



Introducción a técnicas de biología molecular y de ingeniería genética

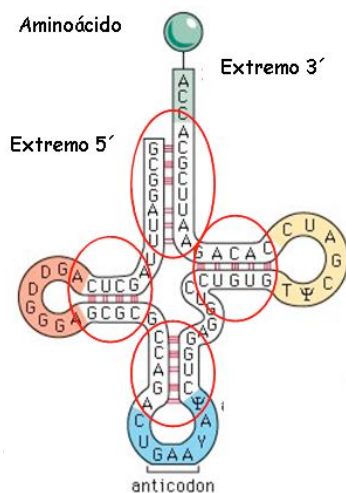
Las técnicas de la biotecnología moderna

Uno de los objetivos principales de la biotecnología moderna es lograr que una célula realice una tarea específica y útil de manera predecible y controlable. Por ejemplo, que las células de la planta de maíz produzcan una nueva proteína que sea capaz de eliminar a insectos que se alimentan de ella, es decir una proteína insecticida. Esto sería útil ya que permitiría reducir el uso de insecticidas químicos y aumentaría la productividad para el agricultor. En la actualidad, la biotecnología moderna permite lograr este tipo de maíz. De hecho, está autorizado en la Argentina y se lo denomina maíz Bt (ver Cuaderno N°43 y 44). Es un maíz transgénico que ofrece una solución efectiva contra el barrenador del tallo, un insecto que constituye la principal plaga de los cultivos de maíz en la Argentina. ¿Cómo se obtiene un organismo transgénico? ¿Cuáles son las técnicas que se emplean para lograrlo?

Los científicos que trabajan en el desarrollo de productos biotecnológicos emplean técnicas específicas. La mayoría de estas técnicas permiten estudiar biomoléculas, en particular ADN, ARN y proteínas, y se las denomina técnicas de biología molecular. Por otra parte, se denomina ingeniería genética a las técnicas que se usan específicamente para transferir genes de un organismo a otro y construir fragmentos de ADN recombinante (combina ADN de diferentes organismos). Así, es posible no sólo obtener las proteínas recombinantes de interés sino también mejorar cultivos y animales.

Principios de las técnicas de trabajo con ácidos nucleicos

Las técnicas de biología molecular y de ingeniería genética se basan en una característica particular que tienen los ácidos nucleicos: las bases A (adenina), T (timina), C (citosina) y G (guanina) que forman parte de las moléculas de ADN y de ARN tienen la capacidad de hibridar con bases complementarias. Es decir, las bases al enfrentarse pueden formar enlaces entre sí siguiendo siempre la siguiente regla: A se une con T y C se une con G.



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



El Cuaderno de Por Qué Biotecnología

EDICIÓN N° 67 - 2005

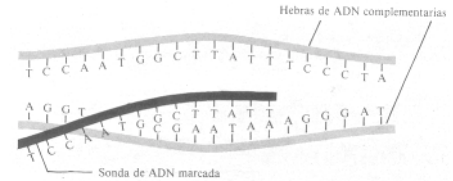
Estructura de una molécula de ARN de transferencia (ARNt) con regiones de bases complementarias (en círculos rojos). La molécula de ARN, si bien mayormente es una única hebra, tiene la posibilidad de aparearse con otra, e incluso de plegarse y formar regiones complementarias dentro de la misma molécula.

"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.



Así, si un investigador busca estudiar un gen de interés, basta con conocer al menos una parte de su secuencia, para poder construir una porción complementaria que permita “pescar” de algún modo a ese gen de interés. Esa porción pequeña de ácido nucleico se denomina “sonda” y al sintetizarla en el laboratorio se le suele poner alguna marca que permita visualizarla luego fácilmente (por ejemplo, fluorescencia), como se representa en la siguiente imagen.

Sonda de ADN marcada que hibrida con una secuencia de ADN complementaria. Fuente: “Las sondas de ácidos nucleicos” por Rodolfo Wettstein en Ciencia Hoy, Volumen 4 -N° 20- Setiembre /octubre 1992



Otro principio subyacente en las técnicas de biología molecular es que el ADN, debido a su estructura química y molecular, es mucho más estable que el ARN, por lo cual la mayoría de las técnicas más fácilmente manipulables son con ADN.

Por último, otro principio de las técnicas es que se usa lo que natura dio. Es decir que las enzimas que se usan para cortar y pegar fragmentos de ADN, o para sintetizar fragmentos de ADN, provienen de organismos. Estas enzimas se mejoran para que trabajen eficientemente en las condiciones de laboratorio.

Etapas en la obtención de un organismo transgénico

La obtención de un transgénico implica la participación de un organismo que dona el gen de interés y un organismo receptor del gen que expresará la nueva característica deseada. Para el caso particular de la producción de una variedad de maíz que resista el ataque de insectos, el organismo dador es la bacteria del suelo denominada *Bacillus thuringiensis* (Bt) de la cual se extrae el gen que determina la síntesis de la proteína insecticida, y el organismo receptor del gen es la planta de maíz.

Las etapas del trabajo son básicamente cinco:

1. Corroborar que existe un gen que codifica para la característica de interés.
2. Clonar el gen de interés.
3. Modificar el gen para que funcione mejor en el organismo receptor.
4. Transferir el gen al organismo receptor.
5. Caracterizar el organismo receptor transformado.

A continuación se detalla cada una de estas etapas y las técnicas que involucran.

1) Corroborar que existe un gen que codifica para la característica de interés

"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.

