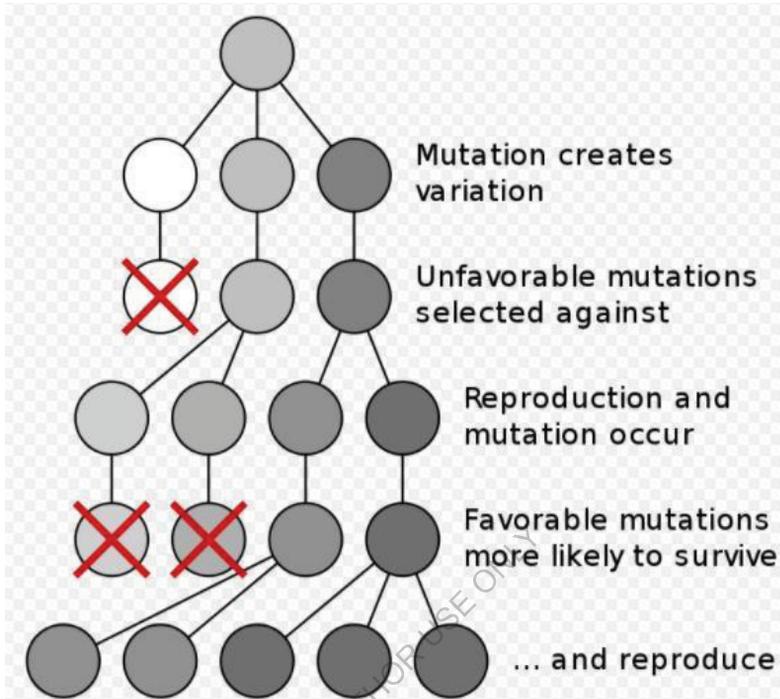
Un concepto organizador central de la biología es que la vida cambia y se desarrolla a través de la evolución, que es el cambio en las características heredables de las poblaciones a lo largo de generaciones sucesivas. La evolución se utiliza actualmente para

explicar las grandes variaciones de la vida en la Tierra. El término *evolución* fue introducido en el léxico científico por Jean-Baptiste de Lamarck en 1809 y cincuenta años después Charles Darwin y Alfred Russel Wallace formularon la teoría de la evolución por selección natural. Según esta teoría, los individuos se diferencian entre sí por sus rasgos heredables, lo que da lugar a diferentes tasas de supervivencia y reproducción. Como resultado, los rasgos mejor adaptados a su entorno tienen más probabilidades de transmitirse a las generaciones siguientes. Darwin no conocía los trabajos de Mendel sobre la herencia, por lo que el mecanismo exacto de la herencia que subyace a la selección natural no se comprendió bien hasta principios del siglo XX, cuando la síntesis moderna reconcilió la evolución darwiniana con la genética clásica, lo que estableció una perspectiva neodarwiniana de la evolución por selección natural. Esta perspectiva sostiene que la evolución se produce cuando hay cambios en las frecuencias alélicas dentro de una población de organismos que se cruzan. En ausencia de cualquier proceso evolutivo que actúe sobre una gran población de apareamiento aleatorio, las frecuencias alélicas permanecerán constantes a lo largo de las generaciones, tal y como describe el principio de Hardy-Weinberg.

Otro proceso que impulsa la evolución es la deriva genética, que son las fluctuaciones aleatorias de las frecuencias alélicas dentro de una población de una generación a otra. Cuando las fuerzas

selectivas son inexistentes o relativamente débiles, las frecuencias alélicas tienen la misma probabilidad de **derivar** hacia arriba o hacia abajo en cada generación sucesiva porque los alelos están sujetos a un error de muestreo. Esta deriva se detiene cuando un alelo acaba fijándose, ya sea desapareciendo de la población o sustituyendo por completo a los demás alelos. Por lo tanto, la deriva genética puede eliminar algunos alelos de una población debido únicamente al azar.

En su teoría de la selección natural, de la que hablaremos más adelante, Charles Darwin sugirió que la "supervivencia del más apto" era la base de la evolución orgánica (el cambio de los seres vivos con el tiempo). La evolución en sí es un fenómeno biológico común a todos los seres vivos, aunque haya dado lugar a sus diferencias. Las pruebas que apoyan la teoría de la evolución proceden principalmente del registro fósil, de los estudios comparativos de estructura y función, de los estudios del desarrollo embriológico y de los estudios del ADN y el ARN (ácido ribonucleico).



**Figura (3): Las mutaciones crean variaciones.**

## **Diversidad**

A pesar de las similitudes biológicas, químicas y físicas básicas de todos los seres vivos, existe una diversidad de vida no sólo entre las especies sino también dentro de cada población natural. El fenómeno de la diversidad se ha estudiado durante mucho tiempo porque muchas de las variaciones que existen en la naturaleza son visibles para el ojo. El hecho de que los organismos cambiaron

durante la prehistoria y que las nuevas variaciones evolucionan constantemente puede comprobarse mediante registros paleontológicos, así como mediante experimentos de reproducción en el laboratorio. Mucho después de que Darwin supusiera que las variaciones existían, los biólogos descubrieron que están causadas por un cambio en el material genético (ADN). Ese cambio puede ser una ligera alteración en la secuencia de los constituyentes del ADN (nucleótidos), un cambio mayor, como una alteración estructural de un cromosoma, o un cambio completo en el número de cromosomas. En cualquier caso, un cambio en el material genético de las células reproductoras se manifiesta como algún tipo de cambio estructural o químico en la descendencia. La consecuencia de dicha mutación depende de la interacción de la descendencia mutante con su entorno.

Se ha sugerido que la reproducción sexual se convirtió en el tipo de reproducción dominante entre los organismos debido a su ventaja inherente de variabilidad, que es el mecanismo que permite a una especie ajustarse a las condiciones cambiantes. Las nuevas variaciones están potencialmente presentes en las diferencias genéticas, pero la preponderancia que adquiera una variación en un acervo genético depende del número de descendientes que produzcan los mutantes o variantes (reproducción diferencial). Es posible que una novedad genética (nueva variación) se extienda con el tiempo a todos los miembros de una población,

especialmente si la novedad mejora las posibilidades de supervivencia de la población en el entorno en el que existe. Así, cuando una especie se introduce en un nuevo hábitat, o bien se adapta al cambio por selección natural o por algún otro mecanismo evolutivo, o bien acaba muriendo. Como cada nuevo hábitat implica nuevas adaptaciones, los cambios de hábitat han sido los responsables de los millones de tipos de especies diferentes y de la heterogeneidad dentro de cada especie.

Se calcula que el número total de especies animales y vegetales existentes oscila entre los 5 y los 10 millones, de los cuales un millón y medio han sido descritos por los científicos. El uso de la clasificación como medio para producir algún tipo de orden a partir del asombroso número de tipos de organismos apareció ya en el libro del Génesis, con referencias al ganado, las bestias, las aves, los reptiles, los árboles, etc. Sin embargo, el primer intento científico de clasificación se atribuye al filósofo griego Aristóteles, que intentó establecer un sistema que indicara la relación de todas las cosas entre sí. Dispuso todo a lo largo de una escala, o "escalera de la naturaleza", en la que los seres no vivos se encontraban en la parte inferior; las plantas se situaban por debajo de los animales, y la humanidad estaba en la parte superior. Otros esquemas que se han utilizado para agrupar las especies incluyen grandes similitudes anatómicas, como las alas o las aletas, que indican una

relación natural, y también similitudes en las estructuras reproductivas.

La taxonomía se ha basado en dos supuestos principales: uno es que la construcción similar del cuerpo puede utilizarse como criterio para una agrupación de clasificación; el otro es que, además de las similitudes estructurales, las relaciones evolutivas y moleculares entre los organismos pueden utilizarse como medio para determinar la clasificación.

### **Comportamiento e interrelaciones**

El estudio de las relaciones de los seres vivos entre sí y con su entorno se conoce como ecología. Dado que estas interrelaciones son tan importantes para el bienestar de la Tierra y que pueden verse gravemente alteradas por las actividades humanas, la ecología se ha convertido en una importante rama de la biología.

### **Continuidad**

Ya sea un organismo humano o una bacteria, su capacidad de reproducción es una de las características más importantes de la vida. Dado que la vida sólo proviene de la vida preexistente, sólo a través de la reproducción las sucesivas generaciones pueden mantener las propiedades de una especie.

## **El estudio de la estructura**

Los seres vivos se definen por las actividades o funciones que faltan en los seres no vivos. Los procesos vitales de cada organismo se llevan a cabo mediante materiales específicos ensamblados en estructuras definidas. Así, un ser vivo puede definirse como un sistema, o estructura, que se reproduce, cambia con su entorno durante un periodo de tiempo y mantiene su individualidad mediante un metabolismo constante y continuo.

## **Células y sus componentes**

En su día, los biólogos dependían del microscopio óptico para estudiar la morfología de las células de las plantas superiores y los animales. El funcionamiento de las células en los organismos unicelulares y pluricelulares se postulaba entonces a partir de la observación de la estructura; el descubrimiento de los cloroplastos en la célula, por ejemplo, condujo a la investigación del proceso de fotosíntesis. Con la invención del microscopio electrónico, la fina organización de los plastos pudo utilizarse para estudios cuantitativos posteriores de las diferentes partes de ese proceso.

Los análisis cualitativos y cuantitativos en biología utilizan diversas técnicas y enfoques para identificar y estimar los niveles

de ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y otros componentes químicos de las células y los tejidos. Muchas de estas técnicas utilizan anticuerpos o sondas que se unen a moléculas específicas dentro de las células y que están marcadas con una sustancia química, normalmente un colorante fluorescente, un isótopo radiactivo o una tinción biológica, lo que permite o mejora la visualización microscópica o la detección de las moléculas de interés.



**Figura (4): Células y sus componentes**

### ***Yersinia enterocolitica***

Fotomicrografía de la tinción de Gram de *Yersinia enterocolitica*, el agente causante de la yersiniosis.

Las etiquetas químicas son poderosos medios con los que los biólogos pueden identificar, localizar o rastrear sustancias en la materia viva. Algunos ejemplos de ensayos ampliamente utilizados que incorporan etiquetas incluyen la tinción de Gram, que se utiliza para la identificación y caracterización de las bacterias; la hibridación in situ por fluorescencia, que se utiliza para la detección de secuencias genéticas específicas en los cromosomas y los ensayos de luciferasa que miden la bioluminiscencia producida por las reacciones de luciferina-luciferasa, lo que permite la cuantificación de una amplia gama de moléculas.

## **Tejidos y órganos**

Los primeros biólogos consideraban su trabajo como un estudio del organismo. El organismo, considerado entonces como la unidad fundamental de la vida, sigue siendo la principal preocupación de algunos biólogos modernos, y entender cómo los organismos mantienen su entorno interno sigue siendo una parte importante de la investigación biológica. Para comprender mejor la fisiología de los organismos, los investigadores estudian los tejidos y órganos de los que están compuestos los organismos. La clave de este trabajo es la capacidad de mantener y cultivar células in vitro ("en vidrio"), lo que se conoce como cultivo de tejidos.

Algunos de los primeros intentos de cultivo de tejidos se realizaron a finales del siglo XIX. En 1885, el zoólogo alemán Wilhelm Roux mantuvo tejidos de un embrión de pollo en una solución salina. Sin embargo, el primer gran avance en el cultivo de tejidos se produjo en 1907 con el crecimiento de procesos de células nerviosas de rana por parte del zoólogo estadounidense Ross G. Harrison. Varios años después, los investigadores franceses Alexis Carrel y Montrose Burrows perfeccionaron los métodos de Harrison e introdujeron el término cultivo de *tejidos*. Utilizando estrictas técnicas de laboratorio, los trabajadores han sido capaces de mantener vivas las células y los tejidos en condiciones de cultivo durante largos periodos de tiempo. Las técnicas para mantener vivos los órganos en preparación para los trasplantes se derivan de estos experimentos.

Los avances en el cultivo de tejidos han permitido innumerables descubrimientos en biología. Por ejemplo, muchos experimentos se han dirigido a lograr una comprensión más profunda de la diferenciación biológica, en particular de los factores que controlan la diferenciación. Para estos estudios fue crucial el desarrollo, a finales del siglo XX, de métodos de cultivo de tejidos que permitieron el crecimiento de células madre embrionarias de mamíferos y, en última instancia, de células madre embrionarias humanas en placas de cultivo.

## **La historia de la biología**

Hay momentos en la historia de todas las ciencias en los que se producen avances notables en periodos de tiempo relativamente cortos. Estos saltos en el conocimiento se deben en gran parte a dos factores: uno es la presencia de una mente creativa, una mente lo suficientemente perspicaz y original como para descartar ideas hasta ahora aceptadas y formular nuevas hipótesis; el segundo es la capacidad tecnológica para poner a prueba las hipótesis mediante los experimentos adecuados. La mente más original e inquisitiva se ve muy limitada sin las herramientas adecuadas para llevar a cabo una investigación; a la inversa, el equipo tecnológico más sofisticado no puede por sí mismo aportar ideas a ningún proceso científico.

### **Conozca cómo el monje católico y botánico austriaco Gregor Mendel observó las propiedades de la herencia**

Una introducción a los estudios sobre la herencia del botánico austriaco, profesor y prelado agustino Gregor Mendel.

Un ejemplo de la relación entre estos dos factores fue el descubrimiento de la célula. Durante cientos de años se había especulado sobre la estructura básica de las plantas y los animales. Sin embargo, hasta que los instrumentos ópticos se desarrollaron lo suficiente como para revelar las células, no fue posible formular una hipótesis general, la teoría celular, que explicara

satisfactoriamente cómo se organizan las plantas y los animales. Del mismo modo, la importancia de los estudios de Gregor Mendel sobre el modo de herencia en el guisante de jardín permaneció ignorada durante muchos años hasta que los avances tecnológicos hicieron posible el descubrimiento de los cromosomas y el papel que desempeñan en la división celular y la herencia. Además, gracias al desarrollo relativamente reciente de instrumentos extremadamente sofisticados, como el microscopio electrónico, la ultracentrífuga y las máquinas automatizadas de secuenciación del ADN, la biología ha pasado de ser una ciencia principalmente descriptiva -que se ocupa de células y organismos enteros- a una disciplina que hace cada vez más hincapié en los aspectos subcelulares y moleculares de los organismos y que intenta equiparar la estructura con la función en todos los niveles de la organización biológica.

### **La primera herencia**

Aunque no se sabe cuándo se originó el estudio de la biología, los primeros seres humanos debieron tener algún conocimiento de los animales y las plantas que les rodeaban. La supervivencia humana dependía del reconocimiento preciso de las plantas alimenticias no venenosas y de la comprensión de los hábitos de los depredadores peligrosos. Los registros arqueológicos indican que, incluso antes del desarrollo de la civilización, los humanos habían domesticado prácticamente todos los animales disponibles

y habían desarrollado un sistema agrícola lo suficientemente estable y eficiente como para satisfacer las necesidades de un gran número de personas que vivían juntas en comunidades. Está claro, por tanto, que gran parte de la historia de la biología es anterior al momento en que la humanidad comenzó a escribir y a llevar registros.

### **Primeros registros biológicos**

#### **Prácticas biológicas entre asirios y babilonios**

Gran parte de la historia más antigua de la biología se deriva de los bajorrelieves asirios y babilónicos que muestran plantas cultivadas y de las tallas que representan la medicina veterinaria. Las ilustraciones de algunos sellos revelan que los babilonios habían aprendido que la palmera datilera se reproduce sexualmente y que el polen podía extraerse de la planta masculina y utilizarse para fertilizar las plantas femeninas. Aunque no existe una datación precisa de esos primeros registros, un contrato comercial babilónico del periodo de Hammurabi (*hacia* 1800 A.C.) menciona la flor masculina de la palmera datilera como artículo de comercio, y las descripciones de la recolección de dátiles se remontan a unos 3500 A.C.

Otra fuente de información sobre el alcance de los conocimientos biológicos de estos pueblos primitivos fue el

descubrimiento de varios papiros relativos a temas médicos; uno de ellos, que se cree que data del año 1600 A.C., contiene descripciones anatómicas; otro (c. 1500 A.C.) indica que se había reconocido la importancia del corazón. Dado que estos documentos antiguos, que contenían una mezcla de hechos y supersticiones, probablemente resumían los conocimientos de la época, cabe suponer que parte de su contenido había sido conocido por generaciones anteriores.

### **Conocimientos biológicos de egipcios, chinos e indios**

Los papiros y los artefactos encontrados en las tumbas y las pirámides indican que los egipcios también poseían considerables conocimientos médicos. Sus momias bien conservadas demuestran que conocían a fondo las propiedades conservadoras de las hierbas necesarias para el embalsamamiento; los collares de plantas y los bajorrelieves de diversas fuentes también revelan que los antiguos egipcios conocían bien el valor medicinal de ciertas plantas. Una compilación egipcia conocida como el papiro de Ebers (c. 1550 A.C.) es uno de los textos médicos más antiguos que se conocen.



**Figura (5): Conocimientos biológicos de egipcios, chinos e indios.**

### **El papiro de Ebers**

Receta del papiro de Ebers para el tratamiento del asma.

En la antigua China, tres emperadores míticos. Fu Xi, Shennong y Huangdi, cuyos supuestos periodos de gobierno se extendieron desde el siglo XXIX al XXVII A.C., se decía que poseían conocimientos médicos. Según la leyenda, Shennong describió los poderes terapéuticos de numerosas plantas medicinales e incluyó descripciones de muchas plantas alimenticias importantes, como la soja. Sin embargo, el primer registro escrito que se conoce sobre medicina en China es el *Huangdi neijing* (*Clásico de Medicina Interna del Emperador Amarillo*), que data del siglo III A.C. Además de la medicina, los antiguos chinos poseían conocimientos en otras áreas de la biología. Por ejemplo, no sólo utilizaban el

gusano de seda *Bombyx mori* para producir seda para el comercio, sino que también entendían el principio del control biológico, empleando un tipo de insecto, una hormiga entomófaga (comedora de insectos), para destruir los insectos que perforaban los árboles.

Ya en el año 2500 A.C. los habitantes del noroeste de la India tenían una ciencia agrícola bien desarrollada. En las ruinas de Mohenjo-daro se han encontrado semillas de trigo y cebada que se cultivaban en aquella época. La civilización conocía el mijo, los dátiles, los melones y otras frutas y verduras, así como el algodón. Sin embargo, las plantas no eran sólo una fuente de alimento. Un documento, que se cree que data del siglo VI A.C., describe el uso de unas 960 plantas medicinales e incluye información sobre temas como anatomía, fisiología, patología y obstetricia.

## **El mundo grecorromano**

Aunque los babilonios, los asirios, los egipcios, los chinos y los indios acumularon mucha información biológica, vivían en un mundo que se creía dominado por demonios y espíritus imprevisibles. Por ello, los eruditos de esas primeras culturas orientaron sus estudios hacia la comprensión del mundo sobrenatural, más que del natural. Los anatomistas, por ejemplo, diseccionaban animales no para comprender su estructura, sino para estudiar sus órganos con el fin de predecir el futuro. Sin

embargo, con la aparición de la civilización griega, esas actitudes místicas comenzaron a cambiar. Alrededor del año 600 A.C. surgió una escuela de filósofos griegos que creía que todo acontecimiento tiene una causa y que una causa concreta produce un efecto concreto. Ese concepto, conocido como causalidad, tuvo un profundo efecto en la investigación científica posterior. Además, esos filósofos asumieron la existencia de una "ley natural" que rige el universo y que puede ser comprendida por los humanos mediante el uso de sus poderes de observación y deducción. Aunque establecieron la ciencia de la biología, la mayor contribución de los griegos a la ciencia fue la idea del pensamiento racional.

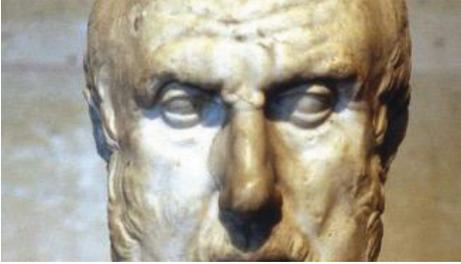
### **Teorías sobre la humanidad y el origen de la vida**

Uno de los primeros filósofos griegos, Tales de Mileto (*hacia el* siglo VII A.C.), sostenía que el universo contenía una fuerza creadora a la que llamaba *physis*, un temprano progenitor del término *física*, y también postulaba que el mundo y todos los seres vivos que lo componían estaban hechos de agua. Anaximandro, alumno de Tales, no aceptaba el agua como la única sustancia de la que derivaban los seres vivos; creía que, además del agua, los seres vivos estaban formados por tierra y una sustancia gaseosa llamada *apeiron*, que podía dividirse en caliente y fría. Diversas mezclas de estos materiales daban lugar a los cuatro elementos: tierra, aire, fuego y agua. Aunque fue uno de los primeros en describir la Tierra como una esfera y no como un plano, Anaximandro propuso que la

vida surgió espontáneamente en el barro y que los primeros animales que surgieron fueron peces cubiertos de una piel espinosa. Los descendientes de esos peces acabaron abandonando el agua y trasladándose a tierra firme, donde dieron lugar a otros animales por transmutación (la conversión de una forma en otra). Así se formuló una de las primeras teorías evolutivas.

En Crotona, en el sur de Italia, donde Pitágoras estableció una importante escuela de filosofía natural hacia el año 500 A.C., uno de sus alumnos, Alcmaeon, investigó la estructura animal y describió la diferencia entre arterias y venas, descubrió el nervio óptico y reconoció el cerebro como sede del intelecto. Como resultado de sus estudios sobre el desarrollo del embrión, Alcmaeon puede ser considerado el fundador de la embriología.

Aunque el médico griego Hipócrates, que estableció una escuela de medicina en la isla egea de Cos hacia el año 400 A.C., no era un investigador en el sentido de Alcmaeon, sí reconoció a través de las observaciones de los pacientes las complejas interrelaciones que se dan en el cuerpo humano. También contempló la influencia del entorno en la naturaleza humana y creyó que los climas muy contrastados tendían a producir un tipo de habitante poderoso, mientras que los climas templados y uniformes eran más propicios a la indolencia.



## **Hipócrates**

Hipócrates, busto sin fecha.

© *Photos.com/Thinkstock*

A Hipócrates y a sus predecesores les preocupaba la cuestión filosófica central de cómo se creó el cosmos y sus habitantes. Aunque aceptaban la *physis* como fuerza creadora, diferían en cuanto a la importancia del papel que desempeñaban la tierra, el aire, el fuego, el agua y otros elementos. Aunque Anaxímenes, por ejemplo, que podría haber sido alumno de Anaximandro, se adhirió al precepto entonces popular de que la vida se originó en una masa de barro, postuló que la verdadera fuerza creadora se encontraba en el aire y que estaba influida por el calor del Sol. Los miembros de la escuela hipocrática también creían que todos los cuerpos vivos estaban formados por cuatro humores -sangre, bilis negra, flema y bilis amarilla- que supuestamente se originaban en el corazón, el bazo, el cerebro y el hígado, respectivamente. Se pensaba que un desequilibrio de los humores hacía que un individuo fuera

sanguíneo, melancólico, flemático o colérico. Estas palabras persistieron en la literatura médica durante siglos, un testimonio de la larga popularidad de la idea de las influencias humorales. Durante siglos también se creyó que un desequilibrio de los humores era la causa de la enfermedad, una creencia que dio lugar a la práctica común de las sangrías para librar al cuerpo de los humores excesivos.

### **El descubrimiento de las células**

De los cinco microscopistas, Robert Hooke fue quizás el más preeminente intelectualmente. Como conservador de instrumentos en la Royal Society de Londres, estaba en contacto con todos los nuevos avances científicos y mostraba interés por temas tan dispares como el vuelo y la construcción de relojes. En 1665, Hooke publicó su *Micrographia*, que era principalmente una revisión de una serie de observaciones que había realizado mientras seguía el desarrollo y la mejora del microscopio. Hooke describió con detalle la estructura de las plumas, el aguijón de una abeja, la rádula o "lengua" de los moluscos y el pie de la mosca. Es Hooke quien acuñó la palabra *célula*; en un dibujo de la estructura microscópica del corcho, mostró paredes que rodeaban espacios vacíos y se refirió a las estructuras como células. Describió estructuras similares en los tejidos de otros árboles y plantas y

discernió que en algunos tejidos las células estaban llenas de un líquido mientras que en otros estaban vacías. Por tanto, supuso que la función de las células era transportar sustancias a través de la planta.

Aunque el trabajo de cualquiera de los microscopistas clásicos parece carecer de un objetivo definido, hay que recordar que estos hombres encarnaron el concepto de que la observación y el experimento eran de importancia primordial, que las meras especulaciones hipotéticas y filosóficas no eran suficientes. Es notable que tan pocos hombres, trabajando como individuos totalmente aislados unos de otros, hayan registrado tantas observaciones de tan fundamental importancia. La gran importancia de su trabajo fue que reveló, por primera vez, un mundo en el que los organismos vivos muestran una complejidad casi increíble.

El trabajo con el microscopio compuesto languideció durante casi 200 años, principalmente porque las primeras lentes tendían a descomponer la luz blanca en sus partes constitutivas. Este problema técnico no se resolvió hasta la invención de las lentes acromáticas, que se introdujeron hacia 1830. En 1878 se fabricó un microscopio compuesto acromático moderno a partir del diseño del físico alemán Ernst Abbe. Posteriormente, Abbe diseñó un sistema de iluminación de subestadio que, junto con la introducción de un

nuevo condensador de subestadio, allanó el camino para los descubrimientos biológicos de esa época.

## **El desarrollo de los principios taxonómicos**

En 1687, el matemático, físico y astrónomo inglés Isaac Newton publicó su gran obra *Principia*, en la que describía el universo como algo fijo, en el que la Tierra y los demás cuerpos celestes se movían armoniosamente de acuerdo con las leyes matemáticas. Este enfoque de sistematización y clasificación dominará la biología en los siglos XVII y XVIII. Una de las razones fue que los "padres de la botánica" del siglo XVI se habían contentado con describir y dibujar las plantas, reuniendo un número enorme y diverso que siguió aumentando a medida que las exploraciones de países extranjeros hacían evidente que cada país tenía sus propias plantas y animales autóctonos.

Aristóteles inició el proceso de clasificación cuando utilizó el modo de reproducción y el hábitat para distinguir grupos de animales. De hecho, las palabras *género* y *especie* son traducciones del griego *genos* y *eidos* utilizadas por Aristóteles. El botánico suizo Bauhin introdujo un sistema de clasificación binomial, que utiliza un nombre genérico y un nombre específico. Sin embargo, la mayoría de los esquemas de clasificación propuestos antes del siglo XVII eran confusos e insatisfactorios.

## **El uso de la estructura para clasificar los organismos**

Dos sistemáticos de los siglos XVII y XVIII fueron el naturalista inglés John Ray y el naturalista y explorador sueco Carolus Linnaeus. Ray, que estudió en Cambridge, se interesó especialmente por el trabajo de los antiguos recopiladores de hierbas, sobre todo de aquellos que habían intentado formular algún medio de clasificación. Reconociendo la necesidad de un sistema de clasificación que se aplicara tanto a las plantas como a los animales, Ray empleó en sus esquemas de clasificación descripciones extremadamente precisas para los géneros y las especies. Al basar su sistema en estructuras, como la disposición de los dedos y los dientes en los animales, en lugar del color o el hábitat, Ray introdujo un concepto nuevo y muy importante en la biología taxonómica.

## **Reorganización de grupos de organismos**

Antes de Linneo, la mayoría de los taxónomos empezaban sus sistemas de clasificación dividiendo todos los organismos conocidos en grandes grupos y subdividiéndolos después en grupos progresivamente más pequeños. A diferencia de sus predecesores, Linneo comenzó con las especies, organizándolas en grupos más grandes o géneros, y luego ordenando los géneros análogos para

formar familias y las familias relacionadas para formar órdenes y clases. Utilizando probablemente los trabajos anteriores de Grew y otros, Linneo eligió la estructura de los órganos reproductores de la flor como base para agrupar las plantas superiores. Así, distinguió entre las plantas con flores y semillas reales (fanerógamas) y las que carecen de ellas (criptógamas), subdividiendo las primeras en formas hermafroditas (bisexuales) y unisexuales. En el caso de los animales, siguiendo el trabajo de Ray, Linneo se basó en los dientes y los dedos de los pies como características básicas de los mamíferos; utilizó la forma del pico como base para la clasificación de las aves. Tras demostrar que un sistema de clasificación binomial basado en descripciones concisas y precisas podía utilizarse para la agrupación de organismos, Linneo estableció la biología taxonómica como disciplina.

Los biólogos franceses Comte de Buffon, Jean-Baptiste Lamarck y Georges Cuvier iniciaron los desarrollos posteriores en materia de clasificación, y todos ellos hicieron contribuciones duraderas a la ciencia biológica, especialmente en los estudios comparativos. Los sistemáticos posteriores se han interesado sobre todo por las relaciones entre los animales y se han esforzado por explicar no sólo sus similitudes sino también sus diferencias en términos amplios que abarcan, además de la estructura, la composición, la función, la genética, la evolución y la ecología.

## **El desarrollo de estudios biológicos comparativos**

Una vez disipado el oprobio que suponía la disección de cuerpos humanos en el siglo XVI, los anatomistas dirigieron sus esfuerzos hacia una mejor comprensión de la estructura humana. Al hacerlo, generalmente ignoraron a otros animales, al menos hasta la última parte del siglo XVII, cuando los biólogos empezaron a darse cuenta de que se podían obtener importantes conocimientos mediante estudios comparativos de todos los animales, incluidos los humanos. Uno de los primeros anatomistas fue el médico inglés Edward Tyson, que estudió con detalle la anatomía de un chimpancé inmaduro y la comparó con la de un ser humano. Al realizar nuevas comparaciones entre el chimpancé y otros primates, Tyson reconoció claramente puntos de similitud entre esos animales y los humanos. No sólo fue una importante contribución a la antropología física, sino que también fue un indicio, casi dos siglos antes que Darwin, de la existencia de relaciones entre los humanos y otros primates.

Uno de los que más impulsó los estudios comparativos fue Georges Cuvier, que utilizó grandes colecciones de especímenes biológicos que le enviaron de todo el mundo para elaborar una organización sistemática del reino animal. Además de establecer una conexión entre la anatomía sistemática y la comparativa, creía que existía una "correlación de partes" según la cual un determinado tipo de estructura, por ejemplo, las plumas, está

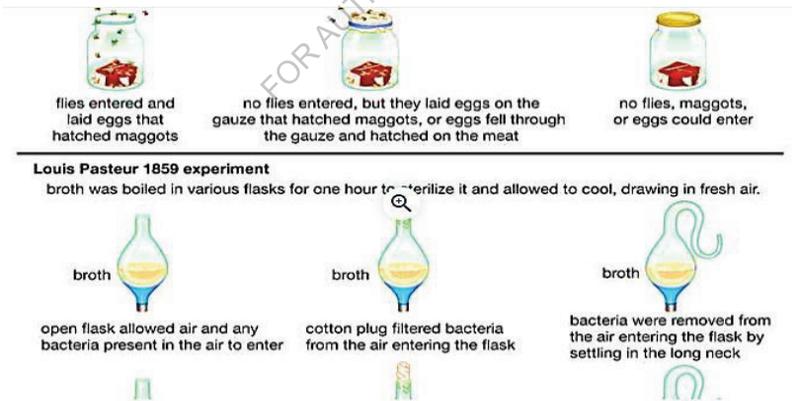
relacionado con una determinada formación anatómica, por ejemplo, un ala, que a su vez está relacionada con otras formaciones específicas, por ejemplo, la clavícula, etc. En otras palabras, pensó que se podía deducir una gran cantidad de información anatómica sobre un organismo aunque no se dispusiera del espécimen completo. Esta idea iba a tener una gran importancia práctica en el estudio de los fósiles, en el que Cuvier desempeñó un papel destacado. De hecho, la publicación en 1812 de *Recherches sur les ossements fossiles de quadrupèdes* de Cuvier (traducido como *Investigaciones sobre los huesos fósiles* en 1835) sentó las bases de la ciencia de la paleontología. Pero para conciliar sus descubrimientos científicos con sus creencias religiosas personales, Cuvier postuló una serie de acontecimientos catastróficos que podrían explicar tanto la presencia de fósiles como la inmutabilidad de las especies existentes.

## **El estudio del origen de la vida**

### **Generación espontánea**

Si una especie sólo puede desarrollarse a partir de una especie preexistente, ¿cómo se originó la vida? Entre las muchas ideas filosóficas y religiosas que se propusieron para responder a esa pregunta, una de las más populares fue la teoría de la generación espontánea, según la cual, como ya se ha dicho, los organismos

vivos podían originarse a partir de materia no viva. Sin embargo, con el creciente ritmo de los descubrimientos durante los siglos XVII y XVIII, los investigadores empezaron a examinar de forma más crítica la creencia griega de que las moscas y otros pequeños animales surgían del barro del fondo de los arroyos y estanques por generación espontánea. Entonces, cuando Harvey anunció su dictamen biológico *ex ovo omnia* ("todo sale del huevo"), pareció que había resuelto el problema, al menos en lo que respecta a las plantas con flores y los animales superiores, todos los cuales se desarrollan a partir de un huevo. Sin embargo, el posterior e inquietante descubrimiento de Leeuwenhoek de los animáculos demostró la existencia de un mundo de organismos densamente poblado, pero hasta entonces invisible, que debía ser explicado.



**Figura (6):** La hipótesis de la generación espontánea postulaba que los organismos vivos se desarrollan a partir de materia no viva. Esta idea fue refutada tras los experimentos realizados en 1668 por el médico

**italiano Francesco Redi y en 1859 por el químico y microbiólogo francés Louis Pasteur.**

El médico y poeta italiano Francesco Redi fue uno de los primeros en cuestionar el origen espontáneo de los seres vivos. Tras observar el desarrollo de los gusanos y las moscas en la carne en descomposición, Redi ideó en 1668 una serie de experimentos que apuntaban a la misma conclusión: si se excluyen las moscas de la carne podrida, los gusanos no se desarrollan. Sin embargo, en la carne expuesta al aire, los huevos que ponen las moscas se convierten en gusanos. No obstante, en 1745 se renovó el apoyo a la generación espontánea con la publicación de *An Account of Some New Microscopical Discoveries* del naturalista inglés y divino católico romano John Turberville Needham. Needham descubrió que un gran número de organismos se desarrollaban posteriormente en infusiones preparadas de muchas sustancias diferentes que habían sido expuestas a un calor intenso en tubos sellados durante 30 minutos. Suponiendo que ese tratamiento térmico debía haber matado cualquier organismo anterior, Needham explicó la presencia de la nueva población basándose en la generación espontánea. Los experimentos parecían irrefutables hasta que el fisiólogo italiano Lazzaro Spallanzani los repitió y obtuvo resultados contradictorios. Publicó sus conclusiones hacia 1775, alegando que Needham no había calentado sus tubos el tiempo suficiente, ni los había sellado de forma satisfactoria. Aunque los resultados de Spallanzani deberían haber sido

convincientes, Needham contaba con el apoyo del influyente naturalista francés Buffon, por lo que la cuestión de la generación espontánea quedó sin resolver.

### **La muerte de la generación espontánea**

Después de que una serie de investigaciones posteriores no lograsen resolver el problema, la Academia de Ciencias francesa ofreció un premio a la investigación que "arrojase nueva luz sobre la cuestión de la generación espontánea". En respuesta a ese reto, Louis Pasteur, que en aquella época era químico, sometió a diversos frascos que contenían una solución de levadura azucarada a diversas condiciones. Pasteur pudo demostrar de forma concluyente que los microorganismos que se desarrollaban en los medios adecuados procedían de los microorganismos del aire y no del aire mismo, como había sugerido Needham. En 1876, el físico inglés John Tyndall apoyó los descubrimientos de Pasteur al idear un aparato para demostrar que el aire tenía la capacidad de transportar partículas. Dado que esta materia en el aire refleja la luz cuando se ilumina el aire en condiciones especiales, el aparato de Tyndall podía utilizarse para indicar cuándo el aire era puro. Tyndall descubrió que no se producían organismos cuando se introducía aire puro en medios capaces de soportar el crecimiento de microorganismos. Fueron estos resultados, junto con los hallazgos de Pasteur, los que pusieron fin a la doctrina de la generación espontánea. Cuando Pasteur demostró más tarde que

los microorganismos progenitores sólo generan los de su propia especie, estableció el estudio de la microbiología. Además, no sólo consiguió convencer al mundo científico de que los microbios son seres vivos que proceden de formas preexistentes, sino que también demostró que son un componente inmenso y variado del mundo orgánico, un concepto que iba a tener importantes implicaciones para la ciencia de la ecología. Además, al aislar varias especies de bacterias y levaduras en diferentes medios químicos, Pasteur pudo demostrar que provocaban cambios químicos de forma característica y predecible, haciendo así una contribución única al estudio de la fermentación y a la bioquímica.

### **El desarrollo de la teoría celular**

Aunque los microscopistas del siglo XVII habían realizado descripciones detalladas de la estructura de las plantas y los animales y aunque Hooke había acuñado el término *célula* para describir los compartimentos que había observado en el tejido del corcho, sus observaciones carecían de una unidad teórica subyacente. Hubo que esperar hasta 1838 para que el botánico alemán Matthias Jacob Schleiden, interesado en la anatomía de las plantas, afirmara que "las plantas inferiores constan todas de una célula, mientras que las superiores están compuestas de (muchas) células individuales". Cuando el fisiólogo alemán Theodor

Schwann, amigo de Schleiden, amplió la teoría celular para incluir a los animales, propició un acercamiento entre la botánica y la zoología. La formación de la teoría celular de que todas las plantas y los animales están formados por células supuso un gran avance conceptual en la biología y dio lugar a una renovada atención a los procesos vivos que tienen lugar en las células.

En 1846, después de que varios investigadores describieran el movimiento del citoplasma en las células vegetales, el botánico alemán Hugo von Mohl acuñó la palabra *protoplasma* para designar la sustancia viva de la célula. El concepto de protoplasma como base física de la vida condujo al desarrollo de la fisiología celular.

Otra ampliación de la teoría celular fue el desarrollo de la patología celular por parte del científico alemán Rudolf Virchow, que estableció la relación entre los acontecimientos anormales en el cuerpo y las actividades celulares inusuales. El trabajo de Virchow dio una nueva dirección al estudio de la patología y dio lugar a avances en la medicina.

La descripción detallada de la división celular fue aportada por el citólogo alemán de plantas Eduard Strasburger, que observó el proceso mitótico en las células vegetales y demostró además que los núcleos surgen sólo de núcleos preexistentes. El anatomista alemán Walther Flemming realizó un trabajo paralelo en los

mamíferos y publicó sus hallazgos más importantes en *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung* ("Sustancia celular, núcleo y división celular") en 1882.

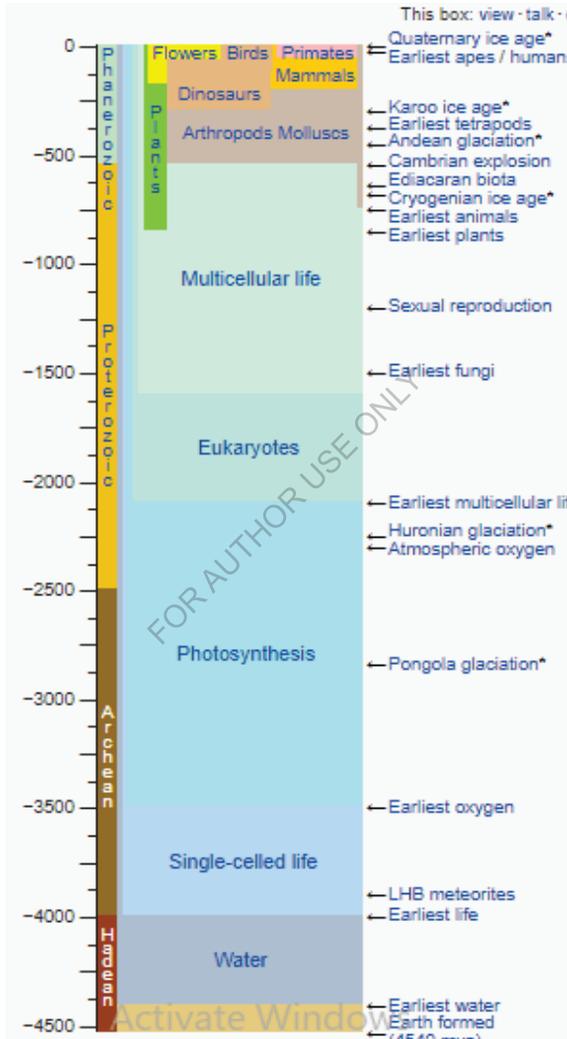


Figura (7): El desarrollo de la teoría celular.

## La teoría de la evolución

A medida que se acumulaban los conocimientos sobre las formas vegetales y animales durante los siglos XVI, XVII y XVIII, algunos biólogos empezaron a especular sobre la ascendencia de esos organismos, aunque la opinión predominante era la promulgada por Linneo, es decir, la inmutabilidad de las especies. Entre las primeras especulaciones expresadas durante el siglo XVIII, el médico británico Erasmus Darwin (abuelo de Charles Darwin), llegó a la conclusión de que las especies descienden de ancestros comunes y que existe una lucha por la existencia entre los animales. El biólogo francés Jean-Baptiste Lamarck, uno de los más importantes de los evolucionistas del siglo XVIII, reconoció el papel del aislamiento en la formación de las especies; también vio la unidad en la naturaleza y concibió la idea del árbol evolutivo.

Sin embargo, no se anunció una teoría completa de la evolución hasta la publicación en 1859 de la obra de Charles Darwin *El origen de las especies por medio de la selección natural o la conservación de las razas favorecidas en la lucha por la vida*. En su libro, Darwin afirmaba que todos los seres vivos se multiplican con tanta rapidez que, si no se les pone freno, pronto sobrepoblarán el mundo. Según Darwin, el control del tamaño de la población se mantiene mediante la competencia por los medios de vida. Por lo tanto, si algún miembro de una especie difiere de alguna manera

que lo hace más apto para sobrevivir, entonces tendrá una ventaja que su descendencia probablemente perpetuará. La obra de Darwin refleja la influencia del economista británico Thomas Robert Malthus, que en 1838 publicó un ensayo sobre la población en el que advertía de que si los seres humanos se multiplican más rápidamente que su oferta de alimentos, se producirá una competencia por la existencia. Darwin también recibió la influencia del geólogo británico Charles Lyell, quien, a partir de sus estudios de las formaciones geológicas, se dio cuenta de que la edad relativa de los yacimientos podía estimarse mediante la proporción de moluscos vivos y extintos. Pero no fue hasta después de sus viajes a bordo del *Beagle* (1831-36), durante los cuales observó una gran riqueza y diversidad de la fauna insular, cuando Darwin comenzó a desarrollar su teoría de la evolución. Alfred Russel Wallace había llegado a conclusiones similares a las de Darwin tras sus estudios sobre las plantas y los animales del archipiélago malayo. Un breve documento sobre este tema enviado por Wallace a Darwin dio lugar finalmente a la publicación de las teorías del propio Darwin.

Desde el punto de vista conceptual, la teoría era de la máxima importancia, ya que explicaba la formación de nuevas especies. Tras el posterior descubrimiento de la base cromosómica de la herencia y de las leyes de la misma, se pudo comprobar que la selección natural no implica las alternativas tajantes de vida o muerte, sino que resulta de la supervivencia diferencial de las

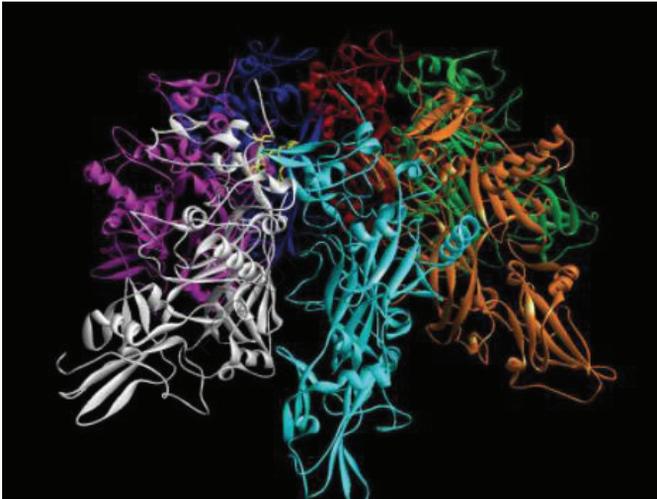
variantes. Hoy en día, el principio universal de la selección natural, que es el concepto central de la teoría de Darwin, está firmemente establecido.

### **Importantes avances conceptuales y tecnológicos**

Al utilizar métodos modernos de investigación, como la difracción de rayos X y la microscopía electrónica, para explorar niveles de organización celular más allá de lo visible con un microscopio de luz, la ultraestructura de la célula, se produjeron nuevos conceptos de la función celular. Como resultado, el estudio de la organización molecular de la célula tuvo un enorme impacto en la biología durante los siglos XX y XXI. También condujo directamente a la convergencia de muchas disciplinas científicas diferentes para adquirir una mejor comprensión de los procesos vitales.

También se desarrollaron tecnologías como la secuenciación del ADN y la reacción en cadena de la polimerasa, que permitieron a los biólogos asomarse a los planos genéticos que dan lugar a los organismos. Las tecnologías de secuenciación de primera generación surgieron en los años 70 y fueron seguidas varias décadas después por las llamadas tecnologías de secuenciación de próxima generación, superiores en velocidad y rentabilidad. La

secuenciación de nueva generación proporcionó a los investigadores cantidades masivas de datos genéticos, normalmente de tamaño gigabase (1 gigabase = 1.000.000.000 de pares de bases de ADN). La bioinformática, que vincula los datos biológicos con herramientas y técnicas de análisis, almacenamiento y distribución de datos, se convirtió en una parte cada vez más importante de los estudios biológicos, en particular los que implican conjuntos muy grandes de datos genéticos.



**Figura (8): Importantes avances conceptuales y tecnológicos.**

Esta imagen computarizada del ántrax muestra las diversas relaciones estructurales de siete unidades dentro de la proteína y demuestra la interacción de un fármaco (mostrado en amarillo) unido a la proteína para bloquear la llamada unidad del factor letal.

La bioinformática desempeña un papel importante al permitir a los científicos predecir dónde se unirá una molécula de fármaco dentro de una proteína, dadas las estructuras individuales de las moléculas.

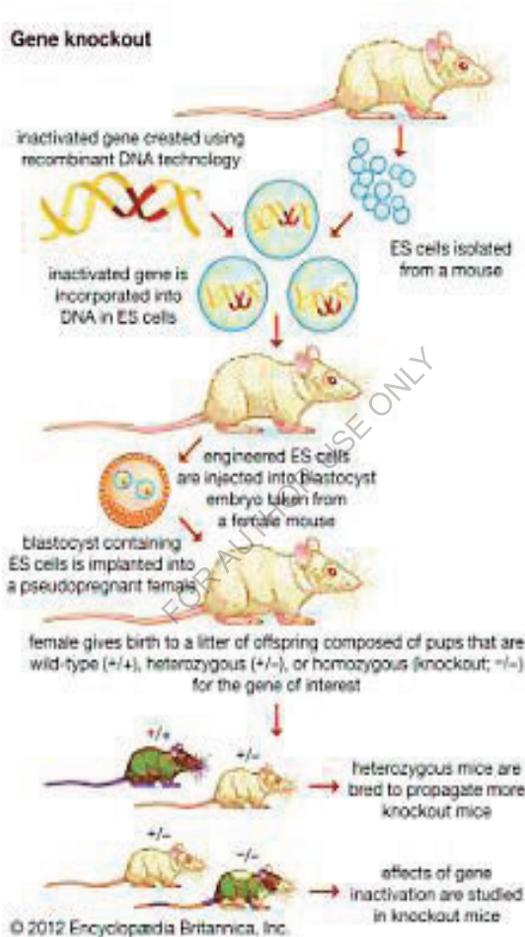


Figura (9): Importante en los desarrollos conceptuales y tecnológicos del knockout de genes.

En el knockout génico, un gen funcional se sustituye por un gen inactivado que se crea mediante la tecnología del ADN recombinante. Cuando se "elimina" un gen, el fenotipo mutante resultante (características observables) suele revelar la función biológica del gen.

En la década de 1990 y principios de 2000, los investigadores de todo el mundo se unieron cada vez más en consorcios y otros grupos de colaboración para lograr grandes hazañas en biología. El primer gran éxito de estos esfuerzos fue la secuenciación del genoma humano, que se llevó a cabo a través del Proyecto Genoma Humano (HGP). El HGP comenzó en 1990, con el apoyo del Departamento de Energía de EE.UU. y los Institutos Nacionales de Salud (NIH). Posteriormente, los investigadores de los NIH se unieron a Celera Genomics, una empresa del sector privado, y el proyecto se completó en 2003. Pronto le siguieron otros proyectos de colaboración, como el Proyecto Internacional HapMap, una consecuencia del HGP, y el Proyecto 1000 Genomas, que se basó en los datos del HapMap.

En los siglos XX y XXI también se produjeron importantes avances en áreas de la biología relacionadas con los ecosistemas, el medio ambiente y la conservación. En el siglo XX, los científicos se dieron cuenta de que los seres humanos dependen de los recursos

naturales de la Tierra tanto como los demás animales. Sin embargo, los seres humanos estaban contribuyendo a la progresiva destrucción del medio ambiente, en parte debido al aumento de la presión demográfica y a ciertos avances tecnológicos. Los avances en medicina, por ejemplo, han permitido que la gente viva más tiempo y han provocado un descenso espectacular de las tasas de mortalidad (principalmente en los países desarrollados), lo que ha contribuido a un aumento explosivo de la población humana. Los contaminantes químicos introducidos en el medio ambiente por los procesos de fabricación, los pesticidas, las emisiones de los automóviles y otros medios ponían en grave peligro todas las formas de vida. Por ello, los biólogos empezaron a prestar mucha más atención a las relaciones de los seres vivos entre sí y con su entorno biótico y abiótico.

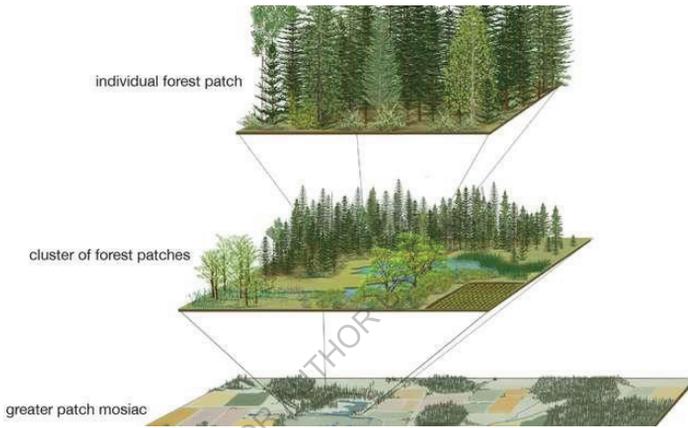
La creciente importancia del cambio climático y su impacto en los ecosistemas impulsó los avances en ecología, así como el desarrollo de campos como la biología de la conservación y la genética de la conservación. Al igual que en casi todas las demás áreas de la biología, la biología molecular pasó a desempeñar un papel importante en esos campos, con técnicas como la secuenciación del genoma completo, que se utiliza para recopilar información sobre la diversidad genética de las poblaciones de especies en peligro de extinción, y técnicas como la clonación y la edición del genoma, que plantean la posibilidad de resucitar algún

día especies extinguidas (un proceso conocido como desextinción). La información sobre las secuencias de ADN de una amplia gama de especies también ha contribuido al progreso de los científicos en la comprensión de la evolución y la sistemática (el estudio de las relaciones evolutivas y la diversificación de la vida).

### **Trabajo intradisciplinario e interdisciplinario**

En el siglo XXI, había muchas categorías importantes en las ciencias biológicas y, por tanto, numerosas especialidades dentro de los campos. La botánica, la zoología y la microbiología se ocupaban de los tipos de organismos y sus relaciones entre sí. Estas disciplinas se han subdividido durante mucho tiempo en categorías más especializadas, por ejemplo, la ictiología, el estudio de los peces, y la algología, el estudio de las algas. Disciplinas como la embriología y la fisiología, que se ocupan del desarrollo y la función de un organismo, se dividieron además según el tipo de organismo estudiado, por ejemplo, embriología de invertebrados y fisiología de mamíferos. Muchos de los avances en fisiología y embriología fueron el resultado de los estudios en biología celular, biofísica y bioquímica. Asimismo, la investigación en fisiología celular y citoquímica, junto con los estudios ultraestructurales, ayudaron a los científicos a correlacionar la estructura celular con la función. La ecología, que se centraba en las relaciones entre los organismos y su entorno, incluía tanto las características físicas del

entorno como otros organismos que podían competir por el alimento y el refugio. El énfasis en los distintos entornos y en determinadas características de los organismos dio lugar a la subdivisión del campo en una serie de especialidades, como la ecología de agua dulce, la ecología marina y la ecología de poblaciones.



**Figura (10): Trabajo intradisciplinario e interdisciplinario.**

### **La escala en los estudios ecológicos**

Una mancha forestal anidada dentro de un mosaico paisajístico.

Muchas áreas de estudio de las ciencias biológicas traspasan las fronteras que tradicionalmente separaban las distintas ramas de las ciencias. En biofísica, por ejemplo, los investigadores aplican los principios y métodos de la física para investigar y encontrar

soluciones a los problemas de la biología. Los biólogos evolutivos y los paleontólogos están familiarizados con los principios de la geología y pueden incluso colaborar estrechamente con los geólogos cuando intentan determinar la edad de los restos biológicos. Asimismo, los antropólogos y arqueólogos aplican los conocimientos de la cultura y la sociedad humanas a los hallazgos biológicos para comprender mejor a la humanidad. La astrobiología surgió gracias a las actividades de los científicos e ingenieros relacionados con la exploración del espacio. En consecuencia, el campo de la biología ha recibido aportaciones de muchas otras disciplinas, tanto en las humanidades como en las ciencias, y ha hecho contribuciones a las mismas.

A lo largo de los siglos XX y XXI, a medida que la biología se interconectaba cada vez más con otras áreas de la ciencia, también llegó a abarcar una serie de disciplinas por sí misma. En algunas de esas disciplinas se reconocieron múltiples niveles de organización, como la biología de las poblaciones (el estudio de las poblaciones de seres vivos) y la biología organísmica (el estudio de todo el organismo), así como la biología celular y la biología molecular. A finales del siglo XX, la biología molecular generó aún más disciplinas y la llegada de la genómica dio lugar a la aparición de sofisticadas subdisciplinas, como la genómica del desarrollo y la genómica funcional. La genética continuó expandiéndose, dando lugar a nuevas áreas como la genética de la conservación. Sin

embargo, a pesar de su diverso alcance, en el siglo XXI muchas áreas de las ciencias biológicas siguieron basándose en principios e ideas comunes y unificadoras, en particular las que eran fundamentales para la taxonomía, la genética y la evolución.

