



Los elementos “transponibles”: pasado, presente y futuro

Hacia mitad del siglo XX, un descubrimiento fuertemente resistido por la comunidad científica del momento, revolucionó la visión que se tenía del genoma como un ente estático. Por aquel entonces, la investigadora Barbara McClintock, trabajando con plantas de maíz, descubrió que existían porciones de ADN que podían movilizarse dentro de un mismo cromosoma, o incluso entre distintos cromosomas. Estos elementos genéticos recibieron muchos nombres, entre ellos “elementos controladores”, “genes saltarines” y “transposones”. Desde su descubrimiento, se describió su presencia en muchos organismos, incluyendo las bacterias *Escherichia coli*, el maíz, las levaduras y las moscas *Drosophila*. Como consecuencia de la secuenciación de los genomas, hoy se sabe que los elementos transponibles existen en prácticamente todos los organismos estudiados, incluyendo a los seres humanos. Y también se han estudiado mecanismos moleculares presentes en plantas y animales que regulan su actividad.

La historia de un descubrimiento clave

Barbara McClintock comenzó su carrera científica en la Universidad de Cornell, convirtiéndose en una pionera en el campo de la citogenética (la genética de las células), disciplina que nació alrededor de los años 1930s. Gracias a las innovadoras técnicas en citogenética que ella misma desarrolló, logró en el año 1931 obtener las primeras evidencias experimentales de una idea sugerida por Thomas H. Morgan 20 años antes: que los genes estaban físicamente posicionados en los cromosomas. Así fue posible describir los fenómenos de *crossing-over* o recombinación genética (ver Cuaderno n°41).

El modelo experimental (ver Cuaderno n°50) elegido por B. McClintock fue la planta de maíz. Esta planta presenta características particularmente deseables para los estudios genéticos. Entre ellos, dado que cada grano de maíz en una mazorca contiene un embrión, producto de una fertilización individual, cientos de descendientes pueden ser analizados en una sola mazorca. Durante los años 1940s, la investigadora estudiaba mazorcas de maíz coloreado, analizando la ruptura de sus 10 cromosomas (denominados con números del 1 al 10). Durante la vida de un organismo, la ruptura cromosómica ocurre con muy baja frecuencia y en ubicaciones al azar. Sin embargo, McClintock observó que, en una variedad determinada de maíz, el cromosoma 9 se rompía frecuentemente y en un sitio particular. Además,

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.

descubrió que esta ruptura característica era debida a la presencia de dos factores genéticos: uno, denominado *Ds* (por Disociación) se ubicaba en el lugar de la ruptura; el otro, llamado *Ac* (por activador), era necesario para activar la ruptura del cromosoma 9 en el *locus Ds* (Cuaderno n°69).

Cuando McClintock trataba de determinar en qué cromosoma y en qué región específica dentro del mismo se hallaba *Ac*, observaba que la localización cambiaba entre plantas que deberían ser idénticas entre sí (ver Técnicas de “mapeo” de genes en el Cuaderno n°20). Además, encontraba en una misma mazorca de maíz que presentaba rupturas frecuentes en el cromosoma 9, granos con patrones de pigmentación muy distintos y originales, como por ejemplo granos moteados (figuras 1 y 2). Estos hallazgos le hicieron pensar que *Ac* y *Ds* eran elementos genéticos móviles, y que los patrones de granos moteados eran el resultado de la inestabilidad causada por el movimiento o **transposición** de *Ds* fuera del gen donde estaba inserto, en este caso un gen relacionado a la síntesis de pigmentos (figuras 1 y 2).

