



Colegio San Carlos de Quilicura

Terceros Medios / AP Biología MOLECULAR / 2020

Guía de Estudio “Estar informado para dar una opinión: avances y controversias de la biotecnología”

TERCEROS MEDIOS

Nombre	Curso	Fecha
	III° A-B-C	

Objetivo: Describir las diversas aplicaciones de la biotecnología, analizando y discutiendo los avances en múltiples áreas, como la biología sintética, y evaluando las controversias sociales, económicas, éticas y ambientales generadas por su aplicación.

RECUERDA HACER ENTREGA DEL PÓSTER CIENTÍFICO SUBIENDO TU TRABAJO AL CLASSROOM DE CLASES. ESTA ACTIVIDAD DE APRENDIZAJE SERÁ CONSIDERADA DENTRO DE UN PORCENTAJE DE TU CALIFICACIÓN DE LA ASIGNATURA

PLAZO FINAL DE ENTREGA HASTA EL VIERNES 27 DE NOVIEMBRE



SOLUCIONARIO DE GUÍA ANTERIOR

Explique la técnica del ADN recombinante

1. ¿Qué es el plásmido? ¿Cuál es su rol en la técnica analizada?

El plásmido es un AND extracromosómico de las bacterias, su rol en la técnica analizada es actuar como vector del gen a expresar en condiciones de laboratorio.

2. ¿Por qué se utilizan bacterias en esta técnica biotecnológica?

Por su rápida reproducción y bajo coste económico, además se tiene secuenciado la mayor parte de sus genes y se conoce el mecanismo de expresión genética en estos organismos.

MANIPULACIÓN DE ADN

AMPLIFICACIÓN DE ADN IN VITRO

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa o PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction, revolucionó la biología molecular. Kary Mullis fue el desarrollador de la técnica del PCR en 1983 y fue galardonado en 1993 con el Premio Nobel de Química por su descubrimiento. La idea de la reacción en cadena de la polimerasa es simple, se utilizan dos cebadores o primers que son complementarios a las cadenas opuestas de una secuencia de ADN, lo que permite que la enzima ADN polimerasa actúe sobre ellos para replicar el ADN. Si este procedimiento se realiza cíclicamente, el resultado es una gran cantidad de una secuencia de ADN de interés.

Etapas

Desnaturalización: los fragmentos del ADN a amplificar se calientan a 95°C para romper los puentes de hidrógeno que mantienen unidas ambas hebras del ADN. **Hibridación:** se baja la temperatura a 55 °C para que los cebadores o primers se unan de manera complementaria a cada hebra del ADN.

Elongación: se sube la temperatura hasta 72°C para que la enzima Taq ADN polimerasa agregue nucleótidos libres a cada hebra de ADN para generar las hebras complementarias. Luego este proceso se repite varias veces y se obtiene gran cantidad de moléculas de ADN de interés.

SEPARACIÓN DE FRAGMENTOS DE ADN:

ELECTROFORESIS EN GEL

Muchos procedimientos que evalúan las moléculas de ADN utilizan electroforesis en gel. Esta técnica usa un gel como tamiz molecular para separar los ácidos nucleicos o las proteínas en función de su tamaño, su carga eléctrica y otras propiedades físicas. Como las moléculas de ácidos nucleicos poseen cargas negativas en sus grupos fosfato, en un campo eléctrico viajan hacia el polo positivo. A medida que se mueven, la mayor parte de las fibras poliméricas obstruyen el paso de las moléculas más largas en mayor medida que el de las moléculas más cortas, de esta manera las separa de acuerdo con su longitud. Por tanto, la electroforesis en el gel separa una mezcla de moléculas de ADN lineal en bandas, cada una formada por moléculas de ADN de la misma longitud.