*Susan Heyner Joshi Edna R. Green Kara Rogers.*

### **Cambio de valores sociales y científicos**

En los siglos XX y XXI, el papel de los biólogos en la sociedad, así como su responsabilidad moral y ética en el descubrimiento y desarrollo de nuevas ideas, han llevado a una reevaluación de los sistemas de valores sociales y científicos individuales. Los científicos no pueden permitirse el lujo de ignorar las consecuencias de sus descubrimientos; están tan preocupados por los posibles usos indebidos de sus hallazgos como por la investigación básica en la que participan. En el siglo XX, el emergente papel social y político del biólogo y de todos los demás científicos exigía una ponderación de valores que no podía hacerse con la precisión u objetividad de una balanza de laboratorio. Como miembros de la sociedad, se hizo necesario que los biólogos redefinieran sus obligaciones y funciones sociales, especialmente en el ámbito de la formulación de juicios sobre problemas éticos, como el control humano del medio ambiente o la manipulación de los genes para dirigir el desarrollo evolutivo.

## **Cómo afrontar los problemas del futuro**

El desarrollo de la ingeniería genética tuvo una especial repercusión en las ciencias biológicas. En los casos de deficiencias y enfermedades genéticas, la ingeniería genética abrió la posibilidad de corregir los defectos de los genes para restaurar la función fisiológica, mejorando potencialmente la calidad de vida de los pacientes. La terapia génica, en la que se introduce un gen normal en el genoma de un individuo para reparar una mutación causante de una enfermedad, era uno de los medios por los que los investigadores podían alcanzar ese objetivo. Sin embargo, las posibilidades de uso indebido de la ingeniería genética son enormes. Por ejemplo, existe una gran preocupación por los organismos modificados genéticamente, en particular los cultivos modificados, y por su impacto en la salud humana y medioambiental. La aparición de las tecnologías de clonación, incluida la transferencia de núcleos de células somáticas, también suscitó preocupación. La Declaración sobre la Clonación Humana aprobada en 2005 por las Naciones Unidas pedía a los Estados miembros que prohibieran la clonación de seres humanos, aunque dejaba abierta la posibilidad de la clonación terapéutica.

Asimismo, en 2015, los investigadores que habían desarrollado tecnologías para la edición de genes, que permitían a los científicos personalizar la composición genética de un organismo mediante la alteración de bases específicas en su secuencia de ADN, pidieron

una moratoria en la aplicación de las tecnologías en humanos. Se desconocen las repercusiones de la edición de genes en la genética humana y no existe ninguna normativa que oriente su uso. De hecho, en ausencia de una regulación estricta, un científico chino avanzó en la edición de genes en humanos, y a finales de 2018 reivindicó el nacimiento de los primeros bebés del mundo con genomas editados. El científico afirmó haber editado embriones humanos para desactivar un gen que normalmente facilita la entrada del VIH en las células; los embriones fueron implantados en una mujer y llevados a término. Mientras tanto, investigadores de Estados Unidos intentaron utilizar la edición de genes para alterar los genes del esperma humano, lo que permitiría que los genes editados se transmitieran a las generaciones siguientes. En particular, los investigadores trataron de alterar los genes que aumentan el riesgo de ciertos tipos de cáncer, con el objetivo de reducir el riesgo de cáncer en la descendencia. El debate sobre la edición de genes renovó las discusiones anteriores sobre las repercusiones éticas y sociales de la ingeniería genética en los seres humanos, especialmente su potencial para alterar rasgos como la inteligencia y la apariencia.

Otros retos a los que se enfrentaban los biólogos eran la búsqueda de formas de frenar la contaminación ambiental sin interferir en los esfuerzos por mejorar la calidad de vida de la humanidad. Al problema de la contaminación contribuyó el del

exceso de población humana. El aumento de la población humana en todo el mundo ha supuesto una mayor demanda de tierras, especialmente en el ámbito de la producción de alimentos, y ha hecho necesario el aumento de las operaciones de la industria moderna, cuyos productos de desecho contribuyen a la contaminación del aire, el agua y el suelo. Para encontrar soluciones al calentamiento global, la contaminación y otros problemas medioambientales, los biólogos trabajaron con científicos sociales y otros miembros de la sociedad para determinar los requisitos necesarios para mantener un planeta sano y productivo. Porque aunque muchos de los problemas presentes y futuros de la humanidad puedan parecer de naturaleza esencialmente social, política o económica, tienen ramificaciones biológicas que podrían afectar a la propia existencia de la vida.

## **1-1 Tipos de células**

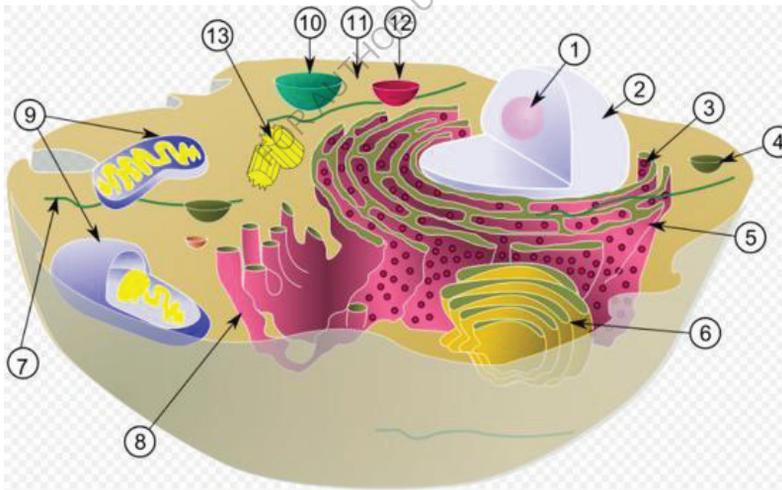
### **Células**

La teoría celular afirma que las células son las unidades fundamentales de la vida, que todos los seres vivos están compuestos por una o más células y que todas las células surgen de células preexistentes mediante la división celular. La mayoría de las células son muy pequeñas, con diámetros que oscilan entre 1 y 100 micrómetros, por lo que sólo son visibles con un microscopio de luz o electrónico. En general, hay dos tipos de células: las eucariotas, que contienen un núcleo, y las procariotas, que no lo tienen. Los procariotas son organismos unicelulares, como las bacterias, mientras que los eucariotas pueden ser unicelulares o multicelulares. En los organismos pluricelulares, cada célula del cuerpo del organismo deriva en última instancia de una única célula de un óvulo fecundado.

### **Estructura celular**

Toda célula está encerrada en una membrana celular que separa su citoplasma del espacio extracelular. Una membrana celular está formada por una bicapa lipídica, que incluye colesterol que se sitúan entre los fosfolípidos para mantener su fluidez a distintas temperaturas. Las membranas celulares son semipermeables y permiten el paso de pequeñas moléculas, como el oxígeno, el

dióxido de carbono y el agua, pero restringen el movimiento de moléculas más grandes y de partículas cargadas, como los iones. Las membranas celulares también contienen proteínas de membrana, incluyendo proteínas integrales de membrana que atraviesan la membrana sirviendo como transportadores de membrana, y proteínas periféricas que se adhieren libremente al lado exterior de la membrana celular, actuando como enzimas que dan forma a la célula. Las membranas celulares participan en varios procesos celulares, como la adhesión celular, el almacenamiento de energía eléctrica y la señalización celular, y sirven de superficie de unión para varias estructuras extracelulares, como la pared celular, el glicocálix y el citoesqueleto.



**Figura (11): Estructura celular.**

Dentro del citoplasma de una célula hay muchas biomoléculas, como las proteínas y los ácidos nucleicos.<sup>[46]</sup> Además de las biomoléculas, las células eucariotas tienen estructuras especializadas llamadas orgánulos que tienen sus propias bicapas lipídicas o son unidades espaciales. Estos orgánulos incluyen el núcleo celular, que contiene la información genética de la célula, o las mitocondrias, que generan trifosfato de adenosina (ATP) para alimentar los procesos celulares. Otros orgánulos, como el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi, intervienen en la síntesis y el empaquetamiento de las proteínas, respectivamente. Las biomoléculas, como las proteínas, pueden ser engullidas por los lisosomas, otro orgánulo especializado. Las células vegetales tienen otros orgánulos que las distinguen de las células animales, como la pared celular, los cloroplastos y la vacuola.

## **Metabolismo**

Todas las células necesitan energía para mantener los procesos celulares. La energía es la capacidad de realizar un trabajo que, en termodinámica, puede calcularse mediante la energía libre de Gibbs. Según la primera ley de la termodinámica, la energía se conserva, es decir, no se puede crear ni destruir. Por lo tanto, las reacciones químicas en una célula no crean nueva energía, sino que participan en la transformación y transferencia de energía. Sin embargo, todas las transferencias de energía conllevan una cierta

pérdida de energía utilizable, lo que aumenta la entropía (o estado de desorden), tal y como establece la segunda ley de la termodinámica. En consecuencia, un organismo requiere un aporte continuo de energía para mantener un estado de entropía bajo. En las células, la energía puede transferirse en forma de electrones durante las reacciones redox (reducción-oxidación), almacenarse en enlaces covalentes y generarse mediante el movimiento de iones (por ejemplo, hidrógeno, sodio, potasio) a través de una membrana.

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que mantienen la vida en los organismos. Los tres objetivos principales del metabolismo son: la conversión de los alimentos en energía para el funcionamiento de los procesos celulares; la conversión de los alimentos/combustibles en bloques de construcción para las proteínas, los lípidos, los ácidos nucleicos y algunos hidratos de carbono; y la eliminación de los residuos metabólicos. Estas reacciones catalizadas por enzimas permiten a los organismos crecer y reproducirse, mantener sus estructuras y responder a su entorno. Las reacciones metabólicas pueden clasificarse como catabólicas, es decir, la descomposición de compuestos (por ejemplo, la descomposición de la glucosa en piruvato mediante la respiración celular); o anabólicas, es decir, la construcción (síntesis) de compuestos (como proteínas, hidratos de carbono, lípidos y ácidos nucleicos). Por lo general, el catabolismo libera energía y el anabolismo la consume.

Las reacciones químicas del metabolismo se organizan en rutas metabólicas, en las que una sustancia química se transforma, a través de una serie de pasos, en otra sustancia química, siendo cada paso facilitado por una enzima específica. Las enzimas son cruciales para el metabolismo porque permiten a los organismos impulsar reacciones deseables que requieren energía y que no se producen por sí mismas, acoplándolas a reacciones espontáneas que liberan energía. Las enzimas actúan como catalizadores, permiten que una reacción proceda más rápidamente sin ser consumida por ella al reducir la cantidad de energía de activación necesaria para convertir los reactivos en productos. Las enzimas también permiten regular la velocidad de una reacción metabólica, por ejemplo en respuesta a cambios en el entorno de la célula o a señales de otras células.



La respiración celular es un conjunto de reacciones y procesos metabólicos que tienen lugar en las células de los organismos para convertir la energía química de los nutrientes en trifosfato de adenosina (ATP) y liberar después los productos de desecho. Las reacciones implicadas en la respiración son reacciones catabólicas, que rompen moléculas grandes en otras más pequeñas, liberando energía porque los enlaces débiles de alta energía, en particular en el oxígeno molecular, son sustituidos por enlaces más fuertes en los productos. La respiración es una de las principales formas en que una célula libera energía química para alimentar la actividad celular. La reacción global se produce en una serie de pasos bioquímicos, algunos de los cuales son reacciones redox. Aunque la respiración celular es técnicamente una reacción de combustión, es evidente que no se parece a una cuando se produce en una célula debido a la liberación lenta y controlada de energía de la serie de reacciones.

El azúcar en forma de glucosa es el principal nutriente utilizado por las células animales y vegetales en la respiración. La respiración celular en la que interviene el oxígeno se denomina respiración aeróbica y consta de cuatro etapas: la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico (o ciclo de Krebs), la cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa. La glucólisis es un proceso metabólico que tiene lugar en el citoplasma y en el que la glucosa

se convierte en dos piruvatos, produciéndose al mismo tiempo dos moléculas netas de ATP. A continuación, cada piruvato es oxidado en acetil-CoA por el complejo piruvato deshidrogenasa, que también genera NADH y dióxido de carbono. El acetil-CoA entra en el ciclo del ácido cítrico, que tiene lugar dentro de la matriz mitocondrial. Al final del ciclo, el rendimiento total de 1 glucosa (o 2 piruvatos) es de 6 NADH, 2 FADH<sub>2</sub>, y 2 moléculas de ATP. Finalmente, la siguiente etapa es la fosforilación oxidativa, que en los eucariotas se produce en las cristas mitocondriales. La fosforilación oxidativa comprende la cadena de transporte de electrones, que es una serie de cuatro complejos proteicos que transfieren electrones de un complejo a otro, liberando así energía de NADH y FADH<sub>2</sub> que se acopla al bombeo de protones (iones de hidrógeno) a través de la membrana mitocondrial interna (quimiosmosis), lo que genera una fuerza motriz de protones.<sup>[50]</sup> La energía de la fuerza motriz de protones impulsa a la enzima ATP sintasa a sintetizar más ATP mediante la fosforilación de ADP. La transferencia de electrones termina con el oxígeno molecular como aceptor final de electrones.

Si el oxígeno no estuviera presente, el piruvato no sería metabolizado por la respiración celular, sino que sufriría un proceso de fermentación. El piruvato no es transportado a la mitocondria sino que permanece en el citoplasma, donde se convierte en productos de desecho que pueden ser eliminados de la

célula. Esto sirve para oxidar los portadores de electrones para que puedan volver a realizar la glucólisis y eliminar el exceso de piruvato. La fermentación oxida el NADH a  $\text{NAD}^+$  para que pueda ser reutilizado en la glucólisis. En ausencia de oxígeno, la fermentación evita la acumulación de NADH en el citoplasma y proporciona  $\text{NAD}^+$  para la glucólisis. Este producto de desecho varía según el organismo. En los músculos esqueléticos, el producto de desecho es el ácido láctico. Este tipo de fermentación se denomina fermentación del ácido láctico. En el ejercicio extenuante, cuando las demandas de energía superan el suministro de energía, la cadena respiratoria no puede procesar todos los átomos de hidrógeno unidos por el NADH. Durante la glucólisis anaeróbica, el  $\text{NAD}^+$  se regenera cuando los pares de hidrógeno se combinan con el piruvato para formar lactato. La formación de lactato es catalizada por la lactato deshidrogenasa en una reacción reversible. El lactato también puede utilizarse como precursor indirecto del glucógeno hepático. Durante la recuperación, cuando el oxígeno está disponible, el  $\text{NAD}^+$  se une al hidrógeno del lactato para formar ATP. En la levadura, los productos de desecho son etanol y dióxido de carbono. Este tipo de fermentación se conoce como fermentación alcohólica o de etanol. El ATP que se genera en este proceso se produce por fosforilación a nivel de sustrato, que no requiere oxígeno.

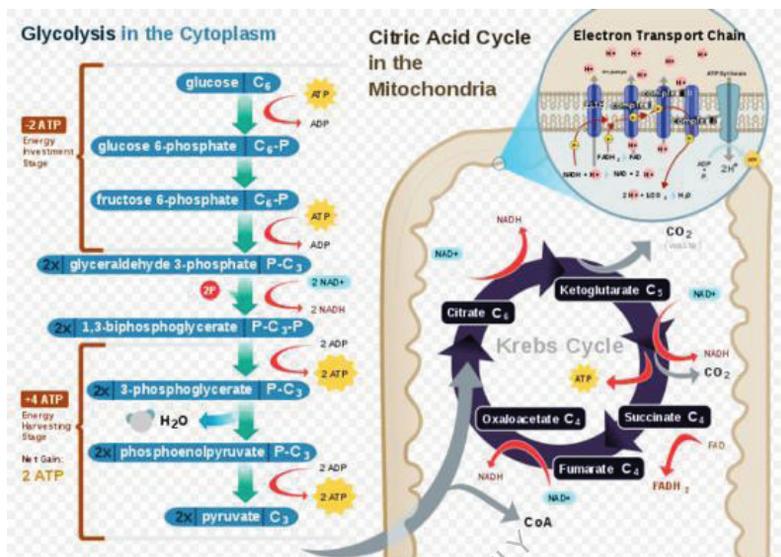


Figura (14): La respiración en una célula eucariota.

## Señalización celular

La comunicación celular (o señalización) es la capacidad de las células para recibir, procesar y transmitir señales con su entorno y consigo mismas. Las señales pueden ser no químicas, como la luz, los impulsos eléctricos y el calor, o señales químicas (o ligandos) que interactúan con los receptores, que pueden encontrarse incrustados en la membrana celular de otra célula o localizados en el interior de una célula. En general, existen cuatro tipos de señales químicas: autocrinas, paracrinas, yuxtacrinas y hormonas.<sup>[58]</sup> En la señalización autocrina, el ligando afecta a la misma célula que lo

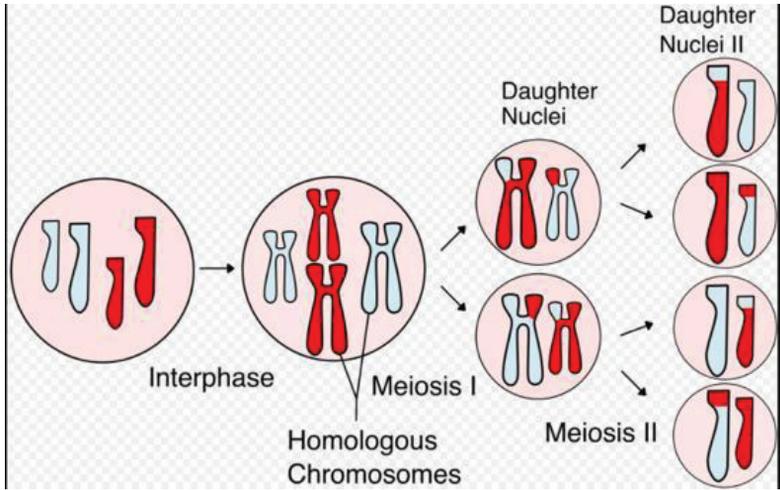
libera. Las células tumorales, por ejemplo, pueden reproducirse sin control porque liberan señales que inician su propia autodivisión. En la señalización paracrina, el ligando se difunde a las células cercanas y las afecta. Por ejemplo, las células cerebrales llamadas neuronas liberan ligandos llamados neurotransmisores que se difunden a través de una hendidura sináptica para unirse a un receptor en una célula adyacente, como otra neurona o célula muscular. En la señalización yuxtacrina, hay un contacto directo entre las células señalizadoras y las que responden. Por último, las hormonas son ligandos que viajan a través de los sistemas circulatorios de los animales o los sistemas vasculares de las plantas para llegar a sus células objetivo. Una vez que un ligando se une a un receptor, puede influir en el comportamiento de otra célula, dependiendo del tipo de receptor. Por ejemplo, los neurotransmisores que se unen a un receptor inotrópico pueden alterar la excitabilidad de una célula objetivo. Otros tipos de receptores son los receptores de proteína quinasa, por ejemplo, el receptor de la hormona insulina, y los receptores acoplados a proteínas G. La activación de los receptores acoplados a proteínas G puede iniciar cascadas de segundos mensajeros. El proceso por el que una señal química o física se transmite a través de una célula como una serie de eventos moleculares se denomina transducción de señales.

## **Ciclo celular**

El ciclo celular es una serie de acontecimientos que tienen lugar en una célula y que hacen que se divida en dos células hijas. Estos acontecimientos incluyen la duplicación de su ADN y de algunos de sus orgánulos, y la posterior partición de su citoplasma en dos células hijas en un proceso llamado división celular. En los eucariotas (es decir, las células animales, vegetales, fúngicas y protistas), existen dos tipos distintos de división celular: la mitosis y la meiosis.<sup>[60]</sup> La mitosis forma parte del ciclo celular, en el que los cromosomas replicados se separan en dos nuevos núcleos. La división celular da lugar a células genéticamente idénticas en las que se mantiene el número total de cromosomas. En general, la mitosis (división del núcleo) va precedida de la fase S de la interfase (durante la cual se replica el ADN) y suele ir seguida de la telofase y la citocinesis, que divide el citoplasma, los orgánulos y la membrana celular de una célula en dos nuevas células que contienen aproximadamente la misma proporción de estos componentes celulares. Las diferentes etapas de la mitosis definen en su conjunto la fase mitótica del ciclo celular de un animal: la división de la célula madre en dos células hijas genéticamente idénticas.<sup>[61]</sup> El ciclo celular es un proceso vital por el que un óvulo fecundado unicelular se convierte en un organismo maduro, así como el proceso por el que se renuevan el pelo, la piel, las células sanguíneas y algunos órganos internos. Tras la división celular,

cada una de las células hijas comienza la interfase de un nuevo ciclo. A diferencia de la mitosis, la meiosis da lugar a cuatro células hijas haploides mediante una ronda de replicación del ADN seguida de dos divisiones. Los cromosomas homólogos se separan en la primera división (meiosis I), y las cromátidas hermanas se separan en la segunda división (meiosis II). Ambos ciclos de división celular se utilizan en el proceso de reproducción sexual en algún momento de su ciclo vital. Se cree que ambos están presentes en el último ancestro común de los eucariotas.

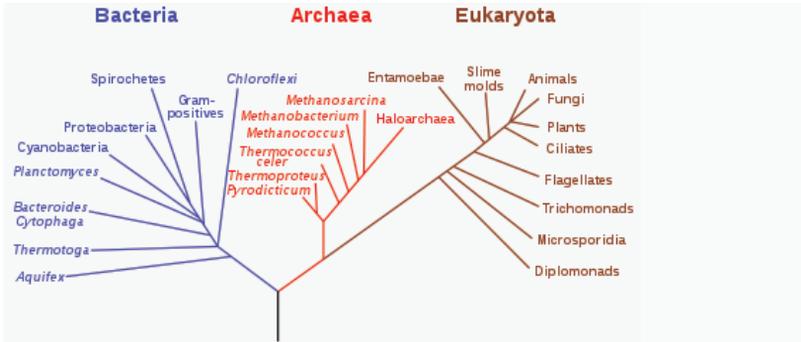
Los procariotas, por ejemplo las arqueas y las bacterias, también pueden experimentar la división celular (o fisión binaria). A diferencia de los procesos de mitosis y meiosis en los eucariotas, la fisión binaria tiene lugar en los procariotas sin la formación de un aparato de huso en la célula. Antes de la fisión binaria, el ADN de la bacteria está fuertemente enrollado. Después de desenrollarse y duplicarse, es arrastrado hacia los polos separados de la bacteria a medida que aumenta el tamaño para prepararse para la división. El crecimiento de una nueva pared celular comienza a separar la bacteria (desencadenado por la polimerización de FtsZ y la formación del "anillo Z"). La nueva pared celular (tabique) se desarrolla completamente, lo que da lugar a la división completa de la bacteria. Las nuevas células hijas tienen varillas de ADN fuertemente enrolladas, ribosomas y plásmidos.



**Figura (15): Ciclo celular.**

En la meiosis, los cromosomas se duplican y los cromosomas homólogos intercambian información genética durante la meiosis I. Las células hijas se dividen de nuevo en la meiosis II para formar gametos haploides.

## Filogenias



**Figura (16):** Árbol filogenético que muestra los dominios de bacterias, arqueas y eucariotas.

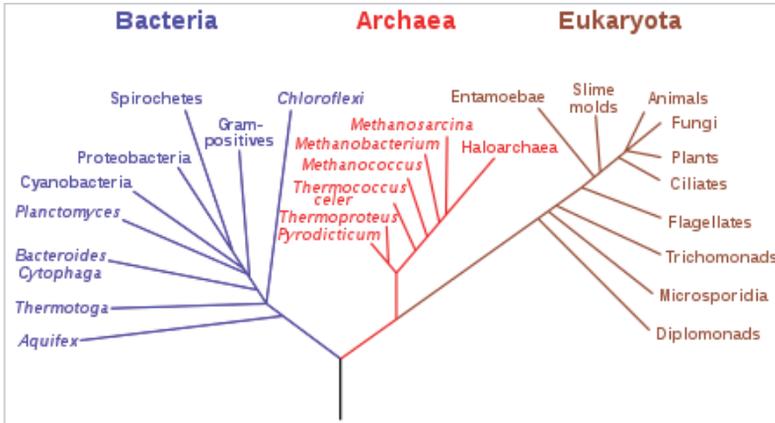
Una filogenia es la historia evolutiva de un grupo específico de organismos o de sus genes. Una filogenia puede representarse mediante un árbol filogenético, que es un diagrama que muestra las líneas de descendencia entre los organismos o sus genes. Cada línea dibujada en el eje temporal de un árbol representa un linaje de descendientes de una especie o población concreta. Cuando un linaje se divide en dos, se representa como un nodo o división en el árbol filogenético. Cuantas más escisiones haya a lo largo del tiempo, más ramas habrá en el árbol, y el ancestro común de todos los organismos de ese árbol estará representado por la raíz del mismo. Los árboles filogenéticos pueden representar la historia evolutiva de todas las formas de vida, de un grupo evolutivo importante, por ejemplo los insectos, o de un grupo aún más pequeño de especies estrechamente relacionadas. Dentro de un árbol, cualquier grupo de especies designado por un nombre es un

taxón, por ejemplo, los humanos, los primates, los mamíferos o los vertebrados, y un taxón que consiste en todos sus descendientes evolutivos es un clado, también conocido como taxón monofilético. Las especies estrechamente relacionadas se denominan especies hermanas y los clados estrechamente relacionados son clados hermanos. A diferencia de un grupo monofilético, un grupo polifilético no incluye a su ancestro común, mientras que un grupo parafilético no incluye a todos los descendientes de un ancestro común.

Los árboles filogenéticos son la base para comparar y agrupar diferentes especies. Las diferentes especies que comparten un rasgo heredado de un ancestro común se describen como características homólogas. Los rasgos homólogos pueden ser cualquier característica heredable, como la secuencia de ADN, las estructuras de las proteínas, los rasgos anatómicos y los patrones de comportamiento. La columna vertebral es un ejemplo de rasgo homólogo compartido por todos los animales vertebrados. Los rasgos que tienen una forma o función similar pero que no derivan de un ancestro común se describen como rasgos análogos. Las filogenias pueden reconstruirse para un grupo de organismos de interés primario, que se denominan el intragrupo. Una especie o grupo estrechamente relacionado con el ingruppo, pero que está filogenéticamente fuera de él, se denomina grupo externo, que sirve de punto de referencia en el árbol. La raíz del árbol se sitúa entre el

ingrupo y el outgroup cuando se reconstruyen los árboles filogenéticos, se pueden generar múltiples árboles con diferentes historias evolutivas. Basándose en el principio de parsimonia (o navaja de Occam), el árbol que se favorece es el que tiene el menor número de cambios evolutivos necesarios para asumir todos los rasgos en todos los grupos. Se pueden utilizar algoritmos computacionales para determinar cómo podría haber evolucionado un árbol teniendo en cuenta las pruebas.

La filogenia es la base de la clasificación biológica, que se basa en la taxonomía linneana desarrollada por Carl Linnaeus en el siglo XVIII.<sup>[117]</sup> Este sistema de clasificación está basado en rangos, siendo el rango más alto el dominio, seguido del reino, el filo, la clase, el orden, la familia, el género y la especie. Todos los organismos pueden clasificarse como pertenecientes a uno de los tres dominios: Archaea (originalmente Archaeobacteria); bacteria (originalmente eubacteria), o eukarya (incluye los reinos protista, hongos, plantas y animales). Para clasificar las distintas especies se utiliza una nomenclatura binomial. Según este sistema, cada especie recibe dos nombres, uno para su género y otro para su especie. Por ejemplo, los humanos son *Homo sapiens*, siendo *Homo* el género y *sapiens* la especie. Por convención, los nombres científicos de los organismos se escriben en cursiva y sólo se escribe en mayúscula la primera letra del género.



**Figura (17):** Árbol filogenético que muestra los dominios de bacterias, arqueas y eucariotas

FOR AUTHOR USE ONLY

## **A-Célula eucariota**

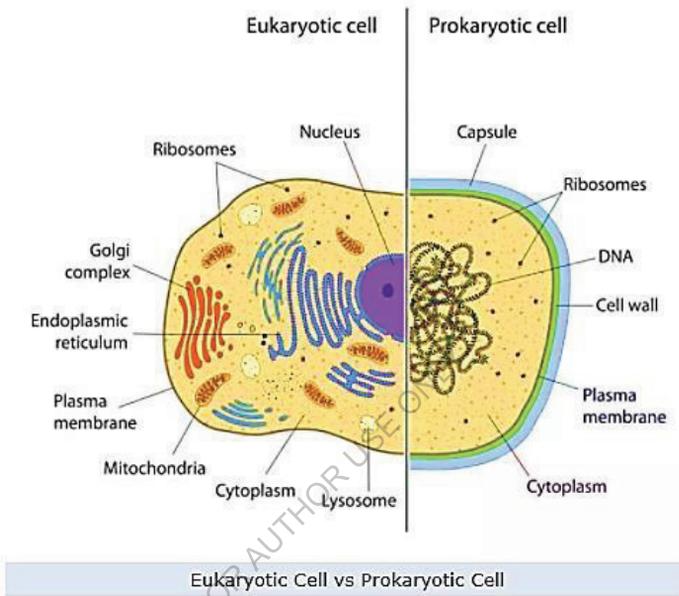
Una célula eucariota contiene orgánulos con membrana, como el núcleo, las mitocondrias y el retículo endoplásmico. Los organismos basados en la célula eucariota son los protozoos, los hongos, las plantas y los animales. Estos organismos se agrupan en el dominio biológico Eukaryota. Las células eucariotas son más grandes y complejas que las células procariotas que se encuentran en los dominios Archaea y Bacteria.

Una célula eucariota es uno de los dos tipos diferentes de células. Los organismos que se basan en la célula eucariota se denominan "eucariotas" e incluyen plantas, animales, hongos y protistas. Los únicos organismos que no se basan en la célula eucariota son los que se basan en una estructura celular procariota. Estos organismos se encuentran en los dominios Archaea y Bacteria. Hay varias diferencias entre una célula eucariota y una célula procariota que pueden ayudarle a comprender plenamente lo que hace que una célula sea eucariota.

### **Célula eucariota frente a célula procariota**

La diferencia entre una célula eucariota y una procariota es sencilla: las células eucariotas tienen orgánulos unidos a una membrana. En una célula procariota (como una bacteria) el ADN simplemente flota en el citoplasma, mientras que las células

procariotas tienen un tipo de orgánulos (ribosomas), que no están cubiertos por una membrana plasmática.



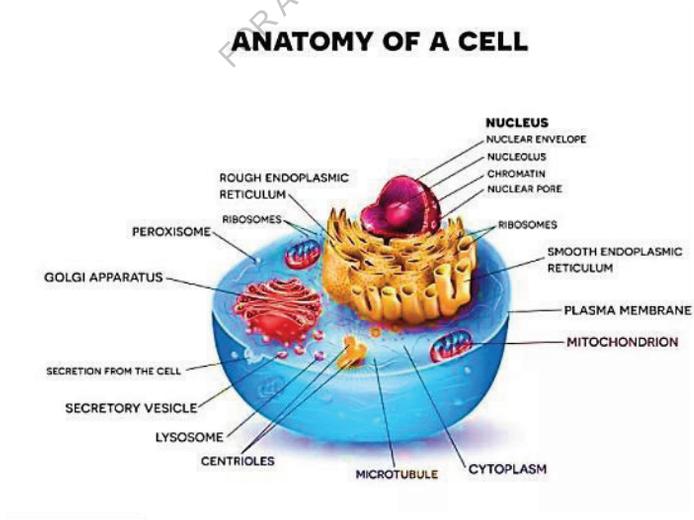
**Figura (18): Célula eucariota frente a célula procariota**

En cambio, las células eucariotas están llenas de orgánulos con membrana que dividen la célula en muchos compartimentos diferentes. El núcleo alberga el ADN. El retículo endoplásmico crea muchas cámaras para llevar a cabo reacciones bioquímicas específicas. El aparato de Golgi pliega y empaqueta diversas proteínas y productos celulares. Los lisosomas almacenan enzimas digestivas para descomponer los alimentos que llegan. Además, las células eucariotas contienen mitocondrias para crear moléculas de

ATP a partir de la glucosa y cloroplastos para crear glucosa a partir de la luz solar (sólo en plantas y algas).

## Características de una célula eucariota

Las células eucariotas contienen una serie de orgánulos que desempeñan diversas funciones dentro de la célula (que se describen en detalle más adelante). Todos los orgánulos se estabilizan y reciben apoyo físico a través del citoesqueleto, que también participa en el envío de señales de una parte de la célula a otra. En las células eucariotas, el citoesqueleto está compuesto principalmente por tres tipos de filamentos: microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. La solución acuosa que rodea a todos los orgánulos de la célula se llama citosol.



## **Figura (19): Características de una célula eucariota**

El ciclo celular es el ciclo de vida de una célula. Durante este ciclo, crece y se divide. Existen puntos de control entre todas las etapas para que las proteínas puedan determinar si la célula está lista para comenzar la siguiente fase del ciclo.

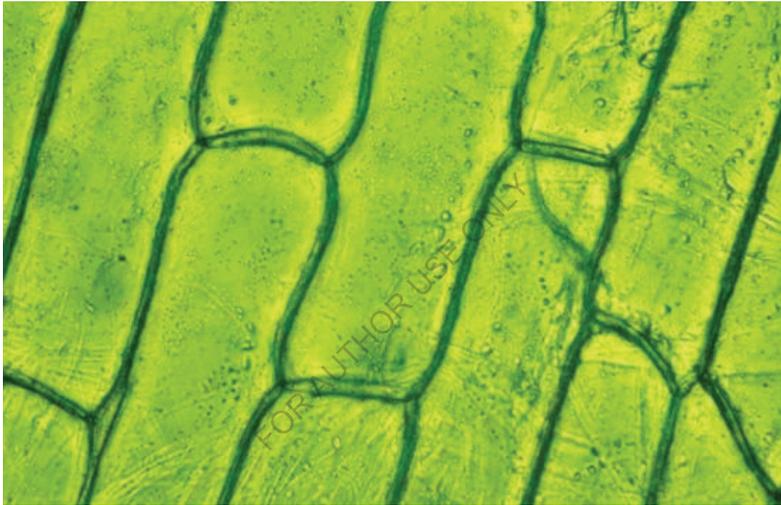
### **Mitosis (M)**

La mitosis, o fase M, es el momento en que la célula comienza a organizar su ADN duplicado para separarlo en dos células hijas. Los cromosomas se separan de manera que uno de cada cromosoma va a cada célula hija. El resultado es que las células hijas tienen cromosomas idénticos a los de la célula madre. La mitosis se divide en profase, metafase, anafase y telofase. Cada fase marca varios puntos en el proceso de separación del ADN. A la mitosis le sigue un proceso llamado citocinesis, durante el cual la célula separa sus núcleos y otros orgánulos para preparar la división y luego se divide físicamente en dos células.

### **Célula vegetal**

Las células vegetales son únicas entre las células eucariotas por varias razones. Tienen paredes celulares reforzadas y relativamente gruesas hechas de celulosa que ayudan a mantener el soporte estructural de la planta. Cada célula vegetal tiene una gran vacuola en el centro que le permite mantener la presión de turgencia. **La**

**presión de turgencia es el resultado** del agua de la vacuola central que empuja hacia fuera las paredes celulares. Las células vegetales también contienen unos orgánulos llamados cloroplastos que contienen la molécula clorofila. Esta importante molécula se utiliza en el proceso de fotosíntesis, que es la forma en que las plantas producen azúcar utilizando la energía de la luz.

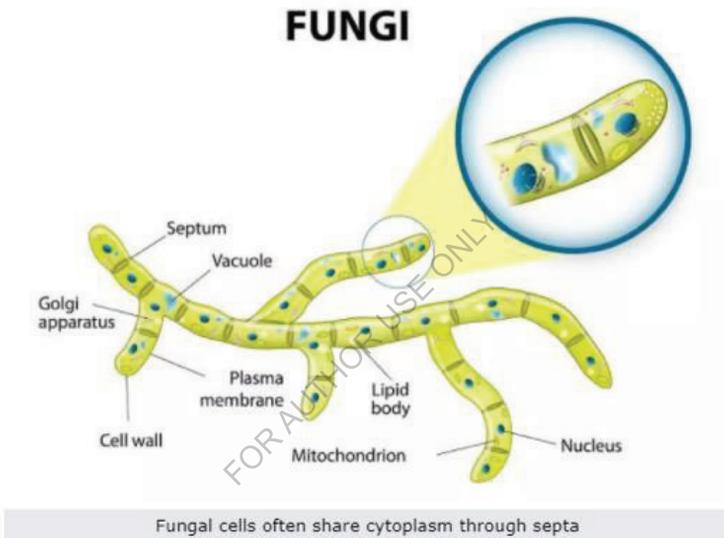


**Figura (20): Las células vegetales son células eucariotas.**

### **Células de hongos**

Al igual que las células vegetales, las células fúngicas también tienen una pared celular, pero su pared celular está hecha de quitina (la misma sustancia que se encuentra en los exoesqueletos de los insectos). Algunos hongos tienen septos, que son agujeros que

permiten el paso de orgánulos y citoplasma entre ellos. Esto hace que los límites entre las diferentes células sean menos claros. La mayoría de los hongos viven bajo tierra o en la materia orgánica en descomposición, donde la red micelial puede contener millones de células interconectadas.



**Figura (21): Las células fúngicas suelen compartir el citoplasma a través de los septos.**

### **Células animales**

Las células animales no tienen paredes celulares. En su lugar, sólo tienen una membrana plasmática. La falta de pared celular

permite a las células animales adoptar muchas formas diferentes. Esto permite que se produzcan los procesos de fagocitosis ("comer células") y pinocitosis ("beber células"). Las células animales se diferencian de las vegetales en que no tienen cloroplastos y tienen muchas vacuolas más pequeñas en lugar de una gran vacuola central.

### Protozoos

Los protozoos son organismos eucariotas que constan de una sola célula. Pueden desplazarse, comer otros organismos pequeños y digerir los alimentos dentro de las vacuolas. Algunos protozoos tienen muchos **cilios**, que son pequeños pelos móviles que les permiten nadar. Otros utilizan grandes estructuras de flagelos -que se parecen a una gran cola- para nadar por el agua. Algunos protistas también tienen una fina capa llamada película que proporciona soporte a la membrana celular.



**Figura (22): Varios tipos de protozoos.**

## **B-Célula procariota**

Las células procariotas son microorganismos unicelulares conocidos por ser los más antiguos de la Tierra. Entre los procariotas se encuentran las bacterias y las arqueas. Los procariotas fotosintéticos incluyen a las cianobacterias que realizan la fotosíntesis.

Una célula procariota consta de una sola membrana y, por tanto, todas las reacciones se producen dentro del citoplasma. Pueden ser de vida libre o parásitos.

### **Características de la célula procariota**

Las células procariotas tienen diferentes rasgos característicos. A continuación se mencionan las características de las células procariotas.

1. Carecen de membrana nuclear.
2. Las mitocondrias, los cuerpos de Golgi, el cloroplasto y los lisosomas están ausentes.
3. El material genético está presente en un solo cromosoma.
4. En ellos faltan las proteínas histónicas, importantes constituyentes de los cromosomas eucariotas.
5. La pared celular está formada por carbohidratos y aminoácidos.

6. La membrana plasmática actúa como la membrana mitocondrial que transporta las enzimas respiratorias.
7. Se dividen asexualmente por fisión binaria. El modo de reproducción sexual implica la conjugación.

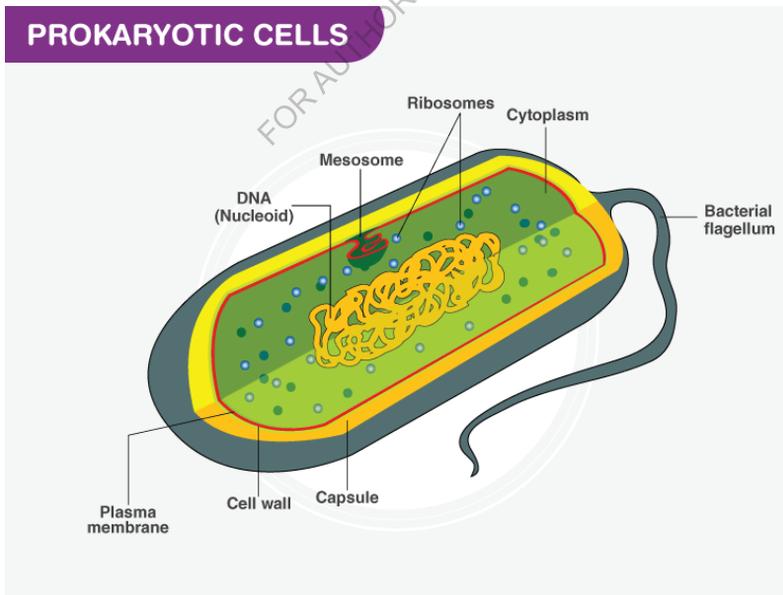
### **Estructura de la célula procariota**

Una célula procariota no tiene una membrana nuclear. Sin embargo, el material genético está presente en una región del citoplasma conocida como nucleoide. Pueden ser esféricas, en forma de varilla o en espiral. La estructura de una célula procariota es la siguiente:

1. **Cápsula:** Es una cubierta protectora externa que se encuentra en las células bacterianas, además de la pared celular. Ayuda a retener la humedad, protege a la célula cuando es engullida y ayuda a la fijación de las células a los nutrientes y a las superficies.
2. **Pared celular:** Es la capa más externa de la célula que le da forma.
3. **Citoplasma:** El citoplasma está compuesto principalmente por enzimas, sales, orgánulos celulares y es un componente de tipo gel.
4. **Membrana celular:** Esta capa rodea el citoplasma y regula la entrada y salida de sustancias en las células.

5. **Pili:** Son excrecencias en forma de pelo que se adhieren a la superficie de otras células bacterianas.
6. **Flagelos:** Son estructuras largas en forma de látigo, que ayudan a la locomoción de una célula.
7. **Ribosomas:** Participan en la síntesis de proteínas.
8. **Los plásmidos:** Los plásmidos son estructuras de ADN no cromosómicas. No participan en la reproducción.
9. **Región del nucleoide:** Es la región del citoplasma donde se encuentra el material genético.

Una célula procariota carece de ciertos orgánulos como las mitocondrias, el retículo endoplásmico y los cuerpos de Golgi.



**Figura (23): El diagrama de la célula procariota ilustra la ausencia de un verdadero núcleo.**

FOR AUTHOR USE ONLY

## 1-2 Componentes de las células procariotas

Las células procariotas tienen cuatro componentes principales:

**Membrana plasmática:** es una cubierta protectora externa de moléculas de fosfolípidos que separa la célula del entorno.

**Citoplasma** - Es una sustancia gelatinosa presente en el interior de la célula. Todos los orgánulos de la célula están suspendidos en ella.

**ADN-** Es el material genético de la célula. Todos los procariotas poseen un ADN circular. Dirige las proteínas que crea la célula. También regula las acciones de la célula.

**Ribosomas** - Aquí se produce la síntesis de proteínas.

Algunas células procariotas poseen cilios y flagelos que ayudan a la locomoción.

### Reproducción en procariotas

Un procariota se reproduce de dos maneras:

- Asexualmente por fisión binaria
- Sexualmente por conjugación

Fisión binaria

1. El ADN de un organismo se replica y las nuevas copias se adhieren a la membrana celular.

2. La pared celular empieza a aumentar de tamaño y comienza a moverse hacia el interior.
3. Entonces se forma una pared celular entre cada ADN, dividiendo la célula en dos células hijas.

## **Recombinación**

En este proceso, los genes de una bacteria se transfieren al genoma de otra. Tiene lugar de tres maneras: conjugación, transformación y transducción.

- **La conjugación** es el proceso en el que los genes se transfieren entre dos bacterias a través de una estructura tubular proteica llamada pilus.
- **La transformación** es el modo de reproducción sexual en el que el ADN del entorno es tomado por la célula bacteriana e incorporado a su ADN.
- **La transducción** es el proceso en el que el material genético se transfiere a la célula bacteriana con la ayuda de virus. Los bacteriófagos son los virus que inician el proceso.

## **Ejemplos de células procariotas**

A continuación se mencionan ejemplos de células procariotas:

## **Células bacterianas**

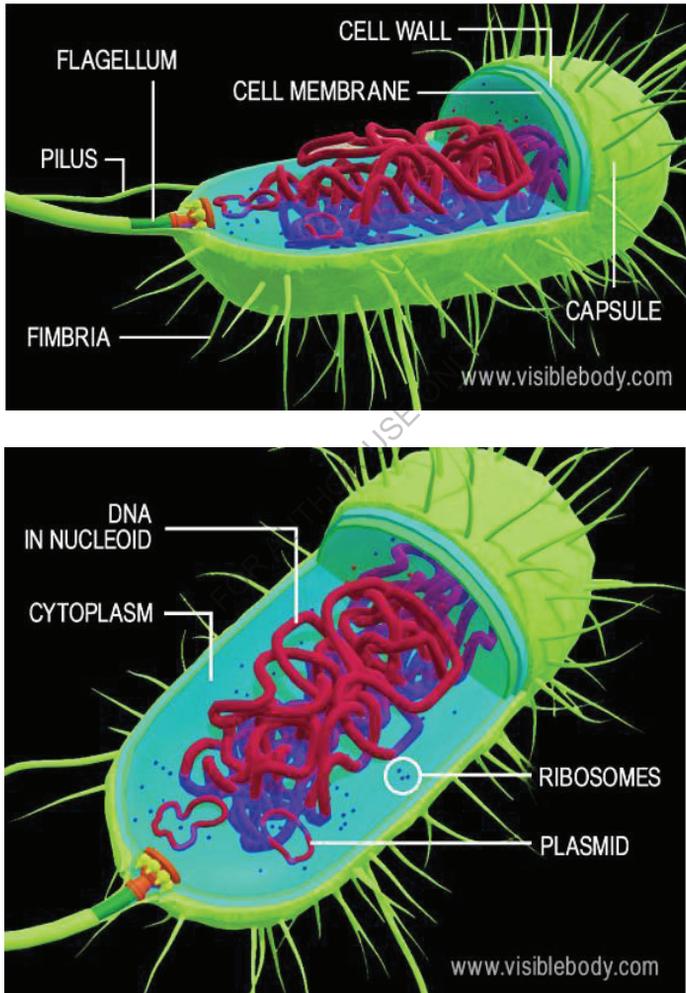
Son organismos unicelulares que se encuentran en todas partes de la tierra, desde el suelo hasta el cuerpo humano. Tienen diferentes formas y estructuras. La pared celular se compone de peptidoglicano que proporciona estructura a la pared celular.

Las bacterias tienen algunas estructuras únicas como los pili, los flagelos y la cápsula. También poseen ADN extracromosómico conocido como plásmidos. Tienen la capacidad de formar estructuras duras e inactivas conocidas como endosporas que les ayudan a sobrevivir en condiciones desfavorables. Las endosporas se activan cuando las condiciones vuelven a ser favorables.

## **Células Arqueológicas**

Las arqueobacterias son organismos unicelulares similares a las bacterias en forma y tamaño. Se encuentran en ambientes extremos como las aguas termales y en otros lugares como el suelo, los pantanos e incluso en el interior de los seres humanos. Tienen una pared celular y flagelos. La pared celular de las arqueas no contiene peptidoglicano. Las membranas de las arqueas tienen lípidos diferentes con una estereoquímica completamente distinta. Al igual que las bacterias, las arqueas tienen un cromosoma circular. También poseen plásmidos. Para obtener más información sobre las células procariotas, su definición, estructura, características y

ejemplos, siga visitando el sitio web de Biología de BYJU o descargue la aplicación de BYJU para obtener más información.



**Figura (24): Estructuras bacterianas.**

## **Pared de la celda A**

**La pared celular** es la pared de una célula en plantas, bacterias, hongos, algas y algunas arqueas. Las células animales no tienen paredes celulares, ni tampoco los protozoos. Las paredes celulares protegen a las células de los daños. También están ahí para hacer que la célula sea fuerte, para mantener su forma y para controlar el crecimiento de la célula y de la planta.

La pared celular es la capa resistente, normalmente flexible pero a veces bastante rígida, que rodea algunos tipos de células. Se encuentra fuera de la membrana celular y proporciona a estas células soporte y protección, además de actuar como filtro. La pared celular también actúa como recipiente de presión, evitando la sobreexpansión cuando el agua entra en la célula por ósmosis.

El material de la pared celular varía. En las plantas y las algas, la pared celular está formada por largas moléculas de celulosa, pectina y hemicelulosa. La pared celular tiene canales que permiten la entrada de algunas proteínas y mantienen otras fuera. El agua y las moléculas pequeñas pueden atravesar la pared celular y la membrana celular.

La pared celular tiene fuerza mecánica y soporta la forma de la célula. Esta resistencia mecánica es su principal función:

Piense en la pared celular como una cesta de mimbre en la que se ha inflado un globo para que ejerza presión desde el interior. Dicha

cesta es muy rígida y resistente a los daños mecánicos. Así, los [organismos] celulares que tienen una pared celular) obtienen su fuerza de una membrana plasmática flexible que presiona contra una pared celular rígida".

Aunque la pared celular de las plantas es fuerte, no es rígida ni rígida. La flexibilidad de las paredes celulares se observa cuando las plantas se marchitan, de modo que los tallos y las hojas comienzan a caer.

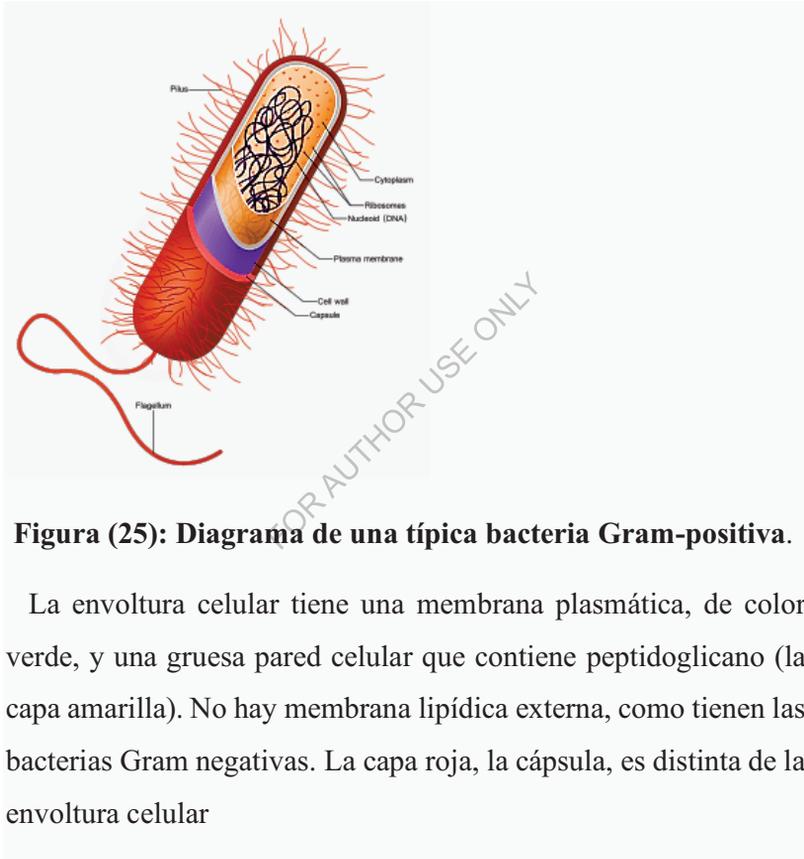
Algunas plantas añaden material de refuerzo a algunas de sus paredes celulares. Una pared celular *secundaria* es una capa adicional de celulosa que aumenta la rigidez de la pared. Se pueden añadir más capas que contengan lignina en las paredes celulares del xilema, o que contengan suberina en las paredes celulares del corcho. Estos compuestos son rígidos e impermeables. Hacen que la pared secundaria sea rígida. Tanto las células de la madera como las de la corteza de los árboles tienen paredes secundarias. Otras partes de las plantas, como el tallo de las hojas, pueden reforzarse para resistir la tensión de las fuerzas físicas.

## **Permeabilidad**

Las moléculas pequeñas, incluidas las proteínas pequeñas, pueden atravesar fácilmente la pared celular primaria de la planta. El agua y el dióxido de carbono se distribuyen por toda la planta.

El pH es un factor importante en el transporte de moléculas a través de las paredes celulares.

### **Pared celular bacteriana**



**Figura (25): Diagrama de una típica bacteria Gram-positiva.**

La envoltura celular tiene una membrana plasmática, de color verde, y una gruesa pared celular que contiene peptidoglicano (la capa amarilla). No hay membrana lipídica externa, como tienen las bacterias Gram negativas. La capa roja, la cápsula, es distinta de la envoltura celular

Alrededor del exterior de la membrana celular se encuentra la pared celular bacteriana. Las paredes celulares bacterianas están formadas por peptidoglicano, que se compone de cadenas de

polisacáridos reticulados por péptidos inusuales que contienen D-aminoácidos. Las paredes celulares bacterianas son diferentes de las paredes celulares de las plantas y los hongos, que están hechas de celulosa y quitina, respectivamente.

La pared celular de las bacterias también es distinta de la de las arqueas, que no contienen peptidoglicano. La pared celular es esencial para la supervivencia de muchas bacterias. El antibiótico penicilina es capaz de matar a las bacterias impidiendo la reticulación del peptidoglicano, lo que hace que la pared celular se debilite y se lise. La enzima lisozima también puede dañar las paredes celulares bacterianas

### **Lamela media**

La lámina media da a la célula forma, soporte y fuerza. Está formada por calcio y magnesio. Aunque se llame lámina *media*, es la parte exterior de la célula. La lámina media es la primera pared de la célula que le da protección.

### **Membrana de la célula animal**

Las células animales no tienen paredes celulares. Tienen microfilamentos (los filamentos más finos del citoesqueleto).

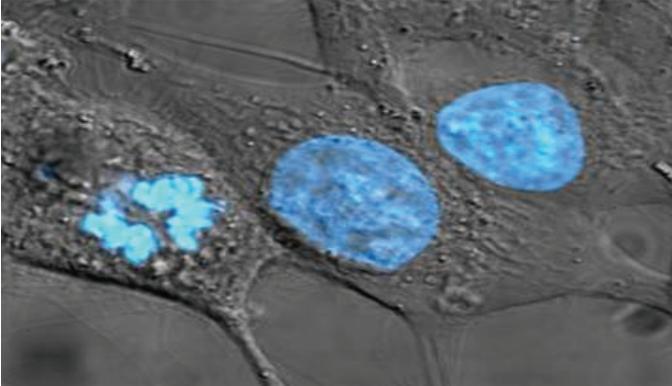
## Núcleo B

En biología celular, el **núcleo** (pl. *nuclei*; del latín *nucleus* o *nuculeus*, que significa *núcleo* o *semilla*) es un orgánulo con membrana que se encuentra en las células eucariotas. Los eucariotas suelen tener un solo núcleo, pero algunos tipos de células, como los glóbulos rojos de los mamíferos, no tienen núcleo, y otros pocos, como los osteoclastos, tienen muchos. Las principales estructuras que componen el núcleo son la envoltura nuclear, una doble membrana que encierra todo el orgánulo y aísla su contenido del citoplasma celular; y la matriz nuclear (que incluye la lámina nuclear), una red dentro del núcleo que añade soporte mecánico, de forma similar a como el citoesqueleto sostiene a la célula en su conjunto.