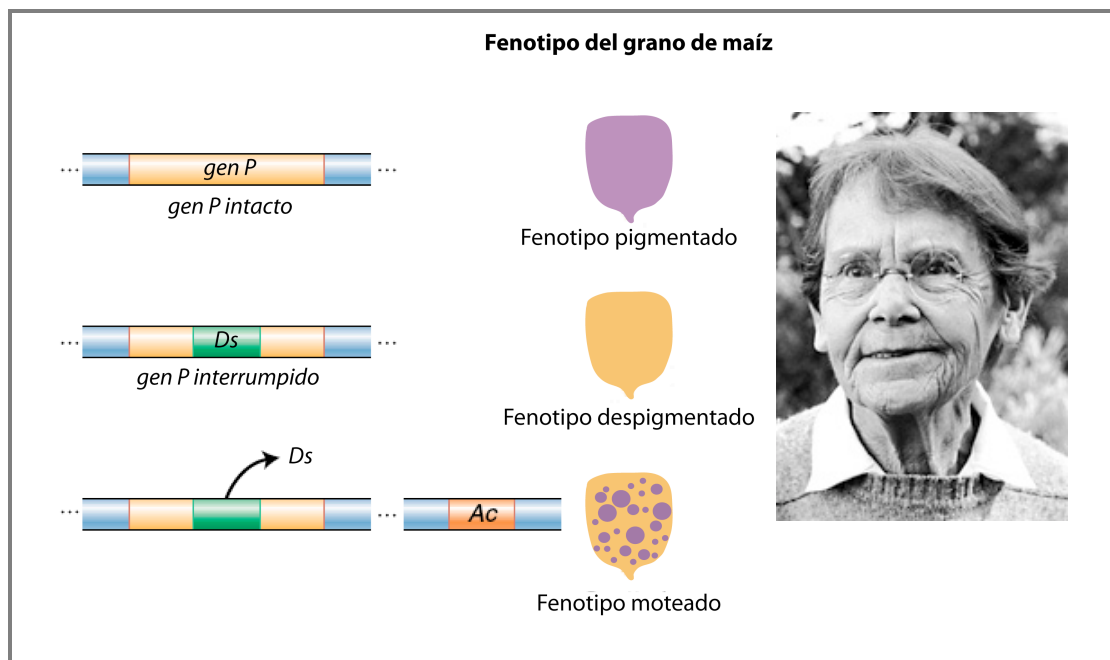


Figura 1. Los elementos transponibles de maíz que estudiaba B. McClintock. En el esquema, se resume el modo de acción de los elementos transponibles *Ac* y *Ds*, y su efecto en el patrón de pigmentación del grano de maíz. *P* es el gen responsable de la síntesis del pigmento púrpura en este ejemplo. Cuando *P* está intacto, los granos tienen color púrpura. Cuando *P* está interrumpido por *Ds*, los granos pierden la pigmentación. Cuando el elemento *Ac* está presente, provoca el “salto” o movilización del elemento *Ds* en algunas células, pero no en otras; al dejar de interrumpir al gen *P*, esas células (y las células que se originen a partir de ellas)

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.

pueden ahora producir el pigmento púrpura, y el grano de maíz obtiene un aspecto moteado. A la izquierda, una fotografía de Bárbara McClintick (tomada de www.nobelprize.org). Adaptado de Griffith y col., (2008)

A partir de estos experimentos se descubrieron muchos sistemas de elementos transponibles compuestos por elementos del tipo *Ds* y *Ac*, no solo en maíz sino también en otros organismos (figura 2). Al comportarse de manera similar, se establecieron dos categorías para clasificar estos elementos móviles en distintos sistemas: a los elementos similares a *Ac* se los denominó “*elementos autónomos*” porque no requieren de otros elementos para movilizarse. En cambio, a los elementos similares a *Ds* se los denominó “*elementos no autónomos*”. Los elementos autónomos poseen la información requerida para su propia movilización, y para la movilización de los elementos no autónomos relacionados. Estos últimos no pueden movilizarse por sí solos.

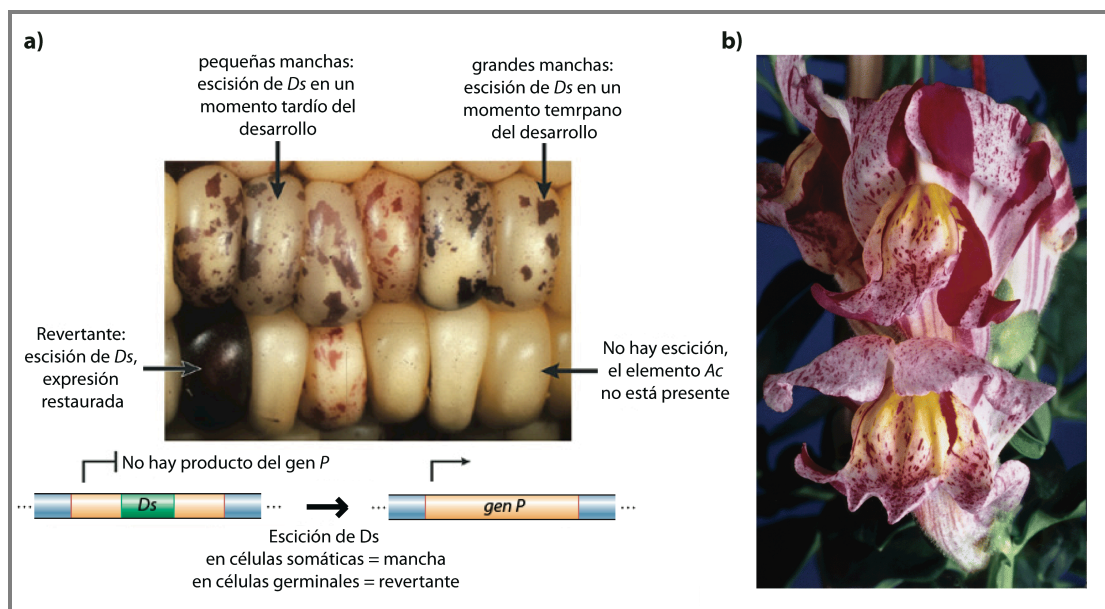


Figura 2. La activación de los elementos transponibles puede generar fenotipos de mosaico. Las manchas en los granos de maíz (a), o en los pétalos de la flor de *Antirrhinum* (“boca de dragón”), son producto de la actividad de elementos transponibles que afectan a genes responsables de la síntesis de pigmentos en ambos casos. Mientras más temprano el elemento transponible se escinde del gen afectado, más grandes es el parche de tejido con actividad de síntesis de pigmentos restaurada. a) Adaptado de Feschotte y col., 2002; b) imagen tomada de Becker y col., 2005.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Los elementos transponibles pueden inactivar al gen en el cual residen, causar rupturas en los cromosomas, y/o transponerse a una nueva localización dentro del genoma.