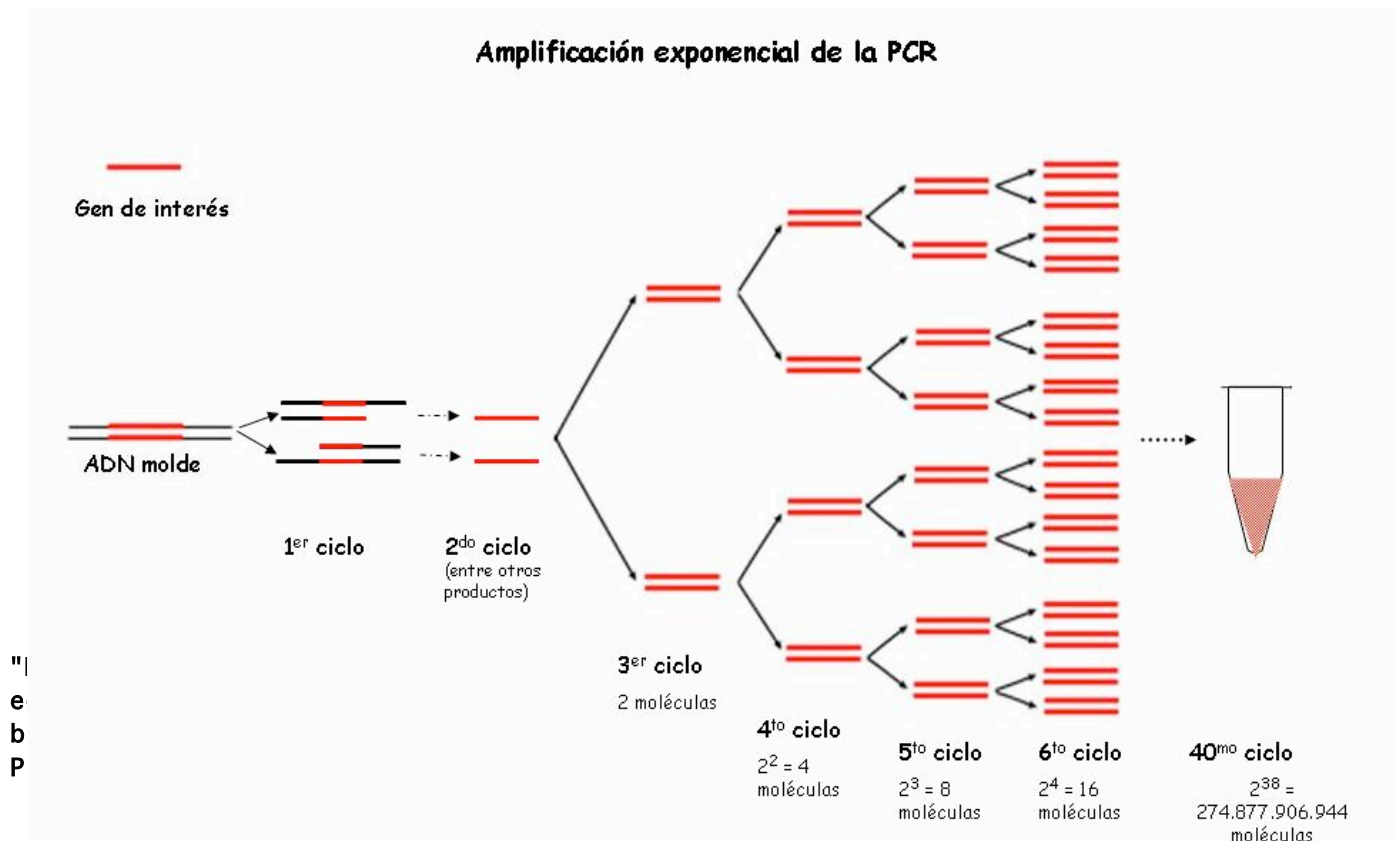


Cuando se encuentra una característica en un organismo que resulta interesante para transferir a otro organismo debe verificarse que es producto de un gen. Para verificar que la característica de interés está codificada en el ADN y que no es resultado de la interacción con el medioambiente, se aplican técnicas de genética (ver Cuadernos N° 40 y 41). Si la característica se atribuye a una proteína, que es producto directo de un gen, será más sencillo transferir esa característica a un organismo que no la tiene.

2) Clonado del gen

Una vez que se determinó que el organismo donante posee un gen que codifica para la característica de interés, los biólogos moleculares se lanzan a la tarea de conseguir ese gen, es decir: “clonar” el gen. Clonar un gen significa tenerlo puro en el tubo de ensayos, o mejor aún, dentro de un vector (una molécula mayor de ADN que permite guardar fragmentos de ADN en forma estable y práctica por más tiempo). La tarea de clonar involucra varias técnicas que se describen a continuación:

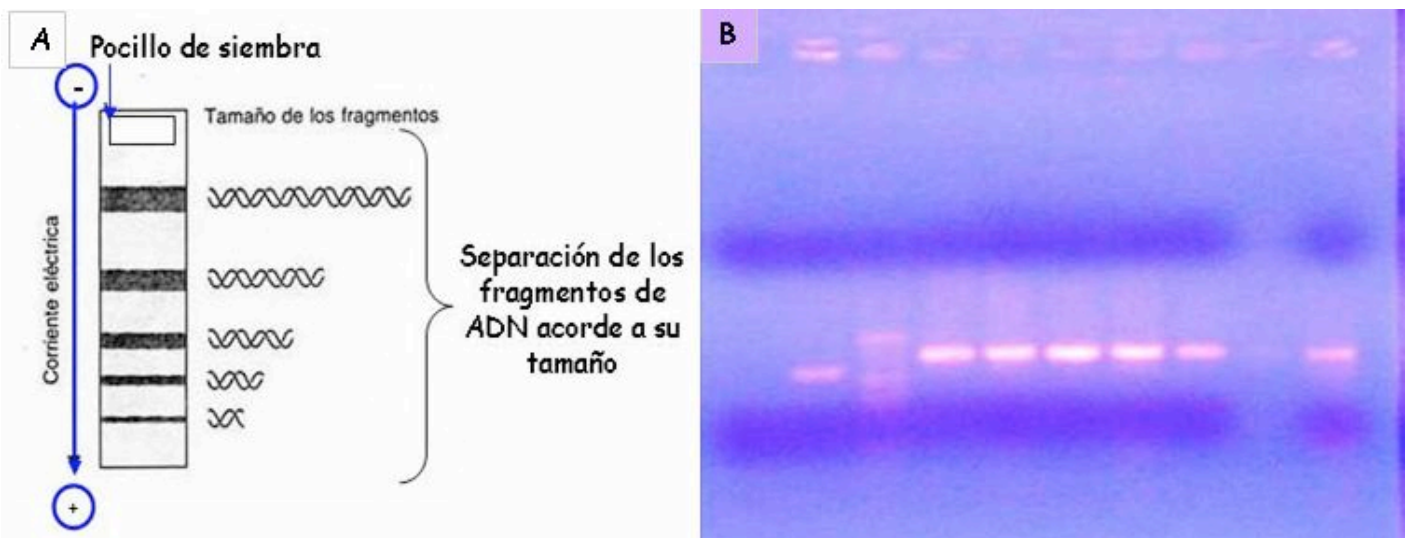
- i) Extracción de ADN. Las extracciones de ADN de todos los organismos guardan cierta similitud y consisten en romper las células para liberar su contenido y separar el ADN liberado del resto de los componentes celulares.
- ii) Búsqueda de un gen entre la mezcla de genes del ADN. Si se conoce una pequeña porción de la secuencia del gen que se está buscando, es posible construir una sonda que permita “pescar” el fragmento de ADN que contiene esa misma secuencia. Una vez aislado ese fragmento se lo estudia más detalladamente. La técnica de PCR (siglas en inglés de Reacción en Cadena de la Polimerasa) permite amplificar la cantidad de ADN y esto facilita el clonado del gen de interés. La técnica de PCR se representa en la siguiente ilustración:





Explicación de la imagen: la técnica de PCR permite obtener, a partir de una sola molécula de ADN, millones de copias de un fragmento de ADN particular. La base de esta técnica consiste en que la enzima polimerasa de ADN cumpla su función: sintetizar ADN a partir de un pequeño fragmento llamado cebador, y de los nucleótidos (A, C, G y T). Las nuevas moléculas de ADN sintetizadas en cada ciclo sirven de molde para ciclos siguientes. Por lo tanto, la PCR es una reacción de amplificación de fragmentos de ADN en forma exponencial y al final del ciclo 35-40 en el tubo de ensayos existen millones de copias del fragmento de interés.

Una vez terminada la PCR, se realiza una técnica conocida como “electroforesis en gel de agarosa” para visualizar los millones de fragmentos de ADN de interés, como muestra la siguiente imagen:



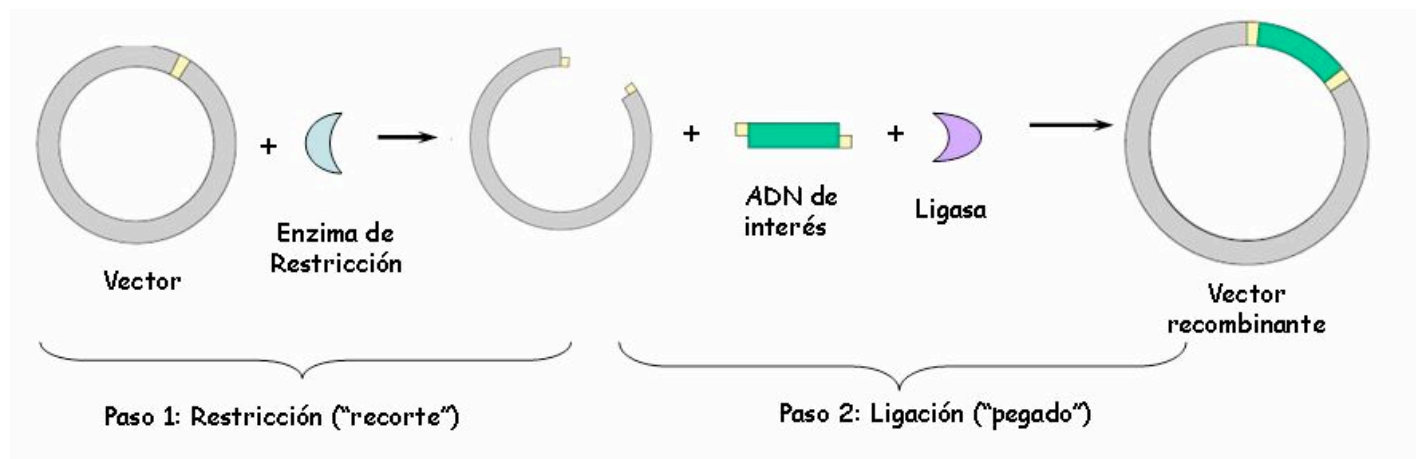
Electroforesis en gel de agarosa. Esta técnica consiste en armar un gel de agarosa, con pequeños huecos en un extremo donde se deposita (“siembra”) el contenido del tubo de PCR. El gel es sometido a corriente eléctrica de modo que el ADN, que es una molécula cargada negativamente, se desplaza por el gel hacia el polo positivo. Cuanto más pequeño es el fragmento de ADN más rápido se desplaza y llega hasta el extremo opuesto. Al preparar el gel se agrega la sustancia bromuro de etidio que se intercala entre las bases del ADN y permite visualizarlo al ser iluminado con luz UV. Las bandas luminosas corresponden a los fragmentos de ADN amplificados.

iii) **Secuenciación:** Una vez que se visualizó el resultado del PCR en el gel de agarosa, la “bandita” del gel que contiene el ADN de interés se recorta y se purifica el ADN. Luego se realiza la secuenciación que consiste en conocer la cantidad y el orden en que se ubican los nucleótidos en el fragmento de ADN analizado. Actualmente se realiza en un secuenciador automático utilizando nucleótidos marcados fluorescentemente, que son leídos por un láser acoplado a una computadora.

"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.



iv) Construcción del vector recombinante: Esta etapa consiste en “recortar y pegar” ADN para insertar el gen de interés dentro de un vector (son en general moléculas de ADN circulares). Para recortar el ADN se utilizan enzimas de restricción (ver El Cuaderno 34) y para pegar fragmentos de ADN se utilizan enzimas ligasas. Como muestra la imagen el vector abierto y el fragmento de interés se agregan al tubo de ensayos en presencia de la enzima ligasa. Al fragmento de ADN dentro del vector se denomina “inserto” y el nuevo vector se conoce como “vector recombinante”.



Representación de los pasos de restricción y ligación para clonar un fragmento de ADN en un vector

3) Modificar el gen

La ventaja de tener el gen clonado en un vector, es que se puede transferir a una bacteria que, al multiplicarse en el laboratorio, también multiplica al vector que porta. De esta forma se logra tener millones de copias del vector recombinante para poder modificar el inserto que lleva dentro. Modificar el inserto significa agregarle pequeñas secuencias de ADN, mediante el uso de ligasas, necesarias para que el gen funcione correctamente en el organismo receptor. Por ejemplo: si se clona un gen Bt de una bacteria para luego ponerlo en maíz, se debe agregar un promotor que funcione bien en plantas, es decir, que permita que las células vegetales expresen la proteína Bt. El promotor es una región fundamental del gen ya que determina cuándo y dónde se expresará el gen.

4) Transferir el gen al organismo receptor

El gen de interés se puede introducir en células vegetales o animales y dar lugar a la formación de un organismo genéticamente modificado (OGM) o transgénico.

La introducción de nuevos genes por ingeniería genética en plantas origina los llamados cultivos transgénicos o genéticamente modificados (OGM). En la producción de estos cultivos hay una primera etapa en la que se introduce el gen de interés en las células vegetales. Este proceso también se denomina transformación. En muchas especies vegetales (especialmente en las

"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.

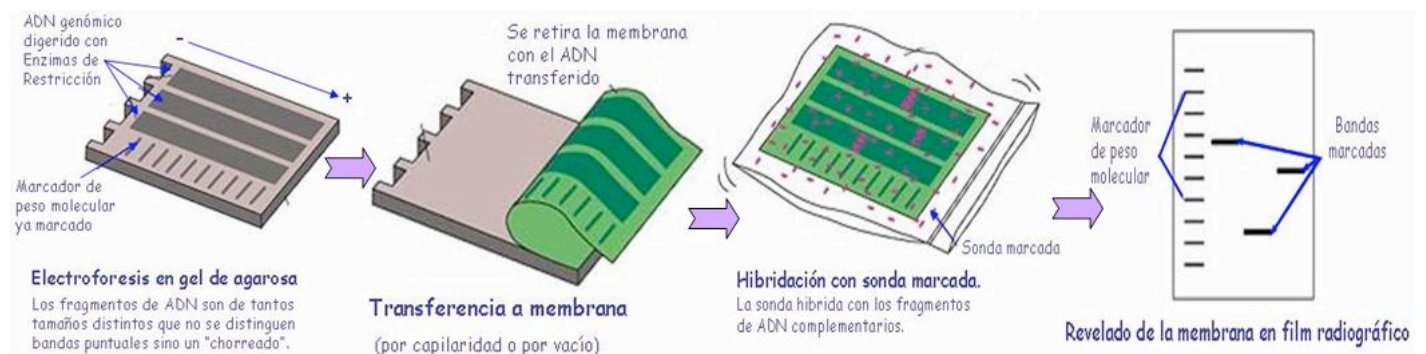


dicotiledóneas) es posible introducir genes a través de una bacteria del suelo, llamada *Agrobacterium tumefaciens* (ver Cuaderno N° 18). Para las monocotiledóneas se ha desarrollado un método alternativo, denominado “bombardeo con micropartículas” (ver Cuaderno N° 28). La segunda etapa consiste en regenerar una planta completa a partir de la única célula transformada. El resultado es una planta completa que lleva el gen de interés en cada una de sus células. Por último se realiza el mejoramiento por cruzamiento para transferir el gen incorporado a variedades de alto rendimiento.

Existen varias técnicas para transferir genes a células de mamíferos con el objetivo de que se integre al genoma (ver El Cuaderno N° 47). Una de ellas es la microinyección del ADN de interés directamente en un óvulo fecundado. Los cigotos así obtenidos son luego implantados en el útero de una madre adoptiva, o receptora, que ha sido preparada hormonalmente para poder llevar adelante la gestación. Otra técnica consiste en transferir el gen de interés a las células de un embrión de mamífero que proliferan *in vitro*. Cuando el embrión sigue su desarrollo en el útero de una madre receptora, se forma un animal con células transgénicas.

5) Caracterizar el organismo receptor transformado.

Una vez obtenido el OGM, se debe demostrar, entre otras cosas, si tiene una (o más) copias del transgén, y cómo y en qué tejidos se expresa el gen. Para lograrlo se extrae el ADN del organismo y se lo analiza. La técnica de PCR, ya explicada, permite amplificar el transgén, si es que está en el genoma del organismo, y es una técnica rápida para verificar si el organismo ha sido transformado o no. Para estimar cuántas copias del gen se insertaron en el genoma del organismo se utiliza la técnica denominada Southern Blotting que se representa en la siguiente ilustración:



Representación esquemática de la técnica de Southern Blot. En este ejemplo se analiza la presencia de un cierto gen en ADN de tres individuos. Esta técnica consiste en extraer ADN del organismo en estudio, fragmentar el ADN en forma aleatoria con enzimas de restricción, someter los fragmentos de ADN a electroforesis en gel de agarosa, y transferir los fragmentos de ADN desde el gel a una membrana (de nitrocelulosa o nylon). Luego, para detectar cuántas copias del transgén quedaron integradas al genoma del organismo, se utilizan sondas marcadas (radioactivamente, con fluorescencia, u otros métodos). La membrana se baña en una solución que contiene la sonda y se “revela” (como una radiografía) para ver si

"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 Cuaderno de Por Qué Biotecnología

EDICIÓN N° 67 - 2005

quedó marca en algún fragmento de ADN. En la ilustración las tres muestras de ADN poseen al menos una copia del gen transferido.

Para analizar en qué tejido, momento y cantidad se expresa el gen se analiza la presencia del ARN mensajero y de la proteína codificados por el transgén (proteína recombinante), mediante técnicas específicas denominadas Northern blot (para el ARNm), y Western blot y ELISA (para las proteínas).

"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.



Aplicaciones de las técnicas de biotecnología moderna

Hasta el momento se han utilizado las técnicas de biología molecular y de ingeniería genética para producir, entre otros productos:

- Vacunas, como la de la hepatitis B;
- Fármacos, como la insulina y la hormona del crecimiento humano;
- Enzimas para disolver manchas, como las que se usan en los detergentes en polvo;
- Enzimas para la industria alimenticia, como las empleadas en la elaboración del queso y en la obtención de jugos de fruta;
- Plantas resistentes a enfermedades.

Actividades

Objetivos

1. Repasar los conceptos trabajados en el Cuaderno.
2. Interpretar los resultados de estas técnicas a partir de la presentación de casos reales y concretos.
3. Comprender la aplicación de las técnicas en la biotecnología moderna.
4. Interpretar esquemas explicativos y aplicar en su análisis los conceptos trabajados en El Cuaderno.

Destinatarios y conceptos relacionados

Debido a la complejidad que presenta este tema, resulta apropiado para alumnos de polimodal / secundario. De todas formas, entre las actividades se sugiere un práctico de extracción de ADN que se puede aplicar también a alumnos de EGB. La enseñanza de técnicas de biología molecular y de ingeniería genética se puede implementar al trabajar conceptos tales como: la estructura y la función del ADN, el código genético universal y la síntesis de proteínas, la célula, las biomoléculas, función de las enzimas, la relación entre biotecnología tradicional y biotecnología moderna, aplicaciones de la biotecnología moderna.

Consideraciones metodológicas

El objetivo del tema tratado en este Cuaderno no es hacer una descripción pormenorizada de las técnicas de laboratorio, sino dar conceptos básicos que permitan comprender su aplicación en el marco de la biotecnología moderna. Por tal motivo, se sugiere incorporar estos conceptos en el aula al trabajar temas de la currícula que requieran de estos contenidos y no como un tema en sí mismo.

Para comprender las técnicas explicadas en este Cuaderno se requiere que los alumnos tengan presente la estructura del ADN y su función. A su vez, se sugiere trabajar en conjunto con docentes de química y de física aspectos referidos a las propiedades de las moléculas y los

"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.



mecanismos en los que se basan las diferentes técnicas (por ejemplo, la electroforesis, el marcado radiactivo, la fluorescencia, el empleo de luz UV, etc.).

El empleo de esquemas explicativos constituye un recurso fundamental en la enseñanza y el aprendizaje de las ciencias naturales, particularmente al abordar temas vinculados con procesos o estructuras "invisibles" a simple vista. Estos esquemas reúnen un máximo de información de forma simple y visual, y tienen un carácter estructurante que favorece la expresión de relaciones entre los elementos que lo integran y su organización. Sin embargo, el análisis e interpretación de los esquemas explicativos conlleva ciertas dificultades que requieren de un trabajo con los alumnos. Este trabajo podría orientarse a construir equivalencias con otros lenguajes, es decir, hacer traducir los textos en esquemas y los esquemas en textos; explicitar los códigos y simbolismos empleados; interpretar los procesos implicados en la representación. Este modo de trabajo se sugiere particularmente para la actividad N° 4 en la cual se trabaja detalladamente un esquema que representa la elaboración de una planta transgénica y en la que se aplican los conceptos referidos a las técnicas empleadas para lograrlo.

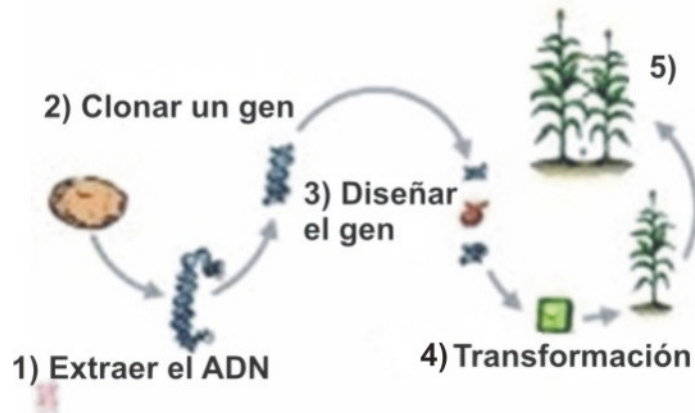
Asimismo, la actividad de laboratorio se acompaña de un cuestionario que permite realizar un análisis detallado de los resultados, para ayudar en la interpretación de un práctico que es sencillo de realizar, pero que requiere de un acompañamiento del docente para su correcta interpretación.