El núcleo celular contiene todo el genoma de la célula, excepto la pequeña cantidad de ADN mitocondrial y, en las células vegetales, el ADN plastidial. El ADN nuclear se organiza como múltiples moléculas lineales largas en un complejo con una gran variedad de proteínas, como las histonas, para formar los cromosomas. Los genes dentro de estos cromosomas están estructurados de tal manera que promueven la función celular. El núcleo mantiene la integridad de los genes y controla las actividades de la célula mediante la regulación de la expresión génica, el núcleo es, por tanto, el centro de control de la célula porque la envoltura nuclear es impermeable a las moléculas

grandes, los poros nucleares son necesarios para regular el transporte nuclear de moléculas a través de la envoltura. Los poros atraviesan ambas membranas nucleares, proporcionando un canal a través del cual las moléculas más grandes deben ser transportadas activamente por proteínas portadoras, al tiempo que permiten el libre movimiento de moléculas pequeñas e iones. El movimiento de grandes moléculas, como las proteínas y el ARN, a través de los poros es necesario tanto para la expresión de los genes como para el mantenimiento de los cromosomas.

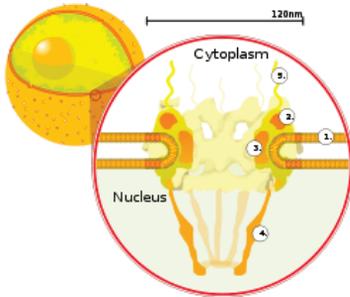
Aunque el interior del núcleo no contiene ningún subcompartimento unido a una membrana, su contenido no es uniforme y existen varios cuerpos nucleares, formados por proteínas únicas, moléculas de ARN y partes particulares de los cromosomas. El más conocido es el nucléolo, que participa principalmente en el ensamblaje de los ribosomas. Tras producirse en el nucléolo, los ribosomas se exportan al citoplasma, donde traducen el ARN mensajero.



**Figura (26): Núcleo.**

El núcleo contiene casi todo el ADN de la célula, rodeado por una red de filamentos intermedios fibrosos y envuelto en una doble membrana llamada "envoltura nuclear". La envoltura nuclear separa el líquido del interior del núcleo, llamado nucleoplasma, del resto de la célula. El tamaño del núcleo depende del tamaño de la célula en la que se encuentra, y el núcleo suele ocupar alrededor del 8% del volumen total de la célula. El núcleo es el mayor orgánulo de las células animales. En las células de los mamíferos, el diámetro medio del núcleo es de aproximadamente 6 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ).

## Envoltura nuclear y poros



**Figura (27): Envoltura nuclear y poros.**

Sección transversal de un poro nuclear en la superficie de la envoltura nuclear (1). Otros rótulos del diagrama muestran (2) el anillo exterior, (3) los radios, (4) la cesta y (5) los filamentos.

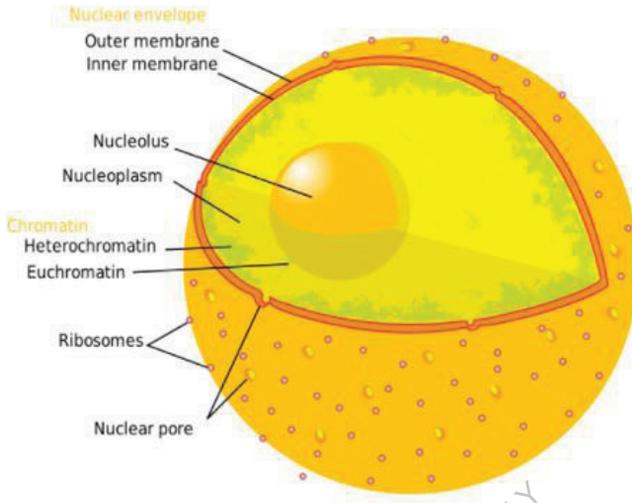
La envoltura nuclear consta de dos membranas, una interna y otra externa. Juntas, estas membranas sirven para separar el material genético de la célula del resto del contenido celular y permiten que el núcleo mantenga un entorno distinto del resto de la célula. A pesar de su estrecha aposición alrededor de gran parte del núcleo, las dos membranas difieren sustancialmente en cuanto a su forma y contenido. La membrana interna rodea el contenido nuclear, proporcionando su borde definitorio. Dentro de la membrana interna, varias proteínas unen los filamentos intermedios que dan al núcleo su estructura. La membrana externa encierra la membrana interna y es continua con la membrana del retículo endoplásmico

adyacente. Como parte de la membrana del retículo endoplásmico, la membrana nuclear externa está repleta de ribosomas que traducen activamente las proteínas a través de la membrana. El espacio entre las dos membranas, denominado "espacio perinuclear", es continuo con el lumen del retículo endoplásmico.

Los poros nucleares, que proporcionan canales acuosos a través de la envoltura, están compuestos por múltiples proteínas, denominadas colectivamente nucleoporinas. Los poros tienen un peso molecular de entre 60 y 80 millones de daltons y están formados por entre 50 (en la levadura) y varios cientos de proteínas (en los vertebrados). Los poros tienen un diámetro total de 100 nm; sin embargo, la brecha a través de la cual las moléculas difunden libremente sólo tiene una anchura de unos 9 nm, debido a la presencia de sistemas reguladores en el centro del poro. Este tamaño permite selectivamente el paso de pequeñas moléculas hidrosolubles, al tiempo que impide que moléculas más grandes, como los ácidos nucleicos y las proteínas de mayor tamaño, entren o salgan del núcleo de forma inapropiada. Estas grandes moléculas deben ser transportadas activamente al núcleo. El núcleo de una célula típica de mamífero tiene entre 3.000 y 4.000 poros a lo largo de su envoltura, cada uno de los cuales contiene una estructura en forma de anillo óctuplemente simétrico en una posición en la que se fusionan las membranas interna y externa. Al anillo se une una estructura llamada **cesta nuclear** que se extiende hasta el

nucleoplasma, y una serie de extensiones filamentosas que llegan hasta el citoplasma. Ambas estructuras sirven para mediar la unión a las proteínas de transporte nuclear.

La mayoría de las proteínas, subunidades ribosómicas y algunos ARN son transportados a través de los complejos de poros en un proceso mediado por una familia de factores de transporte conocidos como carioferinas. Las carioferinas que median en el movimiento hacia el núcleo se denominan también importinas, mientras que las que median en el movimiento hacia fuera del núcleo se denominan exportinas. La mayoría de las carioferinas interactúan directamente con su carga, aunque algunas utilizan proteínas adaptadoras. Las hormonas esteroides, como el cortisol y la aldosterona, así como otras pequeñas moléculas solubles en lípidos que participan en la señalización intercelular, pueden difundirse a través de la membrana celular hasta el citoplasma, donde se unen a las proteínas de los receptores nucleares que son transportadas al núcleo. Allí actúan como factores de transcripción cuando se unen a su ligando; en ausencia de un ligando, muchos de estos receptores funcionan como desacetilasas de histonas que reprimen la expresión génica



**Figura (28): Envoltura nuclear y poros.**

### **Lámina nuclear**

En las células animales, dos redes de filamentos intermedios proporcionan al núcleo un soporte mecánico: La lámina nuclear forma una malla organizada en la cara interna de la envoltura, mientras que en la cara citosólica de la envoltura se proporciona un soporte menos organizado. Ambos sistemas proporcionan soporte estructural a la envoltura nuclear y lugares de anclaje para los cromosomas y los poros nucleares.

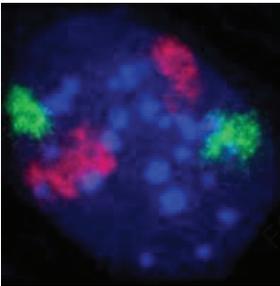
La lámina nuclear está compuesta principalmente por proteínas laminares. Como todas las proteínas, las láminas se sintetizan en el citoplasma y posteriormente se transportan al interior del núcleo,

donde se ensamblan antes de incorporarse a la red existente de láminas nucleares. Las lamininas que se encuentran en la cara citosólica de la membrana, como la emerina y la nesprina, se unen al citoesqueleto para proporcionar soporte estructural. Las lamininas también se encuentran en el interior del nucleoplasma, donde forman otra estructura regular, conocida como velo *nucleoplásmico*, que es visible mediante microscopía de fluorescencia. La función real del velo no está clara, aunque está excluido del nucleoplasma y está presente durante la interfase. Las estructuras laminares que componen el velo, como la LEM3, se unen a la cromatina y la alteración de su estructura inhibe la transcripción de los genes codificantes de proteínas.

Al igual que los componentes de otros filamentos intermedios, el monómero de la lámina contiene un dominio alfa-helicoidal utilizado por dos monómeros para enrollarse uno alrededor del otro, formando una estructura de dímero llamada espiral enrollada. A continuación, dos de estas estructuras dímero se unen una al lado de la otra, en una disposición antiparalela, para formar un tetrámero llamado *protofilamento*. Ocho de estos protofilamentos forman una disposición lateral que se retuerce para formar un *filamento* en forma de cuerda. Estos filamentos pueden ensamblarse o desensamblarse de forma dinámica, lo que significa que los cambios en la longitud del filamento dependen de las tasas de adición y eliminación de filamentos que compiten entre sí.

Las mutaciones en los genes de las láminas que provocan defectos en el ensamblaje de los filamentos causan un grupo de trastornos genéticos raros conocidos como *laminopatías*. La laminopatía más notable es la familia de enfermedades conocida como progeria, que provoca la aparición de un envejecimiento prematuro en sus enfermos. El mecanismo exacto por el que los cambios bioquímicos asociados dan lugar al fenotipo envejecido no se conoce bien.

## Cromosomas



**Figura (28): Un núcleo de fibroblasto de ratón en el que el ADN se tiñe de azul. Los distintos territorios cromosómicos del cromosoma 2 (rojo) y del cromosoma 9 (verde) se tiñen con hibridación in situ fluorescente.**

El núcleo celular contiene la mayor parte del material genético de la célula en forma de múltiples moléculas lineales de ADN organizadas en estructuras llamadas cromosomas. Cada célula humana contiene aproximadamente dos metros de ADN. Durante

la mayor parte del ciclo celular, éstos se organizan en un complejo de ADN-proteína conocido como cromatina, y durante la división celular la cromatina puede verse formando los cromosomas bien definidos que se conocen en un cariotipo. En cambio, una pequeña fracción de los genes de la célula se encuentra en las mitocondrias.

Existen dos tipos de cromatina. La eucromatina es la forma de ADN menos compacta y contiene los genes que la célula expresa con frecuencia. El otro tipo, la heterocromatina, es la forma más compacta y contiene ADN que se transcribe con poca frecuencia. Esta estructura se clasifica a su vez en heterocromatina *facultativa*, que consiste en genes que se organizan como heterocromatina sólo en ciertos tipos de células o en ciertas etapas del desarrollo, y heterocromatina *constitutiva* que consiste en componentes estructurales del cromosoma como los telómeros y los centrómeros. Durante la interfase, la cromatina se organiza en parches individuales discretos llamados *territorios cromosómicos*. Los genes activos, que generalmente se encuentran en la región eucromática del cromosoma, tienden a localizarse hacia el límite del territorio cromosómico.

Los anticuerpos contra ciertos tipos de organización de la cromatina, en particular los nucleosomas, se han asociado a varias enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico. Se conocen como anticuerpos antinucleares (ANA) y también se

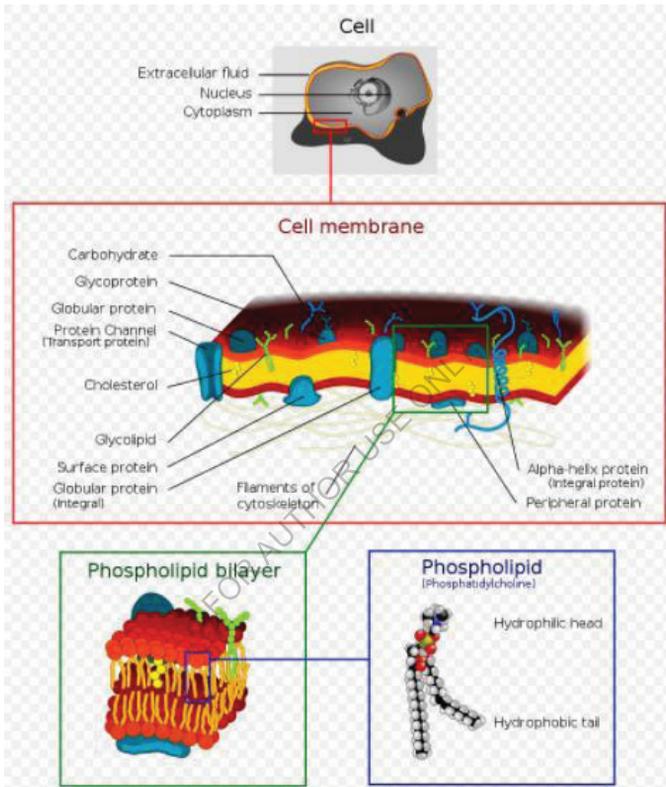
han observado en conjunto con la esclerosis múltiple como parte de la disfunción general del sistema inmunitario.

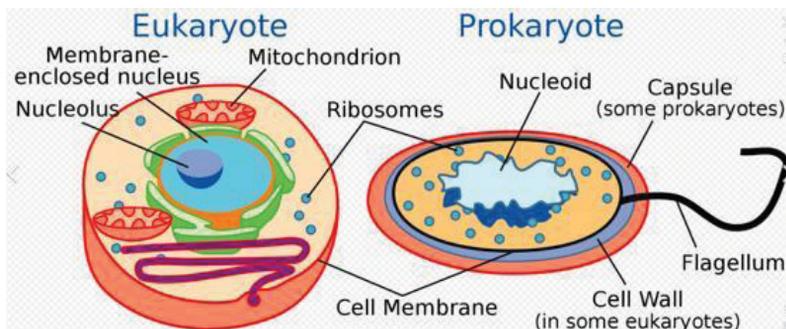
FOR AUTHOR USE ONLY

## Membrana de la célula C

La membrana celular, también conocida como membrana plasmática (MP) o membrana citoplasmática e históricamente denominada plasmalema, es una membrana biológica que separa el interior de todas las células del entorno exterior (el espacio extracelular) que protege a la célula de su entorno. La membrana celular está formada por una bicapa lipídica, que incluye colesterol (un componente lipídico) que se sitúan entre los fosfolípidos para mantener su fluidez a distintas temperaturas. La membrana también contiene proteínas de membrana, incluyendo proteínas integrales que atraviesan la membrana sirviendo como transportadores de membrana y proteínas periféricas que se adhieren libremente al lado exterior (periférico) de la membrana celular, actuando como enzimas que dan forma a la célula. La membrana celular controla el movimiento de sustancias dentro y fuera de las células y los orgánulos. De este modo, es selectivamente permeable a los iones y a las moléculas orgánicas.<sup>[4]</sup> Además, las membranas celulares intervienen en diversos procesos celulares, como la adhesión celular, la conductividad iónica y la señalización celular, y sirven de superficie de unión para varias estructuras extracelulares, como la pared celular, la capa de hidratos de carbono llamada glicocálix y la red intracelular de fibras proteicas llamada citoesqueleto. En el campo de la biología

sintética, las membranas celulares pueden rearmarse artificialmente.





**Figura (29): Célula eucariota y célula procariota.**

### Composición

Las membranas celulares contienen una gran variedad de moléculas biológicas, sobre todo lípidos y proteínas. Su composición no es fija, sino que cambia constantemente por la fluidez y los cambios en el entorno, e incluso fluctúa durante las diferentes etapas del desarrollo celular. Concretamente, la cantidad de colesterol en la membrana de las células neuronales primarias humanas cambia, y este cambio en la composición afecta a la fluidez a lo largo de las etapas de desarrollo.

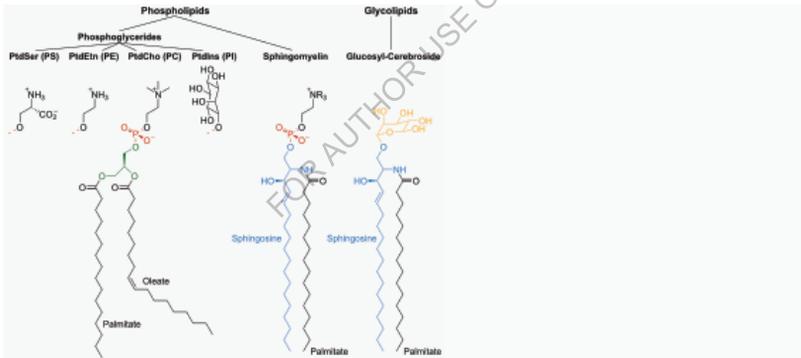
El material se incorpora a la membrana, o se elimina de ella, por diversos mecanismos:

- La fusión de las vesículas intracelulares con la membrana (exocitosis) no sólo excreta el contenido de la vesícula, sino que también incorpora los componentes de la membrana de la

vesícula a la membrana celular. La membrana puede formar burbujas alrededor del material extracelular que se pellizca para convertirse en vesículas (endocitosis).

- Si una membrana es continua con una estructura tubular hecha de material de membrana, entonces el material del tubo puede ser arrastrado a la membrana continuamente.
- Aunque la concentración de los componentes de la membrana en la fase acuosa es baja (los componentes estables de la membrana tienen baja solubilidad en el agua), existe un intercambio de moléculas entre las fases lipídica y acuosa.

## Lípidos



**Figura (30): Ejemplos de los principales fosfolípidos y glicolípidos de membrana: fosfatidilcolina (PtdCho), fosfatidiletanolamina (PtdEtn), fosfatidilinositol (PtdIns), fosfatidilserina (PtdSer).**

La membrana celular está formada por tres clases de lípidos anfipáticos: fosfolípidos, glicolípidos y esteroides. La cantidad de

cada uno depende del tipo de célula, pero en la mayoría de los casos los fosfolípidos son los más abundantes, contribuyendo a menudo a más del 50% de todos los lípidos de las membranas plasmáticas. Los glicolípidos sólo representan una cantidad ínfima de aproximadamente el 2% y los esteroides constituyen el resto. En los estudios de los glóbulos rojos, el 30% de la membrana plasmática son lípidos. Sin embargo, en la mayoría de las células eucariotas, la composición de las membranas plasmáticas es aproximadamente la mitad de lípidos y la mitad de proteínas en peso.

Las cadenas grasas de los fosfolípidos y los glucolípidos suelen contener un número par de átomos de carbono, normalmente entre 16 y 20. Los ácidos grasos de 16 y 18 carbonos son los más comunes. Los ácidos grasos pueden ser saturados o insaturados, con la configuración de los dobles enlaces casi siempre "cis". La longitud y el grado de insaturación de las cadenas de ácidos grasos tienen un profundo efecto en la fluidez de la membrana, ya que los lípidos insaturados crean un pliegue, impidiendo que los ácidos grasos se empaqueten tan estrechamente, lo que disminuye la temperatura de fusión (aumentando la fluidez) de la membrana. La capacidad de algunos organismos de regular la fluidez de sus membranas celulares alterando la composición de los lípidos se denomina adaptación homeoviscosa.

Toda la membrana se mantiene unida gracias a la interacción no covalente de las colas hidrofóbicas, pero la estructura es bastante

fluida y no está fijada de forma rígida. En condiciones fisiológicas, las moléculas de fosfolípidos de la membrana celular se encuentran en estado de cristalización líquida. Esto significa que las moléculas lipídicas son libres de difundir y presentan una rápida difusión lateral a lo largo de la capa en la que están presentes. Sin embargo, el intercambio de moléculas de fosfolípidos entre las hojas intracelulares y extracelulares de la bicapa es un proceso muy lento. Las balsas lipídicas y las caveolas son ejemplos de microdominios enriquecidos en colesterol en la membrana celular. Además, una fracción del lípido en contacto directo con las proteínas integrales de la membrana, que está estrechamente unida a la superficie de la proteína, se denomina cáscara lipídica anular; se comporta como una parte del complejo proteico.

En las células animales, el colesterol se encuentra normalmente disperso en diversos grados a lo largo de las membranas celulares, en los espacios irregulares entre las colas hidrofóbicas de los lípidos de la membrana, donde confiere un efecto de rigidez y fortalecimiento a la membrana. Además, la cantidad de colesterol en las membranas biológicas varía entre organismos, tipos de células e incluso en células individuales. El colesterol, un componente principal de las membranas plasmáticas de los animales, regula la fluidez de la membrana en general, lo que significa que el colesterol controla la cantidad de movimiento de los distintos componentes de la membrana celular en función de

sus concentraciones. A altas temperaturas, el colesterol inhibe el movimiento de las cadenas de ácidos grasos de los fosfolípidos, provocando una menor permeabilidad a las moléculas pequeñas y una menor fluidez de la membrana. El papel del colesterol en temperaturas más bajas es el contrario. La producción de colesterol, y por lo tanto su concentración, se regula (aumenta) en respuesta a la temperatura fría. A temperaturas frías, el colesterol interfiere en las interacciones de las cadenas de ácidos grasos. Actuando como anticongelante, el colesterol mantiene la fluidez de la membrana. El colesterol es más abundante en los animales de clima frío que en los de clima cálido. En las plantas, que carecen de colesterol, unos compuestos afines llamados esteroides realizan la misma función que el colesterol.

### **Fosfolípidos que forman vesículas lipídicas**

Las vesículas lipídicas o liposomas son bolsas aproximadamente esféricas encerradas en una bicapa lipídica. Estas estructuras se utilizan en los laboratorios para estudiar los efectos de las sustancias químicas en las células mediante la entrega de estas sustancias químicas directamente a la célula, así como para obtener más información sobre la permeabilidad de la membrana celular. Las vesículas lipídicas y los liposomas se forman suspendiendo primero un lípido en una solución acuosa y luego agitando la mezcla mediante sonicación, lo que da lugar a una vesícula. La

medición de la velocidad de salida del interior de la vesícula a la solución ambiental permite a los investigadores comprender mejor la permeabilidad de la membrana. Las vesículas pueden formarse con moléculas e iones en su interior formando la vesícula con la molécula o el ion deseado presente en la solución. Las proteínas también pueden incrustarse en la membrana mediante la solubilización de las proteínas deseadas en presencia de detergentes y su unión a los fosfolípidos en los que se forma el liposoma. Esto proporciona a los investigadores una herramienta para examinar diversas funciones de las proteínas de membrana.

## **Carbohidratos**

Las membranas plasmáticas también contienen carbohidratos, predominantemente glicoproteínas, pero con algunos glicolípidos (cerebrósidos y gangliósidos). Los hidratos de carbono son importantes en el papel de reconocimiento célula-célula en los eucariotas; se sitúan en la superficie de la célula donde reconocen a las células huésped y comparten información, los virus que se unen a las células utilizando estos receptores provocan una infección. En su mayor parte, la glicosilación no se produce en las membranas dentro de la célula, sino que generalmente la glicosilación se produce en la superficie extracelular de la membrana plasmática. El glicocálix es una característica importante en todas las células, especialmente en los epitelios con

microvellosidades. Datos recientes sugieren que el glicocálix participa en la adhesión celular, la localización de linfocitos y muchas otras cosas. El penúltimo azúcar es la galactosa y el azúcar terminal es el ácido siálico, ya que la columna vertebral del azúcar se modifica en el aparato de Golgi. El ácido siálico tiene una carga negativa, lo que proporciona una barrera externa a las partículas cargadas.

### **Proteínas**

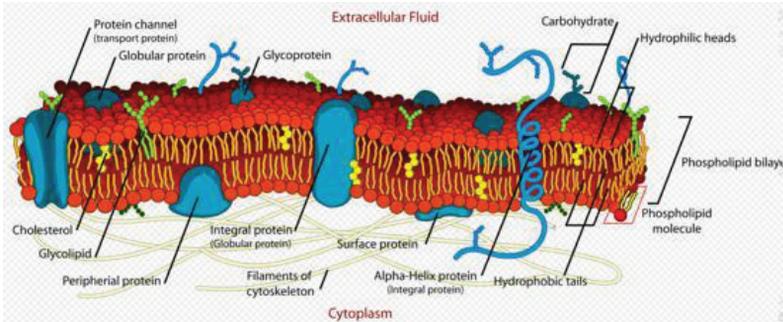
La membrana celular tiene un gran contenido de proteínas, normalmente alrededor del 50% del volumen de la membrana. Estas proteínas son importantes para la célula porque son responsables de diversas actividades biológicas. Aproximadamente un tercio de los genes de la levadura codifican específicamente para ellas, y este número es aún mayor en los organismos multicelulares.<sup>[24]</sup> Las proteínas de membrana se dividen en tres tipos principales: proteínas integrales, proteínas periféricas y proteínas ancladas a lípidos; las proteínas integrales son proteínas transmembrana anfipáticas. Algunos ejemplos de proteínas integrales son los canales iónicos, las bombas de protones y los receptores acoplados a proteínas G. Los canales iónicos permiten que los iones inorgánicos como el sodio, el potasio, el calcio o el cloro se difundan por su gradiente electroquímico a través de la bicapa lipídica a través de poros hidrofílicos en la membrana. El comportamiento eléctrico de las células, por ejemplo las nerviosas,

está controlado por canales iónicos.<sup>[4]</sup> Las bombas de protones son bombas de proteínas incrustadas en la bicapa lipídica que permiten que los protones viajen a través de la membrana mediante la transferencia de una cadena lateral de aminoácidos a otra. Procesos como el transporte de electrones y la generación de ATP utilizan bombas de protones. Un receptor acoplado a una proteína G es una cadena polipeptídica única que atraviesa la bicapa lipídica siete veces en respuesta a las moléculas de señalización, es decir, las hormonas y los neurotransmisores. Los receptores acoplados a proteínas G se utilizan en procesos como la señalización entre células, la regulación de la producción de AMPc y la regulación de los canales iónicos.

La membrana celular, al estar expuesta al entorno exterior, es un importante lugar de comunicación célula-célula. Por ello, en la superficie de la membrana hay una gran variedad de receptores proteicos y proteínas de identificación, como los antígenos. Las funciones de las proteínas de membrana también pueden incluir el contacto célula-célula, el reconocimiento de la superficie, el contacto con el citoesqueleto, la señalización, la actividad enzimática o el transporte de sustancias a través de la membrana.

La mayoría de las proteínas de membrana deben insertarse de alguna manera en la membrana. Para ello, una "secuencia señal" de aminoácidos en el extremo N dirige las proteínas al retículo endoplásmico, que las inserta en una bicapa lipídica. Una vez

insertadas, las proteínas son transportadas a su destino final en vesículas, donde la vesícula se fusiona con la membrana objetivo.



**Figura (30): Membrana plasmática.**

La membrana celular rodea el citoplasma de las células vivas, separando físicamente los componentes intracelulares del entorno extracelular. La membrana celular también desempeña un papel en el anclaje del citoesqueleto para dar forma a la célula, y en la fijación a la matriz extracelular y a otras células para mantenerlas unidas y formar tejidos. Los hongos, las bacterias, la mayoría de las arqueas y las plantas también tienen una pared celular, que proporciona un soporte mecánico a la célula e impide el paso de moléculas más grandes.

La membrana celular es selectivamente permeable y capaz de regular lo que entra y sale de la célula, facilitando así el transporte de los materiales necesarios para la supervivencia. El movimiento de sustancias a través de la membrana puede ser "pasivo", ya que se produce sin el aporte de energía celular, o "activo", ya que

requiere que la célula gaste energía para transportarlo. La membrana también mantiene el potencial celular. La membrana celular funciona, por tanto, como un filtro selectivo que sólo permite que ciertas cosas entren o salgan de la célula. La célula emplea una serie de mecanismos de transporte en los que intervienen las membranas biológicas:

1. Ósmosis pasiva y difusión: Algunas sustancias (pequeñas moléculas, iones), como el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y el oxígeno ( $\text{O}_2$ ), pueden atravesar la membrana plasmática por difusión, que es un proceso de transporte pasivo. Debido a que la membrana actúa como barrera para ciertas moléculas e iones, éstos pueden presentarse en diferentes concentraciones en los dos lados de la membrana. La difusión se produce cuando las moléculas pequeñas y los iones se mueven libremente de una concentración alta a una baja para equilibrar la membrana. Se considera un proceso de transporte pasivo porque no requiere energía y es impulsado por el gradiente de concentración creado por cada lado de la membrana. Dicho gradiente de concentración a través de una membrana semipermeable establece un flujo osmótico para el agua. La ósmosis, en los sistemas biológicos, implica un disolvente que se mueve a través de una membrana semipermeable de forma similar a la difusión pasiva, ya que el disolvente sigue moviéndose con el gradiente de concentración y no requiere energía. Aunque el agua

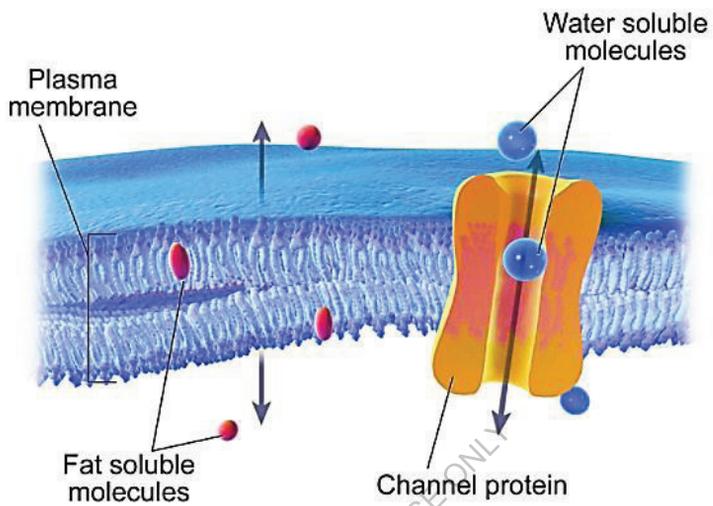
es el disolvente más común en la célula, también pueden ser otros líquidos, así como líquidos y gases supercríticos.

2. Canales y transportadores de proteínas transmembrana: Las proteínas transmembrana se extienden a través de la bicapa lipídica de las membranas; funcionan a ambos lados de la membrana para transportar moléculas a través de ella. Los nutrientes, como los azúcares o los aminoácidos, deben entrar en la célula, y ciertos productos del metabolismo deben salir de ella. Estas moléculas pueden difundirse de forma pasiva a través de canales proteicos como las acuaporinas en difusión facilitada o son bombeadas a través de la membrana por transportadores transmembrana. Las proteínas canalizadoras, también llamadas *permeasas*, suelen ser bastante específicas y sólo reconocen y transportan una variedad limitada de sustancias químicas, a menudo limitadas a una sola sustancia. Otro ejemplo de proteína transmembrana es un receptor de superficie celular, que permite que las moléculas de señalización celular se comuniquen entre las células.

3. Endocitosis: La endocitosis es el proceso en el que las células absorben moléculas engulléndolas. La membrana plasmática crea una pequeña deformación hacia el interior, llamada invaginación, en la que se captura la sustancia a transportar. Esta invaginación está provocada por las proteínas del exterior de la membrana celular, que actúan como receptores y se agrupan en depresiones que acaban promoviendo la acumulación de más proteínas y lípidos

en el lado citosólico de la membrana. A continuación, la deformación se desprende de la membrana en el interior de la célula, creando una vesícula que contiene la sustancia capturada. La endocitosis es una vía para la internalización de partículas sólidas "cell eating" o fagocitosis, pequeñas moléculas e iones "cell drinking" o pinocitosis y macromoléculas. La endocitosis requiere energía y, por tanto, es una forma de transporte activo.

4. Exocitosis: Al igual que el material puede introducirse en la célula por invaginación y formación de una vesícula, la membrana de una vesícula puede fusionarse con la membrana plasmática, extruyendo su contenido al medio circundante. Este es el proceso de exocitosis. La exocitosis se produce en varias células para eliminar los residuos no digeridos de las sustancias introducidas por endocitosis, para secretar sustancias como hormonas y enzimas, y para transportar una sustancia completamente a través de una barrera celular. En el proceso de exocitosis, la vacuola alimenticia que contiene residuos no digeridos o la vesícula secretora brotada del aparato de Golgi, es trasladada primero por el citoesqueleto desde el interior de la célula hasta la superficie. La membrana de la vesícula entra en contacto con la membrana plasmática. Las moléculas lipídicas de las dos bicapas se reorganizan y las dos membranas se fusionan. Se forma un pasaje en la membrana fusionada y las vesículas descargan su contenido fuera de la célula.



**Figura (31): Difusión a través de la membrana plasmática.**

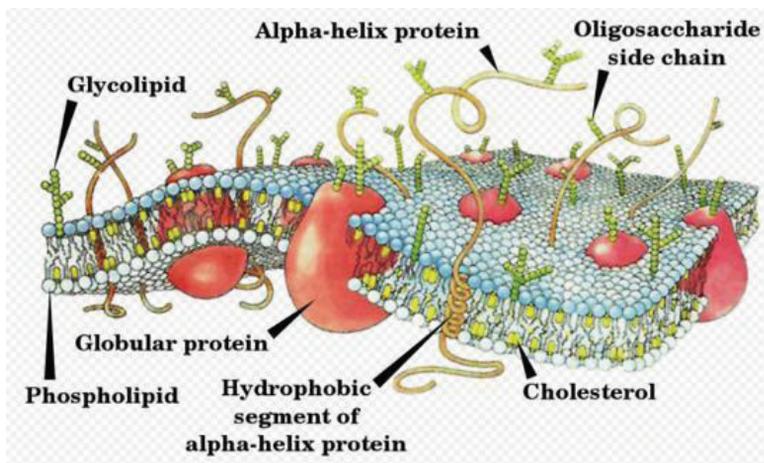


Figura (32): Glicolípido, proteína alfa-hélice, colesterol, segmento hidrofóbico de la proteína alfa-hélice y cadena lateral de oligosacáridos de la membrana plasmática.

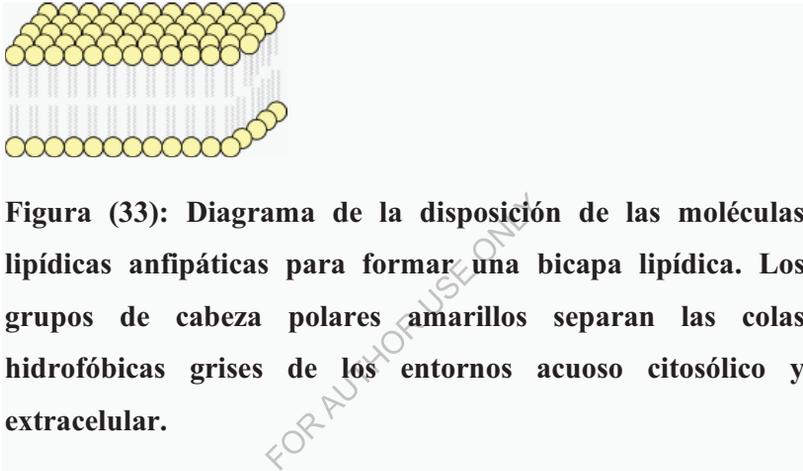
## Estructuras

### Modelo de mosaico de fluidos

Según el modelo de mosaico de fluidos de S. J. Singer y G. L. Nicolson (1972), que sustituyó al anterior modelo de Davson y Danielli, las membranas biológicas pueden considerarse como un líquido bidimensional en el que las moléculas de lípidos y proteínas se difunden con mayor o menor facilidad. Aunque las bicapas lipídicas que constituyen la base de las membranas forman efectivamente líquidos bidimensionales por sí mismas, la membrana plasmática contiene también una gran cantidad de

proteínas, que aportan más estructura. Ejemplos de estas estructuras son los complejos proteínicos, los piquetes y vallas formados por el citoesqueleto basado en la actina y, potencialmente, las balsas lipídicas.

### **Bicapa lipídica**



**Figura (33): Diagrama de la disposición de las moléculas lipídicas anfipáticas para formar una bicapa lipídica. Los grupos de cabeza polares amarillos separan las colas hidrofóbicas grises de los entornos acuoso citosólico y extracelular.**

Las bicapas lipídicas se forman mediante el proceso de autoensamblaje. La membrana celular está formada principalmente por una fina capa de fosfolípidos anfipáticos que se organizan espontáneamente de forma que las regiones hidrofóbicas de la "cola" quedan aisladas del agua circundante, mientras que las regiones hidrofílicas de la "cabeza" interactúan con las caras intracelular (citosólica) y extracelular de la bicapa resultante. Así se forma una bicapa lipídica continua y esférica. Las interacciones hidrofóbicas (también conocidas como efecto hidrofóbico) son las

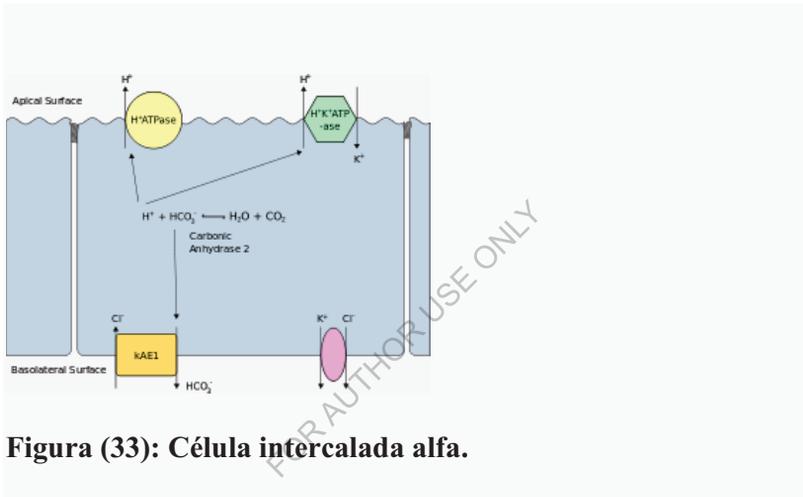
principales fuerzas impulsoras de la formación de bicapas lipídicas. Un aumento de las interacciones entre las moléculas hidrofóbicas (que provoca la agrupación de las regiones hidrofóbicas) permite que las moléculas de agua se unan más libremente entre sí, lo que aumenta la entropía del sistema. Esta compleja interacción puede incluir interacciones no covalentes, como los enlaces de van der Waals, electrostáticos y de hidrógeno.

Las bicapas lipídicas suelen ser impermeables a los iones y a las moléculas polares. La disposición de las cabezas hidrofílicas y las colas hidrofóbicas de la bicapa lipídica impiden que los solutos polares, como los aminoácidos, los ácidos nucleicos, los hidratos de carbono, las proteínas y los iones, se difundan a través de la membrana, pero generalmente permiten la difusión pasiva de las moléculas hidrofóbicas. Esto permite a la célula controlar el movimiento de estas sustancias a través de complejos proteicos transmembrana como poros, canales y puertas. Las flippases y las scramblases concentran la fosfatidil serina, que tiene carga negativa, en la membrana interna. Junto con la NANA, esto crea una barrera adicional para las sustancias cargadas que se mueven a través de la membrana.

Las membranas cumplen diversas funciones en las células eucariotas y procariotas. Una de ellas es regular el movimiento de materiales hacia el interior y el exterior de las células. La estructura de bicapa de fosfolípidos (modelo de mosaico fluido) con proteínas

de membrana específicas explica la permeabilidad selectiva de la membrana y los mecanismos de transporte pasivo y activo. Además, las membranas de los procariontos y de las mitocondrias y cloroplastos de los eucariotas facilitan la síntesis de ATP mediante la quimiosmosis.

### Polaridad de la membrana



**Figura (33): Célula intercalada alfa.**

La membrana apical de una célula polarizada es la superficie de la membrana plasmática que mira hacia el interior del lumen. Esto es particularmente evidente en las células epiteliales y endoteliales, pero también describe otras células polarizadas, como las neuronas. La membrana basolateral de una célula polarizada es la superficie de la membrana plasmática que forma sus superficies basal y lateral. Está orientada hacia el exterior, hacia el intersticio, y alejada del lumen. Membrana basolateral es una frase compuesta que hace referencia a los términos "membrana basal (base)" y

"membrana lateral (lado)", que, especialmente en las células epiteliales, son idénticas en composición y actividad. Las proteínas (como los canales y las bombas de iones) son libres de pasar de la superficie basal a la lateral de la célula o viceversa, de acuerdo con el modelo de mosaico de fluidos. Las uniones estrechas unen las células epiteliales cerca de su superficie apical para impedir la migración de proteínas desde la membrana basolateral a la apical. De este modo, las superficies basal y lateral permanecen aproximadamente equivalentes entre sí, pero distintas de la superficie apical.

### Estructuras de membrana



**Figura (34): Diagrama de las estructuras de la Membrana Celular.**

La membrana celular puede formar diferentes tipos de estructuras "supramembrana" como la caveola, la densidad postsináptica, el podosoma, el invadopodio, la adhesión focal y

diferentes tipos de uniones celulares. Estas estructuras suelen ser responsables de la adhesión celular, la comunicación, la endocitosis y la exocitosis. Pueden visualizarse mediante microscopía electrónica o de fluorescencia. Están compuestas por proteínas específicas, como las integrinas y las caderinas.

### **Citoesqueleto**

El citoesqueleto se encuentra debajo de la membrana celular en el citoplasma y proporciona un andamiaje al que se anclan las proteínas de la membrana, además de formar orgánulos que se extienden desde la célula. De hecho, los elementos del citoesqueleto interactúan ampliamente e íntimamente con la membrana celular. El anclaje de las proteínas las restringe a una superficie celular concreta -por ejemplo, la superficie apical de las células epiteliales que recubren el intestino de los vertebrados- y limita su difusión dentro de la bicapa. El citoesqueleto es capaz de formar apéndices, como los orgánulos, como los cilios, que son extensiones basadas en microtúbulos cubiertos por la membrana celular, y los filopodios, que son extensiones basadas en actina. Estas extensiones están recubiertas de membrana y se proyectan desde la superficie de la célula para percibir el entorno externo y/o entrar en contacto con el sustrato u otras células. Las superficies apicales de las células epiteliales son densas con proyecciones en forma de dedo basadas en la actina, conocidas como

microvellosidades, que aumentan la superficie de la célula y, por tanto, la tasa de absorción de nutrientes. El desacoplamiento localizado del citoesqueleto y la membrana celular da lugar a la formación de una ampolla.

### **Membranas intracelulares**

El contenido de la célula, dentro de la membrana celular, se compone de numerosos orgánulos unidos a la membrana, que contribuyen a la función general de la célula. El origen, la estructura y la función de cada orgánulo dan lugar a una gran variación en la composición celular debido a la singularidad individual asociada a cada orgánulo.

- Se considera que las mitocondrias y los cloroplastos evolucionaron a partir de bacterias, lo que se conoce como la teoría endosimbiótica. Esta teoría surgió de la idea de que *Paracoccus* y *Rhodospseudomonas*, tipos de bacterias, comparten funciones similares a las mitocondrias y las algas verdeazules, o cianobacterias, comparten funciones similares a los cloroplastos. La teoría endosimbiótica propone que, en el curso de la evolución, una célula eucariótica engulló estos dos tipos de bacterias, lo que condujo a la formación de mitocondrias y cloroplastos dentro de las células eucariotas. Este engullimiento dio lugar a los dos sistemas de membranas

de estos orgánulos, en los que la membrana exterior procedía de la membrana plasmática del huésped y la membrana interior era la membrana plasmática del endosimbionte. El hecho de que tanto las mitocondrias como los cloroplastos contengan su propio ADN es una prueba más de que ambos orgánulos evolucionaron a partir de bacterias engullidas que prosperaron dentro de una célula eucariota.

- En las células eucariotas, la membrana nuclear separa el contenido del núcleo del citoplasma de la célula. La membrana nuclear está formada por una membrana interna y otra externa, lo que proporciona una regulación estricta de los materiales que entran y salen del núcleo. Los materiales se mueven entre el citosol y el núcleo a través de los poros nucleares de la membrana nuclear. Si el núcleo de una célula es más activo en la transcripción, su membrana tendrá más poros. La composición proteínica del núcleo puede variar mucho con respecto al citosol, ya que muchas proteínas no pueden atravesar los poros por difusión. Dentro de la membrana nuclear, las membranas interna y externa varían en su composición proteica, y sólo la membrana externa es continua con la membrana del retículo endoplásmico (RE). Al igual que el RE, la membrana externa también posee ribosomas responsables de producir y transportar proteínas al espacio entre las dos membranas. La membrana nuclear se desensambla durante las primeras etapas

de la mitosis y se vuelve a ensamblar en las etapas posteriores de la misma.

- El RE, que forma parte del sistema de endomembranas, constituye una parte muy importante del contenido total de la membrana de la célula. El RE es una red cerrada de túbulos y sacos, y sus principales funciones son la síntesis de proteínas y el metabolismo de los lípidos. Hay dos tipos de RE, el liso y el rugoso. El RE rugoso tiene ribosomas adheridos que se utilizan para la síntesis de proteínas, mientras que el RE liso se utiliza más para el procesamiento de toxinas y la regulación del calcio en la célula.
- El aparato de Golgi tiene dos cisternas de Golgi redondas interconectadas. Los compartimentos del aparato forman múltiples redes tubulares-reticulares responsables de la organización, la conexión de la pila y el transporte de la carga que muestran unas vesículas continuas en forma de cuerda de 50-60 nm. El aparato consta de tres compartimentos principales, una cisterna plana en forma de disco con redes tubulares-reticulares y vesículas.

## **Variaciones**

La membrana celular tiene diferentes composiciones de lípidos y proteínas en distintos tipos de células y puede tener, por tanto, nombres específicos para determinados tipos de células.

- El sarcolema en las células musculares: El sarcolema es el nombre que recibe la membrana celular de las células musculares. Aunque el sarcolema es similar a otras membranas celulares, tiene otras funciones que lo diferencian. Por ejemplo, el sarcolema transmite señales sinápticas, ayuda a generar potenciales de acción y está muy implicado en la contracción muscular. A diferencia de otras membranas celulares, el sarcolema forma pequeños canales llamados túbulos T que atraviesan la totalidad de las células musculares. También se ha descubierto que el sarcolema tiene un grosor medio de 10 nm, frente a los 4 nm de grosor de una membrana celular general.
- El oolema es la membrana celular de los ovocitos: El oolema de los ovocitos, (células inmaduras del huevo) no se corresponde con una bicapa lipídica ya que carece de ella y no está formado por lípidos. Más bien, la estructura tiene una capa interior, la envoltura de la fecundación, y el exterior está formado por la capa vitelina, que está formada por glicoproteínas; sin embargo, los canales y las proteínas siguen estando presentes para sus funciones en la membrana.
- Axolema: La membrana plasmática especializada en los axones de las células nerviosas que es responsable de la generación del potencial de acción. Consiste en una bicapa lipídica granular y densamente empaquetada que trabaja estrechamente con los componentes del citoesqueleto, la espectrina y la actina. Estos

componentes del citoesqueleto son capaces de unirse e interactuar con las proteínas transmembrana del axolema.

## **Permabilidad**

La permeabilidad de una membrana es la velocidad de difusión pasiva de las moléculas a través de ella. Estas moléculas se conocen como moléculas permeantes. La permeabilidad depende principalmente de la carga eléctrica y la polaridad de la molécula y, en menor medida, de la masa molar de la misma. Debido a la naturaleza hidrofóbica de la membrana celular, las pequeñas moléculas eléctricamente neutras atraviesan la membrana con más facilidad que las cargadas y grandes. La incapacidad de las moléculas cargadas para atravesar la membrana celular da lugar a la partición del pH de las sustancias a través de los compartimentos fluidos del cuerpo.

## D- Organelos

En biología celular, un orgánulo es una subunidad especializada, generalmente dentro de una célula, que tiene una función específica. El nombre de orgánulo proviene de la idea de que estas estructuras son partes de las células, como los órganos lo son del cuerpo, de ahí que el sufijo -elle sea un diminutivo. Los orgánulos están encerrados por separado en sus propias bicapas lipídicas (también llamados orgánulos unidos a la membrana) o son unidades funcionales espacialmente distintas sin una bicapa lipídica circundante (orgánulos no unidos a la membrana). Aunque la mayoría de los orgánulos son unidades funcionales dentro de las células, algunas unidades funcionales que se extienden fuera de las células se denominan a menudo orgánulos, como los cilios, el flagelo y el arcaelo, y el tricocisto.

Los orgánulos se identifican mediante microscopía y también pueden purificarse mediante el fraccionamiento celular. Hay muchos tipos de orgánulos, especialmente en las células eucariotas. Incluyen estructuras que conforman el sistema interno de endomembranas (como la envoltura nuclear, el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi) y otras estructuras como las mitocondrias y los plastos. Aunque los procariontes no poseen orgánulos eucariotas, algunos contienen microcompartimentos bacterianos con cubierta de proteínas, que se cree que actúan como orgánulos procariontes primitivos, y también hay pruebas de otras

estructuras delimitadas por membranas. Además, el flagelo procarionta, que sobresale fuera de la célula, y su motor, así como el pilus, en gran parte extracelular, suelen considerarse orgánulos.

En biología, los órganos se definen como unidades funcionales confinadas dentro de un organismo.<sup>[3]</sup> La analogía de los órganos corporales con las subestructuras celulares microscópicas es evidente, ya que, incluso desde los primeros trabajos, los autores de los respectivos libros de texto rara vez se explayan en la distinción entre ambos.

En la década de 1830, Félix Dujardin refutó la teoría de Ehrenberg, según la cual los microorganismos tienen los mismos órganos que los animales pluricelulares, sólo que menores.

El zoólogo alemán Karl August Möbius (1884) fue el primero en utilizar un diminutivo de órgano, por ejemplo, pequeño órgano, para las estructuras celulares, y empleó el término organula (plural de organulum, diminutivo del latín organum). En una nota a pie de página, que se publicó como corrección en el número siguiente de la revista, justificó su sugerencia de llamar "organula" a los órganos de los organismos unicelulares, ya que sólo son partes de una célula formadas de forma diferente, en contraste con los órganos de los organismos pluricelulares.

## **Tipos**

Aunque la mayoría de los biólogos celulares consideran que el término orgánulo es sinónimo de compartimento celular, un espacio a menudo delimitado por una o dos bicapas lipídicas, algunos biólogos celulares optan por limitar el término para incluir sólo los compartimentos celulares que contienen ácido desoxirribonucleico (ADN), al haberse originado en organismos microscópicos anteriormente autónomos adquiridos por endosimbiosis.

Según esta definición, sólo habría dos grandes clases de orgánulos: los que contienen su propio ADN y los que proceden de bacterias endosimbióticas:

- mitocondrias (en casi todos los eucariotas)
- plástidos (por ejemplo, en plantas, algas y algunos protistas).

También se sugiere que otros orgánulos tienen un origen endosimbiótico, pero no contienen su propio ADN.

Una segunda definición menos restrictiva de los orgánulos es que se trata de estructuras unidas a una membrana. Sin embargo, incluso utilizando esta definición, algunas partes de la célula que han demostrado ser unidades funcionales distintas no pueden considerarse orgánulos. Por lo tanto, el uso de orgánulos para referirse también a estructuras no unidas a la membrana, como los ribosomas, es común y aceptado. Esto ha llevado a muchos textos a distinguir entre orgánulos unidos a la membrana y orgánulos no

unidos a la **membrana**. Los orgánulos no unidos a la membrana, también llamados grandes complejos biomoleculares, son grandes conjuntos de macromoléculas que desempeñan funciones particulares y especializadas, pero carecen de límites de membrana. Muchos de ellos se denominan "orgánulos proteináceos", ya que su estructura principal está formada por proteínas. Estas estructuras celulares incluyen:

- grandes complejos de ARN y proteínas: ribosoma, espliceosoma, bóveda
- grandes complejos proteicos: proteasoma, holoenzima de la ADN polimerasa III, holoenzima de la ARN polimerasa II, cápsides virales simétricas, complejo de GroEL y GroES; complejos proteicos de membrana: porosoma, fotosistema I, ATP sintasa
- grandes complejos de ADN y proteínas: nucleosoma
- centríolo y centro organizador de microtúbulos (MTOC)
- citoesqueleto
- flagelo
- nucléolo
- gránulo de estrés
- gránulo de células germinales
- gránulo de transporte neuronal

Los mecanismos por los que se forman estos orgánulos sin membrana y conservan su integridad espacial se han comparado con la separación de fases líquido-líquido.

Las células eucariotas son estructuralmente complejas y, por definición, están organizadas, en parte, por compartimentos interiores que a su vez están encerrados por membranas lipídicas que se asemejan a la membrana celular más externa. Los orgánulos más grandes, como el núcleo y las vacuolas, son fácilmente visibles con el microscopio de luz. Fueron uno de los primeros descubrimientos biológicos realizados tras la invención del microscopio.

No todas las células eucariotas tienen cada uno de los orgánulos enumerados a continuación. Algunos organismos excepcionales tienen células que no incluyen algunos orgánulos que podrían considerarse universales en los eucariotas (como las mitocondrias). También hay excepciones ocasionales en el número de membranas que rodean a los orgánulos, enumeradas en las tablas siguientes; por ejemplo, algunos que figuran como de doble membrana se encuentran a veces con membranas simples o triples. Además, el número de orgánulos individuales de cada tipo que se encuentran en una célula determinada varía según la función de esa célula.

Tabla (1): Principales orgánulos eucariotas				
Organelos	Función principal	Estructura	Organismos	Notas

<b>Membrana celular</b>	separa el interior de todas las células del entorno exterior (el espacio extracelular) que protege a la célula de su entorno.	líquido bidimensional	todos los eucariotas	
<b>Pared celular</b>	La pared celular es una estructura rígida compuesta de celulosa que da forma a la célula, ayuda a mantener los orgánulos dentro de la célula y no permite que la célula estalle por la presión osmótica.	varios	plantas, protistas, organismos cleptoplásticos raros	
<b>Cloroplasto (plásmido)</b>	la fotosíntesis, atrapa la energía de la luz solar	compartimento de doble membrana	plantas, protistas, organismos cleptoplásticos raros	tiene su propio ADN; se cree que fue engullido por la célula eucariota ancestral (endosymbiosi)
<b>Reticulo endoplásmico</b>	traducción y plegado de nuevas proteínas (retículo endoplásmico rugoso), expresión de lípidos (retículo endoplásmico liso)	compartimento de una sola membrana	todos los eucariotas	El retículo endoplásmico rugoso está cubierto de ribosomas, tiene pliegues que son sacos planos; el retículo endoplásmico

				co liso tiene pliegues que son tubulares
<b>Flagelo</b>	locomoción, sensorial	proteína	algunos eucariotas	
<b>Aparato de Golgi</b>	clasificación, envasado, procesamiento y modificación de proteínas	compartimento de una sola membrana	todos los eucariotas	cara cis (convexa) más cercana al retículo endoplásmi co rugoso; cara trans (cóncava) más alejada del retículo endoplásmi co rugoso
<b>Mitocondria</b>	producción de energía a partir de la oxidación de sustancias de glucosa y la liberación de adenosín trifosfato	compartimento de doble membrana	la mayoría de los eucariotas	Elemento constitutiv o del condrioma; tiene su propio ADN; se cree que fue engullido por una célula eucariota ancestral (endosimbi osis) <sup>[20]</sup>
<b>Núcleo</b>	Mantenimiento del ADN, controla todas las	compartimento de doble membrana	todos los eucariotas	contiene la mayor

	actividades de la célula, transcripción del ARN			parte del genoma
<b>Vacuola</b>	almacenamiento, transporte, ayuda a mantener la homeostasis	compartimento de una sola membrana	eucariotas	

Las mitocondrias y los plastos, incluidos los cloroplastos, tienen doble membrana y su propio ADN. Según la teoría endosimbiótica, se cree que se originaron a partir de organismos procariotas incompletos o invasores.