Fue recién en los años 1960s cuando se descubrieron los primeros elementos transponibles en bacterias, estudiándolos a nivel molecular. Más tarde, se lograron identificar en los genomas de otros organismos, como *Drosophila* y las levaduras. Fue entonces cuando se reconoció la importancia que los elementos transponibles tienen como componente importante en los genomas de muchos, sino todos, los organismos. Barbara McClintock recibió el Premio Nobel en Medicina o Fisiología (año 1983).

¿Cómo son los elementos transponibles en procariontas?

Las bases moleculares del funcionamiento de los elementos transponibles fueron comprendidas por primera vez estudiando estos elementos en bacterias. Estos microorganismos poseen unas secuencias de ADN denominadas “**elementos de inserción (IS)**”, que pueden movilizarse en el cromosoma bacteriano. Al hacerlo, es posible que interrumpen un gen, inactivando su expresión. Más aún, dado que a veces estos elementos IS poseen secuencias de terminación de la transcripción y/o traducción, pueden afectar la expresión de varios genes si se introducen en un operón (consultar Glosario, <http://argenbio.org/index.php?action=glosario&car=0>). Todos los elementos IS comienzan y terminan con unas secuencias de ADN cortas, en orientación invertidas (**secuencias IR**), que son necesarias para su movilización.

Los microorganismos procariontas también poseen otro tipo de elemento genético móvil, denominado “**Transposón (Tn)**”. A diferencia de los elementos IS, que son pequeños y contienen sólo los elementos necesarios para movilizarse, los transposones además contienen algunos genes. En efecto, los Tn fueron descritos como elementos móviles que confieren resistencia a drogas, ya que muchos de ellos contienen genes de resistencia a antibióticos. Los transposones bacterianos se pueden clasificar en dos categorías: **transposones compuestos** y **transposones simples**. En ambos casos, los Tn están compuestos por elementos IS a ambos lados del gen de resistencia. La diferencia radica en dónde se localiza el gen de la enzima responsable de movilizar a estos elementos móviles, conocida como **transposasa**. En los transposones compuestos, la transposasa se encuentra codificada en los elementos IS, mientras que en los transposones simples, el

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



gen de la transposasa se encuentra junto con los demás genes presentes en el transposón.

Resumiendo, los elementos IS son secuencias móviles pequeñas que solamente codifican las proteínas necesarias para su movilidad. En cambio, los transposones (ya sean simples o compuestos), contienen genes adicionales que le confieren nuevas funciones a las células bacterianas.

Un transposón puede “saltar” desde un plásmido al cromosoma bacteriano, y desde un plásmido a otro plásmido. Así se generan plásmidos de resistencia múltiple a varios antibióticos, que pueden transferirse de una bacteria a la otra, generando un problema sanitario serio al no encontrarse tratamientos efectivos para tratar las infecciones causadas por dichas bacterias.

Para moverse de un lado a otro, se necesita de la enzima transposasa. Esta enzima genera cortes en el ADN donde luego se integrará el elemento transponible. Luego de la integración, es necesario que la maquinaria celular que normalmente repara daños en el ADN, repare las zonas de unión entre el elemento transponible y el ADN donde se insertó, regenerando la doble hebra. Como consecuencia de este mecanismo, se duplica una parte de la secuencia de ADN, dejando una “huella” genética que permite luego identificar al elemento insertado.

La mayoría de los elementos transponibles de procariontes, y también de eucariotes, se movilizan usando un mecanismo **replicativo** o usando un mecanismo **conservativo**. Cuando el mecanismo es replicativo, se genera una nueva copia del elemento transponible, quedando entonces una copia en el lugar original, y una nueva copia en un sitio nuevo del genoma (similar a lo que ocurre con una palabra cuando en un procesador de textos se realizan las acciones “copiar y pegar”). En cambio, cuando el mecanismo es conservativo, el elemento transponible es removido de su ubicación original, y luego integrado en un sitio nuevo del genoma (de manera similar a “cortar y pegar” en un procesador de textos).

¿Cómo son los elementos transponibles en eucariotes?

Los elementos transponibles identificados en los organismos eucariotes se pueden clasificar en dos grandes clases: elementos clase 1 y elementos clase 2. La diferencia entre ambas clases se basa en si la movilización del elemento transponible necesita de una molécula copia de ARN (clase 1), o si la

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



movilización es directa (clase 2). La movilización de los elementos de clase 2 (denominados elementos de ADN) transcurre de manera similar a lo explicado previamente para elementos transponibles de procariotas. Sin embargo, en el caso de los elementos de clase 1 (también llamados elementos de ARN o **retro-elementos**), el elemento transponible original debe primero ser transcrito a una copia de ARN. Esta molécula de ARN sirve de molde para generar una molécula de ADN, tarea llevada a cabo por una enzima denominada **transcriptasa reversa** codificada en el propio elemento transponible (de allí el nombre de retro-elemento), que podrá insertarse en un sitio nuevo del genoma. La movilización de los elementos de clase 1 también se conoce como **retro-transposición**. Los retro-elementos o retro-transposones solo están presentes en células eucariotas.