En el análisis de fragmentos de restricción, los fragmentos de DNA obtenidos después de la digestión de una molécula de DNA con enzimas de restricción, se separan mediante electroforesis en gel. Cuando la mezcla de fragmentos de restricción que proviene de una molécula de DNA específica se somete a electroforesis, se obtiene un patrón de bandas característico de la molécula original y de la enzima de restricción utilizada. Como el ADN se puede extraer del gel en forma íntegra, el procedimiento también proporciona una forma de preparar muestras puras de fragmentos individuales. El análisis de fragmentos de restricción también es útil para comparar dos moléculas de DNA diferentes; por ejemplo, dos alelos de un gen. Una enzima de restricción reconoce una secuencia específica de nucleótidos y un cambio en un solo par de bases impide que se corte en un sitio específico. Por tanto, si se presentan diferencias en los nucleótidos entre los alelos dentro de una secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción, la digestión con esa enzima permite obtener una mezcla de fragmentos de cada alelo. De esta manera, cada mezcla proporciona su propio patrón de bandas en la electroforesis en gel. Por ejemplo, la anemia falciforme se debe a una mutación en un solo nucleótido dentro de una secuencia de restricción en el gen de la β globina.

INGENIERÍA GENÉTICA

La posibilidad de clonar genes individuales para el análisis marcó el comienzo de una era de progreso sin precedentes en la investigación. A la vez, este desarrollo fue acompañado de grandes anuncios de los posibles avances médicos y otras aplicaciones. La capacidad para diseñar genéticamente cualquier tipo de célula u organismo es un largo camino por recorrer. Pero nos estamos acercando a esta posibilidad, lo que ha generado entre los científicos mucho entusiasmo y controversia. → Vectores de expresión y formación de productos génicos. Unas variedades de vectores especializados se han construido desde el desarrollo de la tecnología de clonación. Un tipo muy importante de vector, es el de expresión. Estos vectores contienen las secuencias necesarias para dirigir la expresión de ADN insertado en un tipo celular específico, es decir, las secuencias correctas para permitir la transcripción y traducción del gen. La producción de proteínas recombinantes en bacterias, por ejemplo, utiliza vectores de expresión con promotores bacterianos y otras regiones de control. Las bacterias transformadas por dichos vectores sintetizan grandes cantidades de la proteína codificada por el ADN insertado. Productos farmacéuticos se han producido de esta manera, la primera de las cuales era la insulina, que se utiliza para tratar la diabetes. → Organismos transgénicos La capacidad de introducir los genes en una célula huésped, o para introducir genes de la misma célula, es un tema del cual se encarga la ingeniería genética. Un animal que contiene un gen que se ha introducido sin el uso de la reproducción convencional se llama un animal transgénico. Una de las formas de obtener un animal transgénico es microinyectando el gen en el núcleo de un cigoto, luego el embrión se implanta en un útero de la misma especie y se obtiene un organismo transgénico con el gen de interés, por ejemplo, capaz de producir una proteína humana.

En plantas, uno de los métodos más utilizados es introducir genes, en el tejido meristemático (embrionario), capaz de originar una planta completa, a través del plásmido Ti recombinante como vector. Se introduce el gen de interés en el plásmido Ti y se introduce en bacterias *Agrobacterium tumefaciens* (Figura 8), con las cuales se infectan las células meristemáticas. Estas células infectadas formarán un callo, que posteriormente se incubará con hormonas vegetales, para producir una planta transgénica completa, con el gen de interés, como por ejemplo el gen de la luciferasa.

Organismos Knockout

Una de las tecnologías más importantes para fines de investigación es la mutagénesis in vitro, que consiste en la capacidad de crear mutaciones en cualquier sitio en un gen clonado para examinar su efecto sobre la función. Un objetivo es reemplazar un gen normal o silvestre por una copia mutante, para probar la función del gen mutado. Desarrollado por primera vez en la levadura, esta técnica se ha extendido ahora al ratón. Algunos ratones tienen genes que han sido deliberadamente "apagados". Estos ratones, llamados ratones knockout de genes, se producen por mutagénesis que genera una pérdida de la función de un gen. Los ratones knockout son muy útiles para estudiar la función de genes y enfermedades genéticas, ya que, un investigador puede observar los cambios específicos en la expresión de genes y rasgos. Por ejemplo, los científicos están usando un ratón knockout de genes para estudiar la obesidad, como se puede ver en la figura N°8. El ratón knockout (a la izquierda) no tiene un gen funcional de una proteína llamada leptina, que ayuda a controlar la ingesta de alimentos. Los investigadores están usando este tipo de ratón para estudiar la obesidad.