**Tabla (2): Organelos y componentes celulares eucariotas menores**

Organelo/Macromolécula	Función principal	Estructura	Organismos
<b>Acrosoma</b>	ayuda a los espermatozoides a fusionarse con el óvulo	compartimento de una sola membrana	la mayoría de los animales
<b>Autofagoso</b>	vesícula que secuestra el material citoplasmático y los orgánulos para su degradación	compartimento de doble membrana	todos los eucariotas
<b>Centriole</b>	Ancla para el citoesqueleto, organiza la división celular formando fibras de huso	Proteína de los microtúbulos	animales

<b>Cilium</b>	movimiento en o del medio externo; "vía de señalización crítica del desarrollo". <sup>[21]</sup>	Proteína de los microtúbulos	animales, protistas, pocas plantas
<b>Cnidocisto</b>	picadura	Tubo hueco en espiral	cnidarios
<b>Aparato Eyespot</b>	detecta la luz, permitiendo que la fototaxis tenga lugar		algas verdes y otros organismos fotosintéticos unicelulares como los euglénidos
<b>Glicosoma</b>	lleva a cabo la glucólisis	compartimento de una sola membrana	Algunos protozoos, como los tripanosomas .
<b>Glyoxysome</b>	conversión de la grasa en azúcares	compartimento de una sola membrana	plantas
<b>Hidrogenosoma</b>	energía y producción de hidrógeno	compartimento de doble membrana	algunos eucariotas unicelulares

<b>Lisosoma</b>	descomposición de moléculas grandes (por ejemplo, proteínas + polisacáridos)	compartimento de una sola membrana	animales
<b>Melanosoma</b>	almacenamiento de pigmentos	compartimento de una sola membrana	animales
<b>Mitosoma</b>	probablemente desempeña un papel en el ensamblaje del grupo de hierro y azufre (Fe-S)	compartimento de doble membrana	algunos eucariotas unicelulares que carecen de mitocondrias
<b>Miofibrilla</b>	contracción de los miocitos	filamentos agrupados	animales
<b>Núcleo</b>	producción de pre-ribosomas	proteína-ADN-ARN	la mayoría de los eucariotas
<b>Oceloide</b>	detecta la luz y posiblemente las formas, lo que permite que se produzca la fototaxis	compartimento de doble membrana	miembros de la familia Warnowiaceae
<b>Paréntesis</b>	no se caracteriza	no se caracteriza	hongos

<b>Peroxisoma</b>	descomposición del peróxido de hidrógeno metabólico	compartimento de una sola membrana	todos los eucariotas
<b>Porosoma</b>	portal de secreción	compartimento de una sola membrana	todos los eucariotas
<b>Proteasoma</b>	degradación de las proteínas innecesarias o dañadas por proteólisis	complejo proteico muy grande	todos los eucariotas, todas las arqueas y algunas bacterias
<b>Ribosoma (80S)</b>	traducción del ARN en proteínas	ARN-proteína	todos los eucariotas
<b>gránulo de estrés</b>	Almacenamiento de ARNm <sup>[22]</sup>	sin membrana (complejos mRNP)	la mayoría de los eucariotas
<b>Dominio TIGER</b>	ARNm que codifica proteínas	sin membrana	la mayoría de los organismos
<b>Vesícula</b>	transporte de materiales	compartimento de una sola membrana	todos los eucariotas

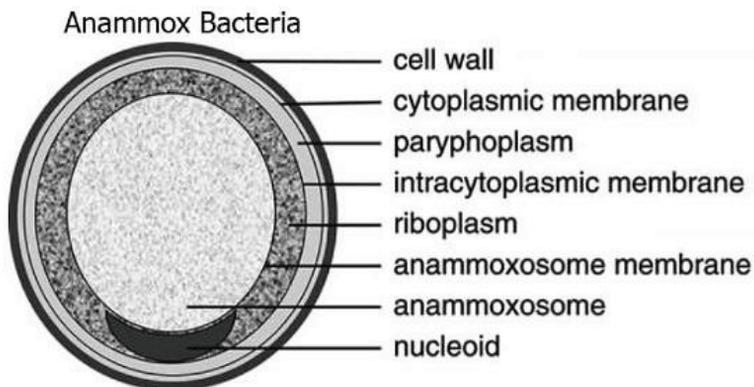
Los procariotas no son tan complejos estructuralmente como los eucariotas y antes se pensaba que tenían poca organización interna y que carecían de compartimentos celulares y membranas internas, pero poco a poco van apareciendo detalles sobre las estructuras internas procariotas que echan por tierra estas suposiciones. Uno de los primeros giros en falso fue la idea desarrollada en la década de 1970 de que las bacterias podrían contener pliegues de la membrana celular denominados mesosomas, pero posteriormente se demostró que eran artefactos producidos por los productos químicos utilizados para preparar las células para la microscopía electrónica.

Sin embargo, cada vez hay más pruebas de la compartimentación en al menos algunos procariotas. Investigaciones recientes han revelado que al menos algunos procariotas tienen microcompartimentos, como los carboxisomas. Estos compartimentos subcelulares tienen entre 100 y 200 nm de diámetro y están rodeados por una cubierta de proteínas. Aún más sorprendente es la descripción de magnetosomas unidos a la membrana en bacterias, comunicada en 2006.

El filo bacteriano Planctomycetes ha revelado una serie de características de compartimentación. El plan celular de los Planctomycetes incluye una membrana intracitoplasmática que separa el citoplasma en parifoplasma (un espacio exterior libre de

ribosomas) y pirelulosoma (o riboplasma, un espacio interior que contiene ribosomas). En cinco géneros de Planctomycetes "anammox" se han descubierto anammoxomas unidos a la membrana, que realizan la oxidación anaeróbica del amonio. En la especie de Planctomycetes Gemmata obscuriglobus, se ha descrito una estructura similar a un núcleo rodeado de membranas lipídicas.

La compartimentación es una característica de las estructuras fotosintéticas procariotas. Las bacterias púrpuras tienen "cromatóforos", que son centros de reacción que se encuentran en invaginaciones de la membrana celular. Las bacterias verdes del azufre tienen clorosomas, que son complejos de antenas fotosintéticas que se encuentran unidos a las membranas celulares. Las cianobacterias tienen membranas tilacoides internas para la fotosíntesis dependiente de la luz; los estudios han revelado que la membrana celular y las membranas tilacoides no son continuas entre sí.



**Figura (35): Bacterias anammox.**

Tabla (3): Organelos procariotas y componentes celulares

Organelo/ macromolécula	Función principal	Estructura	Organismos
Anammoxosoma	oxidación anaeróbica del amonio	membrana lipídica de la escalera	Bacterias "candidatas" dentro de los Planctomicetos
Carboxysoma	fijación de carbono	microcompartimento bacteriano con cáscara de proteína	algunas bacterias
Clorosoma	fotosíntesis	complejo de recolección de luz unido a la membrana celular	bacterias verdes del azufre
Flagelo	movimiento en medio externo	filamento proteico	algunos procariotas

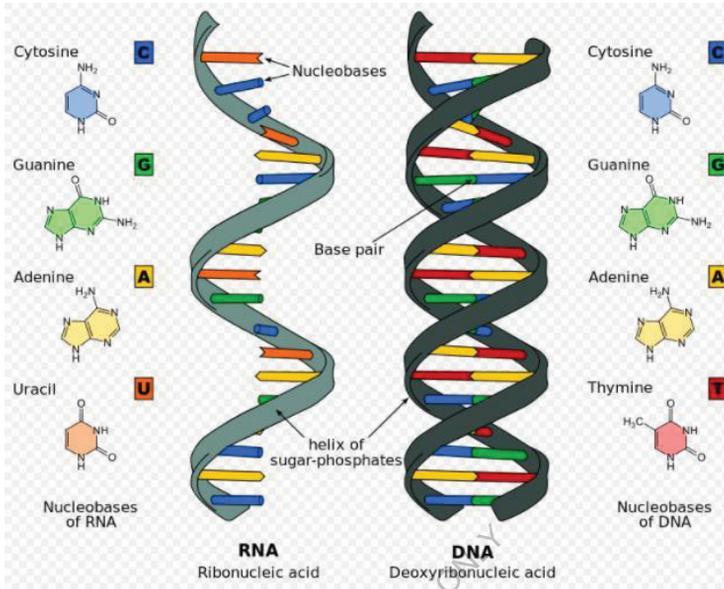
Magnetosoma	orientación magnética	cristal inorgánico, membrana lipídica	bacterias magnetotáticas
Nucleoide	Mantenimiento del ADN, transcripción a ARN	ADN-proteína	procariotas
Pilus	Adhesión a otras células para la conjugación o a un sustrato sólido para crear fuerzas móviles.	un apéndice en forma de pelo que sobresale (aunque parcialmente incrustado) de la membrana plasmática	células procariotas
Plásmido	Intercambio de ADN	ADN circular	algunas bacterias
Ribosomas (70S)	traducción del ARN en proteínas	ARN-proteína	bacterias y arqueas
Membranas tilacoides	fotosíntesis	proteínas y pigmentos del fotosistema	principalmente cianobacterias

## **E - Ácidos nucleicos**

Los ácidos nucleicos son biopolímeros, o grandes biomoléculas, esenciales para todas las formas de vida conocidas. Están compuestos por nucleótidos, que son los monómeros formados por tres componentes: un azúcar de 5 carbonos, un grupo fosfato y una base nitrogenada. Las dos clases principales de ácidos nucleicos son el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). Si el azúcar es la ribosa, el polímero es el ARN; si el azúcar es el derivado de la ribosa, la desoxirribosa, el polímero es el ADN.

Los ácidos nucleicos son compuestos químicos naturales que sirven como moléculas portadoras de información primaria en las células y constituyen el material genético. Los ácidos nucleicos se encuentran en abundancia en todos los seres vivos, donde crean, codifican y almacenan la información de todas las células vivas de todas las formas de vida de la Tierra. A su vez, funcionan para transmitir y expresar esa información dentro y fuera del núcleo celular a las operaciones interiores de la célula y, en última instancia, a la siguiente generación de cada organismo vivo. La información codificada está contenida y se transmite a través de la secuencia del ácido nucleico, que proporciona la ordenación "en escalera" de los nucleótidos dentro de las moléculas de ARN y ADN. Desempeñan un papel especialmente importante en la dirección de la síntesis de proteínas.

Las cadenas de nucleótidos se unen para formar columnas vertebrales helicoidales -normalmente, una para el ARN y dos para el ADN- y se ensamblan en cadenas de pares de bases seleccionadas entre las cinco nucleobases primarias o canónicas, que son: adenina, citosina, guanina, timina y uracilo. La timina sólo se encuentra en el ADN y el uracilo sólo en el ARN. Mediante los aminoácidos y el proceso conocido como síntesis de proteínas,<sup>[1]</sup> la secuenciación específica en el ADN de estos pares de nucleobases permite almacenar y transmitir instrucciones codificadas como genes. En el ARN, la secuenciación de pares de bases permite fabricar nuevas proteínas que determinan las estructuras y partes y la mayoría de los procesos químicos de todas las formas de vida.



**Figura (36): Estructuras de ADN y ARN.**

- La nucleína fue descubierta por Friedrich Miescher en 1869 en la Universidad de Tübinga (Alemania).
- A principios de la década de 1880, Albrecht Kossel purificó aún más la sustancia y descubrió sus propiedades altamente ácidas. Posteriormente, también identificó las nucleobases.
- En **1889** Richard Altmann crea el término ácido nucleico
- En **1938** Astbury y Bell publicaron el primer patrón de difracción de rayos X del ADN.
- En **1944**, el experimento Avery-MacLeod-McCarty demostró que el ADN es el portador de la información genética.
- En **1953**, Watson y Crick presentaron la estructura del ADN.

Los estudios experimentales de los ácidos nucleicos constituyen una parte importante de la investigación biológica y médica moderna, y son la base de la ciencia genómica y forense, y de las industrias biotecnológica y farmacéutica.

Los ácidos nucleicos son generalmente moléculas muy grandes. De hecho, las moléculas de ADN son probablemente las mayores moléculas individuales conocidas. Las moléculas de ácidos nucleicos biológicos bien estudiadas tienen un tamaño que va desde los 21 nucleótidos (pequeño ARN de interferencia) hasta los grandes cromosomas (el cromosoma humano 1 es una molécula única que contiene 247 millones de pares de bases).

En la mayoría de los casos, las moléculas de ADN que se producen de forma natural son de doble cadena y las de ARN son de cadena simple. Sin embargo, hay numerosas excepciones: algunos virus tienen genomas de ARN de doble cadena y otros virus tienen genomas de ADN de una sola cadena y, en algunas circunstancias, pueden formarse estructuras de ácido nucleico con tres o cuatro cadenas.

Los ácidos nucleicos son polímeros lineales (cadenas) de nucleótidos. Cada nucleótido consta de tres componentes: una nucleobase de purina o pirimidina (a veces denominada *base nitrogenada* o simplemente *base*), un azúcar pentosa y un grupo fosfato que hace que la molécula sea ácida. La subestructura formada por una nucleobase más un azúcar se denomina

nucleósido. Los tipos de ácidos nucleicos difieren en la estructura del azúcar de sus nucleótidos: el ADN contiene 2'-desoxirribosa mientras que el ARN contiene ribosa (la única diferencia es la presencia de un grupo hidroxilo). Además, las nucleobases que se encuentran en los dos tipos de ácidos nucleicos son diferentes: la adenina, la citosina y la guanina se encuentran tanto en el ARN como en el ADN, mientras que la timina se encuentra en el ADN y el uracilo en el ARN.

Los azúcares y los fosfatos de los ácidos nucleicos están conectados entre sí en una cadena alterna (columna vertebral de azúcar-fosfato) a través de enlaces fosfodiéster. En la nomenclatura convencional, los carbonos a los que se unen los grupos fosfato son los carbonos del extremo 3' y del extremo 5' del azúcar. Esto confiere a los ácidos nucleicos direccionalidad, y los extremos de las moléculas de ácido nucleico se denominan extremo 5' y extremo 3'. Las nucleobases se unen a los azúcares a través de un enlace N-glicosídico que implica un nitrógeno del anillo de la nucleobase (N-1 para las pirimidinas y N-9 para las purinas) y el carbono 1' del anillo de azúcar pentosa.

Los nucleósidos no estándar también se encuentran tanto en el ARN como en el ADN y suelen surgir de la modificación de los nucleósidos estándar dentro de la molécula de ADN o del transcrito de ARN primario (inicial). Las moléculas de ARN de transferencia

(ARNt) contienen un número especialmente elevado de nucleósidos modificados.

- Algunos de los últimos elementos fueron etiquetados como ácidos nucleicos cuando en realidad no lo son. Los ácidos nucleicos se encuentran en el núcleo de las células, pero moléculas como los PNA o los Morfolinos son análogos puramente sintéticos. Deberían etiquetarse como tales o eliminarse por completo de esta lista (aunque creo que tienen suficiente interés como para mantenerlos).
- Hice una página "intentando" Análogos de ácidos nucleicos para enlazar los análogos, hay muchos artículos huérfanos, categorizados bajo genética o bioquímica (dependiendo de la disciplina de los autores?). ¿sería decente un "otros" para la plantilla? Squidonium (talk) 14:58, 20 Noviembre 2007 (UTC) resuelto.
- El cpDNA (ADN del cloroplasto) debería añadirse; sin embargo, aún no hay página para él (el cpDNA dirige al cloroplasto). - tameraia (talk) 04:28, 11 de diciembre de 2007 (UTC)

Una molécula de ADN o ARN difiere de otra principalmente en la secuencia de nucleótidos. Las secuencias de nucleótidos son de gran importancia en biología, ya que llevan las instrucciones definitivas que codifican todas las moléculas biológicas, los

conjuntos moleculares, las estructuras subcelulares y celulares, los órganos y los organismos, y permiten directamente la cognición, la memoria y el comportamiento. Se han dedicado enormes esfuerzos al desarrollo de métodos experimentales para determinar la secuencia de nucleótidos de las moléculas biológicas de ADN y ARN,<sup>[24][25]</sup> y hoy en día se secuencian cientos de millones de nucleótidos a diario en los centros genómicos y en pequeños laboratorios de todo el mundo. Además de mantener la base de datos de secuencias de ácidos nucleicos GenBank, el NCBI proporciona recursos de análisis y recuperación de los datos de GenBank y otros datos biológicos disponibles a través del sitio web del NCBI.<sup>[26]</sup>

### **Ácido desoxirribonucleico**

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es un ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas utilizadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos conocidos. Los segmentos de ADN que portan esta información genética se denominan genes. Asimismo, otras secuencias de ADN tienen fines estructurales o participan en la regulación del uso de esta información genética. Junto con el ARN y las proteínas, el ADN es una de las tres principales macromoléculas esenciales para todas las formas de vida conocidas. El ADN está formado por dos largos polímeros de unidades simples denominadas nucleótidos, con

columnas vertebrales formadas por azúcares y grupos fosfato unidos por enlaces éster. Estas dos hebras van en direcciones opuestas entre sí y son, por tanto, antiparalelas. A cada azúcar se une uno de los cuatro tipos de moléculas denominadas nucleobases (informalmente, bases). La secuencia de estas cuatro nucleobases a lo largo de la columna vertebral es la que codifica la información. Esta información se lee mediante el código genético, que especifica la secuencia de los aminoácidos de las proteínas. El código se lee copiando tramos de ADN en el ácido nucleico relacionado ARN en un proceso llamado transcripción. Dentro de las células, el ADN se organiza en largas estructuras llamadas cromosomas. Durante la división celular, estos cromosomas se duplican en el proceso de replicación del ADN, proporcionando a cada célula su propio conjunto completo de cromosomas. Los organismos eucariotas - animales, plantas, hongos y protistas- almacenan la mayor parte de su ADN dentro del núcleo celular y parte de su ADN en orgánulos, como las mitocondrias o los cloroplastos. En cambio, los procariotas (bacterias y arqueas) almacenan su ADN sólo en el citoplasma. Dentro de los cromosomas, las proteínas de la cromatina, como las histonas, compactan y organizan el ADN. Estas estructuras compactas guían las interacciones entre el ADN y otras proteínas, ayudando a controlar qué partes del ADN se transcriben.

## **Ácido ribonucleico**

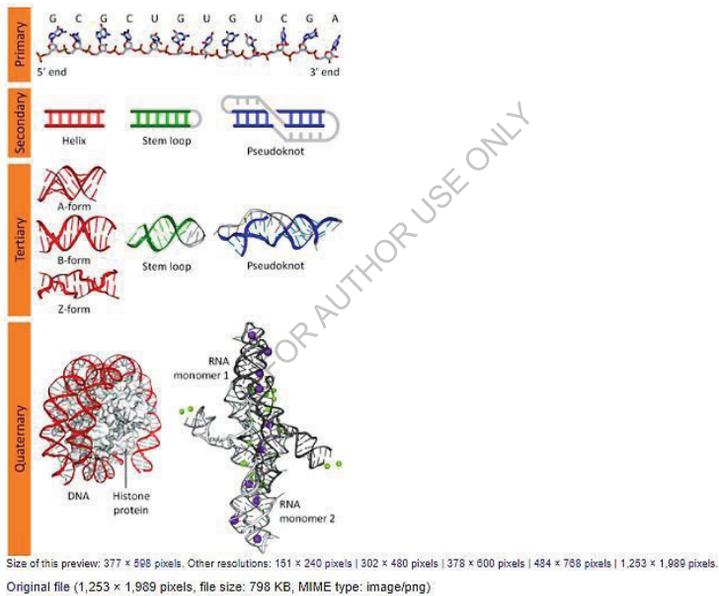
El ácido ribonucleico (ARN) se encarga de convertir la información genética de los genes en las secuencias de aminoácidos de las proteínas. Los tres tipos universales de ARN son el ARN de transferencia (ARNt), el ARN mensajero (ARNm) y el ARN ribosómico (ARNr). El ARN mensajero actúa para transportar la información de la secuencia genética entre el ADN y los ribosomas, dirigiendo la síntesis de proteínas, y lleva las instrucciones del ADN en el núcleo al ribosoma. El ARN ribosómico lee la secuencia del ADN y cataliza la formación de enlaces peptídicos. El ARN de transferencia sirve como molécula portadora de los aminoácidos que se utilizarán en la síntesis de proteínas y se encarga de descodificar el ARNm. Además, actualmente se conocen muchas otras clases de ARN.

## **Ácido nucleico artificial**

Los químicos han diseñado y sintetizado análogos de los ácidos nucleicos artificiales, entre los que se encuentran el ácido nucleico peptídico, el ácido nucleico morfolino y el ácido nucleico bloqueado, el ácido nucleico glicólico y el ácido nucleico treósico. Cada uno de ellos se distingue del ADN o ARN natural por los cambios en la columna vertebral de las moléculas.

## Estructuras del ácido nucleico

La estructura del ácido nucleico se refiere a la estructura de los ácidos nucleicos, como el ADN y el ARN. Desde el punto de vista químico, el ADN y el ARN son muy similares. La estructura de los ácidos nucleicos suele dividirse en cuatro niveles diferentes: primario, secundario, terciario y cuaternario.



**Figura (37):** La estructura primaria consiste en una secuencia lineal de nucleótidos.

La estructura primaria consiste en una secuencia lineal de nucleótidos que están unidos por un enlace fosfodiéster. Esta

secuencia lineal de nucleótidos es la que constituye la estructura primaria del ADN o del ARN. Los nucleótidos constan de 3 componentes:

1. Base nitrogenada

1. Adenina

2. Guanina

3. Citosina

4. Timina (presente sólo en el ADN)

5. Uracilo (presente sólo en el ARN)

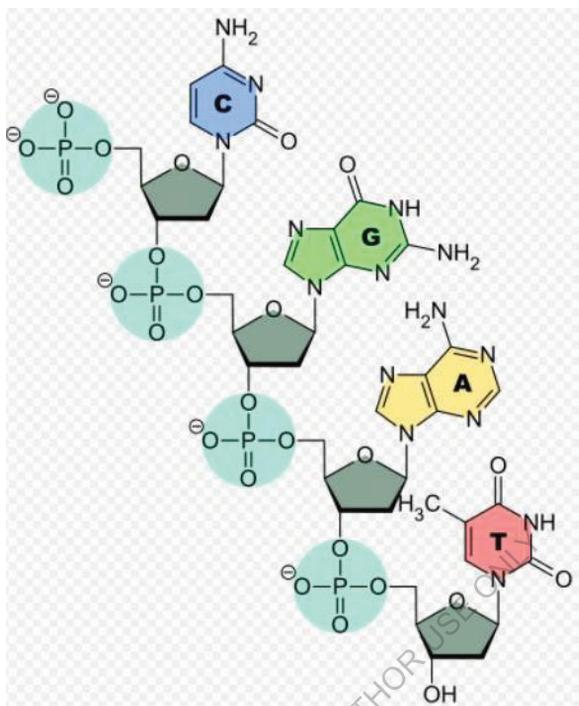
2. Azúcar de 5 carbonos que se llama desoxirribosa (que se encuentra en el ADN) y ribosa (que se encuentra en el ARN).

3. Uno o más grupos fosfato.<sup>[1]</sup>

Las bases nitrogenadas adenina y guanina tienen estructura de purina y forman un enlace glucosídico entre su nitrógeno 9 y el grupo 1' -OH de la desoxirribosa. La citosina, la timina y el uracilo son pirimidinas, por lo que los enlaces glucosídicos se forman entre su 1 nitrógeno y el 1' -OH de la desoxirribosa. Tanto para las bases de purina como de pirimidina, el grupo fosfato forma un enlace con el azúcar de desoxirribosa a través de un enlace éster entre uno de sus grupos de oxígeno con carga negativa y el 5' -OH del azúcar. La polaridad en el ADN y el ARN se deriva de los átomos de oxígeno y nitrógeno en la columna vertebral. Los ácidos nucleicos se forman cuando los nucleótidos se unen mediante enlaces fosfodiéster entre los átomos de carbono 5' y 3'. Una secuencia de

ácido nucleico es el orden de los nucleótidos dentro de una molécula de ADN (GACT) o de ARN (GACU) que se determina mediante una serie de letras. Las secuencias se presentan desde el extremo 5' al 3' y determinan la estructura covalente de toda la molécula. Las secuencias pueden ser complementarias a otra secuencia en el sentido de que la base de cada posición es complementaria, así como en el orden inverso. Un ejemplo de secuencia complementaria a la AGCT es la TCGA. El ADN es de doble cadena y contiene una cadena con sentido y otra con antisentido. Por lo tanto, la secuencia complementaria será la de la hebra con sentido.

FOR AUTHOR USE ONLY



**Figura (38): Estructuras de las bases nitrogenadas.**

## ADN

La estructura secundaria es el conjunto de interacciones entre las bases, es decir, qué partes de las hebras están unidas entre sí. En la doble hélice del ADN, las dos hebras del ADN se mantienen unidas por enlaces de hidrógeno. Los nucleótidos de una hebra se emparejan con el nucleótido de la otra hebra. La estructura secundaria es la responsable de la forma que adopta el ácido nucleico. Las bases del ADN se clasifican en purinas y pirimidinas.

Las purinas son la adenina y la guanina. Las purinas están formadas por una estructura de doble anillo, uno de seis miembros y otro de cinco que contiene nitrógeno. Las pirimidinas son la citosina y la timina. Tienen una estructura de anillo simple, un anillo de seis miembros que contiene nitrógeno. Una base de purina siempre se empareja con una base de pirimidina (la guanina (G) se empareja con la citosina (C) y la adenina (A) se empareja con la timina (T) o el uracilo (U)). La estructura secundaria del ADN viene determinada principalmente por el emparejamiento de las bases de las dos hebras polinucleotídicas que se enrollan entre sí para formar una doble hélice. Aunque las dos hebras se alinean mediante enlaces de hidrógeno en los pares de bases, las fuerzas más fuertes que mantienen unidas las dos hebras son las interacciones de apilamiento entre las bases. Estas interacciones de apilamiento están estabilizadas por fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas, y muestran una gran variabilidad estructural local. También hay dos surcos en la doble hélice, que se denominan surco mayor y surco menor en función de su tamaño relativo.

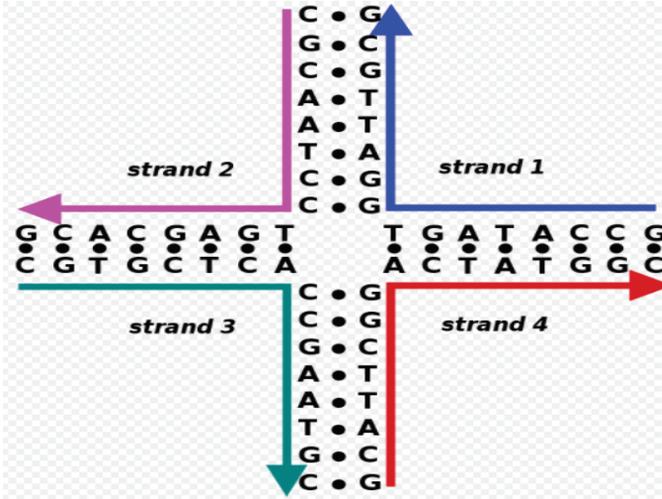
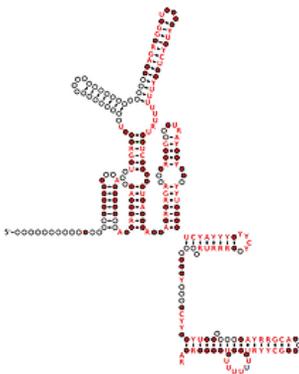


Figura (39): Hebra 1, hebra 2, hebra 3 y hebra 4 del ácido nucleico (ADN).

## ARN



### **Figura (40): Estructura secundaria del ARN.**

Un ejemplo de estructura secundaria de ARN. Esta imagen incluye varios elementos estructurales, entre los que se encuentran zonas de una y dos cadenas, protuberancias, bucles internos y bucles de horquilla. El ARN bicatenario forma una estructura helicoidal de tipo A, a diferencia de la conformación común de tipo B que adoptan las moléculas de ADN bicatenario.

La estructura secundaria del ARN consiste en un único polinucleótido. El emparejamiento de bases en el ARN se produce cuando éste se pliega entre regiones de complementariedad. En las moléculas de ARN suelen encontrarse regiones de una y dos cadenas.

Los cuatro elementos básicos de la estructura secundaria del ARN son:

- **Helices**
- **Bultos**
- **Bucles**
- **Cruces**

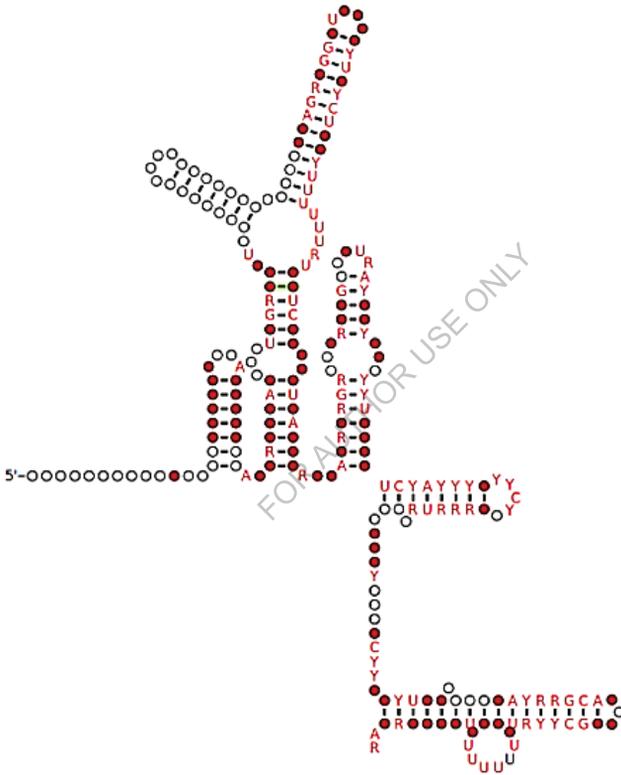
Las hebras antiparalelas forman una forma helicoidal.<sup>[3]</sup> Las protuberancias y los bucles internos se forman por la separación de la doble hélice en una hebra (protuberancia) o en ambas (bucles internos) por nucleótidos no apareados.

El bucle de tallo o de horquilla es el elemento más común de la estructura secundaria del ARN. El bucle de tallo se forma cuando las cadenas de ARN se pliegan sobre sí mismas para formar un tracto de doble hélice llamado "tallo", y los nucleótidos no apareados forman una región de una sola hebra llamada "bucle". Un tetraloop es una estructura de ARN de cuatro pares de bases en forma de horquilla. Hay tres familias comunes de tetraloop en el ARN ribosómico: UNCG, GNRA y CUUG (*N* es uno de los cuatro nucleótidos y *R* es una purina). El UNCG es el tetraloop más estable.

El pseudonudo es una estructura secundaria del ARN identificada por primera vez en el virus del mosaico amarillo del nabo. Los pseudoknots se forman cuando los nucleótidos del bucle de la horquilla se emparejan con una región monocatenaria fuera de la horquilla para formar un segmento helicoidal. Los pseudoknots de tipo H son los mejor caracterizados. En el pliegue de tipo H, los nucleótidos del bucle de la horquilla se emparejan con las bases fuera del tallo de la horquilla formando un segundo tallo y bucle. Esto provoca la formación de pseudoknots con dos tallos y dos bucles. Los pseudoknots son elementos funcionales en la estructura del ARN que tienen diversas funciones y se encuentran en la mayoría de las clases de ARN.

La estructura secundaria del ARN puede predecirse a partir de datos experimentales sobre los elementos de la estructura

secundaria, las hélices, los bucles y las protuberancias. El método DotKnot-PW se utiliza para la predicción comparativa de pseudoknots. Los puntos principales del método DotKnot-PW es la puntuación de las similitudes encontradas en los tallos, los elementos secundarios y los pseudoknots de tipo H.



**Figura (41): Estructura terciaria del ARN.**

La estructura terciaria se refiere a la ubicación de los átomos en el espacio tridimensional, teniendo en cuenta las restricciones

geométricas y estéricas. Es un orden superior a la estructura secundaria, en la que se produce un plegado a gran escala en un polímero lineal y toda la cadena se pliega en una forma tridimensional específica. Hay 4 áreas en las que las formas estructurales del ADN pueden diferir.

1. Destreza: derecha o izquierda
2. Longitud del giro de la hélice
3. Número de pares de bases por vuelta
4. Diferencia de tamaño entre los surcos mayores y menores<sup>[3]</sup>

La disposición terciaria de la doble hélice del ADN en el espacio incluye el ADN-B, el ADN-A y el ADN-Z.

El ADN-B es la forma más común de ADN in vivo y es una hélice más estrecha y alargada que el ADN-A. Su amplio surco mayor lo hace más accesible a las proteínas. Por otro lado, tiene un surco menor estrecho. Las conformaciones favorecidas del ADN-B se producen en altas concentraciones de agua; la hidratación del surco menor parece favorecer al ADN-B. Los pares de bases del ADN-B son casi perpendiculares al eje de la hélice. El fruncimiento del azúcar que determina la forma de la hélice A, si la hélice existirá en la forma A o en la forma B, ocurre en el extremo C2'-.

El ADN-A, es una forma del dúplex de ADN que se observa en condiciones de deshidratación. Es más corto y ancho que el ADN-

B. El ARN adopta esta forma de doble hélice, y los dúplex ARN-ADN son en su mayoría de forma A, pero se han observado dúplex ARN-ADN de forma B. En contextos localizados de dinucleótidos de una sola hebra, el ARN también puede adoptar la forma B sin emparejarse con el ADN. El ADN-A tiene un surco principal profundo y estrecho que no lo hace fácilmente accesible a las proteínas. En cambio, su surco menor, ancho y poco profundo, lo hace accesible a las proteínas, pero con menor contenido de información que el surco mayor. Su conformación preferida es a bajas concentraciones de agua. Los pares de bases del ADN-A están inclinados con respecto al eje de la hélice, y están desplazados del eje. El fruncido de azúcares se produce en el C3'-endo y en el ARN el 2'-OH inhibe la conformación del C2'-endo.<sup>[14]</sup> Considerado durante mucho tiempo poco más que un artificio de laboratorio, ahora se sabe que el ADN-A tiene varias funciones biológicas.

El ADN-Z es una doble hélice zurda relativamente rara. Dada la secuencia adecuada y la tensión superhélica, puede formarse in vivo, pero su función no está clara. Tiene una hélice más estrecha y alargada que la A o la B. El surco mayor del ADN-Z no es realmente un surco, y tiene un surco menor estrecho. La conformación más favorecida se produce cuando hay altas concentraciones de sal. Existen algunas sustituciones de bases, pero requieren una secuencia alterna de purina-pirimidina. El N2-

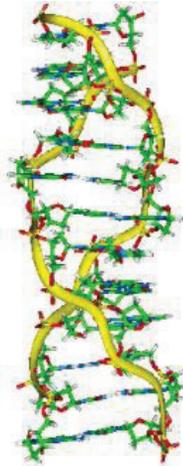
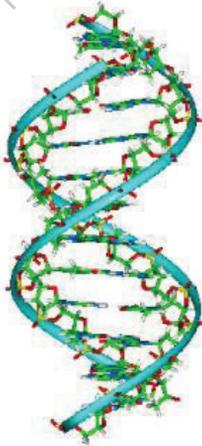
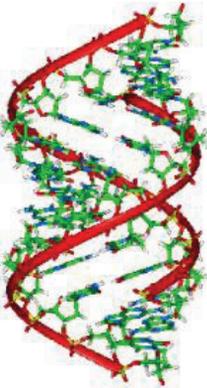
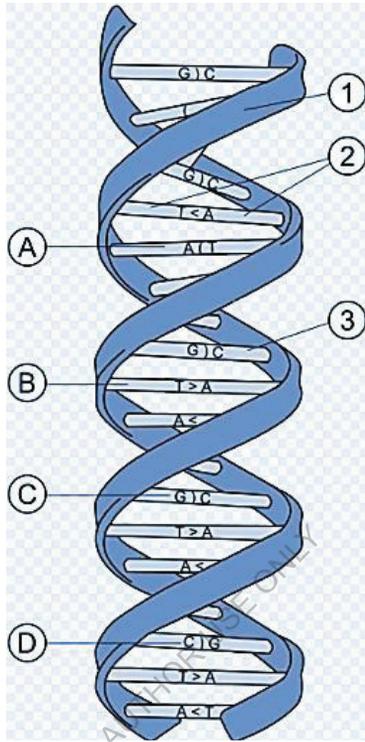
amino de G se une a 5' PO, lo que explica el lento intercambio de protones y la necesidad de la purina G. Los pares de bases del ADN-Z son casi perpendiculares al eje de la hélice. El Z-ADN no contiene pares de bases simples sino una repetición GpC con distancias P-P que varían para GpC y CpG. En la pila GpC hay un buen solapamiento de bases, mientras que en la pila CpG hay menos solapamiento. La columna vertebral en zigzag del Z-ADN se debe a que la conformación del azúcar C compensa la conformación del enlace glicosídico G. La conformación de G es syn, C2'-endo; para C es anti, C3'-endo.

Una molécula de ADN lineal con extremos libres puede girar, para ajustarse a los cambios de varios procesos dinámicos en la célula, cambiando las veces que las dos cadenas de su doble hélice se enroscan una alrededor de la otra. Algunas moléculas de ADN son circulares y están limitadas topológicamente. Más recientemente se ha descrito que el ARN circular también es una clase natural de ácidos nucleicos que se expresa en muchos organismos.

Un ADN circular cerrado covalentemente, también conocido como cccDNA, está topológicamente restringido, ya que el número de veces que las cadenas se enrollan unas alrededor de otras no puede cambiar. Este ADNc puede estar superenrollado, que es la estructura terciaria del ADN. El superenrollamiento se caracteriza por el número de enlace, la torsión y el retorcimiento. El número

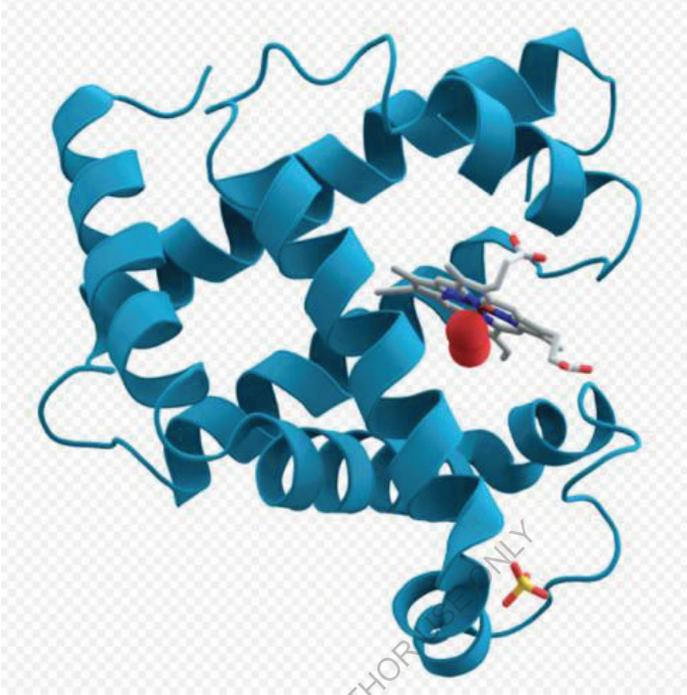
de enlace ( $Lk$ ) para el ADN circular se define como el número de veces que una hebra tendría que pasar por la otra hebra para separar completamente las dos hebras. El número de enlace del ADN circular sólo puede modificarse si se rompe un enlace covalente en una de las dos cadenas. Siempre un número entero, el número de enlace de un ADNc es la suma de dos componentes: giros ( $T_w$ ) y retorcimientos ( $W_r$ ).

Las torsiones son el número de veces que las dos hebras de ADN se retuercen entre sí. Los giros son el número de veces que la hélice de ADN se cruza sobre sí misma. El ADN en las células está superenrollado negativamente y tiene tendencia a desenrollarse. Por lo tanto, la separación de las hebras es más fácil en el ADN superenrollado negativamente que en el ADN relajado. Los dos componentes del ADN superenrollado son el solenoide y el plectonémico. El superenrollamiento plectonémico se encuentra en procariotas, mientras que el superenrollamiento solenoide se observa principalmente en eucariotas.



### **Figura (42): Estructura cuaternaria del ácido nucleico.**

La estructura cuaternaria de los ácidos nucleicos es similar a la de las proteínas. Aunque algunos de los conceptos no son exactamente iguales, la estructura cuaternaria se refiere a un nivel superior de organización de los ácidos nucleicos. Además, se refiere a las interacciones de los ácidos nucleicos con otras moléculas. La forma más común de organización de nivel superior de los ácidos nucleicos se observa en la forma de cromatina, que da lugar a sus interacciones con las pequeñas proteínas histonas. Asimismo, la estructura cuaternaria se refiere a las interacciones entre unidades de ARN separadas en el ribosoma o el espliceosoma .



**Figura (43): Estructura cuaternaria del ácido nucleico.**

Los métodos de ácidos nucleicos son las técnicas utilizadas para estudiar los ácidos nucleicos: ADN y ARN.

- Purificación
- Extracción de ADN
- Extracción con fenol-cloroformo
- Purificación con minicolumnas
- Extracción de ARN
- Método de la pluma
- Purificación del ADN del coeficiente de arrastre sincrónico (SCODA)

### **Cuantificación**

- Abundancia en peso: cuantificación espectroscópica de ácidos nucleicos
- Abundancia absoluta en número: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR cuantitativa)
- Abundancia relativa de alto rendimiento: Microarray de ADN
- Abundancia absoluta de alto rendimiento: análisis en serie de la expresión génica (SAGE)
- Tamaño: electroforesis en gel

## Síntesis

- *De novo*: síntesis de oligonucleótidos
- Amplificación: reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## Cinética

- Resonancia plasmónica superficial multiparamétrica
- Interferometría de doble polarización
- Microbalanza de cristal de cuarzo con control de disipación (QCM-D).

## Función de los genes

### Interferencia de ARN

## Otros

- Secuenciación por bisulfito
- Secuenciación del ADN
- Clonación de expresión
- Hibridación fluorescente in situ
- Lab-on-a-chip

- Comparación de programas informáticos de simulación de ácidos nucleicos
- Northern blot
- Ensayo de corrimiento nuclear
- La radiactividad en las ciencias de la vida
- Southern blot
- Centrifugación diferencial (gradiente de sacarosa)
- Ensayo de Toeprinting
- Varios métodos bioinformáticos, como se ve en la lista de software de predicción de la estructura del ARN

### **Técnica utilizada en genética molecular**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método ampliamente utilizado para hacer rápidamente de millones a miles de millones de copias (copias completas o parciales) de una muestra de ADN específica, lo que permite a los científicos tomar una muestra muy pequeña de ADN y amplificarla (o una parte de ella) hasta una cantidad lo suficientemente grande como para estudiarla en detalle. La PCR fue inventada en 1983 por el bioquímico estadounidense Kary Mullis en Cetus Corporation. Es fundamental para muchos de los procedimientos utilizados en las pruebas e investigaciones genéticas, como el análisis de muestras antiguas de ADN y la identificación de agentes infecciosos. Mediante la PCR, se amplifican exponencialmente copias de

cantidades muy pequeñas de secuencias de ADN en una serie de ciclos de cambios de temperatura. La PCR es ahora una técnica común y a menudo indispensable utilizada en la investigación de laboratorios médicos para una amplia variedad de aplicaciones, incluyendo la investigación biomédica y la criminalística.

La mayoría de los métodos de PCR se basan en el ciclado térmico. Los ciclos térmicos exponen a los reactivos a ciclos repetidos de calentamiento y enfriamiento para permitir diferentes reacciones dependientes de la temperatura, en concreto, la fusión del ADN y la replicación del ADN impulsada por las enzimas. La PCR emplea dos reactivos principales: los cebadores, que son fragmentos cortos de ADN de una sola hebra conocidos como oligonucleótidos que son una secuencia complementaria a la región de ADN objetivo, y una ADN polimerasa. En el primer paso de la PCR, las dos cadenas de la doble hélice de ADN se separan físicamente a una temperatura elevada en un proceso denominado desnaturalización del ácido nucleico. En el segundo paso, se reduce la temperatura y los cebadores se unen a las secuencias complementarias del ADN. Las dos cadenas de ADN se convierten entonces en plantillas para que la ADN polimerasa ensamble enzimáticamente una nueva cadena de ADN a partir de nucleótidos libres, los componentes básicos del ADN. A medida que la PCR avanza, el propio ADN generado se utiliza como plantilla para la

replicación, poniendo en marcha una reacción en cadena en la que la plantilla de ADN original se amplifica exponencialmente.

Casi todas las aplicaciones de la PCR emplean una polimerasa de ADN estable al calor, como la *Taq* polimerasa, una enzima aislada originalmente de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*. Si la polimerasa utilizada fuera termoestable, se desnaturizaría bajo las altas temperaturas del paso de desnaturalización. Antes de utilizar la *Taq* polimerasa, había que añadir manualmente la ADN polimerasa en cada ciclo, lo que suponía un proceso tedioso y costoso.

Las aplicaciones de la técnica incluyen la clonación de ADN para la secuenciación, la clonación y manipulación de genes, la mutagénesis de genes; la construcción de filogenias basadas en el ADN o el análisis funcional de genes; el diagnóstico y el seguimiento de trastornos genéticos; la amplificación de ADN antiguo, el análisis de huellas genéticas para la elaboración de perfiles de ADN (por ejemplo, en la ciencia forense y las pruebas de parentesco) y la detección de patógenos en pruebas de ácidos nucleicos para el diagnóstico de enfermedades infecciosas.



**Figura (44): La PCR amplifica una región específica de una cadena de ADN.**

### **Principios**

La PCR amplifica una región específica de una cadena de ADN (el objetivo de ADN). La mayoría de los métodos de PCR amplifican fragmentos de ADN de entre 0,1 y 10 kilo pares de bases (kbp) de longitud, aunque algunas técnicas permiten amplificar fragmentos de hasta 40 kbp. La cantidad de producto amplificado viene determinada por los sustratos disponibles en la reacción, que se vuelven limitantes a medida que ésta avanza.

Un montaje básico de PCR requiere varios componentes y reactivos, entre ellos

- Plantilla de ADN que contiene la región objetivo de ADN a amplificar.
- ADN polimerasa una enzima que polimeriza nuevas cadenas de ADN; la *Taq* polimerasa, resistente al calor, es especialmente común, ya que es más probable que permanezca intacta durante el proceso de desnaturalización del ADN a alta temperatura.
- Dos cebadores de ADN que son complementarios a los extremos 3' (tres primos) de cada una de las cadenas sentido y antisentido del ADN diana (la ADN polimerasa sólo puede unirse y elongarse a partir de una región de doble cadena de ADN; sin cebadores, no hay un sitio de iniciación de doble cadena al que la polimerasa pueda unirse), se seleccionan de antemano cebadores específicos que son complementarios a la región de ADN diana, y a menudo se fabrican a medida en un laboratorio o se compran a proveedores comerciales de productos bioquímicos.
- desoxinucleósidos trifosfatos o dNTPs, a veces llamados desoxinucleótidos trifosfatos, nucleótidos que contienen grupos trifosfato, los bloques de construcción a partir de los cuales la ADN polimerasa sintetiza una nueva cadena de ADN

- una solución tampón que proporcione un entorno químico adecuado para una actividad y estabilidad óptimas de la ADN polimerasa
- cationes bivalentes, típicamente iones de magnesio (Mg) o manganeso (Mn);  $Mg^{2+}$  es el más común, pero  $Mn^{2+}$  puede utilizarse para la mutagénesis de ADN mediada por PCR, ya que una mayor concentración de  $Mn^{2+}$  aumenta la tasa de error durante la síntesis de ADN y *cationes monovalentes*, típicamente iones de potasio (K)

La reacción suele llevarse a cabo en un volumen de 10-200  $\mu$ L en pequeños tubos de reacción (volúmenes de 0,2-0,5 mL) en un termociclador. El termociclador calienta y enfría los tubos de reacción para alcanzar las temperaturas necesarias en cada paso de la reacción. Muchos termocicladores modernos utilizan el efecto Peltier, que permite calentar y enfriar el bloque que contiene los tubos de PCR simplemente invirtiendo la corriente eléctrica. Los tubos de reacción de paredes finas permiten una conductividad térmica favorable para permitir un rápido equilibrio térmico. La mayoría de los termocicladores tienen tapas calentadas para evitar la condensación en la parte superior del tubo de reacción. Los termocicladores más antiguos que carecen de tapa calentada requieren una capa de aceite sobre la mezcla de reacción o una bola de cera dentro del tubo.



**Figura (45): Normalmente, la PCR consiste en una serie de 20-40 cambios de temperatura repetidos, llamados ciclos térmicos.**

### **Procedimiento**

Normalmente, la PCR consiste en una serie de 20-40 cambios de temperatura repetidos, denominados ciclos térmicos, y cada ciclo suele consistir en dos o tres pasos de temperatura discretos (véase la figura siguiente). El ciclo suele ir precedido de un único paso de temperatura a una temperatura muy alta ( $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), y seguido de una retención al final para la extensión del producto final o un breve almacenamiento. Las temperaturas utilizadas y el tiempo que se aplican en cada ciclo dependen de una serie de parámetros, como

la enzima utilizada para la síntesis de ADN, la concentración de iones bivalentes y dNTPs en la reacción, y la temperatura de fusión ( $T_m$ ) de los cebadores. Los pasos individuales comunes a la mayoría de los métodos de PCR son los siguientes:

- **Inicialización:** Este paso sólo es necesario para las polimerasas de ADN que requieren activación por calor mediante PCR de arranque en caliente. Consiste en calentar la cámara de reacción hasta una temperatura de 94-96 °C (201-205 °F), o 98 °C (208 °F) si se utilizan polimerasas extremadamente termoestables, que se mantiene durante 1-10 minutos.
- **Desnaturalización:** Este paso es el primer evento cíclico regular y consiste en calentar la cámara de reacción a 94-98 °C (201-208 °F) durante 20-30 segundos. Esto provoca la fusión del ADN, o desnaturalización, de la plantilla de ADN de doble cadena al romper los enlaces de hidrógeno entre las bases complementarias, dando lugar a dos moléculas de ADN de cadena simple.
- **Recocido:** En el siguiente paso, la temperatura de la reacción se reduce a 50-65 °C (122-149 °F) durante 20-40 segundos, lo que permite el recocido de los cebadores a cada una de las plantillas de ADN monocatenario. Normalmente se incluyen dos cebadores diferentes en la mezcla de reacción: uno para cada uno de los dos complementos monocatenarios que contienen la región objetivo. Los cebadores son secuencias monocatenarias

en sí mismas, pero son mucho más cortos que la longitud de la región diana, complementando sólo secuencias muy cortas en el extremo 3' de cada cadena.

Es fundamental determinar una temperatura adecuada para el paso de recocido, ya que la eficiencia y la especificidad se ven muy afectadas por la temperatura de recocido. Esta temperatura debe ser lo suficientemente baja como para permitir la hibridación del cebador con la hebra, pero lo suficientemente alta como para que la hibridación sea específica, por ejemplo, el cebador debe unirse sólo a una parte perfectamente complementaria de la hebra, y a ninguna otra. Si la temperatura es demasiado baja, el cebador puede unirse de forma imperfecta. Si la temperatura es demasiado alta, el cebador no se unirá en absoluto. Una temperatura de recocido típica es de unos 3-5 °C por debajo de la  $T_m$  de los cebadores utilizados. Los enlaces de hidrógeno estables entre las bases complementarias sólo se forman cuando la secuencia del cebador coincide estrechamente con la secuencia del molde. Durante este paso, la polimerasa se une al híbrido cebador-plantilla y comienza la formación de ADN.

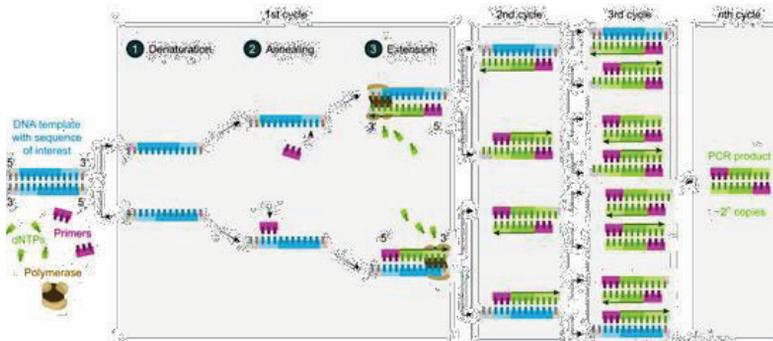
- Extensión/elongación: La temperatura en este paso depende de la ADN polimerasa utilizada; la temperatura óptima de actividad para la ADN polimerasa termoestable de la *Taq* polimerasa es de aproximadamente 75-80 °C (167-176 °F),<sup>[13][14]</sup> aunque con esta enzima se suele utilizar una

temperatura de 72 °C (162 °F). En este paso, la ADN polimerasa sintetiza una nueva cadena de ADN complementaria a la cadena molde de ADN mediante la adición de dNTPs libres de la mezcla de reacción que es complementaria a la plantilla en la dirección 5'-a-3', condensando el grupo 5'-fosfato de los dNTPs con el grupo 3'-hidróxido en el extremo de la cadena de ADN naciente (elongación). El tiempo exacto necesario para la elongación depende tanto de la ADN polimerasa utilizada como de la longitud de la región objetivo del ADN a amplificar. Como regla general, a su temperatura óptima, la mayoría de las ADN polimerasas polimerizan mil bases por minuto. En condiciones óptimas, por ejemplo, si no hay limitaciones debidas a sustratos o reactivos limitantes en cada paso de extensión/elongación, el número de secuencias diana de ADN se duplica. Con cada ciclo sucesivo, las hebras molde originales más todas las nuevas hebras generadas se convierten en hebras molde para la siguiente ronda de elongación, lo que lleva a una amplificación exponencial (geométrica) de la región diana de ADN específica.

Los procesos de desnaturalización, recocido y elongación constituyen un único ciclo. Se necesitan múltiples ciclos para amplificar el ADN objetivo hasta alcanzar millones de copias. La fórmula utilizada para calcular el número de copias de ADN formadas tras un número determinado de ciclos es

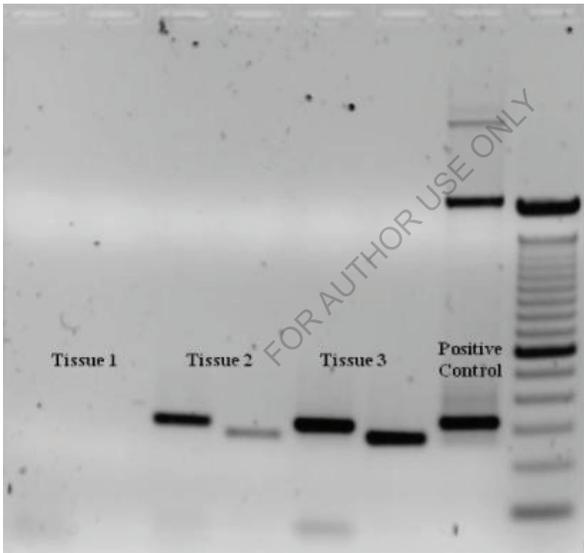
$2^n$ , donde  $n$  es el número de ciclos. Así, una reacción preparada para 30 ciclos da como resultado  $2^{30}$ , o 1.073.741.824, copias de la región objetivo original de ADN de doble cadena.