Importancia de los elementos transponibles en los organismos

Los elementos transponibles son una gran proporción del material genético de todos los organismos. Por ejemplo, son aproximadamente:

- el 10% del genoma de varias especies de peces,
- el 12% del genoma del organismo modelo *C. elegans*,
- el 37% del genoma del ratón,
- el 45% del genoma humano, y
- más del 80% del genoma de algunas plantas como el maíz.

Desde las bacterias hasta los humanos, los elementos transponibles se han ido acumulando en sus genomas a lo largo de la evolución, dándoles forma como consecuencia de su movilización.

Estos elementos transponibles pueden, de distintas maneras, impactar tanto positiva como negativamente al genoma en el que se encuentran. Por ejemplo, la movilización de un elemento transponible puede promover la inactivación de un gen, modular la expresión de un gen, o inducir eventos de recombinación ilegítima entre genes. Por ende, los elementos transponibles han jugado un rol fundamental en la evolución de los genomas.

Dado el impacto que los elementos transponibles tienen en la integridad del genoma, los organismos han desarrollado mecanismos para minimizar los efectos negativos de su presencia. Entre ellos, se puede mencionar la tendencia de algunos elementos móviles a insertarse en regiones no esenciales del genoma, o la reconversión del elemento transponible para que cumpla una función útil para el huésped. Además, el organismo huésped desarrolló mecanismos para defenderse de las tasas altas de actividad de

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



algunos elementos transponibles. Por ejemplo, reducir su expresión “apagando” la región del genoma en la cual se encuentran, por modificaciones químicas del ADN, utilizando la maquinaria del Silenciamiento génico (ver Cuaderno n°115).

Los elementos transponibles causan mutaciones en los organismos que los contienen, indicando que muchas veces los mecanismos que el huésped usa para controlarlos pueden ser contrarrestados. Pero si los organismos pudieran controlar efectivamente a los elementos móviles, se eliminaría una fuente de variabilidad genética importante para la evolución de las distintas especies. Es por ello que la evolución favoreció que se genere una situación de equilibrio en la que los elementos transponibles y los organismos que los portan pueden coexistir.

Los elementos transponibles como herramientas para la biotecnología

Los investigadores se inspiraron en el mecanismo de la transposición, y gracias al conocimiento que obtuvieron acerca de los distintos tipos de elementos transponibles y cómo funcionan, pudieron aprovecharlos para diseñar herramientas biotecnológicas.

Una aplicación es utilizar a los elementos transponibles para introducir al genoma un gen en particular, es decir, como herramienta para la transformación genética. El ADN de interés, puede colocarse entre dos secuencias IR en un plásmido (ver Glosario, <http://argenbio.org/index.php?action=glosario&car=p>), y el gen de la transposasa puede suplementarse en otro plásmido. Cuando la transposasa se exprese, reconocerá las secuencias IR y escindirá el fragmento de ADN contenido entre ellas, para luego insertarlo en el genoma, transformándolo. Esta estrategia puede aplicarse a la generación de organismos transgénicos, en un esquema de terapia génica, o para realizar genómica funcional (es decir, identificar genes y sus funciones). Los elementos transponibles han sido utilizados con éxito en plantas y animales invertebrados principalmente; más recientemente, esta metodología se ha perfeccionado para ser utilizada en animales vertebrados.

Como se mencionó previamente, los elementos transponibles pueden ser modificados para su utilización en el campo de la genómica funcional. La inserción en el genoma del elemento transponible modificado es una manera de generar mutagénesis dado que, en general, la función del gen en el cual

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



ocurre la inserción se ve alterada o inhibida. Además, como la secuencia de ADN incorporada en el elemento transponible es conocida, se puede rastrear por distintas técnicas moleculares dónde se insertó el elemento transponible. Un ejemplo que ilustra la importancia de esta aplicación es la generación de colecciones de plantas mutantes, en particular de la especie modelo *Arabidopsis thaliana*. La colección incluye miles de plantas en las cuáles el elemento transponible se insertó al azar interrumpiendo un gen; distinto en cada planta. Actualmente, cuando un investigador desea conocer la función de un gen particular, puede solicitar al banco correspondiente las semillas de plantas en las cuáles su gen de interés esté interrumpido. El elemento transponible modificado puede también contener secuencias regulatorias de la transcripción (promotores, *enhancers*, etc.) muy fuertes, que al integrarse al genoma permitan mayores niveles de expresión de genes cercanos. Este es otro ejemplo de mutagénesis utilizando elementos transponibles, pero a diferencia del ejemplo anterior en el cuál se observaba la pérdida de la función debida a la mutación, en este ejemplo la mutación resulta en ganancia de una función.

El criterio básico para evaluar la aplicabilidad de un transposón en un sistema dado dependerá de:

- i) que el elemento transponible sea movilizable eficientemente en el organismo de interés,
- ii) que se conozca cómo y dónde es la inserción de los elementos transponibles. Si bien aún se requiere realizar más trabajos de investigación que permitan comprender con mayor detalle los mecanismos responsables de la transposición, la aplicabilidad de este sistema es indudable.

