

Desarrollo y consolidación  
metodológica en biología molecular

**Programas**

- 9.1 Construcción y caracterización de sistemas genéticos para la clonación y expresión de DNA en bacterias.
- 9.2 Síntesis química de oligonucleótidos.
- 9.3 Desarrollo de tecnología de amplificación y de nuevos formatos de lectura para bioensayos diagnósticos.
- 9.4 Señales fluorescentes para la detección de agentes patógenos y empleos en otros bioensayos.
- 9.5 Obtención y caracterización de sondas específicas de DNA para bacterias.

**Programa 9.1** Construcción y caracterización de sistemas genéticos para la clonación y expresión de DNA en bacterias.

Existen en la actualidad muy diversos vectores para la estabilización, caracterización, manipulación y expresión de DNA. En el Instituto existe una tradición en el diseño de vehículos de clonación, y se continúa desarrollando este aspecto de la tecnología de DNA recombinante.

*Proyectos específicos*

Construcción de vehículos moleculares para la integración y amplificación de genes en el cromosoma de *Escherichia coli*.

P. Balbás, X. Alvarado, F. Valle y F. Bolívar  
1992/P/DBM

---

Modificación genética de cepas de *Escherichia coli* para incrementar su capacidad de sobreproducir proteínas.

N. Flores, R. de Anda, F. Valle y F. Bolívar

1991/P/DBM

### **Programa 9.2** Síntesis química de oligonucleótidos.

Se han implementado los métodos recientes de síntesis de DNA para actualizar la Unidad de Síntesis Química de Macromoléculas.

Se trabaja en la optimización del sistema de síntesis para agilizar el servicio que presta a la comunidad académica del país, utilizando equipos de síntesis automatizada.

#### *Proyectos específicos*

Estandarización y optimización de las técnicas de síntesis automatizada de oligonucleótidos.

P. Gaytán, E. López y X. Soberón

1986/P/DBM/USQM

Desarrollo de intermediarios sintéticos para mutagénesis por tripletes.

P. Gaytán, H. Mackie y X. Soberón

1991/P/DBM/USQM/Glen Research

### **Programa 9.3** Desarrollo de tecnología de amplificación y de nuevos formatos de lectura para bioensayos diagnósticos.

A. Utilización de la replicación exponencial de RNA para ensayos de hibridación de segunda generación: El uso de la

---

replicación exponencial de RNA para la generación de señales en ensayos de hibridación tiene gran potencial para pruebas diagnósticas de enfermedades infecciosas. Con este propósito, se está trabajando desde 1985 en un proyecto para explorar el uso de sistemas de amplificación por replicación de RNA, y su aplicación a ensayos de hibridación. Recientemente hemos cambiado radicalmente el diseño del ensayo de hibridación para aumentar su especificidad. Para esto utilizamos una molécula de DNA que tiene las propiedades de un switch molecular. El "switch" molecular es un esquema que se basa en un cambio conformacional que ocurre cuando una molécula de DNA se pega específicamente a su blanco. Un segundo esquema que hemos empezado a explorar es el uso de sondas binarias que son ligadas por una ribosima ligasa derivada del intrón grupo I de *Tetrahymena*. El uso de la ribosima ligasa en este ensayo representa una de las primera aplicaciones prácticas de estas enzimas de RNA en la tecnología diagnóstica. Uno de nuestros proyectos más recientes en esta línea consiste en el aislamiento de una nueva ribosima ligasa termoresistente por evolución dirigida *in vitro*.

B. Nuevos formatos para la detección no-radioactiva de DNA amplificado por PCR: Este proyecto consiste en la exploración de nuevos formatos para detectar DNA amplificado en un ensayo diagnóstico. Uno de estos formatos involucra el uso de una enzima de restricción para liberar fosfatasa alcalina y así generar una señal. El segundo formato, que es muy novedoso, involucra el uso de una ribozima alostérica acoplada a un sistema de generación de señales fluorescentes. La ribozima alostérica solo genera señal fluorescente en la presencia de DNA amplificado.

### *Proyectos específicos*

Desarrollo de ensayos de hibridación para *Plasmodium*

---

*falciparum* y *Plasmodium vivax* basados en el uso de un "switch" molecular.

I. Tussié, G. Estrada, M.H. Rodríguez, A. Alagón y P.M. Lizardi

1986/P/DBQ

Desarrollo de ensayos de hibridación para el virus HIV-1 (virus de SIDA) basados en el uso de sondas binarias y ribosoma ligasa.

F. Márquez, J.W. Szostak y P.M. Lizardi

1990/P/DBQ

Detección secuencia-específica de productos de PCR asimétrico por medio de un ensayo fluorométrico que no involucra ningún paso de lavado.

G. Estrada, L. Colin, A. Alagón y P.M. Lizardi

1993/I/DBQ

Desarrollo de moléculas de RNA que incorporan una ribosoma de alostérica, y su uso para la detección de productos de PCR.

H. Porta, H. Lomelí, X. Soberón, y P. M. Lizardi

1989/P/DBQ

**Programa 9.4** Señales fluorescentes para la detección de agentes patógenos y empleo en otros bioensayos.

La meta de este proyecto es desarrollar un sistema de generación de señales basado en el uso de péptidos fluorogénicos que son activados por una cadena de proteasas. Este sistema de generación de señales puede ser de utilidad en bioensayos para la detección de patógenos.

#### *Proyectos específicos*

Desarrollo de un sistema de generación de señales fluorescentes por medio de proteasas.

---

E. Miranda, L. Colín, P.M. Lizardi, M.H. Rodríguez y A. Alagón  
1986/P/DBQ

**Programa 9.5** Obtención y caracterización de sondas específicas de DNA para bacterias.

El contar con segmentos de DNA que hibridizan específicamente con el genoma de una bacteria, abre la posibilidad de desarrollar métodos de diagnóstico de enfermedades bacterianas más rápidos, sencillos y sensibles que con los que se cuenta actualmente. Dichos métodos de diagnóstico se basarán en el acoplamiento de las secuencias específicas a sistemas de amplificación de señales. Estas sondas de DNA también permiten el estudio de la taxonomía a nivel molecular.

*Proyectos específicos*

Obtención y caracterización de sondas de DNA específicas para *Salmonella typhi* y para *Campylobacter jejuni*.

V. Bustamante, F. Sánchez, F.J. Santana, M. Bobadilla, J.L. Puente y E. Calva  
1989/P/S/DBM