- Elongación final: Este único paso es opcional, pero se realiza a una temperatura de 70-74 °C (el rango de temperatura requerido para la actividad óptima de la mayoría de las polimerasas utilizadas en la PCR) durante 5-15 minutos después del último ciclo de PCR para asegurar que cualquier ADN monocatenario restante se elongue completamente.
- Retención final: El paso final enfría la cámara de reacción a 4-15 °C (39-59 °F) durante un tiempo indefinido, y puede emplearse para el almacenamiento a corto plazo de los productos de la PCR.



**Figura (46): Pasos de la PCR.**

Para comprobar si la PCR ha generado con éxito la región diana de ADN prevista, también denominada a veces amplímero o amplicón, puede emplearse la electroforesis en gel de agarosa para separar el tamaño de los productos de la PCR. El tamaño de los productos de la PCR se determina por comparación con una escalera de ADN, un marcador de peso molecular que contiene fragmentos de ADN de tamaños conocidos, que se extiende en el gel junto a los productos de la PCR.



**Figura (47): Electroforesis en gel.**

## **Etapas**

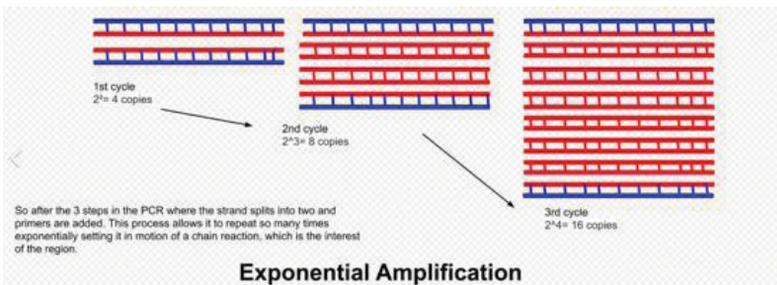
Al igual que ocurre con otras reacciones químicas, la velocidad de reacción y la eficacia de la PCR se ven afectadas por factores limitantes. Por lo tanto, el proceso completo de la PCR puede dividirse en tres etapas basadas en el progreso de la reacción:

- **Amplificación exponencial:** En cada ciclo, la cantidad de producto se duplica (suponiendo una eficacia de la reacción del 100%). Después de 30 ciclos, una sola copia de ADN puede aumentar hasta 1.000.000.000 (mil millones) de copias. En cierto sentido, pues, se está manipulando la replicación de una cadena discreta de ADN en un tubo bajo condiciones controladas.<sup>[15]</sup> La reacción es muy sensible: sólo debe haber cantidades mínimas de ADN.
- **Etapas de nivelación:** La reacción se ralentiza a medida que la ADN polimerasa pierde actividad y a medida que el consumo de reactivos, como los dNTPs y los cebadores, los hace más limitados.
- **Meseta:** No se acumula más producto debido al agotamiento de los reactivos y la enzima.

## **Optimización**

En la práctica, la PCR puede fallar por varias razones, en parte debido a su sensibilidad a la contaminación que provoca la

amplificación de productos de ADN espurios. Por ello, se han desarrollado una serie de técnicas y procedimientos para optimizar las condiciones de la PCR. La contaminación con ADN extraño se aborda con protocolos y procedimientos de laboratorio que separan las mezclas previas a la PCR de los posibles contaminantes de ADN. Esto suele implicar la separación espacial de las zonas de preparación de la PCR de las zonas de análisis o purificación de los productos de la PCR, el uso de material de plástico desechable y la limpieza a fondo de la superficie de trabajo entre las preparaciones de las reacciones. Las técnicas de diseño de cebadores son importantes para mejorar el rendimiento de los productos de la PCR y evitar la formación de productos espurios, y el uso de componentes alternativos del tampón o de las enzimas de la polimerasa puede ayudar a la amplificación de regiones largas o problemáticas del ADN. La adición de reactivos, como la formamida, en los sistemas tampón puede aumentar la especificidad y el rendimiento de la PCR. Se pueden realizar simulaciones por ordenador de los resultados teóricos de la PCR (PCR electrónica) para ayudar al diseño de los cebadores.



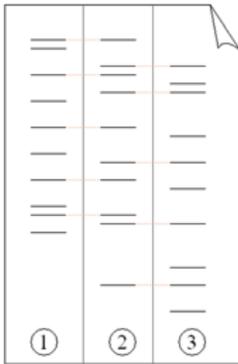
## **Figura (48): Amplificación exponencial.**

### **Aislamiento selectivo del ADN**

La PCR permite aislar fragmentos de ADN del ADN genómico mediante la amplificación selectiva de una región específica del ADN. Este uso de la PCR aumenta muchas formas, como la generación de sondas de hibridación para la hibridación Southern o Northern y la clonación de ADN, que requieren mayores cantidades de ADN, representando una región específica de ADN. La PCR suministra a estas técnicas altas cantidades de ADN puro, lo que permite el análisis de muestras de ADN incluso a partir de cantidades muy pequeñas de material de partida.

Otras aplicaciones de la PCR incluyen la secuenciación del ADN para determinar secuencias desconocidas amplificadas por PCR en las que uno de los cebadores de amplificación puede utilizarse en la secuenciación de Sanger, el aislamiento de una secuencia de ADN para agilizar las tecnologías de ADN recombinante que implican la inserción de una secuencia de ADN en un plásmido, fago o cósmido según el tamaño o el material genético de otro organismo. Las colonias bacterianas, como las de *E. coli*, pueden examinarse rápidamente mediante PCR para obtener construcciones correctas de vectores de ADN. La PCR también puede utilizarse para la huella genética; una técnica forense que se

utiliza para identificar a una persona u organismo comparando ADN experimental mediante diferentes métodos basados en la PCR.



**Figura (49): Electroforesis de fragmentos de ADN amplificados por PCR:**

Padre

1. Niño

2. Madre

El niño ha heredado algunas, pero no todas, las huellas dactilares de cada uno de sus padres, lo que le confiere una huella dactilar nueva y única.

Algunos métodos de huellas de PCR tienen un alto poder de discriminación y pueden utilizarse para identificar relaciones genéticas entre individuos, como entre padres e hijos o entre hermanos, y se utilizan en las pruebas de paternidad. Esta técnica

también puede utilizarse para determinar las relaciones evolutivas entre organismos cuando se utilizan ciertos relojes moleculares, por ejemplo, los genes *16SrRNA* y *recA* de los microorganismos).

### **Amplificación y cuantificación del ADN**

Dado que la PCR amplifica las regiones de ADN a las que se dirige, puede utilizarse para analizar cantidades extremadamente pequeñas de muestra. Esto suele ser fundamental para el análisis forense, cuando sólo se dispone de una cantidad mínima de ADN como prueba. La PCR también puede utilizarse en el análisis de ADN antiguo de decenas de miles de años. Estas técnicas basadas en la PCR se han utilizado con éxito en animales, como un mamut de cuarenta mil años de antigüedad, y también en ADN humano, en aplicaciones que van desde el análisis de momias egipcias hasta la identificación de un zar ruso y el cuerpo del rey inglés Ricardo III.

Los métodos de PCR cuantitativa o PCR en tiempo real (qPCR, que no debe confundirse con la RT-PCR) permiten estimar la cantidad de una determinada secuencia presente en una muestra, una técnica que suele aplicarse para determinar cuantitativamente los niveles de expresión de los genes. La PCR cuantitativa es una herramienta establecida para la cuantificación del ADN que mide la acumulación del producto de ADN después de cada ronda de amplificación de la PCR.

La qPCR permite la cuantificación y detección de una secuencia específica de ADN en tiempo real, ya que mide la concentración mientras tiene lugar el proceso de síntesis. Existen dos métodos para la detección y cuantificación simultáneas. El primer método consiste en utilizar colorantes fluorescentes que se retienen de forma inespecífica entre las dobles cadenas. El segundo método consiste en utilizar sondas que codifican secuencias específicas y que están marcadas con fluorescencia. La detección del ADN mediante estos métodos sólo puede verse después de que se produzca la hibridación de las sondas con su ADN complementario. Una interesante combinación de técnicas es la PCR en tiempo real y la transcripción inversa. Esta sofisticada técnica, denominada RT-qPCR, permite la cuantificación de una pequeña cantidad de ARN. Mediante esta técnica combinada, el ARNm se convierte en ADNc, que se cuantifica posteriormente mediante la qPCR. Esta técnica reduce la posibilidad de error en el punto final de la PCR,<sup>[24]</sup> aumentando las posibilidades de detección de genes asociados a enfermedades genéticas como el cáncer.<sup>[4]</sup> Los laboratorios utilizan la RT-qPCR para medir con sensibilidad la regulación de los genes. Los fundamentos matemáticos para la cuantificación fiable de la PCR y la RT-qPCR facilitan la implementación de procedimientos de ajuste preciso de los datos experimentales en aplicaciones de investigación, médicas, de diagnóstico y de enfermedades infecciosas.

## **Aplicaciones médicas y de diagnóstico**

Los futuros padres pueden someterse a pruebas para saber si son portadores genéticos, o sus hijos pueden ser examinados para saber si están realmente afectados por una enfermedad.<sup>[1]</sup> Las muestras de ADN para las pruebas prenatales pueden obtenerse mediante amniocentesis, muestras de vellosidades coriónicas o incluso mediante el análisis de células fetales raras que circulan por el torrente sanguíneo de la madre. El análisis por PCR también es esencial para el diagnóstico genético preimplantacional, en el que se analizan células individuales de un embrión en desarrollo para detectar mutaciones.

- La PCR también puede utilizarse como parte de una prueba sensible para la tipificación de tejidos, vital para el trasplante de órganos. A partir de 2008, existe incluso una propuesta para sustituir las pruebas tradicionales de tipificación sanguínea basadas en anticuerpos por pruebas basadas en la PCR.
- Muchas formas de cáncer implican alteraciones en los oncogenes. Mediante el uso de pruebas basadas en la PCR para estudiar estas mutaciones, los regímenes terapéuticos pueden a veces personalizarse para un paciente. La PCR permite el diagnóstico precoz de enfermedades malignas como la leucemia y los linfomas, que es actualmente el más desarrollado en la investigación del cáncer y ya se utiliza de forma rutinaria. Los

ensayos de PCR pueden realizarse directamente en muestras de ADN genómico para detectar células malignas específicas de la translocación con una sensibilidad al menos 10.000 veces superior a la de otros métodos. La PCR es muy útil en el ámbito médico, ya que permite aislar y amplificar los supresores tumorales. La PCR cuantitativa, por ejemplo, puede utilizarse para cuantificar y analizar células individuales, así como para reconocer confirmaciones y combinaciones de ADN, ARNm y proteínas.

### **Aplicaciones para enfermedades infecciosas**

La PCR permite un diagnóstico rápido y muy específico de las enfermedades infecciosas, incluidas las causadas por bacterias o virus.<sup>[33]</sup> La PCR también permite la identificación de microorganismos no cultivables o de crecimiento lento, como las micobacterias, las bacterias anaerobias o los virus, a partir de ensayos de cultivo de tejidos y modelos animales. La base de las aplicaciones de diagnóstico de la PCR en microbiología es la detección de agentes infecciosos y la discriminación de las cepas no patógenas de las patógenas en virtud de genes específicos.

La caracterización y la detección de organismos de enfermedades infecciosas han sido revolucionadas por la PCR de las siguientes maneras:

- El virus de la inmunodeficiencia humana o VIH, es un objetivo difícil de encontrar y erradicar. Las primeras pruebas para detectar la infección se basaban en la presencia de anticuerpos contra el virus que circulaban por el torrente sanguíneo. Sin embargo, los anticuerpos no aparecen hasta muchas semanas después de la infección, los anticuerpos maternos enmascaran la infección de un recién nacido y los agentes terapéuticos para combatir la infección no afectan a los anticuerpos. Se han desarrollado pruebas de PCR que pueden detectar tan sólo un genoma viral entre el ADN de más de 50.000 células del huésped. Las infecciones pueden detectarse antes, la sangre donada puede analizarse directamente para detectar el virus, los recién nacidos pueden ser sometidos inmediatamente a pruebas de infección y los efectos de los tratamientos antivirales pueden cuantificarse.
- Algunos organismos de la enfermedad, como el de la tuberculosis, son difíciles de muestrear de los pacientes y lentos de cultivar en el laboratorio. Las pruebas basadas en la PCR han permitido detectar un pequeño número de organismos de la enfermedad (tanto vivos como muertos), en muestras convenientes. El análisis genético detallado también puede utilizarse para detectar la resistencia a los antibióticos, lo que permite una terapia inmediata y eficaz. Los efectos de la terapia también pueden evaluarse inmediatamente.

- La propagación de un organismo patógeno a través de poblaciones de animales domésticos o salvajes puede controlarse mediante pruebas de PCR. En muchos casos, se puede detectar y controlar la aparición de nuevos subtipos virulentos. Los subtipos de un organismo que fueron responsables de epidemias anteriores también pueden determinarse mediante el análisis de PCR.
- El ADN viral puede detectarse mediante la PCR. Los cebadores utilizados deben ser específicos para las secuencias objetivo en el ADN de un virus, y la PCR puede utilizarse para los análisis de diagnóstico o la secuenciación del ADN del genoma viral. La alta sensibilidad de la PCR permite detectar el virus poco después de la infección e incluso antes de la aparición de la enfermedad.<sup>[33]</sup> Esta detección precoz puede dar a los médicos un tiempo de ventaja significativo en el tratamiento. La cantidad de virus ("carga viral") en un paciente también puede cuantificarse mediante técnicas de cuantificación del ADN basadas en la PCR. Una variante de la PCR (RT-PCR) se utiliza para detectar el ARN viral en lugar del ADN: en esta prueba se utiliza la enzima transcriptasa inversa para generar una secuencia de ADN que coincida con el ARN viral; este ADN se amplifica a continuación según el método habitual de PCR. La RT-PCR se utiliza ampliamente para detectar el genoma viral del SARS-CoV-2.

- Enfermedades como la tos ferina (o tos convulsa) están causadas por la bacteria *Bordetella pertussis*. Esta bacteria se caracteriza por una grave infección respiratoria aguda que afecta a varios animales y a los seres humanos y ha provocado la muerte de muchos niños pequeños. La toxina de la tos ferina es una exotoxina proteica que se une a los receptores celulares mediante dos dímeros y reacciona con diferentes tipos de células, como los linfocitos T, que desempeñan un papel en la inmunidad celular. La PCR es una importante herramienta de análisis que puede detectar secuencias dentro del gen de la toxina pertussis. Dado que la PCR tiene una alta sensibilidad para la toxina y un tiempo de respuesta rápido, es muy eficiente para diagnosticar la tos ferina en comparación con el cultivo.

### **Aplicaciones forenses**

El desarrollo de protocolos de huellas genéticas (o de ADN) basados en la PCR ha tenido una amplia aplicación en el ámbito forense:

- En su forma más discriminatoria, *la huella genética* puede distinguir de forma exclusiva a una persona de toda la población mundial. Se pueden aislar muestras minúsculas de ADN del lugar del delito y compararlas con las de los sospechosos, o con las de una base de datos de ADN de pruebas anteriores o de condenados. A menudo se utilizan versiones más sencillas de

estas pruebas para descartar rápidamente a los sospechosos durante una investigación criminal. Se pueden analizar pruebas de delitos cometidos hace décadas, confirmando o exonerando a las personas condenadas en un principio.

- La tipificación forense del ADN ha sido una forma eficaz de identificar o exonerar a los sospechosos de delitos gracias al análisis de las pruebas descubiertas en la escena del crimen. El genoma humano tiene muchas regiones repetitivas que pueden encontrarse dentro de secuencias genéticas o en regiones no codificantes del genoma. En concreto, hasta el 40% del ADN humano es repetitivo. Existen dos categorías distintas para estas regiones repetitivas no codificantes del genoma. La primera categoría se denomina repeticiones en tándem de número variable (VNTR) que tienen una longitud de 10 a 100 pares de bases y la segunda categoría se denomina repeticiones en tándem cortas (STR) y consisten en secciones repetidas de 2 a 10 pares de bases. La PCR se utiliza para amplificar varias VNTR y STR bien conocidas utilizando cebadores que flanquean cada una de las regiones repetitivas. Los tamaños de los fragmentos obtenidos de cualquier individuo para cada uno de los STRs indicarán qué alelos están presentes. Analizando varios STRs para un individuo, se encontrará un conjunto de alelos para cada persona que estadísticamente es probable que sea único. Los investigadores han identificado la secuencia completa del genoma humano. Se puede acceder fácilmente a

esta secuencia a través del sitio web del NCBI y se utiliza en muchas aplicaciones de la vida real. Por ejemplo, el FBI ha recopilado un conjunto de sitios de marcadores de ADN que se utilizan para la identificación, y que se denominan base de datos de ADN del Sistema Combinado de Índices de ADN (CODIS). El uso de esta base de datos permite utilizar el análisis estadístico para determinar la probabilidad de que una muestra de ADN coincida. La PCR es una herramienta analítica muy poderosa y significativa para utilizar en la tipificación forense del ADN, ya que los investigadores sólo necesitan una cantidad muy pequeña del ADN objetivo que se utilizará para el análisis. Por ejemplo, un solo cabello humano con el folículo piloso adherido tiene suficiente ADN para realizar el análisis. Del mismo modo, unos pocos espermatozoides, muestras de piel de debajo de las uñas o una pequeña cantidad de sangre pueden proporcionar suficiente ADN para un análisis concluyente.

- Las formas menos discriminatorias de las huellas de ADN pueden ayudar en las pruebas de paternidad por ADN, en las que se empareja a un individuo con sus parientes cercanos. Se puede analizar el ADN de restos humanos no identificados y compararlo con el de posibles padres, hermanos o hijos. Pruebas similares pueden utilizarse para confirmar los padres biológicos de un niño adoptado o secuestrado. También se puede confirmar (o descartar) el padre biológico real de un recién nacido.

- El diseño de la PCR AMGX/AMGY ha facilitado la amplificación de secuencias de ADN a partir de una cantidad muy minúscula de genoma. Sin embargo, también puede utilizarse para la determinación del sexo en tiempo real a partir de muestras óseas forenses. Esto proporciona una forma poderosa y eficaz de determinar el sexo en casos forenses y especímenes antiguos.

### **Aplicaciones**

La PCR se ha aplicado a muchas áreas de investigación en genética molecular:

- La PCR permite producir rápidamente trozos cortos de ADN, incluso cuando no se conoce más que la secuencia de los dos cebadores. Esta capacidad de la PCR aumenta muchos métodos, como la generación de sondas de hibridación para la hibridación Southern o Northern blot. La PCR proporciona a estas técnicas grandes cantidades de ADN puro, a veces como una sola hebra, lo que permite el análisis incluso a partir de cantidades muy pequeñas de material de partida.
- La tarea de secuenciar el ADN también puede ser asistida por la PCR. Se pueden producir fácilmente segmentos conocidos de ADN a partir de un paciente con una mutación de una enfermedad genética. Las modificaciones de la técnica de amplificación pueden extraer segmentos de un genoma

completamente desconocido, o pueden generar sólo una hebra de una zona de interés.

- La PCR tiene numerosas aplicaciones al proceso más tradicional de clonación de ADN. Puede extraer segmentos para su inserción en un vector a partir de un genoma mayor, que puede estar disponible sólo en pequeñas cantidades. Utilizando un único conjunto de "cebadores para vectores", también puede analizar o extraer fragmentos que ya han sido insertados en vectores. Algunas alteraciones del protocolo de PCR pueden generar mutaciones (generales o dirigidas al sitio) de un fragmento insertado.
- La secuenciación de sitios es un proceso en el que se utiliza la PCR como indicador de que un segmento concreto de un genoma está presente en un clon determinado. El Proyecto Genoma Humano encontró esta aplicación vital para mapear los clones de cósmidos que estaban secuenciando, y para coordinar los resultados de diferentes laboratorios.
- Una aplicación de la PCR es el análisis filogénico del ADN procedente de fuentes antiguas, como el encontrado en los huesos recuperados de los neandertales, en los tejidos congelados de los mamuts o en el cerebro de las momias egipcias. En algunos casos, el ADN altamente degradado de estas fuentes podría reensamblarse durante las primeras etapas de la amplificación.

- Una aplicación común de la PCR es el estudio de los patrones de expresión genética. Los tejidos (o incluso las células individuales) pueden analizarse en diferentes etapas para ver qué genes se han activado o cuáles se han desactivado. Esta aplicación también puede utilizar la PCR cuantitativa para cuantificar los niveles reales de expresión.
- La capacidad de la PCR para amplificar simultáneamente varios loci a partir de espermatozoides individuales ha mejorado en gran medida la tarea más tradicional de la cartografía genética mediante el estudio de los cruces cromosómicos después de la meiosis. Se han observado directamente eventos raros de cruce entre loci muy cercanos analizando miles de espermatozoides individuales. Del mismo modo, se pueden analizar deleciones, inserciones, translocaciones o inversiones inusuales, todo ello sin tener que esperar o pagar los largos y laboriosos procesos de fecundación, embriogénesis.
- Mutagénesis dirigida al sitio: La PCR puede utilizarse para crear genes mutantes con mutaciones elegidas por los científicos a voluntad. Estas mutaciones pueden elegirse para entender cómo las proteínas cumplen sus funciones, y para cambiar o mejorar la función de las proteínas.

## **Ventajas**

La PCR tiene una serie de ventajas. Es bastante sencilla de entender y utilizar, y produce resultados rápidamente. La técnica es muy sensible y puede producir de millones a miles de millones de copias de un producto específico para su secuenciación, clonación y análisis. La qRT-PCR comparte las mismas ventajas que la PCR, con la ventaja añadida de la cuantificación del producto sintetizado. Por lo tanto, tiene sus usos para analizar las alteraciones de los niveles de expresión génica en tumores, microbios u otros estados de enfermedad.

La PCR es una herramienta de investigación muy potente y práctica. La secuenciación de etiologías desconocidas de muchas enfermedades se está averiguando mediante la PCR. La técnica puede ayudar a identificar la secuencia de virus hasta ahora desconocidos y relacionados con los ya conocidos, lo que nos permite comprender mejor la propia enfermedad. Si se consigue simplificar aún más el procedimiento y desarrollar sistemas de detección sensibles no radiométricos, la PCR ocupará un lugar destacado en el laboratorio clínico durante los próximos años.

## **Limitaciones**

Una de las principales limitaciones de la PCR es que se necesita información previa sobre la secuencia diana para generar los cebadores que permitirán su amplificación selectiva. Esto significa que, normalmente, los usuarios de la PCR deben conocer la(s)

secuencia(s) precisa(s) aguas arriba de la región diana en cada una de las dos plantillas monocatenarias para garantizar que la ADN polimerasa se une correctamente a los híbridos cebador-plantilla y genera posteriormente toda la región diana durante la síntesis del ADN.

Como todas las enzimas, las ADN polimerasas también son propensas a cometer errores, lo que a su vez provoca mutaciones en los fragmentos de PCR que se generan.

Otra limitación de la PCR es que incluso la más pequeña cantidad de ADN contaminante puede amplificarse, dando lugar a resultados engañosos o ambiguos. Para minimizar la posibilidad de contaminación, los investigadores deben reservar salas separadas para la preparación de los reactivos, la PCR y el análisis del producto. Los reactivos deben dispensarse en alícuotas de un solo uso. Deben utilizarse rutinariamente pipetas con émbolos desechables y puntas de pipeta extralargas. Además, se recomienda garantizar que la configuración del laboratorio siga un flujo de trabajo unidireccional. Ningún material o reactivo utilizado en las salas de PCR y de análisis debe llevarse nunca a la sala de preparación de la PCR sin una descontaminación completa. Las muestras ambientales que contienen ácidos húmicos pueden inhibir la amplificación de la PCR y dar lugar a resultados inexactos.

## Variaciones

- PCR alelo-específica: técnica de diagnóstico o clonación basada en las variaciones de un solo nucleótido (SNV, no confundir con SNP) (diferencias de una sola base en un paciente). Requiere un conocimiento previo de la secuencia de ADN, incluidas las diferencias entre alelos, y utiliza cebadores cuyos extremos 3' abarcan la SNV (normalmente se incorpora un tampón de pares de bases alrededor de la SNV). La amplificación por PCR en condiciones estrictas es mucho menos eficiente en presencia de un desajuste entre la plantilla y el cebador, por lo que la amplificación exitosa con un cebador específico del SNP señala la presencia del SNP específico en una secuencia.
- PCR de ensamblaje o ensamblaje cíclico con polimerasa (PCA): síntesis artificial de secuencias largas de ADN mediante la realización de la PCR en un conjunto de oligonucleótidos largos con segmentos cortos superpuestos. Los oligonucleótidos alternan entre las direcciones sentido y antisentido, y los segmentos superpuestos determinan el orden de los fragmentos de la PCR, produciendo así selectivamente el producto final de ADN largo.
- PCR asimétrica: amplifica preferentemente una cadena de ADN en una plantilla de ADN de doble cadena. Se utiliza en la secuenciación y el sondeo de hibridación cuando se requiere la amplificación de sólo una de las dos cadenas complementarias.

La PCR se lleva a cabo como de costumbre, pero con un gran exceso del cebador para la hebra que se quiere amplificar. Debido a la lenta amplificación (aritmética) que se produce más adelante en la reacción, después de que se haya agotado el cebador limitador, se requieren ciclos adicionales de PCR. Una modificación reciente de este proceso, conocida como Linear-After-The-Exponential-PCR (LATE-PCR), utiliza un cebador limitador con una temperatura de fusión más alta ( $T_m$ ) que el cebador en exceso para mantener la eficiencia de la reacción a medida que la concentración del cebador limitador disminuye a mitad de la reacción.<sup>[46]</sup>

- PCR convectiva: una forma pseudo-isotérmica de realizar la PCR. En lugar de calentar y enfriar repetidamente la mezcla de PCR, la solución se somete a un gradiente térmico. El flujo convectivo resultante, impulsado por la inestabilidad térmica, desplaza automáticamente los reactivos de la PCR de las regiones calientes y frías repetidamente, permitiendo la PCR. Parámetros como las condiciones térmicas límite y la geometría del recinto de la PCR pueden optimizarse para obtener una PCR robusta y rápida aprovechando la aparición de campos de flujo caóticos.<sup>[48]</sup> Esta configuración de la PCR de flujo convectivo reduce significativamente la necesidad de energía del dispositivo y el tiempo de funcionamiento.
- PCR de marcado: un método altamente paralelo para recuperar moléculas de ADN precisas para la síntesis de genes. Una

compleja biblioteca de moléculas de ADN se modifica con etiquetas de flanqueo únicas antes de la secuenciación masiva en paralelo. A continuación, los cebadores dirigidos a las etiquetas permiten recuperar las moléculas con las secuencias deseadas mediante la PCR.

- PCR digital (dPCR): se utiliza para medir la cantidad de una secuencia de ADN objetivo en una muestra de ADN. La muestra de ADN está muy diluida, de modo que tras ejecutar muchas PCR en paralelo, algunas de ellas no reciben ni una sola molécula del ADN diana. La concentración de ADN diana se calcula utilizando la proporción de resultados negativos. De ahí el nombre de "PCR digital".
- Amplificación dependiente de la helicasa: similar a la PCR tradicional, pero utiliza una temperatura constante en lugar de ciclos de desnaturalización y recocido/extensión. La helicasa de ADN, una enzima que desenrolla el ADN, se utiliza en lugar de la desnaturalización térmica.
- PCR de arranque en caliente: técnica que reduce la amplificación inespecífica durante las etapas iniciales de la PCR. Puede realizarse manualmente calentando los componentes de la reacción hasta la temperatura de desnaturalización (por ejemplo, 95 °C) antes de añadir la polimerasa. Se han desarrollado sistemas enzimáticos especializados que inhiben la actividad de la polimerasa a temperatura ambiente, ya sea por la unión de un anticuerpo<sup>[12][52]</sup>

o por la presencia de inhibidores unidos covalentemente que se disocian sólo después de un paso de activación a alta temperatura. La PCR de inicio en caliente/acabado en frío se consigue con nuevas polimerasas híbridas que son inactivas a temperatura ambiente y se activan instantáneamente a la temperatura de elongación.

- *La PCR in silico* (PCR digital, PCR virtual, PCR electrónica, e-PCR) se refiere a las herramientas computacionales utilizadas para calcular los resultados teóricos de la reacción en cadena de la polimerasa utilizando un conjunto determinado de cebadores (sondas) para amplificar secuencias de ADN de un genoma o transcriptoma secuenciado. La PCR in silico se propuso como una herramienta educativa para la biología molecular.<sup>[53]</sup>
- *PCR intersecuencial (ISSR)*: método de PCR para la obtención de huellas de ADN que amplifica regiones entre repeticiones de secuencias simples para producir una huella digital única de las longitudes de los fragmentos amplificados.
- *PCR inversa*: se utiliza habitualmente para identificar las secuencias de flanqueo alrededor de los insertos genómicos. Implica una serie de digestiones de ADN y una autoligadura, lo que da lugar a secuencias conocidas en ambos extremos de la secuencia desconocida.
- *PCR mediada por ligadura*: utiliza pequeños enlazadores de ADN ligados al ADN de interés y múltiples cebadores que se

acoplan a los enlazadores de ADN; se ha utilizado para la secuenciación de ADN, el recorrido del genoma y la toma de huellas de ADN.

- PCR específica de metilación (MSP): desarrollada por Stephen Baylin y James G. Herman en la Escuela de Medicina Johns Hopkins, se utiliza para detectar la metilación de las islas CpG en el ADN genómico. El ADN se trata primero con bisulfito de sodio, que convierte las bases de citosina no metiladas en uracilo, que es reconocido por los cebadores de la PCR como timina. A continuación, se llevan a cabo dos PCR en el ADN modificado, utilizando conjuntos de cebadores idénticos excepto en las islas CpG de las secuencias de cebadores. En estos puntos, un conjunto de cebadores reconoce el ADN con citosinas para amplificar el ADN metilado, y otro conjunto reconoce el ADN con uracilo o timina para amplificar el ADN no metilado. La MSP utilizando la qPCR también puede realizarse para obtener información cuantitativa en lugar de cualitativa sobre la metilación.
- PCR de miniprimero: utiliza una polimerasa termoestable (S-Tbr) que puede ampliar a partir de cebadores cortos "smalligos" tan cortos como 9 o 10 nucleótidos. Este método permite dirigir la PCR a regiones de unión de cebadores más pequeñas, y se utiliza para amplificar secuencias de ADN conservadas, como el gen del ARNr 16S o el 18S eucariótico.

- Amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple (MLPA): permite amplificar múltiples objetivos con un solo par de cebadores, evitando así las limitaciones de resolución de la PCR múltiple.
- Multiplex-PCR: consiste en la utilización de múltiples conjuntos de cebadores dentro de una única mezcla de PCR para producir amplicones de distintos tamaños que son específicos para diferentes secuencias de ADN. Al dirigirse a varios genes a la vez, se puede obtener información adicional de una sola prueba que, de otro modo, requeriría varios reactivos y más tiempo para realizarla. Las temperaturas de recocido de cada uno de los conjuntos de cebadores deben optimizarse para que funcionen correctamente en una sola reacción, así como los tamaños de los amplicones. Es decir, su longitud de par de bases debe ser lo suficientemente diferente como para formar bandas distintas cuando se visualicen por electroforesis en gel.
- PCR asistida por nanopartículas (nanoPCR): algunas nanopartículas (NPs) pueden mejorar la eficiencia de la PCR (por lo que se denominan nanoPCR), y algunas pueden incluso superar a los potenciadores originales de la PCR. Se ha informado de que los puntos cuánticos (QD) pueden mejorar la especificidad y la eficacia de la PCR. Los nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) son eficientes para mejorar la amplificación de la PCR larga. Los nanopulvos de carbono

(CNP) pueden mejorar la eficiencia de la PCR repetida y de la PCR larga, mientras que el óxido de zinc, el dióxido de titanio y las NPs de Ag resultaron aumentar el rendimiento de la PCR. Los datos anteriores indicaban que las NPs no metálicas conservaban una fidelidad de amplificación aceptable. Dado que muchas NPs son capaces de mejorar la eficiencia de la PCR, está claro que es probable que haya un gran potencial para la mejora de la tecnología nanoPCR y el desarrollo de productos.<sup>[59][60]</sup>

- PCR anidada: aumenta la especificidad de la amplificación del ADN, reduciendo el fondo debido a la amplificación no específica del ADN. Se utilizan dos juegos de cebadores en dos PCR sucesivas. En la primera reacción, se utiliza un par de cebadores para generar productos de ADN que, además de la diana prevista, pueden estar formados por fragmentos de ADN amplificados de forma no específica. A continuación, el producto o productos se utilizan en una segunda PCR con un conjunto de cebadores cuyos sitios de unión son total o parcialmente diferentes y están situados a 3' de cada uno de los cebadores utilizados en la primera reacción. La PCR anidada suele tener más éxito en la amplificación específica de fragmentos largos de ADN que la PCR convencional, pero requiere un conocimiento más detallado de las secuencias objetivo.

- PCR de solapamiento-extensión o Splicing por extensión de solapamiento (SOEing) : técnica de ingeniería genética que se utiliza para empalmar dos o más fragmentos de ADN que contienen secuencias complementarias. Se utiliza para unir fragmentos de ADN que contienen genes, secuencias reguladoras o mutaciones; la técnica permite crear construcciones de ADN específicas y largas. También puede introducir deleciones, inserciones o mutaciones puntuales en una secuencia de ADN.
- PAN-AC: utiliza condiciones isotérmicas para la amplificación, y puede utilizarse en células vivas.
- PCR cuantitativa (qPCR): se utiliza para medir la cantidad de una secuencia objetivo (normalmente en tiempo real). Mide cuantitativamente cantidades iniciales de ADN, ADNc o ARN. La PCR cuantitativa se utiliza habitualmente para determinar si una secuencia de ADN está presente en una muestra y el número de sus copias en la misma. La PCR *cuantitativa* tiene un grado de precisión muy alto. Los métodos de PCR cuantitativa utilizan tintes fluorescentes, como Sybr Green, EvaGreen o sondas de ADN que contienen fluoróforos, como TaqMan, para medir la cantidad de producto amplificado en tiempo real. A veces también se abrevia como RT-PCR (PCR en tiempo real), pero esta abreviatura sólo debe utilizarse para la PCR de transcripción inversa. qPCR es la contracción adecuada para la PCR cuantitativa (PCR en tiempo real).

- PCR inversa del complemento (RC-PCR): Permite añadir dominios funcionales o secuencias de elección de forma independiente a cualquier extremo del amplicón generado en una única reacción de tubo cerrado. Este método genera cebadores específicos de la diana dentro de la reacción mediante la interacción de cebadores universales (que contienen las secuencias o dominios deseados que se van a añadir) y sondas RC.
- PCR de transcripción inversa (*RT-PCR*): para amplificar el ADN a partir del ARN. La transcriptasa inversa transcribe el ARN en ADNc, que luego se amplifica por PCR. La RT-PCR se utiliza ampliamente en la elaboración de perfiles de expresión, para determinar la expresión de un gen o para identificar la secuencia de un transcrito de ARN, incluidos los sitios de inicio y terminación de la transcripción. Si se conoce la secuencia del ADN genómico de un gen, la RT-PCR puede utilizarse para localizar los exones e intrones del gen. El extremo 5' de un gen (correspondiente al lugar de inicio de la transcripción) se identifica normalmente mediante RACE-PCR (Rapid Amplification of cDNA Ends).
- PCR dependiente de RNasa H (rhPCR): una modificación de la PCR que utiliza cebadores con un bloque de extensión 3' que puede ser eliminado por una enzima RNasa HII termoestable. Este sistema reduce los cebadores y permite realizar reacciones multiplexadas con un mayor número de cebadores.

- Single Specific Primer-PCR (SSP-PCR): permite la amplificación de ADN de doble cadena incluso cuando la información de la secuencia está disponible sólo en un extremo. Este método permite la amplificación de genes de los que sólo se dispone de una información parcial de la secuencia, y permite el recorrido unidireccional del genoma desde regiones conocidas a regiones desconocidas del cromosoma.
- PCR en fase sólida: engloba múltiples significados, incluyendo la Amplificación Polónica donde las colonias de PCR se derivan en una matriz de gel, por ejemplo, la PCR de Puente (los cebadores están unidos covalentemente a una superficie de soporte sólido), la PCR en fase sólida convencional (en la que se aplica la PCR asimétrica en presencia de un cebador con soporte sólido cuya secuencia coincide con la de uno de los cebadores acuosos) y la PCR en fase sólida mejorada, en la que la PCR en fase sólida convencional puede mejorarse empleando cebadores de alta  $T_m$  y anidados en el soporte sólido con la aplicación opcional de un "paso" térmico para favorecer el cebado en el soporte sólido.
- PCR suicida: se utiliza normalmente en paleogenética u otros estudios en los que evitar falsos positivos y garantizar la especificidad del fragmento amplificado es la máxima prioridad. Se describió originalmente en un estudio para verificar la presencia del microbio *Yersinia pestis* en muestras dentales obtenidas de tumbas del siglo XIV de personas

supuestamente muertas por la peste durante la epidemia medieval de la peste negra. El método prescribe el uso de cualquier combinación de cebadores sólo una vez en una PCR, de ahí el término "suicida", que nunca debería haberse utilizado en ninguna reacción de PCR de control positivo, y los cebadores deben dirigirse siempre a una región genómica nunca amplificada antes en el laboratorio utilizando este o cualquier otro conjunto de cebadores. Esto garantiza que no haya ADN contaminante de reacciones de PCR anteriores en el laboratorio, que de otro modo podría generar falsos positivos.

- PCR asimétrica térmica entrelazada (TAIL-PCR): para el aislamiento de una secuencia desconocida que flanquea una secuencia conocida. Dentro de la secuencia conocida, la TAIL-PCR utiliza un par anidado de cebadores con diferentes temperaturas de recocido; se utiliza un cebador degenerado para amplificar en la otra dirección de la secuencia desconocida.
- PCR descendente (Step-down PCR): variante de la PCR cuyo objetivo es reducir el fondo inespecífico reduciendo gradualmente la temperatura de recocido a medida que avanza el ciclo de la PCR. La temperatura de recocido en los ciclos iniciales suele ser unos pocos grados (3-5 °C) por encima de la  $T_m$  de los cebadores utilizados, mientras que en los ciclos posteriores, es unos pocos grados (3-5 °C) por debajo de la  $T_m$  del cebador. Las temperaturas más altas proporcionan una mayor especificidad para la unión del cebador, y las

temperaturas más bajas permiten una amplificación más eficiente a partir de los productos específicos formados durante los ciclos iniciales.

- Universal Fast Walking: para el recorrido del genoma y la huella genética utilizando una PCR de "dos caras" más específica que los enfoques convencionales de "una cara" (utilizando sólo un cebador específico del gen y un cebador general, lo que puede dar lugar a "ruido" artefactual) en virtud de un mecanismo que implica la formación de la estructura de lariat. Los derivados racionalizados de UFW son LaNe RAGE (PCR anidada dependiente de lariat para la amplificación rápida de los extremos del ADN genómico), 5'RACE LaNe y 3'RACE LaNe.

Las enzimas resistentes al calor que son un componente clave de la reacción en cadena de la polimerasa se descubrieron en la década de 1960 como producto de una forma de vida microbiana que vivía en las aguas sobrecalentadas del manantial de los hongos de Yellowstone.

En 1971, Kjell Kleppe y sus colaboradores del laboratorio de H. Gobind Khorana describieron por primera vez un método que consistía en utilizar un ensayo enzimático para replicar una plantilla corta de ADN con cebadores *in vitro*. Sin embargo, esta primera manifestación del principio básico de la PCR no recibió mucha atención en su momento y la invención de la reacción en

cadena de la polimerasa en 1983 se atribuye generalmente a Kary Mullis.

Cuando Mullis desarrolló la PCR en 1983, trabajaba en Emeryville (California) para Cetus Corporation, una de las primeras empresas de biotecnología, donde se encargaba de sintetizar cadenas cortas de ADN. Mullis ha escrito que concibió la idea de la PCR mientras recorría la autopista de la costa del Pacífico una noche en su coche. Estaba jugando en su mente con una nueva forma de analizar las mutaciones de los cambios en el ADN cuando se dio cuenta de que, en cambio, había inventado un método para amplificar cualquier región de ADN mediante ciclos repetidos de duplicación impulsados por la ADN polimerasa. En *Scientific American*, Mullis resumió el procedimiento: "Partiendo de una sola molécula del material genético ADN, la PCR puede generar 100.000 millones de moléculas similares en una tarde. La reacción es fácil de ejecutar. No requiere más que un tubo de ensayo, unos cuantos reactivos sencillos y una fuente de calor". La huella de ADN se utilizó por primera vez para las pruebas de paternidad en 1988.

Mullis y el profesor Michael Smith, que había desarrollado otras formas esenciales de manipular el ADN, recibieron conjuntamente el Premio Nobel de Química en 1993, siete años después de que Mullis y sus colegas de Cetus pusieran en práctica su propuesta. El artículo de Mullis de 1985 con R. K. Saiki y H. A. Erlich,

"Enzymatic Amplification of  $\beta$ -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia" (Amplificación enzimática de las secuencias genómicas de la globulosis y análisis de los sitios de restricción para el diagnóstico de la anemia de células falciformes), la invención de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), fue honrado con el premio Citation for Chemical Breakthrough Award de la División de Historia de la Química de la Sociedad Americana de Química en 2017.

El núcleo del método de la PCR es el uso de una polimerasa de ADN adecuada capaz de soportar las altas temperaturas de  $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $194\text{ }^{\circ}\text{F}$ ) necesarias para la separación de las dos cadenas de ADN en la doble hélice de ADN después de cada ciclo de replicación. Las ADN polimerasas empleadas inicialmente en los experimentos in vitro que presagiaban la PCR no podían soportar estas altas temperaturas. Por ello, los primeros procedimientos para la replicación del ADN eran muy ineficaces y requerían mucho tiempo, así como grandes cantidades de ADN polimerasa y una manipulación continua durante todo el proceso.

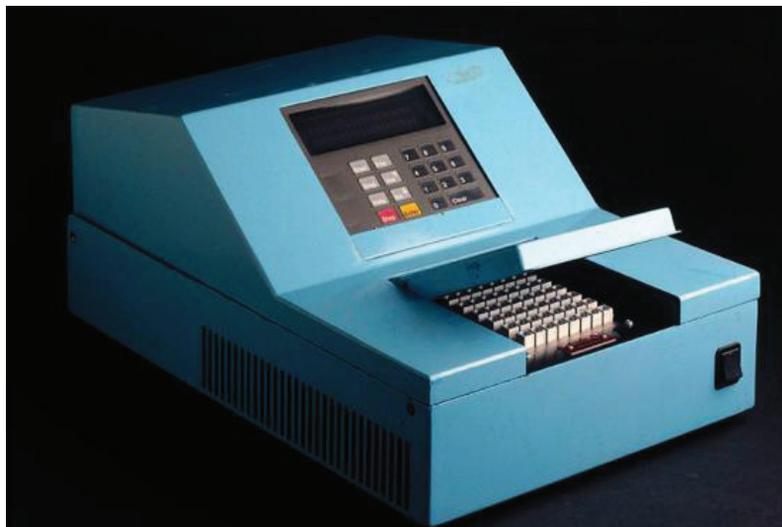
El descubrimiento en 1976 de la *Taq* polimerasa, una ADN polimerasa purificada a partir de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*, que vive de forma natural en entornos cálidos (de  $50$  a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) como las aguas termales, abrió el camino para mejorar drásticamente el método de la PCR. La ADN polimerasa aislada de *T. aquaticus* es estable a altas temperaturas y permanece activa

incluso después de la desnaturalización del ADN, lo que evita la necesidad de añadir una nueva ADN polimerasa después de cada ciclo. Esto permitió un proceso automatizado basado en un termociclador para la amplificación del ADN.

### **Litigios sobre patentes**

La técnica de la PCR fue patentada por Kary Mullis y asignada a Cetus Corporation, donde Mullis trabajaba cuando inventó la técnica en 1983. La enzima *Taq* polimerasa también estaba cubierta por patentes. Ha habido varios juicios de gran repercusión relacionados con la técnica, incluido un juicio infructuoso presentado por DuPont. La empresa farmacéutica suiza Hoffmann-La Roche compró los derechos de las patentes en 1992 y actualmente tiene las que aún están protegidas.

Una batalla de patentes relacionada con la enzima *Taq* polimerasa sigue en curso en varias jurisdicciones de todo el mundo entre Roche y Promega. Los argumentos legales se han extendido más allá de la vida de las patentes originales de la PCR y la *Taq* polimerasa, que expiraron el 28 de marzo de 2005.



**Figura (50):** Proceso basado en el termociclador para la amplificación del ADN.

## **RT-PCR**

RT-PCR" redirige aquí. Para la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, también llamada reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) o reacción en cadena de la polimerasa cinética, véase Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

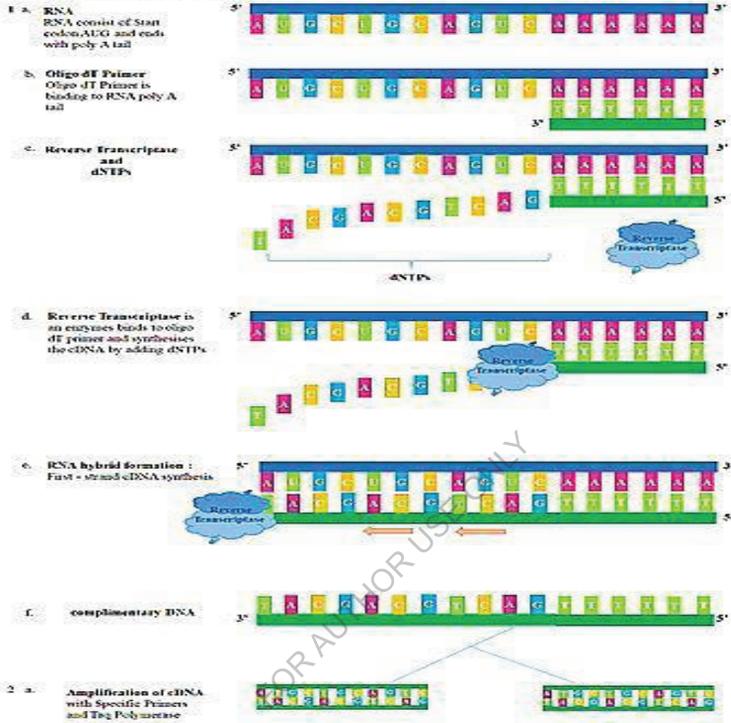
## **Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR)**

es una técnica de laboratorio que combina la transcripción inversa de ARN en ADN, en este contexto denominado ADN complementario o ADNc, y la amplificación de objetivos específicos de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se utiliza principalmente para medir la cantidad de un ARN específico. Esto se consigue monitorizando la reacción de amplificación mediante fluorescencia, una técnica denominada PCR en tiempo real o PCR cuantitativa (qPCR). La RT-PCR y la qPCR combinadas se utilizan de forma rutinaria para el análisis de la expresión génica y la cuantificación del ARN viral en la investigación y en el ámbito clínico.

La estrecha asociación entre la RT-PCR y la qPCR ha llevado al uso metonímico del término qPCR para referirse a la RT-PCR. Este uso puede ser confuso, ya que la RT-PCR puede utilizarse sin la qPCR, por ejemplo para permitir la clonación molecular, la secuenciación o la simple detección de ARN. A la inversa, la qPCR puede utilizarse sin RT-PCR, por ejemplo para cuantificar el número de copias de un fragmento específico de ADN

#### 4.8 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

In RT-PCR, the RNA population is converted to cDNA by reverse transcription (RT), and then the cDNA is amplified by the polymerase chain reaction. The cDNA amplification step provides opportunities to further study the original RNA species, even when they are limited in amount or expressed in low abundance. Common applications of RT-PCR include detection of expressed genes, examination of transcript variants, and generation of cDNA templates for cloning and sequencing.



© Lokesh Thimmanna, under the guidance of Dr. G. Mallikarjuna, Assistant Professor, Molecular Biology, Agri Biotech Foundation.

**Figura (51): Técnica RT-PCR y q PCR.**

La técnica combinada de RT-PCR y qPCR se ha descrito como RT-PCR cuantitativa o RT-PCR en tiempo real (a veces incluso llamada RT-PCR cuantitativa en tiempo real), y se ha abreviado de diversas maneras como qRT-PCR, RT-qPCR, RRT-PCR y rRT-PCR. Para evitar confusiones, las siguientes abreviaturas se utilizarán de forma coherente en toda la tabla (4).

**Tabla (4): Tipos de abreviatura de la técnica PCR.**

<b>Técnica</b>	<b>Abreviatura</b>
<b>Reacción en cadena de la polimerasa</b>	PCR
<b>Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa</b>	RT-PCR
<b>Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real</b>	qPCR
<b>Técnica combinada RT-PCR/qPCR</b>	qRT-PCR

No todos los autores, sobre todo los más antiguos, utilizan esta convención, por lo que el lector debe ser prudente al seguir los enlaces. RT-PCR se ha utilizado para indicar tanto la PCR en tiempo real (qPCR) como la PCR de transcripción inversa (RT-PCR).

Desde su introducción en 1977, el Northern blot se ha utilizado ampliamente para la cuantificación del ARN a pesar de sus deficiencias: (a) es una técnica que consume mucho tiempo, (b) requiere una gran cantidad de ARN para su detección, y (c) es cuantitativamente inexacta en la baja abundancia del contenido de

ARN.<sup>[10][11]</sup> Sin embargo, desde su invención por Kary Mullis en 1983, la RT-PCR ha desplazado al northern blot como método de elección para la detección y cuantificación del ARN.

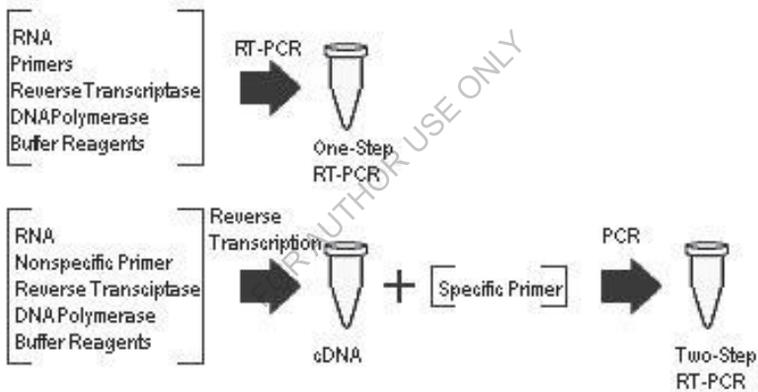
La RT-PCR se ha convertido en la tecnología de referencia para la detección y/o comparación de los niveles de ARN por varias razones: (a) no requiere un procesamiento posterior a la PCR, (b) se puede medir un amplio rango ( $>10^7$  -fold) de abundancia de ARN, y (c) proporciona información tanto cualitativa como cuantitativa.<sup>[5]</sup> Debido a su simplicidad, especificidad y sensibilidad, la RT-PCR se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, desde experimentos tan sencillos como la cuantificación de células de levadura en el vino hasta usos más complejos como herramientas de diagnóstico para detectar agentes infecciosos como el virus de la gripe aviar y el SARS-CoV-2.

## **Principios**

En la RT-PCR, el molde de ARN se convierte primero en ADN complementario (ADNc) mediante una transcriptasa inversa (RT). A continuación, el ADNc se utiliza como plantilla para la amplificación exponencial mediante PCR. El uso de la RT-PCR para la detección del transcrito de ARN ha revolucionado el estudio de la expresión génica en los siguientes aspectos importantes:

- Hizo teóricamente posible detectar los transcritos de prácticamente cualquier gen<sup>[16]</sup>
- Permitió la amplificación de la muestra y eliminó la necesidad de abundante material de partida necesario cuando se utiliza el análisis de northern blot
- Proporciona tolerancia a la degradación del ARN mientras el ARN que abarca el cebador esté intacto.

### RT-PCR de un paso frente a RT-PCR de dos pasos



**Figura (52): RT-PCR de un paso frente a RT-PCR de dos pasos**

### RT-PCR de un paso frente a la de dos pasos

La cuantificación del ARNm mediante la RT-PCR puede realizarse como una reacción de un paso o de dos pasos. La diferencia entre los dos enfoques radica en el número de tubos utilizados al realizar el procedimiento. La reacción de dos pasos

requiere que la reacción de la transcriptasa inversa y la amplificación de la PCR se realicen en tubos separados. La desventaja del enfoque de dos pasos es la susceptibilidad a la contaminación debido a la manipulación más frecuente de la muestra. Por otro lado, la reacción completa, desde la síntesis del ADNc hasta la amplificación de la PCR, se lleva a cabo en un solo tubo en el método de un paso. El enfoque de un paso está pensado para minimizar la variación experimental al contener todas las reacciones enzimáticas en un único entorno. Elimina los pasos de pipeteo del producto de ADNc, que es un trabajo intensivo y propenso a la contaminación de la reacción de PCR. El uso adicional de polimerasas tolerantes a inhibidores, potenciadores de la polimerasa con una condición optimizada de RT-PCR de un solo paso, apoya la transcripción inversa del ARN de muestras no purificadas o crudas, como la sangre entera y el suero. Sin embargo, las plantillas de ARN de partida son propensas a la degradación en el enfoque de un solo paso, y el uso de este enfoque no se recomienda cuando se requieren ensayos repetidos de la misma muestra. Además, el método de un paso es menos preciso que el de dos pasos. También es el método de análisis preferido cuando se utilizan colorantes de unión al ADN, como el SYBR Green, ya que la eliminación de los cebadores puede lograrse mediante un simple cambio en la temperatura de fusión. No obstante, el enfoque de un paso es una solución relativamente

conveniente para la detección rápida del ARN diana directamente en la biosensación.

### **RT-PCR de punto final frente a RT-PCR en tiempo real**

La cuantificación de los productos de la RT-PCR puede dividirse en gran medida en dos categorías: punto final y tiempo real. El uso de la RT-PCR de punto final es preferible para medir los cambios de expresión génica en un número reducido de muestras, pero la RT-PCR en tiempo real se ha convertido en el método de referencia para validar los resultados cuantitativos obtenidos a partir de los análisis de arrays o los cambios de expresión génica a escala global.

#### **Punto final de la RT-PCR**

Los enfoques de medición de la RT-PCR de punto final requieren la detección de los niveles de expresión de los genes mediante el uso de tintes fluorescentes como el bromuro de etidio, el etiquetado P32 de los productos de la PCR mediante un fosforímetro o el recuento de centelleo. El punto final de la RT-PCR se logra comúnmente utilizando tres métodos diferentes: relativo, competitivo y comparativo.