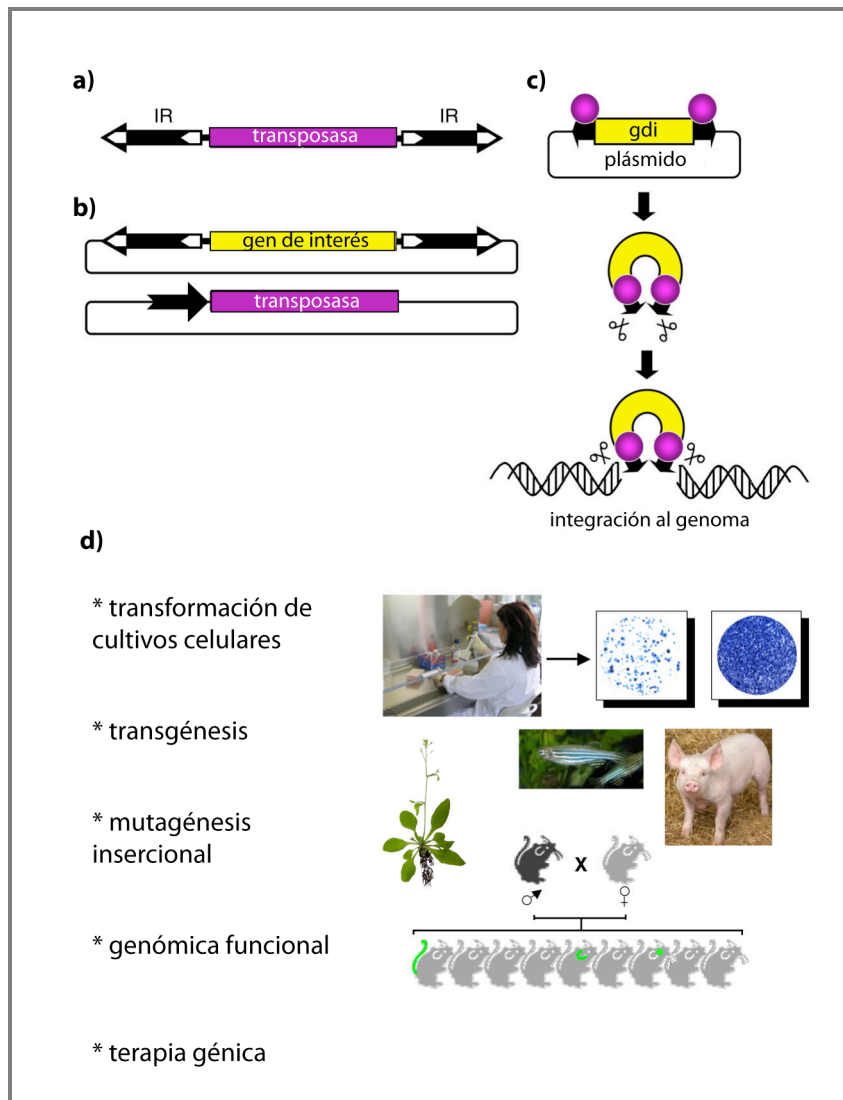


Figura 3. Los elementos transponibles y sus aplicaciones. a) se muestra el esquema básico de un elemento transponible, con el gen de la transposasa y las regiones IR. b) Utilizando la estructura básica de un elemento transponible, el gen de la transposasa puede reemplazarse con un gen de interés (gdi), todos estos elementos incluidos en un plásmido; el gen de la transposasa se coloca en otro plásmido con un promotor apropiado. c) Con ambos plásmidos del punto b), se pueden transformar células de distinto tipo; una vez que la transposasa se expresa, puede escindir al gen de interés e integrarlo al genoma. d) Algunas aplicaciones biotecnológicas basadas en los elementos transponibles. Imágenes adaptadas de Ivics y Izsvák, 2010.



Consideraciones Metodológicas

El contenido de este Cuaderno podría aplicarse en niveles educativos diferentes o con diferente profundidad, ya que se trata de un contenido complejo si se ahonda en detalles, pero es posible abordarlo con menor profundidad y aplicarlo en el estudio de conceptos más básicos de la biología, que se mencionarán más adelante.

En primer lugar, es un contenido que por su especificidad y complejidad se adapta para enseñarlo en niveles educativos avanzados, en los cuales los contenidos de genética constituyen una base sólida sobre la cual seguir profundizando. En este caso, se pueden abordar los detalles que aporta el Cuaderno para enseñar específicamente acerca de elementos transponibles.

En el caso de niveles educativos inferiores, o no especializados, se pueden abordar los mismos conceptos pero de manera general, vinculados con temas de genética, evolución y biodiversidad, sin los detalles específicos que incluye este Cuaderno.

