

PRÁCTICAS DE
BIOTECNOLOGÍA

PRÁCTICAS DE BIOTECNOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA-FÍSICA, BIOQUÍMICA Y QUÍMICA
INORGÁNICA

ÁREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

FELIPE RODRÍGUEZ VICO
FRANCISCO JAVIER LAS HERAS VÁZQUEZ
JOSEFA MARÍA CLEMENTE JIMÉNEZ

NOMBRE:

ALMERÍA, 1999

Prácticas de la Biotecnología

© del texto: Felipe Rodríguez Vico
Francisco Javier Las Heras Vázquez
Josefa María Clemente Jiménez

© de la edición: Universidad de Almería, Servicio de Publicaciones
Almería 1999

Imprime: CENTRO DE GESTIÓN INFORMÁTICA S.A.
ISBN: 84-8240-221-8
Depósito Legal: Al-175-1999

PRÓLOGO

Formalmente la Biotecnología se puede definir como: la aplicación de la ciencia y los principios de ingeniería a la producción de materia por agentes biológicos. Históricamente la biotecnología comenzó a utilizarse con el uso de las levaduras en la fermentación de la cerveza y la fabricación de yoghurt. El término biotecnología fue creado en 1917 por el ingeniero húngaro Karl Ereky para describir un proceso de desarrollo de cerdos a gran escala utilizando remolacha.

Un proceso industrial que utiliza microorganismos para producir un producto comercial se compone de tres estados:

- 1) Preparación de la materia prima utilizada como alimento para los organismos.
- 2) Fermentación y transformación.
- 3) Purificación del compuesto deseado tanto del medio celular o de la masa biológica.

La biotecnología se ha dedicado a maximizar la eficiencia de cada uno de estos pasos y en encontrar microorganismos que fabriquen productos que sean útiles como comida, complementos alimenticios y drogas. Durante los años 60 y 70 la investigación se enfocó al proceso de alimentación y diseño de fermentadores.

La biotransformación fue la fase más difícil de optimizar. La producción natural de productos a gran escala por cepas de microorganismos se consideró al principio no muy óptima. En consecuencia se comenzó con la mutación química o por radiación ultravioleta para producir cambios genéticos de forma constitutiva. Los niveles de producción que se obtuvieron en este sentido a menudo están fuertemente limitados, ya que una cepa puede sintetizar una gran cantidad de un compuesto; pero otras funciones metabólicas se pueden ver afectadas. A pesar de esto la tradicional mutagénesis inducida y posterior selección, se ha utilizado con gran éxito para un gran número de procesos, sobre todo en la producción de antibióticos.

La naturaleza de los procesos biotecnológicos fue cambiando con el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante. Con estas técnicas, la optimización de la fase de biotransformación de un proceso biotecnológico se controló más directamente. Una de las aplicaciones más ambiciosas y productivas es la sobreproducción de proteínas de interés farmacológico o industrial para facilitar su comercialización.

INDICE

| | página |
|--|--------|
| INDICE | 9 |
| OBJETIVOS GENERALES DE LA ASIGNATURA DE PRÁCTICAS DE BIOTECNOLOGÍA | 11 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE LA ASIGNATURA DE PRÁCTICAS DE BIOTECNOLOGÍA | 11 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 13 |
| 2. MOLÉCULAS BIOLÓGICAS EMPLEADAS | 16 |
| 2.1. DESARROLLO DE LOS VECTORES DE CLONADO | 16 |
| 2.2. ELECCIÓN DE UN PLÁSMIDO | 16 |
| 2.3. ESTRUCTURA DEL PLÁSMIDO Y FUNCIÓN DE LAS SECUENCIAS | 18 |
| 3. CÉLULA HOSPEDADORA | 25 |
| 4. GLUTATION S-TRANSFERASA | 27 |
| 5. PROTOCOLOS | 29 |
| 5.1. TRANSFORMACIÓN DE CÉLULAS COMPETENTES | 29 |
| 5.2. SEPARAR | 31 |
| 5.3. ANÁLISIS DE TRANSFORMANTES POR PCR | 33 |
| 5.4. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) | 35 |
| 5.5. ELECTROFORESIS DE ADN | 37 |
| 5.6. INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN | 41 |
| 5.7. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN PARCIAL DE LA ENZIMA GLUTATION S-TRANSFERASA | 43 |
| 5.8. ANÁLISIS DE PROTEÍNAS | 45 |
| 5.9. ANÁLISIS DE ACTIVIDAD | 49 |
| 6. CONCLUSIONES | 51 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA | 53 |