## **RT-PCR relativa**

La cuantificación relativa de la RT-PCR implica la co-  
amplificación de un control interno simultáneamente con el gen de  
interés. El control interno se utiliza para normalizar las muestras.  
Una vez normalizado, se puede realizar una comparación directa  
de las abundancias relativas de los transcritos en múltiples muestras  
de ARNm. Una precaución a tener en cuenta es que el control  
interno debe elegirse de forma que no se vea afectado por el  
tratamiento experimental. El nivel de expresión debe ser constante  
en todas las muestras y con el ARNm de interés para que los  
resultados sean precisos y significativos. Dado que la  
cuantificación de los resultados se analiza comparando el rango  
lineal de la amplificación de la diana y del control, es crucial tener  
en cuenta la concentración inicial de las moléculas diana y su tasa  
de amplificación antes de iniciar el análisis. Los resultados del  
análisis se expresan como la relación entre la señal del gen y la  
señal del control interno, cuyos valores pueden utilizarse para la  
comparación entre las muestras en la estimación de la expresión  
relativa del ARN diana.

## **RT-PCR competitiva**

La técnica de RT-PCR competitiva se utiliza para la  
cuantificación absoluta. Implica el uso de un ARN sintético  
"competidor" que puede distinguirse del ARN diana por una

pequeña diferencia de tamaño o secuencia. Es importante que el diseño del ARN sintético sea idéntico en secuencia pero ligeramente más corto que el ARN diana para obtener resultados precisos. Una vez diseñado y sintetizado, se añade una cantidad conocida del ARN competidor a las muestras experimentales y se coamplifica con la diana mediante RT-PCR. A continuación, se produce una curva de concentración del ARN competidor y se utiliza para comparar las señales de RT-PCR producidas por los transcritos endógenos para determinar la cantidad de diana presente en la muestra.

### **RT-PCR comparativa**

La RT-PCR comparativa es similar a la RT-PCR competitiva en el sentido de que el ARN diana compite por los reactivos de amplificación dentro de una única reacción con un estándar interno de secuencia no relacionada. Una vez completada la reacción, los resultados se comparan con una curva estándar externa para determinar la concentración de ARN diana. En comparación con los métodos de cuantificación relativa y competitiva, la RT-PCR comparativa se considera el método más cómodo de utilizar, ya que no requiere que el investigador realice un experimento piloto; en la RT-PCR relativa, el rango de amplificación exponencial del ARNm debe estar predeterminado y en la RT-PCR competitiva, se debe sintetizar un ARN competidor sintético.

## **RT-PCR en tiempo real**

La aparición de nuevas técnicas de etiquetado fluorescente del ADN en los últimos años ha permitido el análisis y la detección de los productos de la PCR en tiempo real y, en consecuencia, ha llevado a la adopción generalizada de la RT-PCR en tiempo real para el análisis de la expresión génica. La RT-PCR en tiempo real no sólo es ahora el método de elección para la cuantificación de la expresión génica, sino que también es el método preferido para obtener resultados de análisis de matrices y expresiones génicas a escala global. Actualmente, hay cuatro sondas de ADN fluorescentes diferentes disponibles para la detección de productos de PCR por RT-PCR en tiempo real: SYBR Green, TaqMan, balizas moleculares y sondas escorpión. Todas estas sondas permiten la detección de los productos de la PCR mediante la generación de una señal fluorescente. Mientras que el colorante SYBR Green emite su señal fluorescente simplemente al unirse al ADN de doble cadena en solución, la generación de fluorescencia de las sondas TaqMan, las balizas moleculares y los escorpiones depende del acoplamiento por transferencia de energía de resonancia de Förster (FRET) de la molécula de colorante y una fracción de quencher a los sustratos de oligonucleótidos.

### **Verde SYBR**

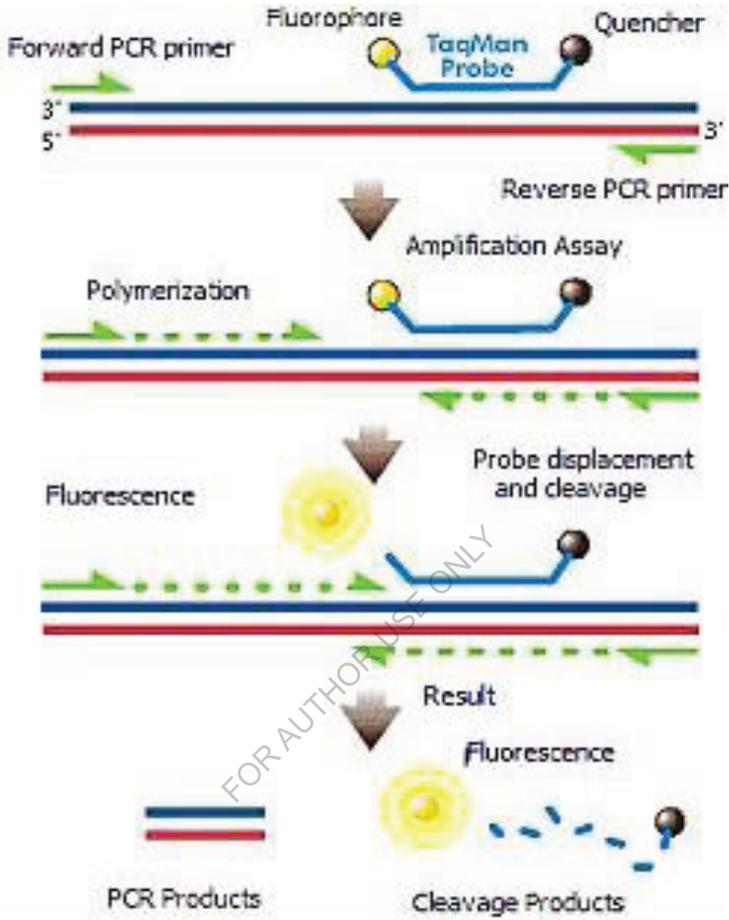
Cuando el SYBR Green se une al ADN de doble cadena de los productos de la PCR, emitirá luz al excitarse. La intensidad de la fluorescencia aumenta a medida que se acumulan los productos de la PCR. Esta técnica es fácil de utilizar, ya que no es necesario diseñar sondas debido a la falta de especificidad de su unión. Sin embargo, como el colorante no discrimina el ADN de doble cadena de los productos de la PCR y el de los cebadores, la sobreestimación de la concentración objetivo es un problema común. Cuando la cuantificación exacta es una necesidad absoluta, deben realizarse otros ensayos para la validación de los resultados. No obstante, entre los métodos de detección de productos de la RT-PCR en tiempo real, SYBR Green es el más económico y fácil de utilizar.

### **Sondas Taq Man**

Las sondas TaqMan son oligonucleótidos que tienen una sonda fluorescente unida al extremo 5' y un quencher al extremo 3'. Durante la amplificación por PCR, estas sondas se hibridan con las secuencias diana localizadas en el amplicón y, a medida que la polimerasa replica el molde con la TaqMan unida, también escinde la sonda fluorescente debido a la actividad 5'- nucleasa de la polimerasa. Dado que la estrecha proximidad entre la molécula de quench y la sonda fluorescente normalmente impide que la fluorescencia se detecte a través de FRET, el desacoplamiento

resulta en el aumento de la intensidad de la fluorescencia proporcional al número de ciclos de clivaje de la sonda. Aunque las sondas TaqMan bien diseñadas producen resultados precisos de RT-PCR en tiempo real, su síntesis es costosa y requiere mucho tiempo cuando hay que hacer sondas separadas para cada objetivo de ARNm analizado. Además, estas sondas son sensibles a la luz y deben congelarse cuidadosamente en alícuotas para evitar su degradación.

FOR AUTHOR USE ONLY



**Figura (52): Pasos de la RT-PCR.**

### **Sondas de balizamiento molecular**

Al igual que las sondas TaqMan, las balizas moleculares también utilizan la detección FRET con sondas fluorescentes unidas al extremo 5' y un quencher unido al extremo 3' de un sustrato de oligonucleótidos. Sin embargo, mientras que las sondas

fluorescentes TaqMan se escinden durante la amplificación, las sondas de baliza molecular permanecen intactas y se vuelven a unir a un nuevo objetivo durante cada ciclo de reacción. Cuando están libres en solución, la proximidad de la sonda fluorescente y la molécula de quencher impide la fluorescencia a través de FRET. Sin embargo, cuando las sondas de baliza molecular se hibridan con una diana, el colorante fluorescente y el quencher se separan dando lugar a la emisión de luz tras la excitación. Al igual que con las sondas TaqMan, las balizas moleculares son caras de sintetizar y requieren sondas separadas para cada objetivo de ARN.

### **Sondas Scorpion**

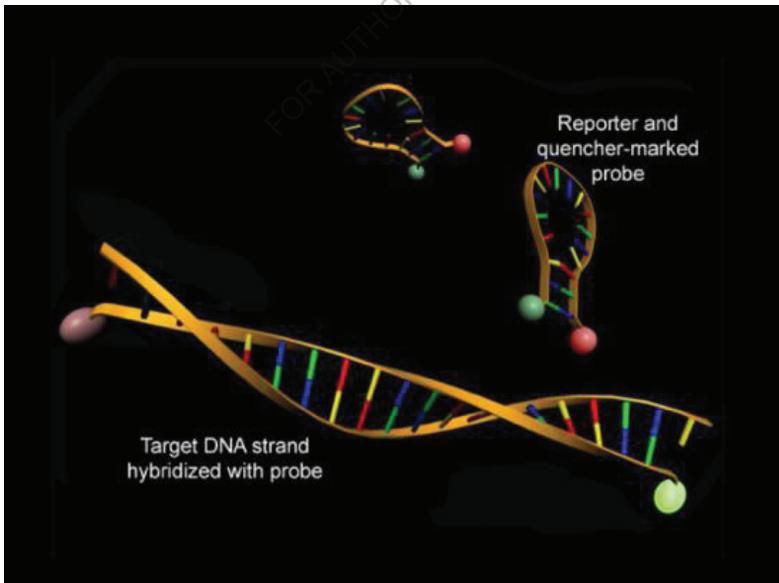
Las sondas Scorpion, al igual que las balizas moleculares, no serán fluorescentes activas en un estado no hibridado, de nuevo, debido a que la sonda fluorescente en el extremo 5' es apagada por la fracción en el extremo 3' de un oligonucleótido, con Scorpions, sin embargo, el extremo 3' también contiene la secuencia que es complementaria al producto de extensión del cebador en el extremo 5'. Cuando la extensión del Scorpion se une a su complemento en el amplicón, la estructura del Scorpion se abre, impide el FRET y permite medir la señal fluorescente.

### **Sondas multiplexadas**

Las sondas TaqMan, las balizas moleculares y los escorpiones permiten medir simultáneamente los productos de la PCR en un

solo tubo. Esto es posible porque cada uno de los diferentes colorantes fluorescentes puede asociarse a un espectro de emisión específico. El uso de sondas multiplex no sólo ahorra tiempo y esfuerzo sin comprometer la utilidad de la prueba, sino que su aplicación en amplias áreas de investigación, como el análisis de delección de genes, el análisis de mutaciones y polimorfismos, el análisis cuantitativo y la detección de ARN, la convierten en una técnica inestimable para laboratorios de muchas disciplinas.

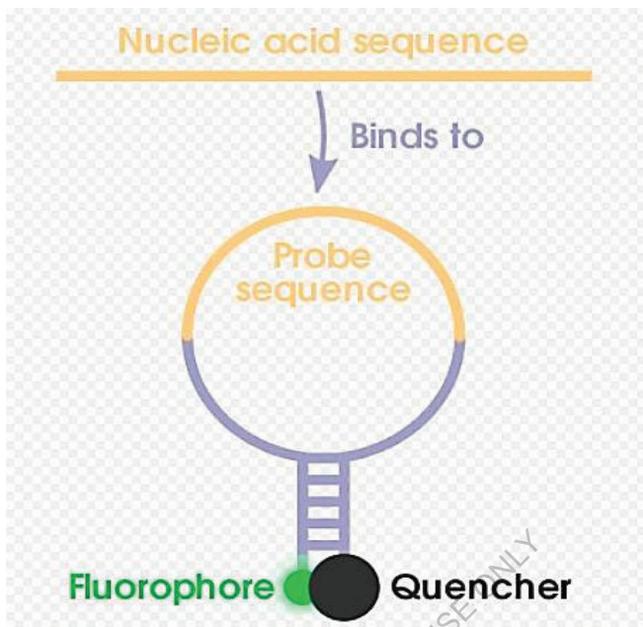
Para cuantificar los resultados obtenidos por la RT-PCR en tiempo real se suelen emplear dos estrategias: el método de la curva estándar y el método del umbral comparativo.



**Figura (53): Hebra de ADN diana hibridada con la sonda, el reportero y la sonda marcada con el quencher.**

### **Uso en ingeniería celular**

Se informó de la utilización de sondas de oligonucleótidos de señalización fluorogénica para detectar y aislar células que expresan uno o más genes deseados, incluida la producción de líneas celulares estables multigénicas que expresan el canal de sodio epitelial heteromultimérico ( $\alpha\beta\gamma$ -ENaC), el canal iónico cerrado por voltaje de sodio 17 (NaV1.7- $\alpha\beta1\beta2$ ), cuatro combinaciones únicas de subunidades del canal iónico del receptor de ácido  $\gamma$ -aminobutírico A (GABAA)  $\alpha1\beta3\gamma2s$ ,  $\alpha2\beta3\gamma2s$ ,  $\alpha3\beta3\gamma2s$  y  $\alpha5\beta3\gamma2s$ , el regulador de la conductancia de la fibrosis quística (CFTR), CFTR- $\Delta508$  y dos receptores acoplados a proteínas G (GPCRs).



**Figura (54): Las estructuras de una típica sonda de baliza molecular.**

### **Aplicaciones**

La amplificación exponencial mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa proporciona una técnica muy sensible en la que se puede detectar un número de copias muy bajo de moléculas de ARN. La RT-PCR se utiliza ampliamente en el diagnóstico de enfermedades genéticas y, de forma semicuantitativa, en la determinación de la abundancia de diferentes moléculas de ARN específicas dentro de una célula o tejido como medida de la expresión génica.

## **Metodología de la RT-PCR**

La RT-PCR se utiliza habitualmente en los métodos de investigación para medir la expresión de los genes. Por ejemplo, Lin et al. utilizaron la qRT-PCR para medir la expresión de los genes Gal en células de levadura. En primer lugar, Lin et al. diseñaron una mutación de una proteína que se sospecha que participa en la regulación de los genes Gal. La hipótesis es que esta mutación suprime selectivamente la expresión de Gal. Para confirmarlo, se analizaron los niveles de expresión génica de las células de levadura que contenían esta mutación mediante qRT-PCR. Los investigadores pudieron determinar de forma concluyente que la mutación de esta proteína reguladora reducía la expresión de Gal. Para estudiar más a fondo la expresión génica del ARN se utilizó el análisis de Northern blot.

## **Inserción de genes**

La RT-PCR también puede ser muy útil en la inserción de genes eucariotas en procariotas. Dado que la mayoría de los genes eucariotas contienen intrones, que están presentes en el genoma pero no en el ARNm maduro, el ADNc generado a partir de una reacción de RT-PCR es la secuencia de ADN exacta (sin tener en cuenta la naturaleza propensa a errores de las transcriptasas inversas) que se traduciría directamente en proteína tras la

transcripción. Cuando estos genes se expresan en células procariotas para la producción o purificación de proteínas, el ARN producido directamente a partir de la transcripción no necesita someterse a empalme, ya que el transcrito sólo contiene exones. Los procariotas, como *E. coli*, carecen del mecanismo de empalme de ARNm de los eucariotas.

### **Diagnóstico de enfermedades genéticas**

La RT-PCR puede utilizarse para diagnosticar enfermedades genéticas como el síndrome de Lesch-Nyhan. Esta enfermedad genética está causada por un mal funcionamiento del gen HPRT1, que clínicamente provoca el fatal cálculo urinario de ácido úrico y síntomas similares a los de la gota. El análisis de los niveles de expresión de ARNm de HPRT1 en una madre embarazada y en un feto revelará si la madre es portadora y si el feto tiene probabilidades de desarrollar el síndrome de Lesch-Nyhan.

### **Detección del cáncer**

Los científicos están trabajando en la utilización de la RT-PCR en la detección del cáncer para ayudar a mejorar el pronóstico y controlar la respuesta a la terapia. Las células tumorales circulantes producen transcripciones de ARNm únicas en función del tipo de cáncer. El objetivo es determinar qué transcripciones de ARNm sirven como los mejores biomarcadores para un tipo de célula

cancerosa en particular y luego analizar sus niveles de expresión con la RT-PCR.

La RT-PCR se utiliza habitualmente en el estudio de los genomas de los virus cuyos genomas están compuestos de ARN, como el Influenzavirus A, los retrovirus como el VIH y el SARS-CoV-2.

## **Desafíos**

A pesar de sus grandes ventajas, la RT-PCR no está exenta de inconvenientes. El crecimiento exponencial del ADN complementario transcrito a la inversa (ADNc) durante los múltiples ciclos de la PCR produce una cuantificación inexacta del punto final debido a la dificultad de mantener la linealidad.<sup>[45]</sup> Para proporcionar una detección y cuantificación precisas del contenido de ARN en una muestra, se desarrolló la qRT-PCR utilizando una modificación basada en la fluorescencia para controlar los productos de amplificación durante cada ciclo de la PCR. La extrema sensibilidad de la técnica puede ser un arma de doble filo, ya que la más mínima contaminación de ADN puede dar lugar a resultados no deseados. Un método sencillo para eliminar los resultados falsos positivos es incluir anclajes, o etiquetas, en la región 5' de un cebador específico del gen. Además, la planificación y el diseño de los estudios de cuantificación pueden suponer un reto técnico debido a la existencia de numerosas fuentes de variación, como la concentración del molde y la eficacia de la

amplificación. Se puede utilizar como control la adición de una cantidad conocida de ARN en una muestra, la adición de una serie de diluciones de ARN que generen una curva estándar y la adición de una muestra sin copia de molde (sin ADNc). La RT-PCR puede llevarse a cabo mediante el protocolo de RT-PCR de un paso o el protocolo de RT-PCR de dos pasos.

### **RT-PCR de un paso**

La RT-PCR de un solo paso somete a objetivos de ARNm de hasta 6 kb a la transcripción inversa seguida de la amplificación por PCR en un solo tubo de ensayo. Es importante señalar que el uso de ARN intacto y de alta calidad y de un cebador específico para la secuencia producirá los mejores resultados.

Una vez que se ha seleccionado un kit de RT-PCR de un solo paso con una mezcla de transcriptasa inversa, Taq ADN polimerasa y una polimerasa correctora y se han obtenido todos los materiales y equipos necesarios, se debe preparar una mezcla de reacción. La mezcla de reacción incluye dNTPs, cebadores, ARN molde, las enzimas necesarias y una solución tampón. La mezcla de reacción se añade a un tubo de PCR para cada reacción, seguido del ARN molde. A continuación, los tubos de PCR se colocan en un termociclador para iniciar el ciclo. En el primer ciclo se produce la síntesis del ADNc. El segundo ciclo es la desnaturalización inicial en la que se inactiva la transcriptasa inversa. Los 40-50 ciclos

restantes son la amplificación, que incluye desnaturalización, recocido y elongación. Una vez completada la amplificación, los productos de la RT-PCR pueden analizarse mediante electroforesis en gel.

### **RT-PCR de dos pasos**

La RT-PCR de dos pasos, como su nombre indica, se realiza en dos pasos. Primero la transcripción inversa y luego la PCR. Este método es más sensible que el de un solo paso. Los kits también son útiles para la RT-PCR de dos pasos. Al igual que para la PCR de un paso, utilice sólo ARN intacto y de alta calidad para obtener los mejores resultados. El cebador para la PCR de dos pasos no tiene que ser específico de la secuencia.

#### **Primer paso**

En primer lugar, combine el ARN molde, el cebador, la mezcla de dNTP y el agua libre de nucleasas en un tubo de PCR. A continuación, añada un inhibidor de la RNasa y la transcriptasa inversa al tubo de PCR. A continuación, coloque el tubo de PCR en un termociclador durante un ciclo en el que se produce el recocido, la extensión y la inactivación de la transcriptasa inversa. Por último, pase directamente al segundo paso, que es la PCR, o guarde el producto en hielo hasta que pueda realizar la PCR.

## **Segundo paso**

Añada la mezcla maestra que contiene tampón, mezcla de dNTP, MgCl<sub>2</sub>, Taq polimerasa y agua libre de nucleasas a cada tubo de PCR. A continuación, añade el cebador necesario a los tubos. A continuación, coloque los tubos de PCR en un termociclador para realizar 30 ciclos del programa de amplificación. Esto incluye: desnaturalización, recocido y elongación. Los productos de la RT-PCR pueden analizarse mediante electroforesis en gel.

## **Guías de publicación**

El ensayo de RT-PCR cuantitativa se considera el estándar de oro para medir el número de copias de dianas específicas de ADNc en una muestra, pero está poco estandarizado. Como resultado, aunque hay numerosas publicaciones que utilizan la técnica, muchas proporcionan detalles experimentales inadecuados y utilizan un análisis de datos inadecuado para sacar conclusiones inapropiadas. Debido a la variabilidad inherente a la calidad de los datos de la PCR cuantitativa, los revisores no sólo tienen dificultades para evaluar estos manuscritos, sino que también resulta imposible reproducir los estudios. Reconociendo la necesidad de estandarizar el informe de las condiciones experimentales, un consorcio internacional de científicos académicos ha publicado las directrices de Información Mínima para la Publicación de Experimentos Cuantitativos de PCR en Tiempo Real (MIQE, pronunciado mykee). Las directrices MIQE

describen la información mínima necesaria para evaluar los experimentos de PCR cuantitativa que debería exigirse para su publicación con el fin de fomentar una mejor práctica experimental y garantizar la relevancia, la precisión, la correcta interpretación y la repetibilidad de los datos de PCR cuantitativa. Además de las directrices para la presentación de informes, el MIQE subraya la necesidad de estandarizar la nomenclatura asociada a la PCR cuantitativa para evitar confusiones, por ejemplo, la abreviatura qPCR debería utilizarse para la PCR cuantitativa en tiempo real y RT-qPCR debería utilizarse para la transcripción inversa-qPCR y los genes utilizados para la normalización deberían denominarse genes de referencia en lugar de genes de mantenimiento. También se propone que no se utilicen términos derivados comercialmente, como sondas TaqMan, sino que se denominen sondas de hidrólisis. Además, se propone que se utilice el ciclo de cuantificación (Cq) para describir el ciclo de PCR utilizado para la cuantificación en lugar de ciclo umbral (Ct), punto de cruce (Cp) y punto de despegue (TOP), que se refieren al mismo valor pero fueron acuñados por diferentes fabricantes de instrumentos en tiempo real.

La directriz consta de los siguientes elementos:

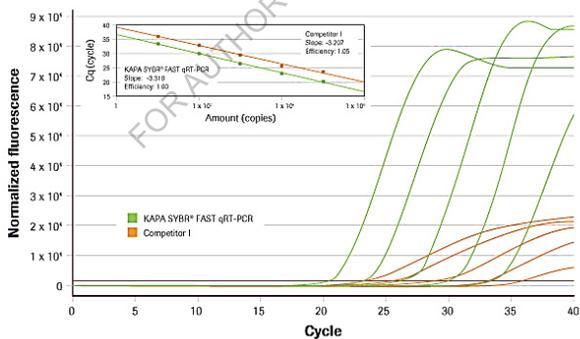
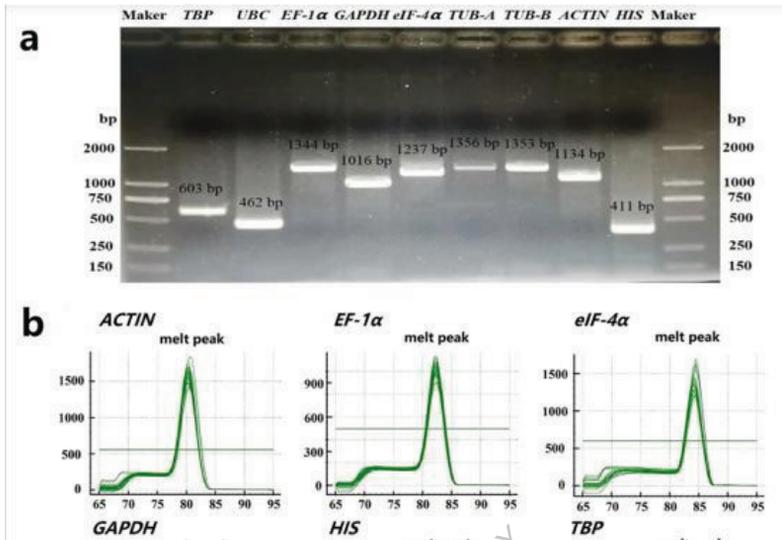
- 1) diseño experimental.
- 2) muestra.
- 3) extracción de ácido nucleico.
- 4) transcripción inversa.

- 5) Información sobre el objetivo de la qPCR.
- 6) oligonucleótidos.
- 7) protocolo.
- 8) validación.
- 9) análisis de datos.

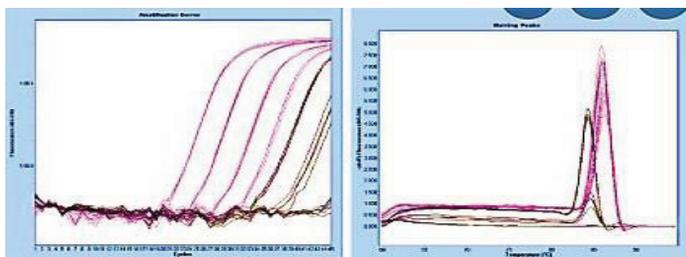
Los elementos específicos de cada elemento llevan una etiqueta E (esencial) o D (deseable). Los que llevan la etiqueta E se consideran críticos e indispensables, mientras que los que llevan la etiqueta D se consideran periféricos pero importantes para las mejores prácticas.



**Figura (55): RT-PCR de dos pasos**



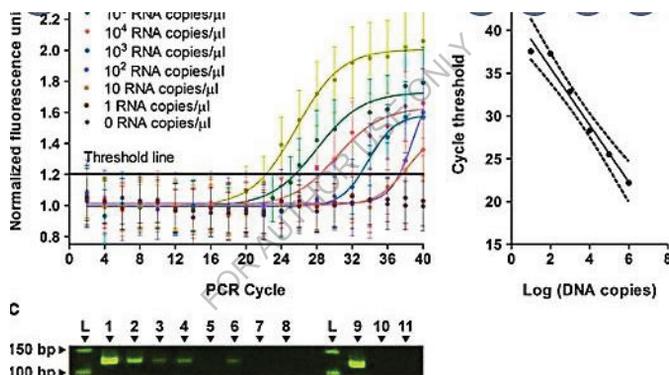
RRM1 gene (94 bp, 45.7% GC) amplified from 10-fold dilution series of RNA (100 ng to 10 pg per 20  $\mu$ L reaction) isolated from human placenta. KAPA SYBR FAST One-Step qRT-PCR Kit demonstrates earlier C<sub>q</sub> values, higher fluorescence, and optimal reaction efficiencies.



**Fig 2. Exceptional Speed and Sensitivity of AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix.**

qPCR amplification and melt traces of mouse housekeeping gene Phosphoglycerate kinase 1 (PGK-1) directly from Total RNA (dilution series).

Panel B: AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix (Purple) is compared with Qiagen QuantiTect® SYBR Green RT-PCR Kit (Black). In each case, AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix exhibits earlier Ct values and improved sensitivity.



**Figura (56): TC de la RT-PCR con el pico de expresión del gen.**

## 1-3 Referencias

1. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "La evolución, los temas de la biología y la investigación científica". *Biología Campbell* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 2-26. ISBN 978-0134093413.
2. Hillis, David M.; Heller, H. Craig; Hacker, Sally D.; Laskowski, Marta J.; Sadava, David E. (2020). "Estudiando la vida". *Life: La ciencia de la biología*(12ª ed.). W. H. Freeman. ISBN 978-1319017644.
3. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "La biología y los tres de la vida". *Ciencia biológica* (6ª ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 1-18. ISBN 978-0321976499.
4. Modell, Harold; Cliff, William; Michael, Joel; McFarland, Jenny; Wenderoth, Mary Pat; Wright, Ann (diciembre de 2015). "La visión de un fisiólogo sobre la homeostasis". *Avances en la enseñanza de la fisiología*. **39** (4): 259–266. doi:10.1152/advan.00107.2015. ISSN 1043-4046. PMC 4669363. PMID 26628646.
5. Davies, PC; Rieper, E; Tuszynski, JA (enero de 2013). "Autoorganización y reducción de la entropía en una célula

- viva". *Bio Systems*. 111 (1): 1–10. doi:10.1016/j.biosystems.2012.10.005. PMC 3712629. PMID 23159919.
6. Basado en la definición de: "Aquarena Wetlands Project glossary of terms". Universidad Estatal de Texas en San Marcos. Archivado desde el original en 2004-06-08.
  7. Craig, Nancy (2014). *Biología molecular, principios de la función del genoma*. ISBN 978-0-19-965857-2.
  8. Mosconi, Francesco; Julou, Thomas; Desprat, Nicolas; Sinha, Deepak Kumar; Allemand, Jean-François; Vincent Croquette; Bensimon, David (2008). "Some nonlinear challenges in biology". *Nonlinearity*. 21 (8): T131. Bibcode:2008Nonli..21..131M. doi:10.1088/0951-7715/21/8/T03. ISSN 0951-7715.
  9. Howell, Elizabeth (8 de diciembre de 2014). "¿Cómo se hizo compleja la vida, y podría ocurrir más allá de la Tierra?". *Revista de astrobiología*. Archivado desde el original el 17 de agosto de 2018. Recuperado el 14 de febrero de 2018.
  10. Pearce, Ben K.D.; Tupper, Andrew S.; Pudritz, Ralph E.; et al. (1 de marzo de 2018). "Restringiendo el intervalo de tiempo para el origen de la vida en la Tierra". *Astrobiología*. 18 (3): 343-364. arXiv:1808.09460. Bibcode:2018AsBio..18..343P. doi:10.1089/ast.2017.1674. ISSN 1531-1074. PMID 29570409. S2CID 4419671.

11. "¿Quién acuñó el término biología?". Info.com. Archivado desde el original el 2013-05-09. Recuperado el 2012-06-03.
12. "biología". Diccionario de etimología en línea. Archivado desde el original el 2013-03-07.
13. Richards, Robert J. (2002). La concepción romántica de la vida: Science and Philosophy in the Age of Goethe. University of Chicago Press. ISBN 978-0-226-71210-9.
14. Lindberg, David C. (2007). "La ciencia antes de los griegos. The beginnings of Western science: the European Scientific tradition in philosophical, religious, and institutional context (Segunda ed.). Chicago, Illinois: University of Chicago Press. pp. 1-20. ISBN 978-0-226-48205-7.
15. Grant, Edward (2007). "Del antiguo Egipto a Platón". A History of Natural Philosophy: From the Ancient World to the Nineteenth Century (Primera ed.). New York, New York: Cambridge University Press. pp. 1-26. ISBN 978-052-1-68957-1.
16. Magner, Lois N. (2002). A History of the Life Sciences, Revised and Expanded. CRC Press. ISBN 978-0-203-91100-6. Archivado desde el original en 2015-03-24.

17. Serafini, Anthony (2013). La historia épica de la biología. ISBN 978-1-4899-6327-7. Recuperado el 14 de julio de 2015.
18. Una o varias de las frases anteriores incorporan texto de una publicación que ya es de dominio público: Chisholm, Hugh, ed. (1911). "Theophrastus". *Encyclopædia Britannica* (11ª ed.). Cambridge University Press.
19. Fahd, Toufic (1996). "Botánica y agricultura". En Morelon, Régis; Rashed, Roshdi (eds.). *Enciclopedia de la historia de la ciencia árabe*. 3. Routledge. p. 815. ISBN 978-0-415-12410-2.
20. Magner, Lois N. (2002). *A History of the Life Sciences, Revised and Expanded*. CRC Press. pp. 133-44. ISBN 978-0-203-91100-6. Archivado desde el original en 2015-03-24.
21. Sapp, Jan (2003). "7". *Génesis: La evolución de la biología*. New York: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-515618-8.
22. Coleman, William (1977). *Biología en el siglo XIX: Problems of Form, Function, and Transformation*. New York: Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-29293-1.
23. Mayr, Ernst. *The Growth of Biological Thought*, capítulo 4

24. Mayr, Ernst. The Growth of Biological Thought, capítulo 7
25. Darwin 1909, p. 53
26. Gould, Stephen Jay. The Structure of Evolutionary Theory. The Belknap Press of Harvard University Press: Cambridge, 2002. ISBN 0-674-00613-5. p. 187.
27. Lamarck (1914)
28. Mayr, Ernst. The Growth of Biological Thought, capítulo 10: "Darwin's evidence for evolution and common descent"; y capítulo 11: "The causation of evolution: natural selection"
29. Larson, Edward J. (2006). "Ch. 3". Evolution: The Remarkable History of a Scientific Theory. Grupo editorial Random House. ISBN 978-1-58836-538-5. Archivado desde el original en 2015-03-24.
30. Henig (2000). Op. cit. pp. 134-138.
31. Miko, Iona (2008). "Los principios de la herencia de Gregor Mendel constituyen la piedra angular de la genética moderna. ¿Qué son?". Nature Education. **1** (1): 134.
32. Futuyma, Douglas J.; Kirkpatrick, Mark (2017). "Biología evolutiva". Evolution (4ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 3-26.

33. Noble, Ivan (2003-04-14). "El genoma humano finalmente completo". BBC News. Archivado desde el original en 2006-06-14. Recuperado en 2006-07-22.
34. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "El contexto químico de la vida". Campbell Biology(11<sup>a</sup> ed.). Nueva York: Pearson. pp. 28-43. ISBN 978-0134093413.
35. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "El agua y la vida". Biología Campbell (11<sup>a</sup> ed.). Nueva York: Pearson. pp. 44-55. ISBN 978-0134093413.
36. "Enlace iónico". Compendio de Terminología Química de la IUPAC. 2009. doi:10.1351/goldbook.IT07058. ISBN 978-0-9678550-9-7.
37. Campbell, Neil A.; Williamson, Brad; Heyden, Robin J. (2006). Biología: Explorando la vida. Boston. ISBN 0-13-250882-6. Recuperado el 2012-02-05.<sup>[se necesita una mejor fuente]</sup>
38. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "Agua y carbono: la base química de la vida". Ciencia biológica (6<sup>a</sup> ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 55-77. ISBN 978-0321976499.
39. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "Diversidad molecular

- de la vida". *Biología Campbell* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 56-65. ISBN 978-0134093413.
40. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "La estructura y función de las grandes moléculas biológicas". *Campbell Biology* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 66-92. ISBN 978-0134093413.
41. Mazzarello, P (mayo de 1999). "Un concepto unificador: la historia de la teoría celular". *Nature Cell Biology*. 1 (1): E13-15. doi:10.1038/8964. PMID 10559875. S2CID 7338204.
42. Campbell NA, Williamson B, Heyden RJ (2006). *Biología: Explorando la vida*. Boston: Pearson Prentice Hall. ISBN 9780132508827.
43. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "Estructura y función de la membrana". *Campbell Biology* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 126-142. ISBN 978-0134093413.
44. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2002). *Molecular Biology of the Cell*(4th ed.). New York: Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Archivado desde el original en 2017-12-20.
45. Tom Herrmann; Sandeep Sharma (2 de marzo de 2019). "Fisiología, membrana". StatPearls. PMID 30855799.

46. Cell Movements and the Shaping of the Vertebrate Body en el capítulo 21 de Molecular Biology of the Cell fourth edition, editado por Bruce Alberts (2002) publicado por Garland Science. El texto de Alberts trata de cómo los "bloques de construcción celular" se mueven para dar forma a los embriones en desarrollo. También es habitual describir las pequeñas moléculas, como los aminoácidos, como "bloques de construcción molecular".
47. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "Energía y enzimas: Una introducción al metabolismo". Ciencias Biológicas (6ª ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 171-188. ISBN 978-0321976499.
48. Bailey, Regina. "La respiración celular". Archivado desde el original en 2012-05-05.
49. Schmidt-Rohr, K. (2015). "Why Combustions Are Always Exothermic, Yielding About 418 kJ per Mole of O<sub>2</sub>", J. Chem. Educ. **92**: 2094-2099.<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00333>
50. Lodish, Harvey; Berk, Arnold; Kaiser, Chris A.; Krieger, Monty; Scott, Matthew P.; Bretscher, Anthony; Ploegh, Hidde; Matsudaira, Paul (2008). "Cellular

- energetics". *Molecular Cell Biology* (6<sup>a</sup> ed.). New York: W.H. Freeman and Company. pp. 479-532. ISBN 978-0716776017.
51. "fotosíntesis". *Diccionario de etimología en línea*. Archivado desde el original el 2013-03-07. Recuperado el 2013-05-23.
52. Liddell, Henry George; Scott, Robert; *A Greek-English Lexicon en el Proyecto Perseus*
53. Liddell, Henry George; Scott, Robert; *A Greek-English Lexicon at the Perseus Project*
54. Bryant DA, Frigaard NU (noviembre de 2006). "Fotosíntesis procariótica y fototrofia iluminada". *Trends in Microbiology*. **14** (11): 488-496. doi:10.1016/j.tim.2006.09.001. PMID 16997562.
55. Reece J, Urry L, Cain M, Wasserman S, Minorsky P, Jackson R (2011). *Biología* (ed. Internacional). Upper Saddle River, N.J.: Pearson Education. pp. 235, 244. ISBN 978-0-321-73975-9. Esta incorporación inicial de carbono a los compuestos orgánicos se conoce como fijación de carbono.
56. Neitzel, James; Rasband, Matthew. "La comunicación celular". *Nature Education*. Recuperado el 29 de mayo de 2021.
57. "Señalización celular". *Nature Education*. Recuperado el 29 de mayo de 2021.

58. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Membranas celulares y señalización". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 82-104. ISBN 978-1464175121.
59. Martin EA, Hine R (2020). *A dictionary of biology* (6ª ed.). Oxford: Oxford University Press. ISBN 9780199204625. OCLC 176818780.
60. Griffiths AJ (2012). *Introducción al análisis genético* (10ª ed.). New York: W.H. Freeman and Co. ISBN 9781429229432. OCLC 698085201.
61. "10.2 El ciclo celular - Biología 2e | OpenStax". [openstax.org](https://openstax.org). Recuperado 2020-11-24.
62. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "Meiosis". *Ciencia biológica* (6ª ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 271-289. ISBN 978-0321976499.
63. Casiraghi A, Suigo L, Valoti E, Straniero V (febrero de 2020). "Targeting Bacterial Cell Division: A Binding Site-Centered Approach to the Most Promising Inhibitors of the Essential Protein FtsZ". *Antibiotics*. **9** (2): 69. doi:10.3390/antibiotics9020069. PMC 7167804. PMID 32046082.

64. Griffiths, Anthony J.; Wessler, Susan R.; Carroll, Sean B.; Doebley, John (2015). "La revolución de la genética". Una introducción al análisis genético(11ª ed.). Sunderland, Mass.: W.H. Freeman & Company. pp. 1-30. ISBN 978-1464109485.
65. Griffiths, Anthony J.F.; Miller, Jeffrey H.; Suzuki, David T.; Lewontin, Richard C.; Gelbart, William M., eds. (2000). "La genética y el organismo: introducción". An Introduction to Genetic Analysis (7ª ed.). New York: W. H. Freeman. ISBN 978-0-7167-3520-5.
66. Hartl, D; Jones, E (2005). Genetics: Analysis of Genes and Genomes(6th ed.). Jones & Bartlett. ISBN 978-0-7637-1511-3.
67. Rutgers: Principios mendelianos
68. Miko, Ilona (2008), "Cruces de pruebas", Nature Education, **1** (1): 136
69. Miko, Ilona (2008), "Thomas Hunt Morgan y el vínculo sexual", Nature Education, **1** (1): 143
70. "Pedigree". Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano. Recuperado el 28 de mayo de 2021. Un pedigrí es una representación genética de un árbol genealógico que diagrama la herencia de un rasgo o enfermedad a través de varias generaciones. El pedigrí muestra las relaciones entre los miembros de la familia e

indica qué individuos expresan o portan silenciosamente el rasgo en cuestión.

71. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "Mendel y la idea del gen". *Campbell Biology* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 269-293. ISBN 978-0134093413.
72. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2014). *Molecular Biology of the Cell* (6ª ed.). Garland. p. Capítulo 4: ADN, cromosomas y genomas. ISBN 978-0-8153-4432-2. Archivado desde el original el 14 de julio de 2014.
73. Purcell A. "ADN". *Biología básica*. Archivado desde el original el 5 de enero de 2017.
74. Russell P (2001). *iGenetics*. Nueva York: Benjamin Cummings. ISBN 0-8053-4553-1.
75. Thanbichler, M; Wang, SC; Shapiro, L (octubre de 2005). "El nucleóide bacteriano: una estructura altamente organizada y dinámica". *Journal of Cellular Biochemistry*. **96** (3): 506-21. doi:10.1002/jcb.20519. PMID 15988757. S2CID 25355087.
76. "Definición de genotipo - Definiciones del Diccionario Médico". *Medterms.com*. 2012-03-19. Archivado desde el original en 2013-09-21. Recuperado el 2013-10-02.

77. Crick FH (1958). "Sobre la síntesis de proteínas". Symposia of the Society for Experimental Biology. **12**: 138-63. PMID 13580867.
78. Crick F (agosto de 1970). "El dogma central de la biología molecular". Nature. **227**(5258): 561-3. Bibcode:1970Natur.227.. 561C. doi:10.1038/227561a0. PMID 4913914. S2CID 4164029.
79. "Se invierte el dogma central". Nature. **226** (5252): 1198-9. Junio de 1970. Bibcode:1970Natur.226.1198.. doi:10.1038/2261198a0. PMID 5422595. S2CID 4184060.
80. "Uracilo". Genome.gov. Recuperado 2019-11-21.
81. Temin HM, Mizutani S (junio de 1970). "ADN polimerasa dependiente de ARN en los viriones del virus del sarcoma de Rous". Nature. **226** (5252): 1211-3. doi:10.1038/2261211a0. PMID 4316301. S2CID 4187764.
82. Baltimore D (junio de 1970). "ADN polimerasa dependiente de ARN en los viriones de los virus tumorales de ARN". Nature. **226** (5252): 1209–11. doi:10.1038/2261209a0. PMID 4316300. S2CID 4222378.
83. "Definiciones de la OMS sobre genética y genómica". Organización Mundial de la Salud.
84. Conceptos de genética (10ª ed.). San Francisco: Pearson Education. 2012. ISBN 978-0-321-72412-0.

85. Culver KW, Labow MA (8 de noviembre de 2002). "Genomics". En Robinson R (ed.). Genetics. Macmillan Science Library. Macmillan Reference USA. ISBN 978-0-02-865606-9.
86. Kadakkuzha BM, Puthanveetil SV (julio de 2013). "Genómica y proteómica en la resolución de la complejidad del cerebro". Molecular BioSystems. **9** (7): 1807–21. doi:10.1039/C3MB25391K. PMC 6425491. PMID 23615871.
87. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Biotecnología". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 234-252. ISBN 978-1464175121.
88. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Biotecnología". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 253-272. ISBN 978-1464175121.
89. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "La biología y los tres de la vida". Ciencia biológica (6ª ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 398-417. ISBN 978-0321976499.
90. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Genes, desarrollo y evolución".

- Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 273-298. ISBN 978-1464175121.
91. Slack, J.M.W. (2013) *Essential Developmental Biology*. Wiley-Blackwell, Oxford.
  92. Slack, J.M.W. (2007). "Metaplasia y transdiferenciación: de la biología pura a la clínica". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **8** (5): 369-378. doi:10.1038/nrm2146. PMID 17377526. S2CID 3353748.
  93. Atala A, Lanza R (2012-12-31). *Manual de células madre*. Academic Press. p. 452. ISBN 978-0-12-385943-3.
  94. Yanes, Oscar; Clark, Julie; Wong, Diana M.; Patti, Gary J.; Sánchez-Ruiz, Antonio; Benton, H. Paul; Trauger, Sunia A.; Despons, Caroline; Ding, Sheng; Siuzdak, Gary (junio de 2010). "La oxidación metabólica regula la diferenciación de las células madre embrionarias". *Nature Chemical Biology*. **6** (6): 411–417. doi:10.1038/nchembio.364. ISSN 1552-4469. PMC 2873061. PMID 20436487.
  95. Carroll, Sean B. "Los orígenes de la forma". *Natural History*. Recuperado el 9 de octubre de 2016. Los biólogos podrían decir, con seguridad, que las formas cambian y que la selección natural es una fuerza importante para el cambio. Sin embargo, no pudieron decir nada sobre cómo se produce ese cambio. Cómo cambian los cuerpos o las partes del

cuerpo, o cómo surgen las nuevas estructuras, seguía siendo un completo misterio.

96. Abzhanov, A.; Protas, M.; Grant, B.R.; Grant, P.R.; Tabin, C.J. (2004). "Bmp4 y la variación morfológica de los picos en los pinzones de Darwin". *Science*. **305**(5689): 1462-1465. Bibcode:2004Sci...305.1462A. doi:10.1126/science.1098095. PMID 15353802. S2CID 17226774.
97. Cohn, M.J.; Tickle, C. (1999). "Developmental basis of limblessness and axial patterning in snakes". *Nature*. **399** (6735): 474-479. Bibcode:1999Natur.399.. 474C. doi:10.1038/20944. PMID 10365960. S2CID 4309833.
98. Beverdam, A.; Merlo, G.R.; Paleari, L.; Mantero, S.; Genova, F.; Barbieri, O.; Janvier, P.; Levi, G. (agosto de 2002). "Transformación de la mandíbula con ganancia de simetría tras la inactivación de DLX5/DLX6: ¿Espejo del pasado?" (PDF). *Genesis*. **34** (4): 221-227. doi:10.1002/gene.10156. hdl:2318/87307. PMID 12434331. S2CID 19592597.
99. Depew, M.J.; Lufkin, T.; Rubenstein, J.L. (octubre de 2002). "Especificación de las subdivisiones de la mandíbula por los genes DLX". *Science*. **298** (5592): 381-385. doi:10.1126/science.1075703. PMID 12193642. S2CID 10274300.

100. Panganiban, Grace; Rubenstein, John L. R. (2002). "Developmental functions of the Distal-less/Dlx homeobox genes". *Development*. **129** (19): 4371–4386. doi:10.1242/dev.129.19.4371. PMID 12223397.
101. Beldade, P.; Brakefield, P.M.; Long, A.D. (2002). "Contribución de la falta de distinción a la variación cuantitativa en las manchas oculares de las mariposas". *Nature*. **415** (6869): 315-318. doi:10.1038/415315a. PMID 11797007. S2CID 4430563.
102. Hall & Hallgrímsson 2008, pp. 4-6
103. "Recursos para la evolución". Washington, D.C.: Academias Nacionales de Ciencias, Ingeniería y Medicina. 2016. Archivado desde el original en 2016-06-03.
104. Packard, Alpheus Spring (1901). *Lamarck, the founder of Evolution: his life and work with translations of his writings on organic evolution*. Nueva York: Longmans, Green. ISBN 978-0-405-12562-1.
105. "The Complete Works of Darwin Online - Biography". darwin-online.org.uk. Archivado desde el original el 2007-01-07. Recuperado en 2006-12-15.
106. Dobzhansky, T. (1973). "Nada en biología tiene sentido si no es a la luz de la evolución". *The American Biology Teacher*. **35** (3): 125-29. CiteSeerX

10.1.1.525.3586. doi:10.2307/4444260. JSTOR 4444260.  
S2CID 207358177.

107. Carroll, Joseph, ed. (2003). Sobre el origen de las especies por medio de la selección natural. Peterborough, Ontario: Broadview. p. 15. ISBN 978-1-55111-337-1. Como dice el darwinista Joseph Carroll, de la Universidad de Missouri-St. Louis, en su introducción a una reedición moderna de la obra de Darwin "El origen de las especies reclama especialmente nuestra atención. Es una de las dos o tres obras más significativas de todos los tiempos, una de esas obras que alteran de forma fundamental y permanente nuestra visión del mundo... Está argumentada con una consistencia singularmente rigurosa, pero también es elocuente, imaginativamente evocadora y retóricamente convincente".
108. Shermer p. 149.
109. Lewontin, Richard C. (noviembre de 1970). "The Units of Selection" (PDF). *Annual Review of Ecology and Systematics*. **1**: 1-18. doi:10.1146/annurev.es.01.110170.000245. ISSN 1545-2069. JSTOR 2096764. Archivado (PDF) del original en 2015-02-06.
110. Darwin, Charles (1859). Sobre el origen de las especies, John Murray.

111. Charlesworth, Brian; Charlesworth, Deborah (2009). "Darwin y la genética". *Genetics*. **183** (3): 757–766. doi:10.1534/genetics.109.109991. PMC 2778973. PMID 19933231.
112. Futuyma, Douglas J.; Kirkpatrick, Mark (2017). "Biología evolutiva". *Evolución* (4ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 3-26.
113. Futuyma, Douglas J.; Kirkpatrick, Mark (2017). "Mutación y variación". *Evolution* (4ª ed.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 79-101.
114. Simpson, George Gaylord (1967). *The Meaning of Evolution* (Segunda edición). Yale University Press. ISBN 978-0-300-00952-1.
115. Masel, Joanna (25 de octubre de 2011). "La deriva genética". *Current Biology*. **21**(20): R837–R838. doi:10.1016/j.cub.2011.08.007. ISSN 0960-9822. PMID 22032182. S2CID 17619958.
116. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Especiación". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 343-356. ISBN 978-1464175121.
117. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Reconstrucción y uso de filogenias".

- Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 325-342. ISBN 978-1464175121.
118. Woese, CR; Kandler, O; Wheelis, ML (junio de 1990). "Hacia un sistema natural de organismos: propuesta para los dominios Archaea, Bacteria, y Eucarya". Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América. **87** (12): 4576-79. Bibcode:1990PNAS...87.4576W. doi:10.1073/pnas.87.12.4576. PMC 54159. PMID 2112744.
119. McNeill, J; Barrie, FR; Buck, WR; Demoulin, V; Greuter, W; Hawksworth, DL; et al. (2012). Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código Melbourne) adoptado por el Decimoctavo Congreso Botánico Internacional Melbourne, Australia, julio de 2011. A.R.G. Gantner Verlag KG. ISBN 978-3-87429-425-6. Archivado desde el original en 2013-11-04. Recomendación 60F
120. Silyn-Roberts, Heather (2000). Writing for Science and Engineering: Papers, Presentation. Oxford: Butterworth-Heinemann. p. 198. ISBN 978-0-7506-4636-9. Archivado desde el original en 2020-10-02. Recuperado el 24 de agosto de 2020.
121. Montévil, M; Mossio, M; Pocheville, A; Longo, G (octubre de 2016). "Principios teóricos para la biología: La

- variación". Avances en Biofísica y Biología Molecular. Del siglo del genoma al siglo del organismo: Nuevos enfoques teóricos. **122** (1): 36–50. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2016.08.005. PMID 27530930. Archivado desde el original el 2018-03-20.
122. De Duve, Christian (2002). La vida en evolución: Moléculas, Mente y Sentido. New York: Oxford University Press. p. 44. ISBN 978-0-19-515605-8.
123. Futuyma 2005
124. Futuyma, DJ (2005). Evolution. Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-187-3. OCLC 57311264.
125. Rosing, Minik T. (29 de enero de 1999). "<sup>13</sup>C-Depleted Carbon Microparticles in >3700-Ma Sea-Floor Sedimentary Rocks from West Greenland". *Science*. **283**(5402): 674-676. Bibcode:1999Sci...283..674R. doi:10.1126/science.283.5402.674. ISSN 0036-8075. PMID 9924024.
126. Ohtomo, Yoko; Kakegawa, Takeshi; Ishida, Akizumi; et al. (enero de 2014). "Evidencia de grafito biogénico en rocas metasedimentarias del Arcaico temprano de Isua". *Nature Geoscience*. **7** (1): 25-28. Bibcode:2014NatGe...7...25O. doi:10.1038/ngeo2025. ISSN 1752-0894.

127. Nisbet, Euan G.; Fowler, C.M.R. (7 de diciembre de 1999). "Archaean metabolic evolution of microbial mats". *Proceedings of the Royal Society B*. **266**(1436): 2375–2382. doi:10.1098/rspb.1999.0934. ISSN 0962-8452. PMC 1690475.
128. Knoll, Andrew H.; Javaux, Emmanuelle J.; Hewitt, David; et al. (29 de junio de 2006). "Eukaryotic organisms in Proterozoic oceans". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **361** (1470): 1023–1038. doi:10.1098/rstb.2006.1843. ISSN 0962-8436. PMC 1578724. PMID 16754612.
129. Fedonkin, Mikhail A. (31 de marzo de 2003). "The origin of the Metazoa in the light of the Proterozoic fossil record" (PDF). *Paleontological Research*. **7** (1): 9-41. doi:10.2517/prpsj.7.9. ISSN 1342-8144. S2CID 55178329. Archivado desde el original (PDF) el 26 de febrero de 2009. Recuperado el 2008-09-02.
130. Bonner, John Tyler (7 de enero de 1998). "Los orígenes de la multicelularidad". *Biología Integrativa*. **1** (1): 27–36. doi:10.1002/(SICI)1520-6602(1998)1:1< 27::AID-INBI4>3.0.CO;2-6. ISSN 1757-9694.
131. Strother, Paul K.; Battison, Leila; Brasier, Martin D.; et al. (26 de mayo de 2011). "Los primeros eucariotas no marinos de la Tierra". *Nature*. **473** (7348): 505-509.

- Bibcode:2011Natur.473.. 505S. doi:10.1038/nature09943. ISSN 0028-0836. PMID 21490597. S2CID 4418860.
132. Beraldi-Campesi, Hugo (23 de febrero de 2013). "La vida temprana en la tierra y los primeros ecosistemas terrestres". *Ecological Processes*. **2** (1): 1–17. doi:10.1186/2192-1709-2-1. ISSN 2192-1709.
133. Algeo, Thomas J.; Scheckler, Stephen E. (29 de enero de 1998). "Terrestrial-marine teleconnections in the Devonian: links between the evolution of land plants, weathering processes, and marine anoxic events". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **353** (1365): 113–130. doi:10.1098/rstb.1998.0195. ISSN 0962-8436. PMC 1692181.
134. Jun-Yuan, Chen; Oliveri, Paola; Chia-Wei, Li; et al. (25 de abril de 2000). "Diversidad animal precámbrica: Putative phosphatized embryos from the Doushantuo Formation of China". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** (9): 4457-4462. Bibcode:2000PNAS...97.4457C. doi:10.1073/pnas.97.9.4457. ISSN 0027-8424. PMC 18256. PMID 10781044.
135. D-G., Shu; H-L., Luo; Conway Morris, Simon; et al. (4 de noviembre de 1999). "Lower Cambrian vertebrates from south China" (PDF). *Nature*. **402** (6757): 42-46. Bibcode:1999Natur.402...42S. doi:10.1038/46965. ISSN

- 0028-0836. S2CID 4402854. Archivado desde el original (PDF) en 2009-02-26. Recuperado el 22 de enero de 2015.
136. Hoyt, Donald F. (17 de febrero de 1997). "Reptiles sinápsidos". *ZOO 138 Vertebrate Zoology (Lecture)*. Pomona, California: California State Polytechnic University, Pomona. Archivado desde el original el 2009-05-20. Recuperado en 2015-01-22.
137. Barry, Patrick L. (28 de enero de 2002). Phillips, Tony (ed.). "The Great Dying". *Science@NASA*. Centro de Vuelo Espacial Marshall. Archivado desde el original el 2010-04-10. Recuperado en 2015-01-22.
138. Tanner, Lawrence H.; Lucas, Spencer G.; Chapman, Mary G. (marzo de 2004). "Assessing the record and causes of Late Triassic extinctions" (PDF). *Earth-Science Reviews*. **65** (1-2): 103-139. Bibcode:2004ESRv... 65.. 103T. doi:10.1016/S0012-8252(03)00082-5. Archivado desde el original (PDF) en 2007-10-25. Recuperado el 22 de octubre de 2007.
139. Benton 1997
140. Fastovsky, David E.; Sheehan, Peter M. (marzo de 2005). "La extinción de los dinosaurios en Norteamérica" (PDF). *GSA Today*. **15** (3): 4-10. doi:10.1130/1052-5173(2005)015< 4:TEOTDI>2.0.CO;2. ISSN 1052-5173.