En ambos casos, existen conceptos y contenidos que están involucrados en este Cuaderno sobre los cuales es posible trabajar con los alumnos, con menor o mayor detalle:

- Relación entre ADN, cromosoma, gen y característica. Cada uno de estos conceptos es diferente, pero todos se relacionan, y esta relación debería estar clara en este nivel de enseñanza. Se sugiere ver el Cuaderno n° 3 y 32 para repasar algunos de estos contenidos. También la estructura del material genético es diferente entre organismos eucariotas y procariotas (estructura lineal o circular).
- Mutaciones: cambios casuales en el ADN que promueven posibles cambios en las características, y los diferentes métodos naturales e inducidos de que se produzcan mutaciones.
- Movilidad de los componentes celulares. No sólo en referencia a los fragmentos transponibles del ADN, sino también la dinámica en la célula, la fluidez de las membranas celulares, la estructura tridimensional de las células, el acoplamiento de moléculas (por ejemplo, antígeno – anticuerpo, enzima – sustrato, hormona – receptor, etc.). Todos estos ejemplos puede desestimar la idea que existe habitualmente de la célula y de sus componentes como algo estático, sin movimiento.
- Relación entre la transposición de fragmentos en la célula y la variabilidad genética que hace posible la selección y la evolución. Esto se relaciona también con el concepto de mutación mencionado previamente.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- La biodiversidad y las posibilidades que ofrece la biotecnología de transferir caracteres de un organismo a otro que no los posee, y las ventajas que esto representa. A su vez esto se relaciona con el concepto de *código genético universal* que posibilita que un gen de un organismo se pueda expresar en otro organismo de una especie diferente.

AIVIDADES

Actividad 1.

Completar el siguiente anagrama

- 1) - - - - - T - - - -
- 2) R - - - - -
- 3) - A - - -
- 4) - - - - - N - - -
- 5) - - S - - - -
- 6) - - - - P - - - -
- 7) - O - - - -
- 8) - - - - S - - -
- 9) - - - - - Ó - - - -
- 10) - - N - - - - -

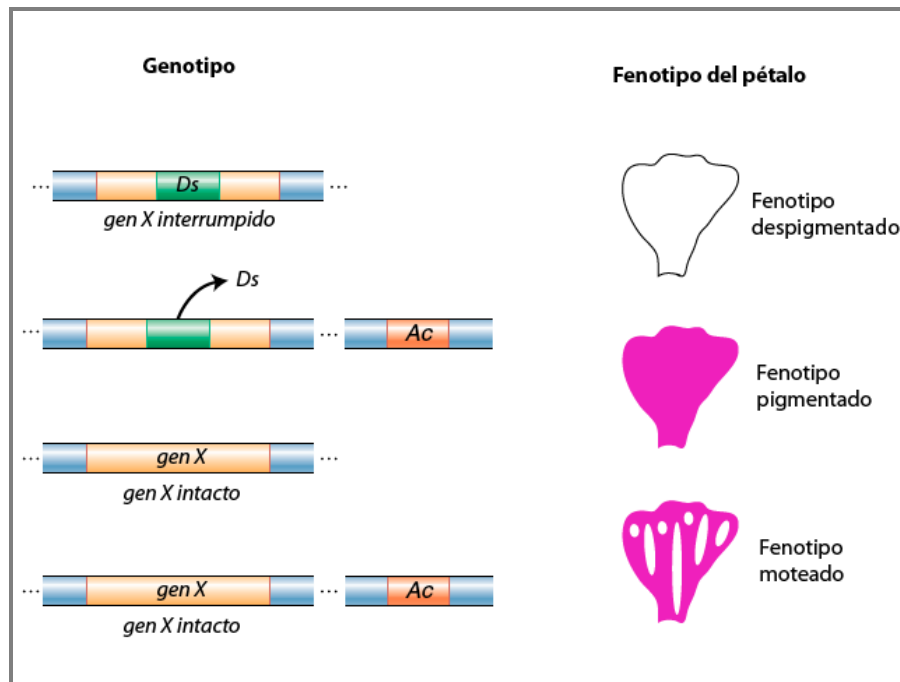
- 1) Apellido de la investigadora que describió por primera vez a los elementos transponibles
- 2) Mecanismo de movilización de elementos transponibles en el cual se genera una nueva copia del mismo.
- 3) Organismo modelo cuyo estudio permitió el descubrimiento de los elementos transponibles
- 4) Elemento transponible que, para moverse, debe ser primero transcrito a una copia de ARN
- 5) Fenotipo resultante de la actividad de transposición, como el observado en los granos de maíz de la figura 2.
- 6) Enzima responsable de la movilización de elementos transponibles
- 7) Premio que la investigadora responsable recibió en 1983 por el descubrimiento de los elementos transponibles.
- 8) Una de las aplicaciones derivadas de los elementos transponibles
- 9) Nombre que recibe el movimiento de los elementos transponibles

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.

- 10) Mecanismo de movilización de elementos transponibles en el cual el elemento es removido de su ubicación original.

Actividad 2

El gen X codifica para una enzima que degrada al pigmento rosa. Relacionar la condición genética (izquierda) con el fenotipo observado en el pétalo (derecha).



- a) ¿A qué se debe el tamaño diferente de las manchas blancas (despigmentación) en el pétalo moteado?
b) ¿Cómo podría ser utilizado este fenotipo en estudios del desarrollo?

Actividad 3

Leer el siguiente texto, y responder las preguntas incluidas a continuación.

(Texto adaptado del artículo en español "Genómica Funcional de Plantas: Estudio del Desarrollo de Flores y Frutos", Martínez y col., 2009. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/416/41613013003.pdf>)

"En diferentes organismos, las mutantes han sido cruciales para descubrir y estudiar funciones génicas. Dichas mutantes pueden encontrarse naturalmente o ser generadas en el laboratorio.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Para *Arabidopsis* se han generado poblaciones de mutantes mediante varias técnicas de mutagénesis como son: empleando compuestos químicos, radiación o por la inserción aleatoria de fragmentos de ADN como los transposones o T-DNA (ADN "transferido"). El uso de agentes insercionales como T-DNA o transposones permite la identificación del gen mutado de manera relativamente sencilla. La mutagénesis con T-DNA se basa en la inserción de un fragmento de ADN por medio de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que infecta naturalmente a la planta. Generalmente se trata de un fragmento codificado en un plásmido especial que ha sido modificado para fines de ingeniería genética (ver El Cuaderno n°18). *Agrobacterium* inserta al T-DNA de manera casi aleatoria en el genoma de la planta y al insertarse dentro de las regiones codificantes o regulatorias de un gen, ocasiona su interrupción o alteraciones en su regulación que pueden dar lugar a la pérdida de su función. Esta estrategia es conocida como mutagénesis no dirigida y existen grandes proyectos cuyo objetivo es crear mutantes para los genes en *Arabidopsis* y otras especies con el fin de encontrar una función para cada gen.

Por otro lado, los transposones también son fragmentos de ADN, codificados en el genoma de diferentes organismos, y poseen la capacidad de moverse a diferentes posiciones del genoma (fenómeno denominado "transposición") de modo relativamente aleatorio, pudiendo provocar la interrupción de genes o sus regiones regulatorias. La mutagénesis con transposones se realiza haciendo uso de transposones ya presentes en el genoma del organismo en estudio ("endógenos") o transposones provenientes de otros organismos ("heterólogos"), por ejemplo, otras plantas como maíz, en el caso de *Arabidopsis thaliana*. El uso de estos últimos facilita su localización en el genoma (Martienssen, 1998). Para introducirlos en la planta de interés se utiliza al T- DNA como un "acarreador".

Cuando se cuenta con la población de mutantes, para identificar la función de un gen se pueden emplear dos estrategias genéticas: La genética directa (Forward Genetics) y la genética reversa (Reverse Genetics). En el método de genética directa se identifican y seleccionan individuos de una población mutante que posean fenotipos interesantes tales como: Flores de *Arabidopsis* sin pétalos, frutos sin semilla, hojas con morfología alterada, etc. Una vez seleccionados, se procede a identificar el gen afectado en dichos individuos. La genética reversa, por el otro lado, parte de un gen o familia de genes para los que se estudian los efectos de su alteración, ya sea en la secuencia codificante o en el nivel y patrón de expresión. Las alteraciones en un gen, encontrado por genética directa o estudiado por genética reversa, pueden deberse a mutaciones de pérdida de función o mutaciones de ganancia de función.

Una estrategia para producir mutaciones de ganancia de función debida a incremento en la expresión de genes, es el uso de agentes insercionales modificados (T-DNA o transposones) en los cuales se introducen amplificadores de la expresión génica ("enhancers") que pueden causar activación transcripcional de genes cercanos."

Responder:

- a) ¿Por qué *Arabidopsis* es considerada una especie modelo para las investigaciones científicas? (se recomienda leer El Cuaderno n° 50)
- b) ¿Cuál es la utilidad de realizar estos estudios genómicos mediante mutagénesis en *Arabidopsis*?

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- c) Comparar los métodos de mutagénesis por inserción de T-DNA y por transposones en cuanto a: i) fuente del ADN a integrarse (T-DNA ó transposones), ii) sitios de integración en el genoma, iii) alcance de la metodología en cuanto a cantidad de organismos a los que puede aplicarse

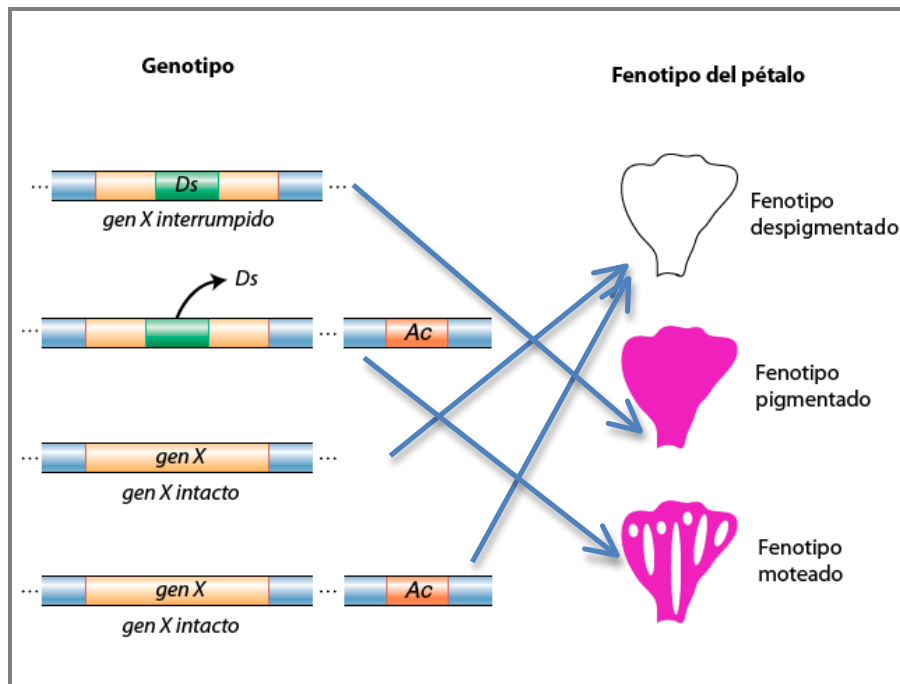
Respuestas:

Actividad 1

- 1) MCCLINTOCK
- 2) REPLICATIVO
- 3) MAIZ
- 4) RETROELEMENTO
- 5) MOSAICO
- 6) TRANSPOSASA
- 7) NOBEL
- 8) MUTAGÉNESIS
- 9) TRANSPOSICIÓN
- 10) CONSERVATIVO

Actividad 2

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- El tamaño de las manchas por despigmentación se debe al cuán pronto ocurrió la movilización del elemento Ds respecto al desarrollo del pétalo. Cuánto más temprano, más grande el tamaño de la mancha.
- Este tipo de fenotipos ha sido de gran utilidad para los científicos que estudian el desarrollo en plantas, ya que les permite distinguir cómo son las divisiones celulares en cuanto a frecuencia y dirección.

Actividad 3

- Arabidopsis es considerada una especie modelo porque, entre otras características deseables, tiene un ciclo de vida corto, requiere poco espacio para crecer, es fácilmente transformable por *Agrobacterium*, su genoma es de un tamaño relativamente pequeño y está completamente secuenciado.
- Dado que el genoma está secuenciado, una vez encontradas las plantas mutantes con un fenotipo interesante, se puede saber qué genes están interrumpidos por técnicas de biología molecular como PCR.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- c) i) fuente del ADN a integrarse (T-DNA ó transposones): el T-DNA se obtiene de *Agrobacterium* o se sintetiza; los transposones pueden ser de la misma planta o de otras plantas.
- ii) sitios de integración en el genoma: en ambos casos, se considera que es aleatoria, es decir, que podría integrarse en cualquier parte del genoma en principio.
- iii) alcance de la metodología en cuanto a cantidad de organismos a los que puede aplicarse: El T-DNA se usa para realizar mutagénesis en plantas y hongos, mientras que los transposones podrían usarse en muchos más organismos (animales, bacterias, plantas, hongos, etc.)

Material de Consulta

- ¿Cómo está organizado el ADN? Educ.ar El portal educativo del Estado argentino. http://aportes.educ.ar/biologia/nucleo-teorico/estado-del-arte/una-gran-biblioteca-cromosomas-y-genes/como_esta_organizado_el_adn_cr.php
- Medicina molecular. Aplicaciones de los transposones <http://www.medmol.es/revisiones/60/>
- ADN móvil y Evolución. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. <http://www.revistacontextos.es/PDF/05.pdf>
- Marsch Martínez, Nayelli; Zúñiga Mayo, Víctor Manuel; Reyes Olalde, José Irepan; Salazar Moya, Octavio Rubén; Folter, Stefan de. "Genómica Funcional de Plantas: Estudio del Desarrollo de Flores y Frutos" (2009) Acta Universitaria, Vol. 19, Núm. 1, enero-abril, pp. 21-29. Universidad de Guanajuato México
- Griffiths, A.J.F., S. R. Wessler, R.C. Lewontin y S. B. Carroll. "Genética." (2008) McGraw-Hill Interamericana. Novena edición.
- Sitio web Nobel Prize. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1983/mcclintock-autobio.html
- Feschotte, C., y col. "Plant transposable elements: Where genetics meets genomics", (2002), Nature Reviews Genetics 3, 339-341 (2002). Artículo en inglés

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- Pray, L. y Zhaurova, K. "Barbara McClintock and the discovery of jumping genes (transposons)." (2008), Nature Education 1(1). Artículo en inglés.
- Becker, Heinz-Albert, y Lönnig, Wolf-Ekkehard. "Transposons: Eukaryotic" (2005). eLS, John Wiley & Sons Ltd, Chichester. Artículo en inglés.
- Zoltán Ivics y Zsuzsanna Izsvák. "The expanding universe of transposon technologies for gene and cell engineering" (2010), Mobile DNA 2010, 1:25. Disponible en <http://www.mobilednajournal.com/content/1/1/25>. Artículo en Inglés.
- Martín Muñoz-López y José L. García-Pérez. "DNA Transposons: Nature and Applications in Genomics".(2010), Current Genomics, 11: 115-128. Artículo en inglés.