Actividad 1. Comprensión de conceptos

Las siguientes preguntas tienen por fin evaluar la comprensión de los conceptos trabajados en el Cuaderno:

1. ¿Cómo se denominan las técnicas específicas que emplea la biotecnología moderna? Explicar, de manera general, en qué consisten estas técnicas.
2. Conocer la estructura del ADN fue fundamental para el desarrollo de estas técnicas. Justificar esta afirmación a partir de los principios en que se basan las técnicas de trabajo con ácidos nucleicos.
3. ¿Cuál es la función de las enzimas de restricción y de las ligasas?
4. Redactar un breve texto que explique el siguiente esquema. Indicar qué representa cada una de las etapas numeradas.

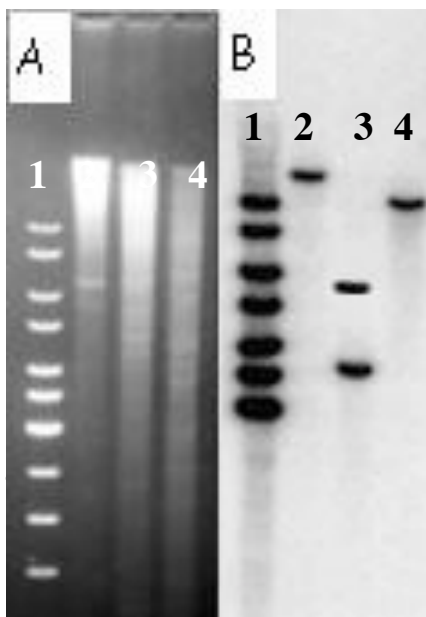
"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa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



5. ¿Por qué no resultaría útil para la obtención de un OGM seleccionar una característica que no está determinada genéticamente?
6. ¿Qué significa clonar un gen?
7. ¿Qué es un vector y en qué se diferencia del vector recombinante?
8. ¿Cuál es la finalidad de la técnica de PCR según el texto de este Cuaderno?
9. ¿Qué técnica se puede usar para ver el resultado de una PCR? Rta: Electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio.
10. Se logró aislar y amplificar un fragmento de ADN, ¿cómo es posible saber si es el gen de interés? Rta. mediante la secuenciación, que permite conocer los nucleótidos que lo forman, su cantidad y el orden en que se ubican en la molécula.
11. ¿Cuál es la etapa que determina concretamente la obtención del OGM? Rta. La transferencia del gen al organismo receptor.
12. ¿Qué técnica permite ver la cantidad de copias de un gen que tiene un organismo? Rta. Southern Blot

Actividad 2. Interpretación de resultados

La siguiente figura muestra una fotografía obtenida al realizar un Southern blot de ADN de diferentes organismos. En las calles N°1 se colocaron marcadores de peso molecular. A partir de esta información y del texto del Cuaderno, responder:



1. ¿Qué etapa del análisis muestra la fotografía A?
Rta. la electroforesis en gel de agarosa.
2. ¿Por qué el resultado en el gel de agarosa se ve como un "chorreado"? Rta. Porque al cortar con enzimas de restricción se generan muchos fragmentos de todos los tamaños que no se distinguen bandas puntuales sino un "chorreado".

nología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el
a Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada
re la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del
otecnología.



3. ¿Qué representa la fotografía B? **Rta.: el film radiográfico al revelar la membrana hibridada con sonda marcada.**
4. ¿Qué indican los números 1 al 4? **Rta. Las diferentes calles o columnas donde se sembraron muestras de ADN.**
5. ¿Qué son las bandas negras? **Rta. Fragmentos de ADN**
6. ¿A qué se debe la diferente posición en que se ubican las bandas? **Rta. Tienen diferente peso molecular y por lo tanto se desplazan diferente en el gel.**
7. ¿Qué representan las manchas negras en las calles 2, 3 y 4 de la foto B? **Rta.: los fragmentos de ADN que contienen una secuencia complementaria a la de la sonda.**
8. ¿Qué se podría inferir a partir del número de bandas de cada organismo? **Rta.: una banda significa que el individuo que tiene ese ADN genómico tiene al menos una copia del gen que se está estudiando, mientras que dos o más bandas indican que el individuo tiene más de una copia del gen en su genoma.**
9. ¿Cuál es el objetivo de sembrar una columna con marcadores de peso molecular? **Rta. Son un control, ya que al tener peso molecular conocido permiten determinar el peso molecular de las bandas de ADN de interés.**

Actividad 3. Extracción de ADN

Las técnicas tratadas en esta edición de El Cuaderno no siempre son posibles de realizar en el laboratorio de una escuela. Sin embargo, la extracción de levadura es sencilla y atractiva, y requiere de poco equipamiento y materiales. Esta es otra alternativa a las actividades de extracción de ADN propuestas en los Cuadernos N° 18 y N° 65 (extracción de ADN de cebolla y de banana respectivamente).

Se sugiere que distintos grupos realicen extracción de ADN según los distintos protocolos (cebolla, banana y levadura) y comparen los “ingredientes” que utilizan en cada “receta” analizando qué función cumple cada uno en la extracción de ADN.

Extracción de ADN de Levaduras.

Adaptado de “El Cocinero Científico. Cuando la ciencia se mete en la cocina. Apuntes de alquimia culinaria”. Diego Golombek y Pablo Schwarzbaum. Editorial Siglo XXI, Buenos Aires, 2004.

Materiales:

- ½ taza de levadura (de la que se usa para hacer pan)
- 300 ml de agua fría
- 4 cucharaditas de sal fina
- dos chorros de jugo de limón

"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.



colador de té
tres cucharaditas de alcohol
dos gotas de detergente

Procedimiento:

1. Mezclar media taza de levadura con 150 ml de agua fría, \square de cucharadita de sal y dos chorros de jugo de limón.
2. Agitar suavemente (para que se abran las paredes de las células).
3. Pasar la mezcla por un colador de té y conservar la pulpa.
4. Repetir el filtrado y conservar nuevamente la pulpa.
5. Preparar 150 ml de agua fría con \square cucharadita de sal, tres cucharaditas de alcohol y dos gotas de detergente.
6. Agregar la pulpa y mezclar (el detergente disuelve el ADN).
7. Revolver suavemente durante 20 minutos.
8. Agregar 3 cucharaditas de sal y agitar 10 minutos más.
9. Dejar reposar hasta que se forma un precipitado sólido (se tira). Conservar el líquido.
10. Diluir el líquido con tres veces su volumen de alcohol.
11. El ADN precipita en el fondo del vaso en forma de finas hebras blancas.

Sugerencia para el práctico: Si algún grupo quiere traer algún otro producto de la verdulería para extraer su ADN, se sugiere que no sea muy colorido (por ejemplo, repollo colorado, ají morrón) para que no opaque la visión del ADN ni muy duro (zanahoria cruda, poroto de soja, granos de trigo, etc), porque se dificultará la molienda y en consecuencia se obtendrá menor cantidad de ADN.

Preguntas para el análisis de la experiencia

Las preguntas que se proponen son similares a las de los prácticos en Cuadernos anteriores, de manera que se puedan aplicar al comparar la extracción en los diferentes organismos empleados como fuente del ADN.

1. ¿Por qué se puede suponer que la levadura contiene ADN? ¿Dónde se encuentra ese ADN?
2. ¿Qué otro tipo de sustancias es posible encontrar entre los componentes de la levadura?.
3. ¿Cuál es la función del detergente en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción del detergente.
4. ¿Cuál es la función de la sal en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción de la sal.
5. ¿Cuál es la función del alcohol en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción del alcohol.

"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.

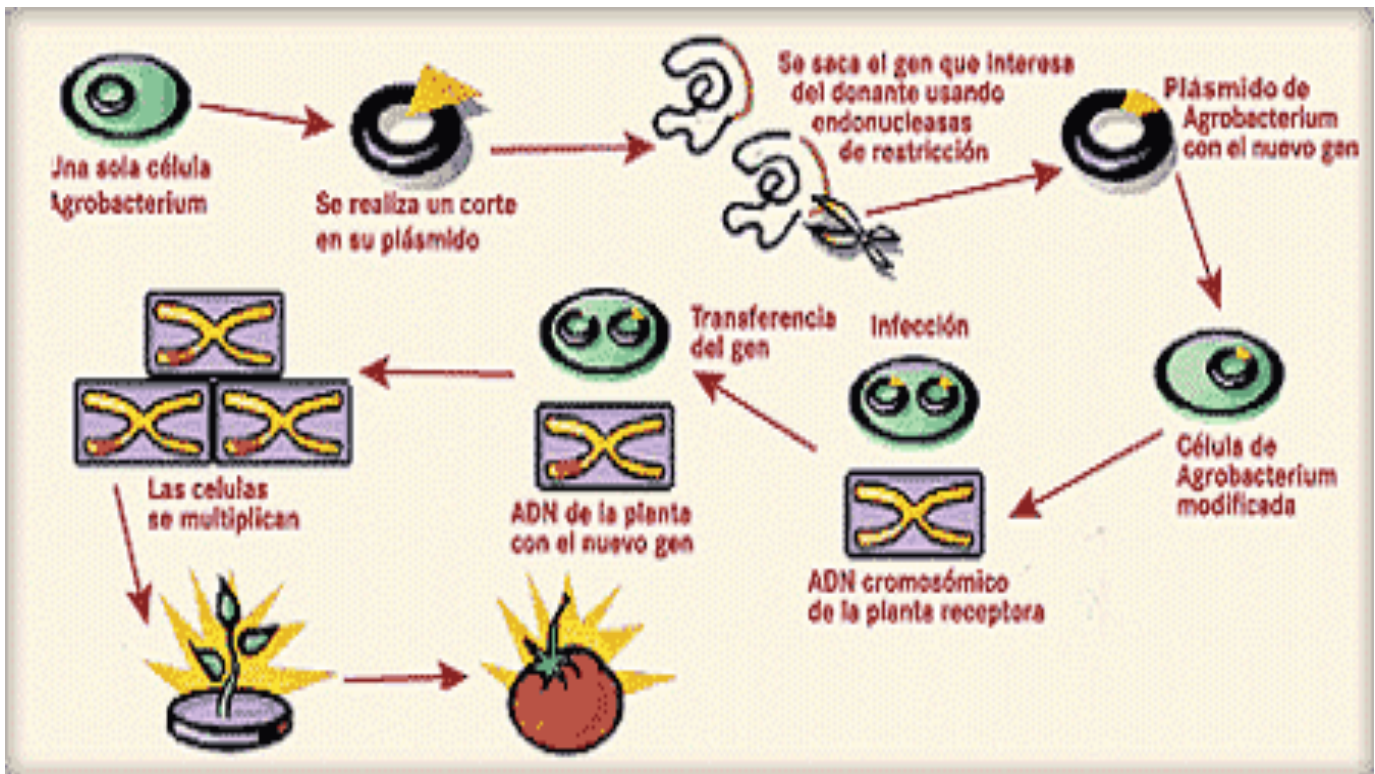


6. Al finalizar la experiencia se obtiene un mucus blanco y fibroso que sería el ADN. ¿Es posible que la molécula de ADN se visualice a simple vista? ¿Por qué?.
7. A partir de la respuesta anterior, ¿qué se supone que contiene “el ADN” obtenido en la experiencia? **Rta. lo extraído no es una molécula de ADN, sino millones de moléculas de ADN.**
8. ¿Cómo se podría proceder si se quisiera obtener, a partir del ADN extraído, los nucleótidos que lo forman? **Rta. Se podrían usar enzimas que degraden el ADN.**
9. ¿Qué técnica se usaría para conocer el tipo y orden de los nucleótidos que forman este ADN? **Rta. Se debería secuenciar el ADN de la levadura.**
10. Suponiendo que el ADN extraído tiene un gen de interés que aporta una característica deseable para otros organismos, ¿cuáles serían los pasos a seguir para aislar ese gen y transferirlo a la otra planta? Diseñen un esquema que resuma las etapas a seguir en el laboratorio.



Actividad 4. Esquema de elaboración de una planta genéticamente modificada

Esta actividad propone trabajar con el siguiente esquema referido a las etapas de elaboración de una planta transgénica.



Sugerencias para trabajar el esquema con los alumnos:

Debido a la complejidad que en sí misma implica la interpretación de un esquema de este tipo, sería conveniente en una primera instancia trabajar con el esquema completo y analizar de forma pautada con los alumnos las diferentes etapas del proceso representado y los elementos simbólicos utilizados.

En una segunda instancia se podría plantear la posibilidad de reordenar el esquema y elaborar un texto explicativo o, alternativamente, presentar el esquema sin sus rótulos y pedir a los alumnos que los incluyan.

La complejidad de la explicación y la profundidad del análisis posterior deberá ser evaluada por el docente en función del nivel de los alumnos de la clase.

Las siguientes consignas y preguntas podrían plantearse a modo de ejercitación grupal para integrar los contenidos estudiados en este tema con otros conceptos estudiados en otras instancias de la escolaridad. Según el nivel escolar de los alumnos y los temas enseñados previamente, el docente podrá decidir cuáles de estas consignas plantear en la clase.

"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.



Preguntas sugeridas:

1. “Leer” el esquema y relatar las etapas representadas por las flechas y los dibujos.
2. ¿Qué tipo de célula es el Agrobacterium? ¿Por qué se emplea este tipo de células para modificar genéticamente a un organismo? Nota: se sugiere repasar el Cuaderno 18 y visitar la dirección <http://www.argenbio.org/h/biotecnologia/10.php>
3. ¿Qué se emplea para cortar el plásmido de la bacteria?
4. ¿De dónde se podría extraer el gen deseado? ¿Cuál podría ser la característica determinada por ese gen? Indicar diferentes características que sería deseable transferir.
5. ¿Qué representan las tijeras del esquema? ¿Cómo se relaciona la forma representada con la función biológica que desempeñan estas “tijeras”?
6. ¿Cuál es el tipo de enzima que se utiliza para incorporar el nuevo gen al plásmido?
7. Sugerir un símbolo con el cual representar el tipo de enzima de la respuesta anterior.
8. ¿Qué significa que la célula de Agrobacterium está modificada? ¿Cuál es esta modificación?
9. ¿Cuál es la técnica que emplean los científicos para asegurar que la célula de Agrobacterium incorporó el nuevo gen?
10. ¿A qué se denomina “infección” en el esquema? ¿Cómo se relaciona con el término “infección” empleado habitualmente en temas vinculados con la salud?
11. ¿Cuál es el proceso por el cual aumenta la cantidad de plásmidos dentro de las células de Agrobacterium?
12. ¿A qué se denomina “transferencia del gen”?
13. ¿Dónde se incorpora el nuevo gen? Indicar cuál es la estructura celular representada en el esquema que incorpora el nuevo gen.
14. ¿Se podría decir que la nueva planta es un OGM? Justificar la respuesta.
15. ¿Todas las células de la nueva planta tendrán esta nueva característica? ¿Por qué?
16. Explicar el proceso por el cual un gen se expresa en una característica fenotípica.
Nota: esta pregunta hace referencia al proceso de síntesis de proteínas.
17. ¿Se heredará esta nueva característica a las nuevas generaciones? Justificar la respuesta.
18. ¿Cómo es posible obtener una gran cantidad de plantas iguales, que contengan el gen deseado?

"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.



Material de consulta

- “Biología” de Helena Curtis y N. Sue Barnes, 6ta Edición (2000) Editorial Panamericana. Capítulo 16: “DNA recombinante: las herramientas del oficio”.
- <http://www.argenbio.org/h/biotecnologia/index.php> Sitio del Consejo Argentino para la información y el desarrollo de la biotecnología. Índice de contenidos de biotecnología. Incluye texto, imágenes, animaciones, glosario.
- “El Cocinero Científico. Cuando la ciencia se mete en la cocina. Apuntes de alquimia culinaria”. Diego Golombek y Pablo Schwarzbaum. Editorial Siglo XXI, Buenos Aires, 2004.
- “Library of Crop Technology” desarrollado por la Universidad de NEbraska, EEUU. Algunas explicaciones y animaciones están en español, pero la mayoría están en inglés. <http://croptechnology.unl.edu/listLessons.cgi>
- Técnicas y Simulaciones de electroforesis de geles de agarosa (un laboratorio virtual) donde se pueden ver fotografías de una corrida electroforética. <http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/genetics/biotech/gels/>
- Sitio web del Instituto de Tecnología de Massachusetts que trata los temas de Southern, Northern, Westerns. <http://web.mit.edu/esgbio/www/rdna/rdna.html>
- Animación de varias técnicas cuyos archivos pueden descargarse para usar en una computadora sin estar conectados a Internet. <http://www.dnalc.org/resources/BiologyAnimationLibrary.htm>

"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.