Archivado (PDF) del original en 2019-03-22. Recuperado el 23 de enero de 2015.

141. Roach, John (20 de junio de 2007). "La extinción de los dinosaurios impulsó el surgimiento de los mamíferos modernos". Noticias de National Geographic. Washington, D.C.: National Geographic Society. Archivado desde el original el 2008-05-11. Recuperado el 21 de febrero de 2020.
142. Wible, John R.; Rougier, Guillermo W.; Novacek, Michael J.; et al. (21 de junio de 2007). "Cretaceous eutherians and Laurasian origin for placental mammals near the K/T boundary". *Nature*. **447** (7147): 1003-1006. Bibcode:2007Natur.447.1003W. doi:10.1038/nature05854. ISSN 0028-0836. PMID 17581585. S2CID 4334424.
143. Van Valkenburgh, Blaire (1 de mayo de 1999). "Major Patterns in the History of Carnivorous Mammals". *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. **27**: 463-493. Bibcode:1999AREPS..27..463V. doi:10.1146/annurev.earth.27.1.463. ISSN 1545-4495.
144. Fredrickson JK, Zachara JM, Balkwill DL, Kennedy D, Li SM, Kostandarithes HM, Daly MJ, Romine MF, Brockman FJ (julio de 2004). "Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state". *Applied and Environmental Microbiology*. **70** (7): 4230-41. Bibcode:2004ApEnM..

- 70.4230F. doi:10.1128/AEM.70.7.4230-4241.2004. PMC 444790. PMID 15240306.
145. Dudek NK, Sun CL, Burstein D (2017). "Nueva diversidad microbiana y potencial funcional en el microbioma oral de los mamíferos marinos" (PDF). *Current Biology*. **27** (24): 3752–3762. doi:10.1016/j.cub.2017.10.040. PMID 29153320. S2CID 43864355.
146. Pace NR (mayo de 2006). "Time for a change". *Nature*. **441** (7091): 289. Bibcode:2006Natur.441.. 289P. doi:10.1038/441289a. PMID 16710401. S2CID 4431143.
147. Stoeckenius W (octubre de 1981). "La bacteria cuadrada de Walsby: estructura fina de un procarionta ortogonal". *Journal of Bacteriology*. **148** (1): 352–60. doi:10.1128/JB.148.1.352-360.1981. PMC 216199. PMID 7287626.
148. "Biología básica de las arqueas". Marzo de 2018.
149. Bang C, Schmitz RA (septiembre de 2015). "Archaea asociadas a las superficies humanas: no hay que subestimarlas". *FEMS Microbiology Reviews*. **39** (5): 631–48. doi:10.1093/femsre/fuv010. PMID 25907112.
150. Moissl-Eichinger C, Pausan M, Taffner J, Berg G, Bang C, Schmitz RA (enero de 2018). "Las arqueas son componentes interactivos de microbiomas complejos".

- Tendencias en microbiología. **26** (1): 70–85.  
doi:10.1016/j.tim.2017.07.004. PMID 28826642.
151. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "El origen y la diversificación de los eucariotas". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 402-419. ISBN 978-1464175121.
152. O'Malley, Maureen A.; Leger, Michelle M.; Wideman, Jeremy G.; Ruiz-Trillo, Iñaki (2019-02-18). "Conceptos del último ancestro común eucariota". *Nature Ecology & Evolution*. Springer Science and Business Media LLC. **3** (3): 338-344. doi:10.1038/s41559-019-0796-3. hdl:10261/201794. ISSN 2397-334X. PMID 30778187. S2CID 67790751.
153. Taylor, F. J. R. 'M. (2003-11-01). "The collapse of the two-kingdom system, the rise of protistology and the founding of the International Society for Evolutionary Protistology (ISEP)". *Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva*. Sociedad de Microbiología. **53** (6): 1707–1714. doi:10.1099/ijms.0.02587-0. ISSN 1466-5026. PMID 14657097.
154. Pitelka, D. R. (1963). *Electron-Microscopic Structure of Protozoa*. Pergamon Press, Oxford.
155. Berner, T. (1993). *Ultrastructure of Microalgae*. Boca Ratón: CRC Press. ISBN 0849363233

156. ^ Beckett, A., Heath, I. B., y Mclaughlin, D. J. (1974). An Atlas of Fungal Ultrastructure. Longman, Green, Nueva York.
157. Ragan M.A. & Chapman D.J. (1978). A Biochemical Phylogeny of the Protists. London, New York: Academic Press. ISBN 0323155618
158. Lewin R. A. (1974). "Biochemical taxonomy", pp. 1-39 en Algal Physiology and Biochemistry, Stewart W. D. P. (ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. ISBN 0520024109
159. Oren, A., & Papke, R. T. (2010). Molecular phylogeny of microorganisms. Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press. ISBN 1904455670
160. Horner, D. S., & Hirt, R. P. (2004). "An overview on eukaryote origins and evolution: the beauty of the cell and the fabulous gene phylogenies", pp. 1-26 in Hirt, R.P. & D.S. Horner. Organelles, Genomes and Eukaryote Phylogeny, An Evolutionary Synthesis in the Age of Genomics. New York: CRC Press. ISBN 0203508939
161. RBG Kew (2016). Informe sobre el estado de las plantas del mundo - 2016. Royal Botanic Gardens, Kew. [https://stateoftheworldsplants.com/report/sotwp\\_2016.pdf](https://stateoftheworldsplants.com/report/sotwp_2016.pdf) Archived2016-09-28 at the Wayback Machine
162. "La lista de plantas - Briofitas".

163. Christenhusz, M. J. M. & Byng, J. W. (2016). "El número de especies de plantas conocidas en el mundo y su incremento anual". *Phytotaxa*. **261** (3): 201–217. doi:10.11646/phytotaxa.261.3.1.
164. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "La evolución de las plantas". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 420-449. ISBN 978-1464175121.
165. "Gymnosperms en The Plant List". [Theplantlist.org](http://Theplantlist.org). Recuperado 2013-07-24.
166. Hawksworth DL, Lücking R (julio de 2017). "Diversidad fúngica revisada: de 2,2 a 3,8 millones de especies". *El reino de los hongos*. *Microbiology Spectrum*. **5**. pp. 79-95. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016. ISBN 978-1-55581-957-6. PMID 28752818.
167. Cheek, Martin; Nic Lughadha, Eimear; Kirk, Paul; Lindon, Heather; Carretero, Julia; Looney, Brian; et al. (2020). "Nuevos descubrimientos científicos: Plantas y hongos". *Plantas, Personas, Planeta*. **2** (5): 371–388. doi:10.1002/ppp3.10148.
168. "Dejar de descuidar los hongos". *Nature Microbiology*. **2** (8): 17120. 25 de julio de 2017. doi:10.1038/nmicrobiol.2017.120. PMID 28741610.

169. Feuda R, Dohrmann M, Pett W, Philippe H, Rota-Stabelli O, Lartillot N, et al. (diciembre de 2017). "La mejora de la modelización de la heterogeneidad composicional apoya a las esponjas como hermanas de todos los demás animales". *Current Biology*. **27** (24): 3864–3870.e4. doi:10.1016/j.cub.2017.11.008. PMID 29199080.
170. Pisani D, Pett W, Dohrmann M, Feuda R, Rota-Stabelli O, Philippe H, et al. (diciembre de 2015). "Los datos genómicos no apoyan que las jaleas de peine sean el grupo hermano de todos los demás animales". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **112** (50): 15402-7. Bibcode:2015PNAS..11215402P. doi:10.1073/pnas.1518127112. PMC 4687580. PMID 26621703.
171. Simion P, Philippe H, Baurain D, Jager M, Richter DJ, Di Franco A, et al. (abril de 2017). "Un conjunto de datos filogenómicos grande y consistente apoya a las esponjas como el grupo hermano de todos los demás animales" (PDF). *Current Biology*. **27** (7): 958–967. doi:10.1016/j.cub.2017.02.031. PMID 28318975.
172. Giribet G (1 de octubre de 2016). "La genómica y el árbol de la vida animal: conflictos y perspectivas de futuro". *Zoologica Scripta*. **45**: 14-21. doi:10.1111/zsc.12215. ISSN 1463-6409.

173. Laumer CE, Gruber-Vodicka H, Hadfield MG, Pearse VB, Riesgo A, Marioni JC, Giribet G (2017-10-11). "Los placozoos son eumetazoos relacionados con los cnidarios". bioRxiv 10.1101/200972.
174. May, Robert M. (16 de septiembre de 1988). "¿Cuántas especies hay en la Tierra?". *Science*. **241** (4872): 1441-1449. Bibcode:1988Sci...241.1441M. doi:10.1126/science.241.4872.1441. JSTOR 1702670. PMID 17790039. S2CID 34992724. Archivado desde el original el 15 de noviembre de 2016. Recuperado el 17 de junio de 2014.
175. Richards, O. W.; Davies, R.G. (1977). *Imms' General Textbook of Entomology; Volume 1: Structure, Physiology and Development Volume 2: Classification and Biology*. Berlín: Springer. ISBN 978-0-412-61390-6.
176. "Tabla 1a: Número de especies evaluadas en relación con el número global de especies descritas, y número de especies amenazadas por grandes grupos de organismos". Lista Roja de la UICN. 18 de julio de 2019.
177. Wu KJ (15 de abril de 2020). "Hay más virus que estrellas en el universo. ¿Por qué sólo algunos nos infectan? - En la Tierra existen más de un cuatrillón de virus individuales, pero la mayoría no están preparados para saltar a los humanos. ¿Podemos encontrar los que sí lo están?".

- National Geographic Society. Recuperado el 18 de mayo de 2020.
178. Koonin EV, Senkevich TG, Dolja VV (septiembre de 2006). "El antiguo mundo de los virus y la evolución de las células". *Biology Direct*. **1** (1): 29. doi:10.1186/1745-6150-1-29. PMC 1594570. PMID 16984643.
179. Zimmer C (26 de febrero de 2021). "La vida secreta de un coronavirus - Una burbuja aceitosa de genes de 100 nanómetros de ancho ha matado a más de dos millones de personas y ha remodelado el mundo. Los científicos no saben qué hacer con ella". Recuperado el 28 de febrero de 2021.
180. "Virus Taxonomy: 2019 Release". talk.ictvonline.org. Comité Internacional de Taxonomía de los Virus. Recuperado el 25 de abril de 2020.
181. Lawrence CM, Menon S, Eilers BJ, Bothner B, Khayat R, Douglas T, Young MJ (mayo de 2009). "Structural and functional studies of archaeal viruses". *The Journal of Biological Chemistry*. **284** (19): 12599–603. doi:10.1074/jbc.R800078200. PMC 2675988. PMID 19158076.
182. Edwards RA, Rohwer F (junio de 2005). "Viral metagenomics". *Nature Reviews. Microbiology*. **3** (6): 504–10. doi:10.1038/nrmicro1163. PMID 15886693. S2CID 8059643.

183. Canchaya C, Fournous G, Chibani-Chennoufi S, Dillmann ML, Brüssow H (agosto de 2003). "Phage as agents of lateral gene transfer". *Current Opinion in Microbiology*. **6** (4): 417–24. doi:10.1016/S1369-5274(03)00086-9. PMID 12941415.
184. Rybicki EP (1990). "La clasificación de los organismos en el límite de la vida, o los problemas de la sistemática de los virus". *South African Journal of Science*. **86**: 182-86.
185. Koonin EV, Starokadomskyy P (octubre de 2016). "¿Están vivos los virus? El paradigma del replicador arroja una luz decisiva sobre una pregunta antigua pero errónea". *Estudios de Historia y Filosofía de las Ciencias Biológicas y Biomédicas*. **59**: 125-34. doi:10.1016/j.shpsc.2016.02.016. PMC 5406846. PMID 26965225.
186. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "El cuerpo de las plantas". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 521-536. ISBN 978-1464175121.
187. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Nutrición y transporte de las plantas". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 537-554. ISBN 978-1464175121.
188. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Crecimiento y desarrollo de las

- plantas". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 555-572. ISBN 978-1464175121.
189. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Reproducción de las plantas con flores". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 573-588. ISBN 978-1464175121.
190. "Autopolinización y polinización cruzada | Biología para mayores II". courses.lumenlearning.com.
191. Harmer SL, Panda S, Kay SA (2001). "Molecular bases of circadian rhythms". Annual Review of Cell and Developmental Biology. **17**: 215-53. doi:10.1146/annurev.cellbio.17.1.215. PMID 11687489.
192. Strong, Donald R.; Ray, Thomas S. (1 de enero de 1975). "Comportamiento de localización del árbol huésped de una vid tropical (*Monstera gigantea*) por skototropismo". Science. **190** (4216): 804-806. Bibcode:1975Sci...190..804S. doi:10.1126/science.190.4216.804. JSTOR 1741614. S2CID 84386403.
193. Jaffe MJ, Forbes S (febrero de 1993). "Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on plants". Plant Growth Regulation. **12** (3): 313–24. doi:10.1007/BF00027213. PMID 11541741. S2CID 29466083.

194. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Fundamentos de la función animal". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 605-623. ISBN 978-1464175121.
195. Rodolfo, Kelvin (enero de 2000). "¿Qué es la homeostasis?". *Scientific American*. Archivado desde el original en 2013-12-03.
196. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Balance de agua y sal". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 751-767. ISBN 978-1464175121.
197. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Nutrición, alimentación y digestión". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. pp. 624-642. ISBN 978-1464175121.
198. Campbell, Neil A. (1990). *Biología* (2ª ed.). Redwood City, California: Benjamin/Cummings Pub. Co. pp. 834-835. ISBN 0-8053-1800-3.
199. Hsia, CC; Hyde, DM; Weibel, ER (15 de marzo de 2016). "Estructura pulmonar y los desafíos intrínsecos del intercambio de gases". *Fisiología integral*. **6** (2): 827–95. doi:10.1002/cphy.c150028. PMC 5026132. PMID 27065169.

200. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "La circulación". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. pp. 661-680. ISBN 978-1464175121.
201. "Sistema cardiovascular" en el Diccionario Médico Dorland
202. "¿Cómo funciona el sistema circulatorio de la sangre?". PubMed Health. 1 de agosto de 2016.
203. Pawlina, Wojciech; Ross, Michael H. (2011). Histología : un texto y atlas : con biología celular y molecular correlacionada (6ª ed.). Filadelfia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health. ISBN 9780781772006. OCLC 548651322.
204. Standring, Susan (2016). Anatomía de Gray : la base anatómica de la práctica clínica (Cuadragésima primera ed.). Filadelfia. ISBN 9780702052309. OCLC 920806541.
205. Hillis, David M.; Sadava, David E.; Price, Mary V. (2014). "El músculo y el movimiento". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 681-698. ISBN 978-1-464-10947-8.
206. Gardner, C.R. (1976). "El control neuronal de la locomoción en la lombriz de tierra". Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society. **51** (1): 25-52.

- doi:10.1111/j.1469-185X.1976.tb01119.x. PMID 766843. S2CID 9983649.
207. Alexander, R. McNeill (2003). "El músculo, el motor". Principles of Animal Locomotion (2<sup>a</sup> ed.). Princeton, N.J.: Princeton University Press. pp. 15-37. ISBN 978-0-691-12634-0.
208. Josephson, R. K.; Malamud, J. G.; Stokes, D. R. (2000-09-15). "Asynchronous muscle: a primer". Journal of Experimental Biology. **203**(18): 2713-2722. doi:10.1242/jeb.203.18.2713. ISSN 0022-0949. PMID 10952872.
209. Lee WC, Huang H, Feng G, Sanes JR, Brown EN, So PT, Nedivi E (febrero de 2006). "Dynamic remodeling of dendritic arbors in GABAergic interneurons of adult visual cortex". PLOS Biology. **4** (2): e29. doi:10.1371/journal.pbio.0040029. PMC 1318477. PMID 16366735.
210. "Sistema nervioso". Enciclopedia Columbia. Columbia University Press.
211. Aidley, David J. (1998). "Introducción. The Physiology of Excitable Cells(4th ed.). New York: Cambridge University Press. pp. 1-7. ISBN 978-0521574211.

212. Aidley, David J. (1998). "La base iónica de la conducción nerviosa". *The Physiology of Excitable Cells* (4ª ed.). New York: Cambridge University Press. pp. 54-75. ISBN 978-0521574211.
213. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Neuronas, órganos sensoriales y sistemas nerviosos". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 699-732. ISBN 978-1464175121.
214. Freeman, Scott; Quillin, Kim; Allison, Lizabeth; Black, Michael; Podgorski, Greg; Taylor, Emily; Carmichael, Jeff (2017). "Sistemas sensoriales de los animales". *Ciencia biológica* (6ª ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 922-941. ISBN 978-0321976499.
215. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Control por los sistemas endocrino y nervioso". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 733-750. ISBN 978-1464175121.
216. Shuster M (2014-03-14). *Biología para un mundo cambiante, con fisiología*(Segunda ed.). Nueva York, NY. ISBN 9781464151132. OCLC 884499940.
217. Marieb E (2014). *Anatomía y fisiología*. Glenview, IL: Pearson Education, Inc. ISBN 978-0-321-86158-0.

218. Knobil, Ernst (1998). Enciclopedia de la reproducción, Volumen 1. Academic Press. p. 315. ISBN 978-0-12-227020-8.
219. Schwartz, Jill (2010). Master the GED 2011. Peterson's. p. 371. ISBN 978-0-7689-2885-3.
220. Hamilton, Matthew B. (2009). Population genetics. Wiley-Blackwell. p. 55. ISBN 978-1-4051-3277-0.
221. Ville, Claude Alvin; Walker, Warren Franklin; Barnes, Robert D. (1984). General zoology. Saunders College Pub. p. 467. ISBN 978-0-03-062451-3.
222. Hamilton, William James; Boyd, James Dixon; Mossman, Harland Winfield (1945). Embriología humana: (desarrollo prenatal de la forma y la función). Williams & Wilkins. p. 330.
223. Philips, Joy B. (1975). Development of vertebrate anatomy. Mosby. p. 176. ISBN 978-0-8016-3927-2.
224. The Encyclopedia Americana: a library of universal knowledge, Volume 10. Encyclopedia Americana Corp. 1918. p. 281.
225. Romoser, William S.; Stoffolano, J. G. (1998). La ciencia de la entomología. WCB McGraw-Hill. p. 156. ISBN 978-0-697-22848-2.
226. Adiyodi, K.G.; Hughes, Roger N.; Adiyodi, Rita G. (julio de 2002). Reproductive Biology of Invertebrates,

- Volume 11, Progress in Asexual Reproduction. Wiley. p. 116. ISBN 978-0-471-48968-9.
227. Schatz, Phil. "Conceptos de Biología | Cómo se reproducen los animales". OpenStax College. Archivado desde el original el 6 de marzo de 2018. Recuperado el 5 de marzo de 2018.
228. Jungnickel MK, Sutton KA, Florman HM (agosto de 2003). "En el principio: lecciones de la fertilización en ratones y gusanos". *Cell*. **114** (4): 401–4. doi:10.1016/s0092-8674(03)00648-2. PMID 12941269.
229. Gilbert, S. F.; Barresi, M. J. F. (2017-05-01). "Biología del desarrollo, 11ª edición 2016". *American Journal of Medical Genetics Part A*. **173** (5): 1430. doi:10.1002/ajmg.a.38166. ISSN 1552-4833.
230. Edlund, Helena (julio de 2002). "Organogénesis: Pancreatic organogenesis - developmental mechanisms and implications for therapy". *Nature Reviews Genetics*. **3** (7): 524-532. doi:10.1038/nrg841. ISSN 1471-0064. PMID 12094230. S2CID 2436869.
231. Rankin, Scott (2018). "El tiempo lo es todo: la señalización reiterativa de Wnt, BMP y RA regula la competencia del desarrollo durante la organogénesis del endodermo". *Biología del desarrollo*. **434** (1): 121–132.

- doi:10.1016/j.ydbio.2017.11.018. PMC 5785443. PMID 29217200 - vía NCBI.
232. Ader, Marius; Tanaka, Elly M (2014). "Modelado del desarrollo humano en cultivo 3D". *Opinión actual en biología celular*. **31**: 23-28. doi:10.1016/j.ceb.2014.06.013. PMID 25033469.
233. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "El comportamiento de los animales". *Principios de la vida* (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 827-844. ISBN 978-1464175121.
234. Páez-Rondón, Oscar; Aldana, Elis; Dickens, Joseph; Otálora-Luna, Fernando (mayo 2018). "Descripción etológica de un patrón de acción fijo en una chinche besucona (Triatominae): visión, gustación, extensión de la probóscide y toma de agua y guayaba". *Revista de etología*. **36** (2): 107–116. doi:10.1007/s10164-018-0547-y. ISSN 0289-0771.
235. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "El comportamiento de los animales". *Campbell Biology* (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 1137-1161. ISBN 978-0134093413.
236. Begon, M; Townsend, CR; Harper, JL (2006). *Ecología: From individuals to ecosystems* (4ª ed.). Blackwell. ISBN 978-1-4051-1117-1.

237. Hábitats del mundo. Nueva York: Marshall Cavendish. 2004. p. 238. ISBN 978-0-7614-7523-1.
238. Tansley (1934); Molles (1999), p. 482; Chapin et al. (2002), p. 380; Schulze et al. (2005); p. 400; Gurevitch et al. (2006), p. 522; Smith & Smith 2012, p. G-5
239. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "La distribución de los sistemas ecológicos de la Tierra". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 845-863. ISBN 978-1464175121.
240. Odum, Eugene P (1971). Fundamentals of Ecology (tercera ed.). New York: Saunders. ISBN 978-0-534-42066-6.
241. Chapin III, F. Stuart; Matson, Pamela A.; Mooney, Harold A. (2002). "El concepto de ecosistema". Principios de Ecología de los Ecosistemas Terrestres. New York: Springer. p. 10. ISBN 978-0-387-95443-1.
242. Planton, Serge (Francia; editor) (2013). "Anexo III. Glosario: IPCC - Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático" (PDF). Quinto informe de evaluación del IPCC. p. 1450. Archivado desde el original (PDF) en 2016-05-24. Recuperado el 25 de julio de 2016.
243. Shepherd, Dr. J. Marshall; Shindell, Drew; O'Carroll, Cynthia M. (1 de febrero de 2005). "¿Cuál es la diferencia

- entre tiempo y clima?". NASA. Recuperado el 13 de noviembre de 2015.
244. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Poblaciones". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 864-897. ISBN 978-1464175121.
245. Urry, Lisa; Cain, Michael; Wasserman, Steven; Minorsky, Peter; Reece, Jane (2017). "Ecología de poblaciones". Campbell Biology (11ª ed.). Nueva York: Pearson. pp. 1188-1211. ISBN 978-0134093413.
246. "Población". Biología en línea. Recuperado el 5 de diciembre de 2012.
247. "Definición de población (biología)". Diccionarios Oxford. Oxford University Press. Recuperado el 5 de diciembre de 2012. una comunidad de animales, plantas o seres humanos entre cuyos miembros se produce el mestizaje.
248. Hartl, Daniel (2007). Principios de genética de poblaciones. Sinauer Associates. p. 45. ISBN 978-0-87893-308-2.
249. Chapman, Eric J.; Byron, Carrie J. (2018-01-01). "La aplicación flexible de la capacidad de carga en ecología". Ecología global y conservación. **13**: e00365. doi:10.1016/j.gecco.2017.e00365. ISSN 2351-9894.

250. Odum, E. P.; Barrett, G. W. (2005). *Fundamentals of Ecology* (5<sup>a</sup> ed.). Brooks/Cole, una parte de Cengage Learning. ISBN 978-0-534-42066-6. Archivado desde el original en 2011-08-20.
251. Wootton, JT; Emmerson, M (2005). "Measurement of Interaction Strength in Nature". *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **36**: 419-44. doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.091704.175535. JSTOR 30033811.
252. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Consecuencias ecológicas y evolutivas dentro y entre las especies". *Principios de la vida* (2<sup>a</sup> ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 882-897. ISBN 978-1464175121.
253. Smith, AL (1997). *Diccionario Oxford de bioquímica y biología molecular*. Oxford [Oxfordshire]: Oxford University Press. p. 508. ISBN 978-0-19-854768-6. Fotosíntesis - la síntesis por parte de los organismos de compuestos químicos orgánicos, especialmente carbohidratos, a partir del dióxido de carbono utilizando la energía obtenida de la luz en lugar de la oxidación de los compuestos químicos.

254. Edwards, Katrina. "Microbiology of a Sediment Pond and the Underlying Young, Cold, Hydrologically Active Ridge Flank". Institución Oceanográfica de Woods Hole.
255. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "Comunidades ecológicas". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 898-915. ISBN 978-1464175121.
256. Riebeck, Holli (16 de junio de 2011). "El ciclo del carbono". Observatorio de la Tierra. NASA. Archivado desde el original el 5 de marzo de 2016. Recuperado el 5 de abril de 2018.
257. Hillis, David M.; Sadava, David; Hill, Richard W.; Price, Mary V. (2014). "La distribución de los sistemas ecológicos de la Tierra". Principios de la vida (2ª ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 916-934. ISBN 978-1464175121.
258. IPCC AR5 WG1 Summary for Policymakers 2013, p. 4: El calentamiento del sistema climático es inequívoco, y desde la década de 1950 muchos de los cambios observados no tienen precedentes durante décadas o milenios. La atmósfera y el océano se han calentado, las cantidades de nieve y hielo han disminuido, el nivel del mar ha subido y las concentraciones de gases de efecto invernadero han aumentado; IPCC SR15 Ch1 2018, p. 54: Las abundantes

pruebas empíricas del ritmo sin precedentes y la escala global del impacto de la influencia humana en el Sistema Tierra (Steffen et al., 2016; Waters et al., 2016) han llevado a muchos científicos a pedir que se reconozca que la Tierra ha entrado en una nueva época geológica: el Antropoceno.

259. EPA 2020: Dióxido de carbono (76%), metano (16%), óxido nitroso (6%).

260. EPA 2020: El dióxido de carbono entra en la atmósfera a través de la quema de combustibles fósiles (carbón, gas natural y petróleo), residuos sólidos, árboles y otros materiales biológicos, y también como resultado de ciertas reacciones químicas (por ejemplo, la fabricación de cemento). El uso de combustibles fósiles es la principal fuente de CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub>

también puede ser emitido por los impactos directos del hombre en la silvicultura y otros usos de la tierra, como por ejemplo, a través de la deforestación, el desmonte de tierras para la agricultura y la degradación de los suelos. El metano se emite durante la producción y el transporte de carbón, gas natural y petróleo. Las emisiones de metano también son el resultado de la ganadería y otras prácticas agrícolas y de la descomposición de los residuos orgánicos en los vertederos de residuos sólidos municipales.

261. Sahney, S.; Benton, M. J (2008). "La recuperación de la extinción masiva más profunda de todos los tiempos". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **275** (1636): 759–65. doi:10.1098/rspb.2007.1370. PMC 2596898. PMID 18198148.
262. Soulé, Michael E.; Wilcox, Bruce A. (1980). *Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective*. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-800-1.
263. Soulé, Michael E. (1986). "¿Qué es la biología de la conservación?" (PDF). *BioScience, Instituto Americano de Ciencias Biológicas*. **35** (11): 727-34. doi:10.2307/1310054. JSTOR 1310054.
264. Hunter, Malcolm L. (1996). *Fundamentos de la biología de la conservación*. Oxford: Blackwell Science. ISBN 978-0-86542-371-8.
265. Meffe, Gary K.; Martha J. Groom (2006). *Principles of conservation biology* (3ª ed.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-518-5.
266. Van Dyke, Fred (2008). *Conservation biology: foundations, concepts, applications* (2nd ed.). New York: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-1-4020-6891-1. ISBN 9781402068904. OCLC 232001738.

267. Sahney, S.; Benton, M. J.; Ferry, P. A. (2010). "Links between global taxonomic diversity, ecological diversity and the expansion of vertebrates on land". *Biology Letters*. **6** (4): 544–7. doi:10.1098/rsbl.2009.1024. PMC 2936204. PMID 20106856.
268. Koh, Lian Pin; Dunn, Robert R.; Sodhi, Navjot S.; Colwell, Robert K.; Proctor, Heather C.; Smith, Vincent S. (2004). "Species coextinctions and the biodiversity crisis". *Science*. **305** (5690): 1632-4. Bibcode:2004Sci...305.1632K. doi:10.1126/science.1101101. PMID 15361627. S2CID 30713492.
269. Evaluación de los Ecosistemas del Milenio (2005). *Ecosistemas y bienestar humano: Biodiversity Synthesis*. World Resources Institute, Washington, D.C. [1]
270. Jackson, J. B. C. (2008). "Ecological extinction and evolution in the brave new ocean". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias*. **105** (Suppl 1): 11458-65. Bibcode:2008PNAS...10511458J. doi:10.1073/pnas.0802812105. PMC 2556419. PMID 18695220.
271. Soule, Michael E. (1986). *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates. p. 584. ISBN 978-0-87893-795-0.

272. Gabe Buckley. (2020). La célula eucariota. Revisado por: BD Editors. Última actualización: 6 de noviembre de 2020. Diccionario de biología
273. Goodsell, D. S. *Escherichia coli*. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **37**, 325-332 (2009).
274. Pilhofer, M., Ladinsky, M. S., McDowall, A. W. & Jensen, G. J. Bacterial TEM: new insights from cryo-microscopy. *Methods Cell Biol.* **96**, 21-45 (2010).
275. Pilhofer, M. et al. Architecture and host interface of environmental chlamydiae revealed by electron cryotomography. *Environ. Microbiol.* **16**, 417-429 (2014).
276. An, L. & Jensen, G. J. Electron tomography of cells. *Q. Rev. Biophys.* **45**, 27-56 (2012).
277. Beeby, M., Gumbart, J. C., Roux, B. & Jensen, G. J. Arquitectura y ensamblaje de la pared celular de los Gram positivos. *Mol. Microbiol.* **88**, 664-672 (2013).
278. Tocheva, E. I. et al. Peptidoglycan transformations during *Bacillus subtilis* sporulation. *Mol. Microbiol.* **88**, 673-686 (2013).
279. Howland, John L. (2000). *The Surprising Archaea: Discovering Another Domain of Life*. Oxford: Oxford University Press. pp. 69-71. ISBN 0-19-511183-4.

280. C.Michael Hogan 2010. Factor abiótico. Encyclopedia of Earth. eds Emily Monosson y C. Cleveland. Consejo Nacional para la Ciencia y el Medio Ambiente. Washington DC
281. van Heijenoort J (2001). "Formación de las cadenas de glicanos en la síntesis del peptidoglicano bacteriano". *Glycobiology*. **11** (3): 25R–36R. doi:10.1093/glycob/11.3.25R. PMID 11320055.
282. Koch A (2003). "La pared bacteriana como objetivo de ataque: investigaciones pasadas, presentes y futuras". *Clin Microbiol Rev*. **16** (4): 673–87. doi:10.1128/CMR.16.4.673-687.2003. PMC 207114. PMID 14557293.
283. Cantwell H, Nurse P (2019). "Desentrañando el control del tamaño nuclear". *Genética actual*. Springer. **65** (6): 1282. doi:10.1007/s00294-019-00999-3. PMC 6820586. PMID 31147736.
284. Lodish HF, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. (2016). *Molecular Cell Biology* (Octava ed.). Nueva York: W.H. Freeman. ISBN 978-1-4641-8339-3.
285. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). *Molecular biology of the cell* (4ª ed.). New York: Garland Science. p. 197. ISBN 978-0-8153-4072-0.

286. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, Walter P (2015). *Biología molecular de la célula* (6 ed.). Nueva York: Garland Science.
287. Rhoades R, Pflanzner R, eds. (1996). "Ch3. Human Physiology (3rd ed.). Saunders College Publishing.
288. Shulga N, Mosammaparast N, Wozniak R, Goldfarb DS (mayo de 2000). "Yeast nucleoporins involved in passive nuclear envelope permeability". *Primaria. The Journal of Cell Biology*. **149** (5): 1027–38. doi:10.1083/jcb.149.5.1027. PMC 2174828. PMID 10831607.
289. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL, Darnell J (2004). *Molecular Cell Biology* (5ª ed.). New York: WH Freeman. ISBN 978-0-7167-2672-2.
290. Pemberton LF, Paschal BM (marzo de 2005). "Mechanisms of receptor-mediated nuclear import and nuclear export". *Revisión. Traffic*. **6** (3): 187-98. doi:10.1111/j.1600-0854.2005.00270.x. PMID 15702987. S2CID 172279.
291. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, eds. (2002). "Chapter 4: DNA and Chromosomes". *Molecular Biology of the Cell* (4ª ed.). New York: Garland Science. pp. 191-234. ISBN 978-0-8153-4072-0.

292. Stuurman N, Heins S, Aebi U (1998). "Láminas nucleares: su estructura, ensamblaje e interacciones". Revisión. *Journal of Structural Biology*. **122** (1-2): 42–66. doi:10.1006/jsbi.1998.3987. PMID 9724605.
293. Goldman AE, Moir RD, Montag-Lowy M, Stewart M, Goldman RD (noviembre de 1992). "Pathway of incorporation of microinjected lamin A into the nuclear envelope". *Primaria. The Journal of Cell Biology*. **119** (4): 72535. doi:10.1083/jcb.119.4.725. PMC 2289687. PMID 1429833.
294. Goldman RD, Gruenbaum Y, Moir RD, Shumaker DK, Spann TP (marzo de 2002). "Nuclear lamins: building blocks of nuclear architecture". Review. *Genes & Development*. **16** (5): 533–47. doi:10.1101/gad.960502. PMID 11877373.
295. Broers JL, Ramaekers FC (2004). "Dynamics of nuclear lamina assembly and disassembly". Revisión. *Symposia of the Society for Experimental Biology* (56): 177-92. ISBN 9781134279838. PMID 15565881.
296. Moir RD, Yoon M, Khuon S, Goldman RD (diciembre de 2000). "Nuclear lamins A and B1: different pathways of assembly during nuclear envelope formation in living cells". *Primaria. The Journal of Cell Biology*. **151** (6): 1155–68. doi:10.1083/jcb.151.6.1155. PMC 2190592. PMID 11121432.

297. Spann TP, Goldman AE, Wang C, Huang S, Goldman RD (febrero de 2002). "La alteración de la organización de la lámina nuclear inhibe la transcripción dependiente de la RNA polimerasa II". *Primaria. The Journal of Cell Biology.* **156** (4): 603–8. doi:10.1083/jcb.200112047. PMC 2174089. PMID 11854306.
298. Mounkes LC, Stewart CL (junio de 2004). "Aging and nuclear organization: lamins and progeria". *Revisión. Current Opinion in Cell Biology.* **16** (3): 322–7. doi:10.1016/j.ceb.2004.03.009. PMID 15145358.
299. Ehrenhofer-Murray AE (junio de 2004). "Chromatin dynamics at DNA replication, transcription and repair". *Revisión. European Journal of Biochemistry.* **271** (12): 2335-49. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04162.x. PMID 15182349.
300. Grigoryev SA, Bulynko YA, Popova EY (2006). "El fin ajusta los medios: la remodelación de la heterocromatina durante la diferenciación de las células terminales". *Review. Chromosome Research.* **14** (1): 53–69. doi:10.1007/s10577-005-1021-6. PMID 16506096. S2CID 6040822.
301. Schardin M, Cremer T, Hager HD, Lang M (diciembre de 1985). "Specific staining of human chromosomes in Chinese hamster x man hybrid cell lines demonstrates interphase chromosome territories" (PDF). *Primaria. Human*

- Genetics. **71** (4): 281-7. doi:10.1007/BF00388452. PMID 2416668. S2CID 9261461.
302. Lamond AI, Earnshaw WC (abril de 1998). "Structure and function in the nucleus" (PDF). Review. Science. **280** (5363): 54753. CiteSeerX 10.1.1.323.5543. doi:10.1126/science.280.5363.547. PMID 9554838.
303. Kurz A, Lampel S, Nickolenko JE, Bradl J, Benner A, Zirbel RM, et al. (diciembre de 1996). "Active and inactive genes localize preferentially in the periphery of chromosome territories". *Primaria. The Journal of Cell Biology*. **135** (5): 1195205. doi:10.1083/jcb.135.5.1195. PMC 2121085. PMID 8947544. Archivado desde el original el 29 de septiembre de 2007.
304. Rothfield NF, Stollar BD (noviembre de 1967). "The relation of immunoglobulin class, pattern of anti-nuclear antibody, and complement-fixing antibodies to DNA in sera from patients with systemic lupus erythematosus". *Primaria. The Journal of Clinical Investigation*. **46** (11): 1785-94. doi:10.1172/JCI105669. PMC 292929. PMID 4168731.
305. Barsed S, Goodman AD, Mattson DH (febrero de 1995). "Frecuencia de anticuerpos antinucleares en la esclerosis múltiple". *Primaria. Neurology*. **45** (2): 384-5. doi:10.1212/WNL.45.2.384. PMID 7854544. S2CID 30482028.

306. Hernández-Verdún D (enero de 2006). "Nucleolos: de la estructura a la dinámica". Revisión. *Histoquímica y Biología Celular*. **125** (1-2): 127–37. doi:10.1007/s00418-005-0046-4. PMID 16328431. S2CID 20769260.
307. Lamond AI, Sleeman JE (octubre de 2003). "Nuclear substructure and dynamics". Revisión. *Current Biology*. **13**(21): R8258. doi:10.1016/j.cub.2003.10.012. PMID 14588256. S2CID 16865665.
308. Cioce M, Lamond AI (2005). "Cuerpos de Cajal: una larga historia de descubrimientos". Review. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. **21**: 105-31. doi:10.1146/annurev.cellbio.20.010403.103738. PMID 16212489. S2CID 88073116.
309. Lafarga M, Berciano MT, Pena E, Mayo I, Castaño JG, Bohmann D, et al. (agosto de 2002). "Clastosoma: un subtipo de cuerpo nuclear enriquecido en proteasomas 19S y 20S, ubiquitina y proteínas sustratos del proteasoma". *Primaria. Biología Molecular de la Célula*. **13** (8): 2771-82. CiteSeerX 10.1.1.321.6138. doi:10.1091/mbc.e02-03 0122. PMC 117941. PMID 12181345.
310. Pollard TD, Earnshaw WC (2004). *Cell Biology*. Philadelphia: Saunders. ISBN 978-0-7216-3360-2.
311. Dundr M, Misteli T (junio de 2001). "Arquitectura funcional en el núcleo celular". Revisión. *The Biochemical*

- Journal. **356**(Pt 2): 297–310. doi:10.1042/0264-6021:3560297. PMC 1221839. PMID 11368755.
312. Bond CS, Fox AH (septiembre de 2009). "Paraspeckles: cuerpos nucleares contruidos con ARN largo no codificante". Revisión. *The Journal of Cell Biology*. **186** (5): 637–44. doi:10.1083/jcb.200906113. PMC 2742191. PMID 19720872.
313. Goebel HH, Warlo I (enero de 1997). "Nemaline myopathy with intranuclear rods--intranuclear rod myopathy". Revisión. *Neuromuscular Disorders*. **7** (1): 13–9. doi:10.1016/S0960-8966(96)00404-X. PMID 9132135. S2CID 29584217.
314. Matera AG, Frey MR (agosto de 1998). "Cuerpos enrollados y gemas: ¿Jano o Géminis?". Revisión. *American Journal of Human Genetics*. **63** (2): 317-21. doi:10.1086/301992. PMC 1377332. PMID 9683623.
315. Matera AG (agosto de 1998). "De cuerpos enrollados, gemas y salmónes". Reseña. *Journal of Cellular Biochemistry*. **70** (2): 181–92. doi:10.1002/(sici)1097-4644(19980801)70:2< 181::aid-jcb4>3.0.co;2-k. PMID 9671224.
316. Navascues J, Berciano MT, Tucker KE, Lafarga M, Matera AG (junio de 2004). "Targeting SMN to Cajal bodies and nuclear gems during neuritogenesis". *Primaria*.

- Chromosoma. **112** (8): 398–409. doi:10.1007/s00412-004-0285-5. PMC 1592132. PMID 15164213
317. Saunders WS, Cooke CA, Earnshaw WC (noviembre de 1991). "Compartimentación dentro del núcleo: descubrimiento de una nueva región subnuclear". *Primaria. The Journal of Cell Biology.* **115**(4): 919–31. doi:10.1083/jcb.115.4.919. PMC 2289954. PMID 1955462.
318. Pombo A, Cuello P, Schul W, Yoon JB, Roeder RG, Cook PR, Murphy S (marzo de 1998). "Regional and temporal specialization in the nucleus: a transcriptionally-active nuclear domain rich in PTF, Oct1 and PIKA antigens associates with specific chromosomes early in the cell cycle". *Primaria. The EMBO Journal.* **17** (6): 1768–78. doi:10.1093/emboj/17.6.1768. PMC 1170524. PMID 9501098.
319. Zimmer A, Nguyen QD, Gespach C (octubre de 2004). "Cuerpos y compartimentos nucleares: papeles funcionales y señalización celular en la salud y la enfermedad". *Revisión. Cellular Signalling.* **16** (10): 1085–104. doi:10.1016/j.cellsig.2004.03.020. PMID 15240004.
320. Lallemand-Breitenbach V, de Thé H (mayo de 2010). "Cuerpos nucleares PML". *Revisión. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.* **2** (5): a000661.

- doi:10.1101/cshperspect.a000661. PMC 2857171. PMID 20452955.
321. Spector DL, Lamond AI (febrero de 2011). "Las motas nucleares". Review. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. **3** (2): a000646. doi:10.1101/cshperspect.a000646. PMC 3039535. PMID 20926517.
322. Páginas de Biología de Kimball Archivado 2009-01-25 en la Wayback Machine, Membranas celulares
323. Singleton P (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5<sup>a</sup> ed.). New York: Wiley. ISBN 978-0-471-98880-9.
324. Tom Herrmann<sup>1</sup>; Sandeep Sharma<sup>2</sup>. (2 de marzo de 2019). "Fisiología, membrana". StatPearls. 1 Escuela de Medicina de la SIU 2 Centro Médico Regional Bautista. PMID 30855799
325. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2002). Molecular Biology of the Cell (4<sup>a</sup> ed.). New York: Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Archivado desde el original en 2017-12-20.
326. Budin I, Devaraj NK (enero de 2012). "Membrane assembly driven by a biomimetic coupling reaction". Journal of the American Chemical Society. **134** (2): 751-3. doi:10.1021/ja2076873. PMC 3262119. PMID 22239722.

327. Personal (25 de enero de 2012). "Químicos sintetizan una membrana celular artificial". ScienceDaily. Archivado desde el original el 29 de enero de 2012. Recuperado el 18 de febrero de 2012.
328. Personal (26 de enero de 2012). "Químicos crean una membrana celular artificial". kurzweilai.net. Archivado desde el original el 26 de febrero de 2012. Recuperado el 18 de febrero de 2012.
329. Zeidi, Mahdi; Kim, Chun IL (2018). "Los efectos de la viscosidad intramembrana en la morfología de la membrana lipídica: solución analítica completa". Scientific Reports. **8** (1): 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.
330. Lombard J (diciembre de 2014). "Érase una vez las membranas celulares: 175 años de investigación de los límites celulares". Biology Direct. **9**: 32. doi:10.1186/s13062-014-0032-7. PMC 4304622. PMID 25522740.
331. Leray, C. Historia cronológica del centro de lípidos. Centro de ciberlípidos. Última actualización el 11 de noviembre de 2017. enlace Archivado 2017-10-13 en la Wayback Machine.
332. Gorter E, Grendel F (marzo de 1925). "Sobre las capas bimoleculares de lípidos en los cromocitos de la sangre".

- The Journal of Experimental Medicine. **41** (4): 439–43.  
doi:10.1084/jem.41.4.439. PMC 2130960. PMID 19868999.
333. S J Singer y G L Nicolson: "El modelo de mosaico fluido de la estructura de las membranas celulares". Science. (1972) 175. 720-731.
334. de Vries H (1885). "Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen". Jahrb. Wiss. Bot. **16**: 465-598.
335. Pfeffer, W. 1877. Osmotische Untersuchungen: Studien zur Zell Mechanik. Engelmann, Leipzig.
336. Pfeffer, W., 1900-1906. The Physiology of Plants, [1] Archivado 2018-06-02 en la Wayback Machine. Traducido por A. J. Ewart de la 2ª ed. alemana de Pflanzenphysiologie, 1897-1904, [2] Archivado 2018-06-01 en la Wayback Machine. Clarendon Press, Oxford.
337. Sharp, L. W. (1921). Introduction To Cytology. New York: McGraw Hill, p. 42.
338. Kleinzeller, A. 1999. El concepto de membrana celular de Charles Ernest Overton. En: Membrane permeability: 100 years since Ernest Overton (ed. Deamer D.W., Kleinzeller A., Fambrough D.M.), pp. 1-18, Academic Press, San Diego.
339. Mast SO (1924). "Estructura y locomoción en Amoeba proteus". Anat. Rec. **29** (2): 88. doi:10.1002/ar.1090290205.

340. Plowe JQ (1931). "Membranas en la célula vegetal. I. Membranas morfológicas en las superficies protoplásmicas". *Protoplasma*. **12**: 196-220. doi:10.1007/BF01618716.
341. Wayne R (2009). *Plant Cell Biology: De la astronomía a la zoología*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press. p. 17. ISBN 9780080921273.
342. Noutsi P, Gratton E, Chaieb S (2016-06-30). "La evaluación de las fluctuaciones de la fluidez de la membrana durante el desarrollo celular revela la especificidad del tiempo y del tipo de célula". *PLOS ONE*. **11** (6):0158313. Bibcode:2016PLoSO.. 1158313N. doi:10.1371/journal.pone.0158313. PMC 4928918. PMID 27362860.
343. Lodish H, Berk A, Zipursky LS, et al. (2000). "Biomembranas: Structural Organization and Basic Functions". *Molecular Cell Biology* (4<sup>a</sup> ed.). New York: Scientific American Books. ISBN 978-0-7167-3136-8.
344. Cooper GM (2000). "Structure of the Plasma Membrane". *The Cell: A Molecular Approach* (2<sup>a</sup> ed.). Archivado desde el original en 2017-09-19. 345. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Biomembranas: Structural Organization and Basic Functions". *Biología celular molecular* (4<sup>a</sup> ed.). Archivado desde el original en 2018-06-05.

345. Brandley BK, Schnaar RL (julio de 1986). "Cell-surface carbohydrates in cell recognition and response". *Journal of Leukocyte Biology*. **40** (1): 97–111. doi:10.1002/jlb.40.1.97. PMID 3011937.
346. Jesse Gray; Shana Groeschler; Tony Le; Zara Gonzalez (2002). "Membrane Structure" (SWF). Davidson College. Archivado desde el original en 2007-01-08. Recuperado el 11 de enero de 2007.
347. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Post-Translational Modifications and Quality Control in the Rough ER". *Molecular Cell Biology* (4<sup>a</sup> ed.).
348. Cooper, Geoffrey M. (2000). "Transport of Small Molecules". *La célula: un enfoque molecular* (2<sup>a</sup> ed.). Archivado desde el original en 2018-06-05.
349. Kramer EM, Myers DR (abril de 2013). "La ósmosis no es impulsada por la dilución del agua". *Trends in Plant Science*. **18** (4): 195–7. doi:10.1016/j.tplants.2012.12.001. PMID 23298880.
350. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "Membrane Proteins". *Biología molecular de la célula* (4<sup>a</sup> ed.). Archivado desde el original el 2018-06-05.

351. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "Transporte hacia la célula desde la membrana plasmática: Endocytosis". *Molecular Biology of the Cell* (4ª ed.). Garland Science. Archivado desde el original en 2018-06-05.
352. Salton MR, Kim K (1996). Baron S (ed.). *Medical Microbiology* (4ª ed.). Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. ISBN 978-0963117212. PMID 21413343.
353. Mishra NN, Liu GY, Yeaman MR, Nast CC, Proctor RA, McKinnell J, Bayer AS (febrero de 2011). "La alteración de la fluidez de la membrana celular relacionada con los carotenoides afecta a la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los péptidos de defensa del huésped". *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*. **55** (2): 526–31. doi:10.1128/AAC.00680-10. PMC 3028772. PMID 21115796.
354. Alexander C, Rietschel ET (2001). "Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity". *Journal of Endotoxin Research*. **7** (3): 167–202. doi:10.1177/09680519010070030101. PMID 11581570.
355. YashRoy RC (1999). "A structural model for virulence organellae of gram negative organisms with reference to *Salmonella* pathogenicity in chicken ileum". *Indian Journal*

- of Poultry Science. **34** (2): 213-219. Archivado desde el original en 2014-11-07.
356. Saier MH (2013). "Microcompartimentos y máquinas de proteínas en procariotas". *Revista de Microbiología Molecular y Biotecnología*. **23** (4-5): 243-69. doi:10.1159/000351625. PMC 3832201. PMID 23920489
- Singer SJ, Nicolson GL (febrero de 1972). "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes". *Science*. **175** (4023): 720-31. Bibcode:1972Sci...175.. 720S. doi:10.1126/science.175.4023.720. PMID 4333397.
357. Zeidi, Mahdi; Kim, Chun IL (2018). "Los efectos de la viscosidad intramembrana en la morfología de la membrana lipídica: solución analítica completa". *Scientific Reports*. **8** (1): 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.
358. Doherty GJ, McMahon HT (2008). "Mediación, modulación y consecuencias de las interacciones entre la membrana y el citoesqueleto". *Annual Review of Biophysics*. **37**: 65-95. doi:10.1146/annurev.biophys.37.032807.125912. PMID 18573073. S2CID 17352662.
359. Whatley JM, John P, Whatley FR (abril de 1979). "De lo extracelular a lo intracelular: el establecimiento de mitocondrias y cloroplastos". *Actas de la Real Sociedad de*

Londres. Series B, Biological Sciences. **204** (1155): 165-87.  
Bibcode:1979RSPSB.204.. 165W.  
doi:10.1098/rspb.1979.0020. PMID 36620.

360. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "La estructura y la función del ADN". *Molecular Biology of the Cell* (4<sup>a</sup> ed.). Garland Science.
361. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "The Transport of Molecules between the Nucleus and the Cytosol". *Molecular Biology of the Cell* (4<sup>a</sup> ed.). Garland Science.
362. Cooper GM (2000). "El retículo endoplásmico". *The Cell: A Molecular Approach* (2<sup>a</sup> ed.). Archivado desde el original en 2017-10-03.
363. Xu H, Su W, Cai M, Jiang J, Zeng X, Wang H (2013-04-16). "The asymmetrical structure of Golgi apparatus membranes revealed by in situ atomic force microscope". *PLOS ONE*. **8** (4): e61596. Bibcode:2013PLoSO...861596X. doi:10.1371/journal.pone.0061596. PMC 3628984. PMID 23613878.
364. Reed R, Wouston TW, Todd PM (julio de 1966). "Structure and function of the sarcolemma of skeletal muscle". *Nature*. **211** (5048): 534-6. Bibcode:1966Natur.211.. 534R. doi:10.1038/211534b0. PMID 5967498.

365. Campbell KP, Stull JT (abril de 2003). "Skeletal muscle basement membrane-sarcolemma-cytoskeleton interaction minireview series". *The Journal of Biological Chemistry*. **278** (15): 12599–600. doi:10.1074/jbc.r300005200. PMID 12556456.
366. Mitra K, Ubarretxena-Belandia I, Taguchi T, Warren G, Engelman DM (marzo de 2004). "Modulación del grosor de la bicapa de las membranas de las vías exocíticas por proteínas de membrana y no por el colesterol". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **101** (12): 4083-8. Bibcode:2004PNAS..101.4083M. doi:10.1073/pnas.0307332101. PMC 384699. PMID 15016920.
367. Wessel GM, Wong JL (octubre de 2009). "Cambios en la superficie celular del óvulo durante la fecundación". *Molecular Reproduction and Development*. **76** (10): 942-53. doi:10.1002/mrd.21090. PMC 2842880. PMID 19658159.
368. Raine CS (1999). "Características de la neurona". *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects* (6ª ed.).
369. Fitzpatrick MO, Maxwell WL, Graham DI (marzo de 1998). "The role of the axolemma in the initiation of traumatically induced axonal injury". *Journal of Neurology*,

- Neurosurgery, and Psychiatry. **64** (3): 285–7.  
doi:10.1136/jnnp.64.3.285. PMC 2169978. PMID 9527135.
370. Kerfeld CA, Sawaya MR, Tanaka S, Nguyen CV, Phillips M, Beeby M, Yeates TO (agosto de 2005). "Estructuras proteicas que forman la cáscara de los orgánulos primitivos". *Science*. **309** (5736): 936-8. Bibcode:2005Sci...309.. 936K. CiteSeerX 10.1.1.1026.896. doi:10.1126/science.1113397. PMID 16081736. S2CID
371. Murat, Dorothee; Byrne, Meghan; Komeili, Arash (2010-10-01). "Cell Biology of Prokaryotic Organelles". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2** (10): a000422. doi:10.1101/cshperspect.a000422. PMC 2944366. PMID 20739411.
372. Peterson L (17 de abril de 2010). "Dominio de las partes de una célula". Lesson Planet. Recuperado el 2010-04-19.
373. Di Gregorio MA (2005). De aquí a la eternidad: Ernst Haeckel y la fe científica. Gottingen: Vandenhoeck & Ruprecht. p. 218.
374. Bütschli O (1888). Dr. H. G. Bronn's Klassen u. Ordnungen des Thier-Reichs wissenschaftlich dargestellt in Wort und Bild. Erster Band. Protozoos. Dritte Abtheilung: Infusoria und System der Radiolaria. p. 1412. Las vacuolas no son, en absoluto, los mejores órganos ni los más

importantes (como dijo Möbius, los órganos de los seres humanos en comparación con los de los seres vivos).

375. Ryder JA, ed. (febrero de 1889). "Embryology: The Structure of the Human Spermatozoon". *American Naturalist*. **23**: 184. Posiblemente sea ventajoso utilizar aquí la palabra organula en lugar de órgano, siguiendo una sugerencia de Möbius. Los agregados multicelulares funcionalmente diferenciados en las formas multicelulares o metazoos son en este sentido órganos, mientras que, para las porciones funcionalmente diferenciadas de los organismos unicelulares o para tales porciones diferenciadas de los elementos germinales unicelulares de los metazoos, el diminutivo organula es apropiado.
376. Robin C, Pouchet G, Duval MM, Retterer E, Tourneux F (1891). *Journal de l'anatomie et de la physiologie normales et pathologiques de l'homme et des animaux*. F. Alcan.
377. Möbius K (septiembre de 1884). "Das Sterben der einzelligen und der vielzelligen Tiere. Vergleichend betrachten". *Biologisches Centralblatt*. **4** (13, 14): 389-392, 448. Mientras que las células de crecimiento de las plantas de alto nivel se fortalecen hasta el punto de que se desprenden, se mueven y se desarrollan, las plantas de bajo nivel también están en contacto con el mundo exterior a través de las células de crecimiento y muchas de ellas tienen

órganos extraordinarios". Nota a pie de página 448: "Los órganos de las heteroplastias proceden de zonas diferentes. Dado que los órganos de los monoplastones sólo están formados por diferentes tipos de células, me gustaría decirles que son "órganos".

378. Walker, Patrick (2009). Nuclear import of histone fold motif containing heterodimers by importin 13. Niedersächsische Staats-und Universitätsbibliothek Göttingen.
379. Keeling PJ, Archibald JM (abril de 2008). "Organelle evolution: what's in a name?". *Current Biology*. **18** (8): R345-7. doi:10.1016/j.cub.2008.02.065. PMID 18430636. S2CID 11520942.
380. Imanian B, Carpenter KJ, Keeling PJ (marzo-abril de 2007). "El genoma mitocondrial de un endosimbionte terciario conserva genes para las proteínas de transporte de electrones". *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. **54** (2): 146-53. doi:10.1111/j.1550-7408.2007.00245.x. PMID 17403155. S2CID 20393495.
381. Mullins C (2004). "Teoría de la biogénesis de los orgánulos: A Historical Perspective". *The Biogenesis of Cellular Organelles*. Springer Science+Business Media, Institutos Nacionales de Salud. ISBN 978-0-306-47990-8.

382. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. "The Genetic Systems of Mitochondria and Plastids". *Molecular Biology of the Cell* (4<sup>a</sup> ed.). ISBN 978-0-8153-3218-3.
383. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG (2002). *Biología* (6<sup>a</sup> ed.). Benjamin Cummings. ISBN 978-0-8053-6624-2.
384. Nott TJ, Petsalaki E, Farber P, Jervis D, Fussner E, Plochowietz A, Craggs TD, Bazett-Jones DP, Pawson T, Forman-Kay JD, Baldwin AJ (marzo de 2015). "La transición de fase de una proteína nuage desordenada genera orgánulos sin membrana que responden al medio ambiente". *Molecular Cell*. **57** (5): 936–947. doi:10.1016/j.molcel.2015.01.013. PMC 4352761. PMID 25747659.
385. Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK (mayo de 2017). "Condensados biomoleculares: organizadores de la bioquímica celular". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **18** (5): 285–298. doi:10.1038/nrm.2017.7. PMC 7434221. PMID 28225081.
386. Cormack DH (1984). *Introduction to Histology*. Lippincott. ISBN 978-0-397-52114-2.
387. Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoegge C, Gharakhani J, Jülicher F, Hyman AA (junio de 2009). "Los gránulos P de la línea germinal son gotas

- líquidas que se localizan por disolución/condensación controlada". *Science*. 324 (5935): 1729-32. Bibcode:2009Sci...324.1729B. doi:10.1126/science.1172046. PMID 19460965. S2CID 42229928.
388. Fahey RC, Newton GL, Arrick B, Overdank-Bogart T, Aley SB (abril de 1984). "Entamoeba histolytica: un eucariota sin metabolismo del glutatión". *Science*. **224** (4644): 70-2. Bibcode:1984Sci...224...70F. doi:10.1126/science.6322306. PMID 6322306.
389. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff MC, Roberts K, Walter P, Wilson JH, Hunt T (2014-11-18). *Biología molecular de la célula* (Sexta ed.). Garland Science. p. 679. ISBN 978-0815345244.
390. Badano JL, Mitsuma N, Beales PL, Katsanis N (septiembre de 2006). "Las ciliopatías: una clase emergente de trastornos genéticos humanos". *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. **7**: 125-48. doi:10.1146/annurev.genom.7.080505.115610. PMID 16722803.
391. Anderson P, Kedersha N (marzo de 2008). "Gránulos de estrés: el Tao del triaje del ARN". *Trends in Biochemical Sciences*. **33** (3): 141–50. doi:10.1016/j.tibs.2007.12.003. PMID 18291657.

392. Tsai Y, Sawaya MR, Cannon GC, Cai F, Williams EB, Heinhorst S, Kerfeld CA, Yeates TO (junio de 2007). "El análisis estructural de CsoS1A y la cáscara de la proteína del *Halothiobacillus neapolitanus* carboxysome". *PLOS Biology*. **5**(6): e144. doi:10.1371/journal.pbio.0050144. PMC 1872035. PMID 17518518.
393. Ryter A (enero-febrero de 1988). "Contribución de los nuevos métodos criogénicos a un mejor conocimiento de la anatomía bacteriana". *Annales de l'Institut Pasteur. Microbiología*. **139** (1): 33–44. doi:10.1016/0769-2609(88)90095-6. PMID 3289587.
394. Komeili A, Li Z, Newman DK, Jensen GJ (enero de 2006). "Los magnetosomas son invaginaciones de la membrana celular organizadas por la proteína similar a la actina MamK"(PDF). *Science*. **311** (5758): 242-5. Bibcode:2006Sci...311.. 242K. doi:10.1126/science.1123231. PMID 16373532. S2CID 36909813.
395. Scheffel A, Gruska M, Faivre D, Linaroudis A, Plitzko JM, Schüler D (marzo de 2006). "Una proteína ácida alinea los magnetosomas a lo largo de una estructura filamentosa en las bacterias magnetotácticas". *Nature*. **440** (7080): 110-4. Bibcode:2006Natur.440.. 110S. doi:10.1038/nature04382. PMID 16299495. S2CID 4372846.

396. Lindsay, M. R.; Webb, R. I.; Strous, M; Jetten, M. S.; Butler, M. K.; Forde, R. J.; Fuerst, J. A. (2001). "Cell compartmentalisation in planctomycetes: Novel types of structural organisation for the bacterial cell". *Archives of Microbiology*. **175** (6): 413–29. doi:10.1007/s002030100280. PMID 11491082. S2CID 21970703.
397. Jetten, Mike S. M.; Niftrik, Laura van; Strous, Marc; Kartal, Boran; Keltjens, Jan T.; Op den Camp, Huub J. M. (2009-06-01). "Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria". *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. **44** (2-3): 65–84. doi:10.1080/10409230902722783. PMID 19247843. S2CID 205694872. Recuperado en 2020-08-03.
398. Fuerst JA (13 de octubre de 2005). "Intracellular compartmentation in planctomycetes". *La Revisión Anual de Microbiología*. **59**: 299-328. doi:10.1146/annurev.micro.59.030804.121258. PMID 15910279
399. "Qué es el ADN". Qué es el ADN. Linda Clarks. Recuperado el 6 de agosto de 2016.
400. Bill Bryson, *A Short History of Nearly Everything*, Broadway Books, 2015.p. 500.

401. Dahm R (enero de 2008). "El descubrimiento del ADN: Friedrich Miescher y los primeros años de la investigación de los ácidos nucleicos". *Human Genetics*. **122** (6): 565-81. doi:10.1007/s00439-007-0433 0. PMID 17901982. S2CID 915930.
402. Cox M, Nelson D (2008). *Principios de Bioquímica*. Susan Winslow. p. 288. ISBN 9781464163074.
403. "Estructura del ADN". Qué es el ADN. Linda Clarks. Recuperado el 6 de agosto de 2016.
404. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. (febrero de 2001). "Secuencia inicial y análisis del genoma humano"(PDF). *Nature*. **409** (6822): 860-921. Bibcode:2001Natur.409.. 860L. doi:10.1038/35057062. PMID 11237011.
405. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. (febrero de 2001). "La secuencia del genoma humano". *Science*. **291**(5507): 1304-51. Bibcode:2001Sci...291.1304V. doi:10.1126/science.1058040. PMID 11181995.
406. Budowle B, van Daal A (abril de 2009). "Extracción de pruebas de los análisis forenses de ADN: futuras direcciones de la biología molecular". *BioTechniques*. **46** (5): 339-40, 342-50. doi:10.2144/000113136. PMID 19480629.

407. Elson D (1965). "Metabolism of Nucleic Acids (Macromolecular DNA and RNA)". *Annual Review of Biochemistry*. **34**: 449-86. doi:10.1146/annurev.bi.34.070165.002313. PMID
408. Dahm R (enero de 2008). "El descubrimiento del ADN: Friedrich Miescher y los primeros años de la investigación de los ácidos nucleicos". *Human Genetics*. nih.gov. **122** (6): 565–81. doi:10.1007/s00439-007-0433-0. PMID 17901982. S2CID 915930.
409. Brock TD, Madigan MT (2009). *Brock biología de los microorganismos*. Pearson / Benjamin Cummings. ISBN 978-0-321-53615-0.
410. Hardinger, Steven, Universidad de California, Los Ángeles (2011). "Knowing Nucleic Acids" (PDF). ucla.edu.
411. Mullis, Kary B. La reacción en cadena de la polimerasa (Conferencia Nobel). 1993. (recuperado el 1 de diciembre de 2010)  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html)
412. Verma S, Eckstein F (1998). "Modified oligonucleotides: synthesis and strategy for users". *Annual Review of Biochemistry*. **67**: 99-134. doi:10.1146/annurev.biochem.67.1.99. PMID 9759484.

413. Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, Kaul R, Swarbreck D, Dunham A, et al. (mayo de 2006). "La secuencia de ADN y la anotación biológica del cromosoma 1 humano". *Nature*. **441** (7091): 315-21. Bibcode:2006Natur.441.. 315G. doi:10.1038/nature04727. PMID 16710414.
414. Todorov TI, Morris MD (abril de 2002). Institutos Nacionales de Salud. "Comparación del comportamiento del ARN, del ADN monocatenario y del ADN bicatenario durante la electroforesis capilar en soluciones poliméricas semidiluidas". *Electroforesis. nih.gov*. **23** (7-8): 1033-44. doi:10.1002/1522-2683(200204)23:7/8< 1033::AID-ELPS1033>3.0.CO;2-7. PMID 11981850.
415. Margaret Hunt; Universidad de Carolina del Sur (2010). "Estrategias de replicación del virus RN". sc.edu.
416. McGlynn P, Lloyd RG (agosto de 1999). "RecG helicase activity at three- and four-strand DNA structures". *Nucleic Acids Research*. **27** (15): 3049-56. doi:10.1093/nar/27.15.3049. PMC 148529. PMID 10454599418. Stryer, Lubert; Berg, Jeremy Mark; Tymoczko, John L. (2007). *Biochemistry*. San Francisco: W.H. Freeman. ISBN 978-0-7167-6766-4.
417. Rich A, RajBhandary UL (1976). "Transfer RNA: molecular structure, sequence, and properties". *Annual*

- Review of Biochemistry. **45**: 805-60.  
doi:10.1146/annurev.bi.45.070176.004105. PMID 60910.
418. Watson JD, Crick FH (abril de 1953). "Estructura molecular de los ácidos nucleicos; una estructura para el ácido nucleico de desoxirribosa". *Nature*. **171** (4356): 737-8. Bibcode:1953Natur.171.. 737W. doi:10.1038/171737a0. PMID 13054692. S2CID 4253007.
419. Ferré-D'Amaré AR, Doudna JA (1999). "RNA folds: insights from recent crystal structures". *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. **28**: 57-73. doi:10.1146/annurev.biophys.28.1.57. PMID 10410795.
- 422- Alberts, Bruce (2008). *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Science. ISBN 978-0-8153-4105-5.
420. Gilbert, Walter G. 1980. DNA Sequencing and Gene Structure (Nobel Lecture)  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1980/gilbert-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/gilbert-lecture.html)
421. Sanger, Frederick. 1980. Determinación de las secuencias de nucleótidos en el ADN (Conferencia Nobel)  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-lecture.html)
422. Coordinadores de recursos del NCBI (enero de 2014). "Recursos de bases de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica". Investigación sobre los ácidos

- nucleicos. **42**(Database issue): D7-17.  
doi:10.1093/nar/gkt1146. PMC 3965057. PMID 24259429
423. Krieger M, Scott MP, Matsudaira PT, Lodish HF, Darnell JE, Lawrence Z, Kaiser C, Berk A (2004). "Sección 4.1: Structure of Nucleic Acids". Molecular cell biology. New York: W.H. Freeman and CO. ISBN 978-0-7167-4366-8. 427. "Estructura de los ácidos nucleicos". SparkNotes.
424. Anthony-Cahill SJ, Mathews CK, van Holde KE, Appling DR (2012). Biochemistry (4th Edition). Englewood Cliffs, N.J: Prentice Hall. ISBN 978-0-13-800464-4.
425. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Wlaler P (2002). Molecular Biology of the Cell (4<sup>a</sup> ed.). New York NY: Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3.
426. Mao C (diciembre de 2004). "La aparición de la complejidad: lecciones del ADN". PLoS Biology. **2** (12): e431. doi:10.1371/journal.pbio.0020431. PMC 535573. PMID 15597116.
427. Katsuyuki, Aoki; Kazutaka, Murayama; Hu, Ning-Hai (2016). "Capítulo 3, sección3. Complejos constituyentes de ácidos nucleicos". En Astrid, Sigel; Helmut, Sigel; Roland K.O., Sigel (eds.). The Alkali Metal Ions: Their Role in Life. Metal Ions in Life Sciences. **16**. Springer. pp. 43–66. doi:10.1007/978-3-319-21756-7\_3. ISBN 978-3-319-21755-0. PMID 26860299.

428. Sedova A, Banavali NK (2017). "Patrones geométricos para bases vecinas cerca del estado apilado en hebras de ácido nucleico". *Biochemistry*. **56** (10): 1426–1443. doi:10.1021/acs.biochem.6b01101. PMID 28187685
429. Tinoco I, Bustamante C (octubre de 1999). "Cómo se pliega el ARN". *Journal of Molecular Biology*. **293** (2): 271–81. doi:10.1006/jmbi.1999.3001. PMID 10550208.
430. "Estructura del ARN (Biología Molecular)".
431. Hollyfield JG, Besharse JC, Rayborn ME (diciembre de 1976). "El efecto de la luz sobre la cantidad de fagosomas en el epitelio pigmentario". *Experimental Eye Research*. **23** (6): 623–35. doi:10.1016/0014-4835(76)90221-9. PMID 1087245.
432. Rietveld K, Van Poelgeest R, Pleij CW, Van Boom JH, Bosch L (marzo de 1982). "The tRNA-like structure at the 3' terminus of turnip yellow mosaic virus RNA. Differences and similarities with canonical tRNA". *Nucleic Acids Research*. **10** (6): 1929–46. doi:10.1093/nar/10.6.1929. PMC 320581. PMID 7079175.
433. Staple DW, Butcher SE (junio de 2005). "Pseudoknots: Estructuras de ARN con diversas funciones". *PLoS Biology*. **3** (6): e213. doi:10.1371/journal.pbio.0030213. PMC 1149493. PMID 15941360.

434. Sperschneider J, Datta A, Wise MJ (diciembre de 2012). "Predicción de estructuras pseudoknotted a través de dos secuencias de ARN". *Bioinformática*. **28**(23): 3058–65. doi:10.1093/bioinformatics/bts575. PMC 3516145.
435. Dickerson RE, Drew HR, Conner BN, Wing RM, Fratini AV, Kopka ML (abril de 1982). "The anatomy of A-, B-, and Z-DNA". *Science*. **216** (4545): 475–85. doi:10.1126/science.7071593. PMID 7071593.
436. Chen X; Ramakrishnan B; Sundaralingam M (1995). "Crystal structures of B-form DNA-RNA chimers complexed with distamycin". *Nature Structural Biology*. **2** (9): 733–735. doi:10.1038/nsb0995-733.
437. Sedova A, Banavali NK (2016). "El ARN se acerca a la forma B en contextos de dinucleótidos de cadena simple apilados". *Biopolymers*. **105** (2): 65-82. doi:10.1002/bip.22750. PMID 26443416.
438. Mirkin SM (2001). *DNA Topology: Fundamentos. Encyclopedia of Life Sciences*. doi:10.1038/npg.els.0001038. ISBN 978-0470016176.
439. "Bioquímica estructural/Ácido nucleico/ADN/estructura del ADN". Recuperado el 11 de diciembre de 2012.

440. Tang, Wei; Hu, Shichao; Wang, Huaming; Zhao, Yan; Li, Na; Liu, Feng (23 de septiembre de 2014). "Un traductor molecular universal para objetivos de ácidos no nucleicos que permite ensamblajes dinámicos de ADN y operaciones lógicas". *Chem. Commun.* **50** (92): 14352–14355. doi:10.1039/C4CC07041K. PMID 25295484.
441. Ihalainen, Petri; Pettersson, Fredrik; Pesonen, Markus; Viitala, Tapani; Määttänen, Anni; Österbacka, Ronald; Peltonen, Jouko (7 de marzo de 2014). "Un estudio impedimétrico de la hibridación del ADN en electrodos de oro impresos por inyección de tinta con soporte de papel". *Nanotecnología.* **25** (9): 094009. Bibcode:2014Nanot..25i4009I. doi:10.1088/0957-4484/25/9/094009. PMID 24522116.
442. Berney, H.; Oliver, K. (2005). "Caracterización del tamaño y la densidad de la inmovilización e hibridación del ADN por interferometría de doble polarización". *Biosensores y Bioelectrónica.* **21** (4): 618–626. doi:10.1016/j.bios.2004.12.024. PMID 16202875.
443. Dixon, Matthew C. (julio de 2008). "Microbalanza de cristal de cuarzo con monitorización de la disipación: Enabling Real-Time Characterization of Biological Materials and Their Interactions". *Journal of Biomolecular*

- Techniques. **19** (3): 151-158. PMC 2563918. PMID 19137101.
444. Hannon, Gregory J. (julio de 2002). "La interferencia del ARN". *Nature*. **418** (6894): 244-251. doi:10.1038/418244a. ISSN 1476-4687
445. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (diciembre de 1985). "Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia". *Science*. **230** (4732): 1350-4. Bibcode:1985Sci...230.1350S. doi:10.1126/science.2999980. PMID 2999980.
446. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. (enero de 1988). "Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase". *Science*. **239** (4839): 487-91. Bibcode:1988Sci...239..487S. doi:10.1126/science.239.4839.487. PMID 2448875.
447. Enners, Edward; Porta, Angela R. (2012). "Determinación de las temperaturas de recocido para la reacción en cadena de la polimerasa". *The American Biology Teacher*. **74** (4): 256–260. doi:10.1525/abt.2012.74.4.9. S2CID 86708426.
448. Ninfa, Alexander; Ballou, David; Benore, Marilee (2009). *Fundamental Laboratory Approaches for*

- Biochemistry and Biotechnology. Estados Unidos: Wiley.  
pp. 408-10. ISBN 978-0-47008766-4.
449. Cheng S, Fockler C, Barnes WM, Higuchi R (junio de 1994). "Effective amplification of long targets from cloned inserts and human genomic DNA". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **91** (12): 56959. Bibcode:1994PNAS...91.5695C. doi:10.1073/pnas.91.12.5695. PMC 44063. PMID 8202550.
450. Carr AC, Moore SD (2012). Lucia A (ed.). "Cuantificación robusta de las reacciones en cadena de la polimerasa utilizando un ajuste global". *PLOS ONE*. **7** (5): e37640. Bibcode:2012PLoSO...737640C. doi:10.1371/journal.pone.0037640. PMC 3365123. PMID 22701526.
451. Joseph Sambrook y David W. Russel (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3ª ed.). Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 978-0-879-69576-7. Capítulo 8: Amplificación in vitro del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa
452. "Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)". National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine.
453. "PCR". Centro de Aprendizaje de Ciencias Genéticas, Universidad de Utah.

454. Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, Slesarev AI (mayo de 2004). "Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications". *Trends in Biotechnology*. **22** (5): 253–60. doi:10.1016/j.tibtech.2004.02.011. PMID 15109812.
455. Rychlik W, Spencer WJ, Rhoads RE (noviembre de 1990). "Optimización de la temperatura de recocido para la amplificación del ADN in vitro". *Nucleic Acids Research*. **18** (21): 6409–12. doi:10.1093/nar/18.21.6409. PMC 332522. PMID 2243783.
456. Sharkey DJ, Scalice ER, Christy KG, Atwood SM, Daiss JL (mayo de 1994). "Antibodies as thermolabile switches: high temperature triggering for the polymerase chain reaction". *Bio/Technology*. **12** (5): 506–9. doi:10.1038/nbt0594-506. PMID 7764710. S2CID 2885453.
457. Chien A, Edgar DB, Trela JM (septiembre de 1976). "Polimerasa de ácido desoxirribonucleico del termófilo extremo *Thermus aquaticus*". *Diario de Bacteriología*. **127** (3): 1550–7. doi:10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976. PMC 232952. PMID 8432.
458. Lawyer FC, Stoffel S, Saiki RK, Chang SY, Landre PA, Abramson RD, Gelfand DH (mayo de 1993). "High-level expression, purification, and enzymatic characterization of full-length *Thermus aquaticus* DNA

- polymerase and a truncated form deficient in 5' to 3' exonuclease activity". *PCR Methods and Applications*. **2** (4): 275–87. doi:10.1101/gr.2.4.275. PMID 8324500.
459. Schochetman G, Ou CY, Jones WK (diciembre de 1988). "Polymerase chain reaction". *The Journal of Infectious Diseases*. **158** (6): 1154–7. doi:10.1093/infdis/158.6.1154. JSTOR 30137034. PMID 2461996.
460. Borman, Jon; Schuster, David; Li, Wu-bo; Jessee, Joel; Rashtchian, Ayoub (2000). "PCR from problematic templates" (PDF). *Focus*. **22** (1): 10. Archivado desde el original (PDF) el 7 de marzo de 2017.
461. Bogetto, Prachi; Waidne, Lisa; Anderson, Holly (2000). "Consejos útiles para la PCR" (PDF). *Focus*. **22** (1): 12. Archivado desde el original (PDF) el 7 de marzo de 2017.
462. Sarkar G, Kapelner S, Sommer SS (diciembre de 1990). "La formamida puede mejorar drásticamente la especificidad de la PCR". *Nucleic Acids Research*. **18**(24): 7465. doi:10.1093/nar/18.24.7465. PMC 332902. PMID
463. "PCR electrónica". NCBI - Centro Nacional de Información Biotecnológica. Recuperado el 13 de marzo de 2012.

464. Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, Slesarev AI (2006). "Thermostable DNA Polymerases for a Wide Spectrum of Applications: Comparación de un híbrido robusto TopoTaq con otras enzimas". En Kieleczawa J (ed.). DNA Sequencing II: Optimizing Preparation and Cleanup. Jones & Bartlett. pp. 241-57. ISBN 978-0-7637-3383-4.
465. Pombert JF, Sistek V, Boissinot M, Frenette M (octubre de 2009). "Evolutionary relationships among salivarius streptococci as inferred from multilocus phylogenies based on 16S rRNA-encoding, recA, secA, and secY gene sequences". BMC Microbiology. **9**: 232. doi:10.1186/1471-2180-9-232. PMC 2777182. PMID 19878555.
466. "Síntesis química, secuenciación y amplificación del ADN (apuntes de clase sobre MBB/BIO 343)". Universidad del Estado de Arizona. Archivado desde el original el 9 de octubre de 1997. Recuperado el 29 de octubre de 2007.
467. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. (abril de 2009). "The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments" (PDF). Clinical Chemistry. **55** (4): 611–22. doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.

468. Garibyan L, Avashia N (marzo de 2013). "Reacción en cadena de la polimerasa". *The Journal of Investigative Dermatology*. **133** (3): 1-4. doi:10.1038/jid.2013.1. PMC 4102308. PMID 23399825.
469. Schnell, S.; Mendoza, C. (octubre de 1997). "Descripción teórica de la reacción en cadena de la polimerasa". *Journal of Theoretical Biology*. **188** (3): 313–318. doi:10.1006/jtbi.1997.0473. PMID 9344735.
470. Schnell, S.; Mendoza, C. (21 de febrero de 1997). "Consideraciones enzimológicas para la descripción teórica de la reacción en cadena de la polimerasa competitiva cuantitativa (QC-PCR)". *Journal of Theoretical Biology*. **184**(4): 433–440. doi:10.1006/jtbi.1996.0283. ISSN 0022-5193. PMID 9082073.
471. Becker, Sven; Böger, Peter; Oehlmann, Ralfh; Ernst, Anneliese (1 de noviembre de 2000). "PCR Bias in Ecological Analysis: a Case Study for Quantitative Taq Nuclease Assays in Analyses of Microbial Communities". *Applied and Environmental Microbiology*. **66** (11): 4945-4953. doi:10.1128/AEM.66.11.4945-4953.2000. ISSN 1098-5336. PMC 92404. PMID 11055948.
472. Solomon, Anthony W.; Peeling, Rosanna W.; Foster, Allen; Mabey, David C. W. (1 de octubre de 2004). "Diagnóstico y evaluación del tracoma". *Clinical*

- Microbiology Reviews. **17** (4): 982–1011. doi:10.1128/CMR.17.4.982-1011.2004. ISSN 0893-8512. PMC 523557. PMID 15489358.
473. Ramzy, Reda M.R. (abril de 2002). "Recent advances in molecular diagnostic techniques for human lymphatic filariasis and their use in epidemiological research". Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. **96**: S225-S229. doi:10.1016/S0035-9203(02)90080-5. PMID 12055843.
474. Sachse, Konrad (2003). Sachse, Konrad; Frey, Joachim (eds.). Specificity and performance of diagnostic PCR assays. PCR Detection of Microbial Pathogens. Methods in Molecular Biology. **216**. Totowa, Nueva Jersey: Humana Press. pp. 3–29. doi:10.1385/1-59259-344-5:03. ISBN 978-1-59259-344-6. PMID 12512353.
475. Quill E (marzo de 2008). "Medicina. El emparejamiento de la sangre se vuelve genético". Science. **319** (5869): 1478–9. doi:10.1126/science.319.5869.1478. PMID 18339916. S2CID 36945291.
476. Tomar, Rukam (2010). Molecular Markers and Plant Biotechnology. Pitman Pura, Nueva Delhi: New India Publishing Agency. p. 188. ISBN 978-93-80235-25-7.
477. Cai HY, Caswell JL, Prescott JF (marzo de 2014). "Técnicas moleculares sin cultivo para el diagnóstico de

- enfermedades bacterianas en animales: una perspectiva del laboratorio de diagnóstico". *Patología Veterinaria*. **51** (2): 341–50. doi:10.1177/0300985813511132. PMID 24569613.
478. Salis AD (2009). "Aplicaciones en microbiología clínica". *Real-Time PCR: Current Technology and Applications*. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-39-4.
479. Kwok S, Mack DH, Mullis KB, Poiesz B, Ehrlich G, Blair D, et al. (mayo de 1987). "Identification of human immunodeficiency virus sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection". *Journal of Virology*. **61** (5): 1690–4. doi:10.1128/jvi.61.5.1690-1694.1987. PMC 254157. PMID 2437321.
480. "Coronavirus: el viaje de las pruebas". Istituto Superiore di Sanità.
481. Finger, Horst; von Koenig, Carl Heinz Wirsing (1996). Baron, Samuel (ed.). *Medical Microbiology* (4<sup>a</sup> ed.). Galveston, TX: University of Texas Medical Branch at Galveston. ISBN 978-0-96311721-2. PMID 21413270.
482. Yeh, Sylvia H.; Mink, ChrisAnna M. (2012). "Bordetella pertussis y tos ferina (Whooping Cough)". *Enfermedades infecciosas de Netter*. Netter's Infectious

- Diseases. pp. 11-14. doi:10.1016/B978-1-4377-0126-5.00003-3. ISBN 978-1-43770126-5.
483. Alonso A, Martín P, Albarrán C, García P, García O, de Simón LF, et al. (enero de 2004). "Diseños de PCR en tiempo real para estimar el número de copias de ADN nuclear y mitocondrial en estudios de ADN forense y antiguo". *Forensic Science International*. **139** (2-3): 141–9. doi:10.1016/j.forsciint.2003.10.008. PMID 15040907.
484. Boehnke M, Arnheim N, Li H, Collins FS (julio de 1989). "Fine-structure genetic mapping of human chromosomes using the polymerase chain reaction on single sperm: experimental design considerations". *American Journal of Human Genetics*. **45** (1): 21-32. PMC 1683385. PMID 2568090.
485. Zhou YH, Zhang XP, Ebright RH (noviembre de 1991). "Random mutagenesis of gene-sized DNA molecules by use of PCR with Taq DNA polymerase". *Nucleic Acids Research*. **19** (21): 6052. doi:10.1093/nar/19.21.6052. PMC 329070. PMID 1658751.
486. Stursberg, Stephanie (2021). "Cómo montar un laboratorio de PCR desde cero". INTEGRA Biosciences.
487. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. (abril de 1989). "Análisis de cualquier mutación puntual en el ADN. The amplification

- refractory mutation system (ARMS)". *Nucleic Acids Research*. **17** (7): 2503–16. doi:10.1093/nar/17.7.2503. PMC 317639. PMID 2785681.
488. Stemmer WP, Cramer A, Ha KD, Brennan TM, Heyneker HL (octubre de 1995). "Single-step assembly of a gene and entire plasmid from large numbers of oligodeoxyribonucleotides". *Gene*. **164** (1): 49–53. doi:10.1016/0378-1119(95)00511-4. PMID 7590320.
489. Innis MA, Myambo KB, Gelfand DH, Brow MA (diciembre de 1988). "DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **85** (24): 9436-40. Bibcode:1988PNAS...85.9436I. doi:10.1073/pnas.85.24.9436. PMC 282767. PMID 3200828.
490. Pierce KE, Wangh LJ (2007). Linear-after-the-exponential polymerase chain reaction and allied technologies Real-time detection strategies for rapid, reliable diagnosis from single cells. *Methods in Molecular Medicine*. **132**. pp. 65-85. doi:10.1007/978-1-59745-298-4\_7. ISBN 978-1-58829-578-1. PMID 17876077.
491. Krishnan M, Ugaz VM, Burns MA (octubre de 2002). "PCR en una célula de convección Rayleigh-Bénard".

- Science. **298** (5594): 793.  
doi:10.1126/science.298.5594.793. PMID 12399582.
492. Priye A, Hassan YA, Ugaz VM (noviembre de 2013).  
"La advección caótica a microescala permite una robusta replicación convectiva del ADN". *Analytical Chemistry*. **85** (21): 10536–41. doi:10.1021/ac402611s. PMID 24083802.
493. Schwartz JJ, Lee C, Shendure J (septiembre de 2012).  
"Accurate gene synthesis with tag-directed retrieval of sequence-verified DNA molecules". *Nature Methods*. **9** (9): 9135. doi:10.1038/nmeth.2137. PMC 3433648. PMID 22886093.
494. Vincent M, Xu Y, Kong H (agosto de 2004). "Helicase-dependent isothermal DNA amplification". *Informes EMBO*. **5** (8): 795–800. doi:10.1038/sj.embor.7400200. PMC 1249482. PMID 15247927.
495. Chou Q, Russell M, Birch DE, Raymond J, Bloch W (abril de 1992). "Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications". *Nucleic Acids Research*. **20** (7): 1717–23. doi:10.1093/nar/20.7.1717. PMC 312262. PMID 1579465.
496. Kellogg DE, Rybalkin I, Chen S, Mukhamedova N, Vlasik T, Siebert PD, Chenchik A (junio de 1994). "Anticuerpo TaqStart: "hot start" PCR facilitado por un anticuerpo monoclonal neutralizante dirigido contra la Taq

- ADN polimerasa". *BioTechniques*. **16** (6): 1134-7. PMID 8074881.
497. San Millán RM, Martínez-Ballesteros I, Rementeria A, Garaizar J, Bikandi J (diciembre 2013). "Ejercicio online para el diseño y simulación de experimentos de PCR y PCR-RFLP". *BMC Research Notes*. **6**: 513. doi:10.1186/1756-0500-6-513. PMC 4029544. PMID 24314313.
498. Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (marzo de 1994). "Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification". *Genomics*. **20** (2): 176–83. doi:10.1006/geno.1994.1151. PMID 8020964.
499. Ochman H, Gerber AS, Hartl DL (noviembre de 1988). "Aplicaciones genéticas de una reacción en cadena de la polimerasa inversa". *Genetics*. **120** (3): 621–3. doi:10.1093/genetics/120.3.621. PMC 1203539. PMID 2852134.
500. Mueller PR, Wold B (noviembre de 1989). "In vivo footprinting of a muscle specific enhancer by ligation mediated PCR". *Science*. **246** (4931): 780-6. Bibcode:1989Sci...246..780M. doi:10.1126/science.2814500. PMID 2814500.
501. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB (septiembre de 1996). "Methylation-specific PCR: a

- novel PCR assay for methylation status of CpG islands". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **93** (18): 9821-6. Bibcode:1996PNAS...93.9821H. doi:10.1073/pnas.93.18.9821. PMC 38513. PMID 8790415.
502. Isenbarger TA, Finney M, Ríos-Velázquez C, Handelsman J, Ruvkun G (febrero de 2008). "Miniprimer PCR, una nueva lente para ver el mundo microbiano". *Applied and Environmental Microbiology*. **74** (3): 840–9. doi:10.1128/AEM.01933-07. PMC 2227730. PMID 18083877.
503. Shen C, Yang W, Ji Q, Maki H, Dong A, Zhang Z (noviembre de 2009). "Observación de la NanoPCR: diferentes niveles de fidelidad de replicación del ADN en reacciones en cadena de la polimerasa mejoradas con nanopartículas". *Nanotecnología*. **20** (45): 455103. Bibcode:2009Nanot.. 20S5103S. doi:10.1088/0957-4484/20/45/455103. PMID 19822925. S2CID 3393115.
504. Shen, Cenchao (2013). "Una visión general de la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa asistida por nanopartículas". Una visión general de la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa asistida por nanopartículas. US: Wiley-Blackwell Publishing Ltd. pp. 97-

106. doi:10.1002/9781118451915.ch5. ISBN 9781118451915.
505. Horton RM, Hunt HD, Ho SN, Pullen JK, Pease LR (abril de 1989). "Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes: gene splicing by overlap extension". *Gene*. **77** (1): 61–8. doi:10.1016/0378-1119(89)90359-4. PMID 2744488.
506. Moller, Simon (2006). *PCR: The Basics*. US: Taylor & Francis Group. p. 144. ISBN 9780415355476.
507. David F, Turlotte E (noviembre de 1998). "[Un método de amplificación isotérmica de genes]". [Un método de amplificación isotérmica]. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Série III*. **321** (11): 909-14. Bibcode:1998CRASG.321.. 909D. doi:10.1016/S0764-4469(99)80005-5. PMID 9879470.
508. Fabrice David (septiembre-octubre de 2002). "Utilizar las propiedades topológicas del ADN: una nueva arma contra los agentes patógenos"(PDF). *Fusion*. Archivado desde el original (PDF) el 28 de noviembre de 2007.(en francés)
509. Dobosy JR, Rose SD, Beltz KR, Rupp SM, Powers KM, Behlke MA, Walder JA (agosto de 2011). "PCR dependiente de RNasa H (rhPCR): especificidad mejorada y detección de polimorfismo de un solo nucleótido utilizando cebadores escindibles bloqueados". *BMC Biotechnology*. **11**: 80.

doi:10.1186/1472-6750-11-80. PMC 3224242. PMID 21831278.

510. Shyamala, V.; Ferro-Luzzi, Ames G. (1993). Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction (SSP-PCR) and Genome Walking. *Methods in Molecular Biology*. **15**. pp. 339–48. doi:10.1385/0-89603-244-2:339. ISBN 978-0-89603-244-6. PMID 21400290.
511. Bing DH, Boles C, Rehman FN, Audeh M, Belmarsh M, Kelley B, Adams CP (1996). "Bridge amplification: a solid phase PCR system for the amplification and detection of allelic differences in single copy genes". *Genetic Identity Conference Proceedings, Seventh International Symposium on Human Identification*. Archivado desde el original el 7 de mayo de 2001.
512. Khan Z, Poetter K, Park DJ (abril de 2008). "Enhanced solid phase PCR: mechanisms to increase priming by solid support primers". *Analytical Biochemistry*. **375** (2): 391–3. doi:10.1016/j.ab.2008.01.021. PMID 18267099.
513. Raoult D, Aboudharam G, Crubézy E, Larrouy G, Ludes B, Drancourt M (noviembre de 2000). "Identificación molecular por "PCR suicida" de *Yersinia pestis* como agente de la muerte negra medieval". *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. **97** (23): 12800-3. Bibcode:2000PNAS...9712800R.

- doi:10.1073/pnas.220225197. PMC 18844. PMID 11058154.
514. Liu YG, Whittier RF (febrero de 1995). "Thermal asymmetric interlaced PCR: automatable amplification and sequencing of insert end fragments from P1 and YAC clones for chromosome walking". *Genomics*. **25** (3): 674–81. doi:10.1016/0888-7543(95)80010-J. PMID 7759102.
515. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS (julio de 1991). "'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification". *Nucleic Acids Research*. **19** (14): 4008. doi:10.1093/nar/19.14.4008. PMC 328507. PMID 1861999.
516. Myrick KV, Gelbart WM (febrero de 2002). "Universal Fast Walking for direct and versatile determination of flanking sequence". *Gene*. **284** (1-2): 125–31. doi:10.1016/S0378-1119(02)00384-0. PMID 11891053.
517. "Texto completo - LaNe RAGE: una nueva herramienta para la determinación de la secuencia de flanqueo del ADN genómico". [www.ejbiotechnology.info](http://www.ejbiotechnology.info).
518. Park DJ (enero de 2005). "A new 5' terminal murine GAPDH exon identified using 5'RACE LaNe". *Molecular Biotechnology*. **29** (1): 39-46. doi:10.1385/MB:29:1:39. PMID 15668518. S2CID 45702164.

519. Park DJ (abril de 2004). "3' RACE LaNe: un método sencillo y rápido de PCR totalmente anidado para determinar la secuencia 3'-terminal del ADNc". *BioTechniques*. **36** (4): 586-8, 590. doi:10.2144/04364BM04. PMID 15088375.
520. "El ingrediente clave en las pruebas de coronavirus proviene de los lagos de Yellowstone". *Science*. 31 de marzo de 2020. Recuperado el 13 de mayo de 2020.
521. Kleppe K, Ohtsuka E, Kleppe R, Molineux I, Khorana HG (marzo de 1971). "Estudios sobre polinucleótidos. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases". *Journal of Molecular Biology*. **56**(2): 341–61. doi:10.1016/0022-2836(71)90469-4. PMID 4927950.
522. Rabinow, Paul (1996). *Making PCR: A Story of Biotechnology*. Chicago: University of Chicago Press. ISBN 978-0-226-70146-2.
523. Mullis, Kary (1998). *Dancing Naked in the Mind Field*. New York: Pantheon Books. ISBN 978-0-679-44255-4.
524. Mullis KB (abril de 1990). "El inusual origen de la reacción en cadena de la polimerasa". *Scientific American*. **262** (4): 56-61, 64-5. Bibcode:1990SciAm.262d..56M. doi:10.1038/scientificamerican0490-56. PMID 2315679.

525. Patidar M, Agrawal S, Parveen F, Khare P (2015). "Perspectivas moleculares de la saliva para resolver la disputa de paternidad". *Journal of Forensic Dental Sciences*. 7(1): 76–9. doi:10.4103/0975-1475.150325. PMC 4330625. PMID 25709326.
526. Nichols D, Barker E (2016). "Psicodélicos". *Pharmacological Reviews*. 68(2): 356. doi:10.1124/pr.115.011478. PMC 4813425. PMID 26841800. "El Premio Nobel de Química 1993". NobelPrize.org. "El Premio Nobel de Química 1993". NobelPrize.org.
527. "Citas de los premiados en los Chemical Breakthrough Awards 2017". División de la historia de la química. Recuperado el 12 de marzo de 2018.
528. "Consejos para sobrevivir a las guerras de Taq". *GEN Genetic Engineering News - Biobusiness Channel*. 26 (9). 1 de mayo de 2006.
529. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE (enero de 1999). "Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential". *BioTechniques*. 26 (1): 112-22, 124-5. doi:10.2144/99261rv01. PMID .
530. Mackay, Ian (2007). *Real-time PCR in Microbiology: From Diagnosis to Characterization*. Norfolk, Inglaterra: Caister Academic Press. pp. 440. ISBN 978-1-904455-18-9.

531. Joyce C (2002). RT-PCR cuantitativa. A review of current methodologies. *Methods Mol. Biol.* **193**. pp. 83-92. doi:10.1385/1-59259-283-X:083. ISBN 978-1-59259-283-8. PMID 12325527.
532. Kang XP, Jiang T, Li YQ, et al. (2010). "A duplex real-time RT-PCR assay for detecting H5N1 avian influenza virus and pandemic H1N1 influenza virus". *Virolog. J.* **7**: 113. doi:10.1186/1743-422X-7-113. PMC 2892456. PMID 20515509.
533. Bustin SA, Benes V, Nolan T, Pfaffl MW (junio de 2005). "Quantitative real-time RT-PCR--a perspective". *J. Mol. Endocrinol.* **34** (3): 597-601. CiteSeerX 10.1.1.528.6638. doi:10.1677/jme.1.01755. PMID 15956331.
534. Varkonyi-Gasic E, Hellens RP (2010). "qRT-PCR of Small RNAs". *Plant Epigenetics. Methods in Molecular Biology.* **631**. pp. 109-22. doi:10.1007/978-1-60761-646-7\_10. ISBN 978-1-60761-645-0. PMID 20204872.
535. Taylor S, Wakem M, Dijkman G, Alsarraj M, Nguyen M (abril de 2010). "A practical approach to RT-qPCR- Publishing data that conform to the MIQE guidelines". *Methods.* **50** (4): S1-5. doi:10.1016/j.ymeth.2010.01.005. PMID 20215014.

536. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, et al. (septiembre de 2002). "Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes". *J. Clin. Microbiol.* **40** (9): 3256–60. doi:10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002. PMC 130722. PMID 12202562.
537. "RESUMEN DE LA AUTORIZACIÓN ACELERADA DE USO DE EMERGENCIA (EUA) PRUEBA COVID-19 RT-PCR (LABORATORY CORPORATION OF AMERICA)". FDA. Recuperado el 3 de abril de 2020.
538. Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR (diciembre de 1977). "Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **74** (12): 5350-4. Bibcode:1977PNAS...74.5350A. doi:10.1073/pnas.74.12.5350. PMC 431715. PMID 414220.
539. Streit S, Michalski CW, Erkan M, Kleeff J, Friess H (2009). "Northern blot analysis for detection and quantification of RNA in pancreatic cancer cells and tissues". *Nat Protoc.* **4** (1): 37–43. doi:10.1038/nprot.2008.216. PMID 19131955.
540. Bustin SA (octubre de 2000). "Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase

- chain reaction assays". *J. Mol. Endocrinol.* **25** (2): 169–93. doi:10.1677/jme.0.0250169. PMID 11013345.
541. Hierro N, Esteve-Zarzoso B, González A, Mas A, Guillamón JM (noviembre de 2006). "PCR cuantitativa en tiempo real (QPCR) y transcripción inversa-QPCR para la detección y enumeración de levaduras totales en el vino". *Appl. Environ. Microbiol.* **72** (11): 7148-55. doi:10.1128/AEM.00388-06. PMC 1636171. PMID 17088381.
542. Slomka MJ, Pavlidis T, Coward VJ, et al. (julio de 2009). "Validated RealTime reverse transcriptase PCR methods for the diagnosis and pathotyping of Eurasian H7 avian influenza viruses". *Influenza and Other Respiratory Viruses.* **3** (4): 151-64. doi:10.1111/j.1750-2659.2009.00083.x. PMC 4634683. PMID 19627372.
543. Resumen de la misión: Visita de la OMS a Wuhan, China, los días 20 y 21 de enero de 2020: <https://www.who.int/china/news/detail/22-01-2020-field-visit-wuhan-china-jan-2020>
544. Deepak S, Kottapalli K, Rakwal R, et al. (junio de 2007). "Real-Time PCR: Revolutionizing Detection and Expression Analysis of Genes". *Curr. Genomics.* **8** (4): 234–51. doi:10.2174/138920207781386960. PMC 2430684. PMID 18645596.

545. Bustin SA (agosto de 2002). "Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems". *J. Mol. Endocrinol.* **29** (1): 23–39. doi:10.1677/jme.0.0290023. PMID 12200227.
546. Souazé F, Ntodou-Thomé A, Tran CY, Rostène W, Forgez P (agosto de 1996). "Quantitative RT-PCR: limits and accuracy". *BioTechniques.* **21** (2): 280-5. doi:10.2144/96212rr01. PMID 8862813.
547. Wong ML, Medrano JF (julio de 2005). "Real-time PCR for mRNA quantitation". *BioTechniques.* **39** (1): 75-85. doi:10.2144/05391rv01. PMID 16060372.
548. Li, Lang; He, Jian-an; Wang, Wei; Xia, Yun; Song, Li; Chen, Ze-han; Zuo, Hang-zhi; Tan, Xuan-Ping; Ho, Aaron Ho-Pui; Kong, Siu-Kai; Loo, Jacky Fong-Chuen (2019-08-01). "Desarrollo de un ensayo de PCR cuantitativa de transcripción inversa directa (dirRT-qPCR) para el diagnóstico clínico del Zika". *Revista internacional de enfermedades infecciosas.* **85**: 167-174. doi:10.1016/j.ijid.2019.06.007. ISSN 1201-9712. PMID 31202908.
549. Bachofen, Claudia; Willoughby, Kim; Zadoks, Ruth; Burr, Paul; Mellor, Dominic; Russell, George C. (2013-06-01). "La RT-PCR directa a partir de suero permite un análisis filogenético rápido y rentable del virus de la diarrea viral

- bovina". *Journal of Virological Methods*. **190** (1): 1–3. doi:10.1016/j.jviromet.2013.03.015. ISSN 0166-0934. PMID 23541784.
550. Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW (octubre de 2000). "Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods". *Anal. Biochem.* **285** (2): 194–204. doi:10.1006/abio.2000.4753. PMID 11017702. S2CID 258810.
551. Rajeevan MS, Vernon SD, Taysavang N, Unger ER (febrero de 2001). "Validation of array-based gene expression profiles by real-time (kinetic) RT-PCR". *J Mol Diagn.* **3** (1): 26–31. doi:10.1016/S1525-1578(10)60646-0. PMC 1907344. PMID 11227069.
552. Stone-Marschat M, Carville A, Skowronek A, Laegreid WW (marzo de 1994). "Detección del virus de la peste equina por transcripción inversa-PCR". *J. Clin. Microbiol.* **32** (3): 697–700. doi:10.1128/JCM.32.3.697-700.1994. PMC 263109. PMID 8195381.
553. Minton AP (abril de 1995). "El confinamiento como determinante de la estructura y la reactividad macromoleculares. II. Efectos de las interacciones débilmente atractivas entre los macrosuelos confinados y las

- estructuras de confinamiento". *Biophys. J.* **68** (4): 1311-22. Bibcode:1995BpJ....68.1311M. doi:10.1016/S0006-3495(95)80304-8. PMC 1282026. PMID 7787020.
554. Hsu M, Yu EY, Sprušanský O, McEachern MJ, Lue NF (julio de 2012). "El análisis funcional del único homólogo de Est1/Ebs1 en *Kluyveromyces lactis* revela papeles tanto en el mantenimiento de los telómeros como en la resistencia a la rapamicina". *Eukaryotic Cell.* **11** (7): 932–42. doi:10.1128/EC.05319-11. PMC 3416500. PMID 22544908.
555. Schmittgen TD, Livak KJ (2008). "Análisis de datos de PCR en tiempo real por el método comparativo C(T)". *Nat Protoc.* **3** (6): 1101–8. doi:10.1038/nprot.2008.73. PMID 18546601.
556. Tang, Yi-Wei (2012-09-13), *Técnicas avanzadas en microbiología de diagnóstico*, ISBN 978-1461439691
557. Gause WC, Adamovicz J (junio de 1994). "El uso de la PCR para cuantificar la expresión génica". *PCR Methods Appl.* **3** (6): S123–35. doi:10.1101/gr.3.6.s123. PMID 7522722.
558. Tsai SJ, Wiltbank MC (noviembre de 1996). "Quantification of mRNA using competitive RT-PCR with standard-curve methodology". *BioTechniques.* **21**(5): 862-6. doi:10.2144/96215st04. PMID 8922627.

559. Ramakers C, Ruijter JM, Deprez RH, Moorman AF (marzo de 2003). "Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data". *Neurosci. Lett.* **339** (1): 62–6. doi:10.1016/S0304-3940(02)01423-4. PMID 12618301.
560. Halford WP, Falco VC, Gebhardt BM, Carr DJ (enero de 1999). "The inherent quantitative capacity of the reverse transcription-polymerase chain reaction". *Anal. Biochem.* **266** (2): 181–91. doi:10.1006/abio.1998.2913. PMID 9888974.
561. King N (2010). "El uso de RT-PCR cuantitativa comparativa para investigar el efecto de la incubación de cisteína en la expresión de GPx1 en cardiomiocitos recién aislados". *Protocolos de RT-PCR. Methods in Molecular Biology.* **630**. pp. 215-32. doi:10.1007/978-1-60761-629-0\_14. ISBN 978-1-60761-628-3. PMID 20301000.
562. Chang JT, Chen IH, Liao CT, et al. (noviembre de 2002). "A reverse transcription comparative real-time PCR method for quantitative detection of angiogenic growth factors in head and neck cancer patients". *Clin. Biochem.* **35** (8): 591–6. doi:10.1016/S0009-9120(02)00403-4. PMID 12498992.
563. Holden, M. J.; Wang, L. (2008). "Quantitative Real-Time PCR: Fluorescent Probe Options and Issues".

Standardization and Quality Assurance in Fluorescence Measurements II. Springer Series on Fluorescence. **6**. p. 489. doi:10.1007/4243\_2008\_046. ISBN 978-3-540-70570-3.

564. Yang DK, Kweon CH, Kim BH, et al. (diciembre de 2004). "TaqMan reverse transcription polymerase chain reaction for the detection of Japanese encephalitis virus". *J. Vet. Sci.* **5** (4): 345–51. doi:10.4142/jvs.2004.5.4.345. PMID 15613819.
565. Sharkey FH, Banat IM, Marchant R (julio de 2004). "Detección y cuantificación de la expresión génica en bacteriología ambiental". *Appl. Environ. Microbiol.* **70** (7): 3795–806. doi:10.1128/AEM.70.7.3795-3806.2004. PMC 444812. PMID 15240248.
566. Ratcliff RM, Chang G, Kok T, Sloots TP (julio de 2007). "Molecular diagnosis of medical viruses". *Curr Issues Mol Biol.* **9** (2): 87-102. PMID 17489437.
567. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE (octubre de 2000). "Multiplex PCR: optimización y aplicación en virología de diagnóstico". *Clin. Microbiol. Rev.* **13** (4): 559–70. doi:10.1128/cmr.13.4.559-570.2000. PMC 88949. PMID 11023957.
568. Bustin SA (julio de 2005). "Real-time, fluorescence-based quantitative PCR: a snapshot of current procedures and preferences". *Expert Rev. Mol. Diagn.* **5**(4): 493–8.

- doi:10.1586/14737159.5.4.493. PMID 16013967. S2CID 1833811.
569. Lin L, Chamberlain L, Zhu LJ, Green MR (febrero de 2012). "Análisis de la activación de la transcripción dirigida por Gal4 utilizando mutantes Tra1 selectivamente defectuosos para la interacción con Gal4". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109** (6): 1997-2002. Bibcode:2012PNAS..109.1997L. doi:10.1073/pnas.1116340109. PMC 3277556. PMID 22308403.
570. Torres RJ, García MG, Puig JG (diciembre de 2012). "Portador y diagnóstico prenatal de la enfermedad de Lesch-Nyhan por un defecto en la regulación de la expresión del gen HPRT". *Gene*. **511** (2): 306–7. doi:10.1016/j.gene.2012.09.121. PMID 23046577.
571. Xi L, Nicastrì DG, El-Hefnawy T, Hughes SJ, Luketich JD, Godfrey TE (julio de 2007). "Marcadores óptimos para la detección por PCR de transcripción inversa cuantitativa en tiempo real de células tumorales circulantes de melanoma, mama, colon, esófago, cabeza y cuello, y cánceres de pulmón". *Clin. Chem.* **53** (7): 1206–15. doi:10.1373/clinchem.2006.081828. PMID 17525108.
572. "Coronavirus: el viaje de las pruebas". Istituto Superiore di Sanità.

573. Shiao YH (diciembre de 2003). "A new reverse transcription-polymerase chain reaction method for accurate quantification". *BMC Biotechnol.* **3**: 22. doi:10.1186/1472-6750-3-22. PMC 317330. PMID 14664723.
574. Gettemy JM, Ma B, Alic M, Gold MH (febrero de 1998). "Reverse transcription-PCR analysis of the regulation of the manganese peroxidase gene family". *Appl. Environ. Microbiol.* **64** (2): 569–74. doi:10.1128/AEM.64.2.569-574.1998. PMC 106084. PMID 9464395.
575. Martel, Fatima; Dirk Grundemann; Edgar Schöig (2002-03-31). "A simple method for elimination of false positive results in RT-PCR". *J Biochem Mol Biol.* **35** (2): 248–250. doi:10.5483/BMBRep.2002.35.2.248. PMID 12297038.
576. "Kit OneStep de High Transcript Tools". *Biotoools*. Archivado desde el original el 20 de mayo de 2013. Recuperado el 12 de diciembre de 2012.
577. Degen, Hans-Joachim; Deufel, Annette; Eisel, Doris; Grünwald-Janho, Stefanie; Keesey, Joe (2006). *PCR Applications Manual (PDF)* (3 ed.). Roche Diagnostics. pp. 135-137.
578. "Protocolo de dos pasos de RT-PCR" (PDF). *MIT*. Recuperado el 12 de diciembre de 2012.

579. "www.microarrays.ca" (PDF).
580. Bustin SA (abril de 2010). "¿Por qué la necesidad de directrices de publicación de qPCR? -El caso de MIQE". *Methods*. **50** (4): 217–26. doi:10.1016/j.ymeth.2009.12.006. PMID 20025972.
581. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. (abril de 2009). "The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments". *Clin. Chem.* **55** (4): 611–22. doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

**More  
Books!**



yes  
**I want morebooks!**

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at  
**[www.morebooks.shop](http://www.morebooks.shop)**

¡Compre sus libros rápido y directo en internet, en una de las librerías en línea con mayor crecimiento en el mundo! Producción que protege el medio ambiente a través de las tecnologías de impresión bajo demanda.

Compre sus libros online en  
**[www.morebooks.shop](http://www.morebooks.shop)**

KS OmniScriptum Publishing  
Brivibas gatve 197  
LV-1039 Riga, Latvia  
Telefax: +371 686 20455

[info@omniscryptum.com](mailto:info@omniscryptum.com)  
[www.omniscryptum.com](http://www.omniscryptum.com)

OMNIScriptum



FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY