

# RESUM UNITAT 11 -BIO-

## 1. ENGINYERIA GENÈTICA

L'**enginyeria genètica** és la tècnica que permet la modificació del gen d'un individu. El **genoma** és el conjunt de cromosomes haploides, és a dir el conjunt haploide de gens.

La **biotecnologia**: - manipulació d'organismes.

- l'objectiu és obtenir productes útils.

- per a que tinguin unes característiques, que de normal, no tenen.

Pels organismes pluricel·lulars -> transgènics

Pels organismes unicel·lulars -> organismes recombinats

### EXEMPLE D'UNA UTILITAT DE LA CLONACIÓ DE GENS AMB UN PLASMIDI BACTERIÀ:

- I. Es vol clonar un gen d'una cèl·lula eucariota.
- II. S'agafa el gen que es vol clonar i s'introdueix dins d'un plasmidi bacterià. (el plasmidi amb el gen = **DNA recombinat**).
- III. S'introdueix el ADN recombinat dins del bacteri.
- IV. El bacteri amb el DNA recombinat = **bacteri recombinat**.
- V. Els bacteris es reproduïxen (amb **bipartició**) i multipliquen el plasmidi amb el DNA recombinat.

L'objectiu és:

- ➔ Recerca d'informació sobre el gen i la proteïna que fabrica.
- ➔ Fer que els bacteris fabriquin la proteïna i després extreure-la per beneficis.

Per triar els bacteris amb el gen -> s'afegeix el gen que es vol i un altre **gen que es resistent a un antibiòtic**, per després posar-lo en un medi amb l'antibiòtic, i si sobreviuen, són els que es vol investigar. (és un **marcador**)

## 2. FORMES D'INTRODUCCIÓ DE GENS EN CÈL·LULES

Les formes d'introducció un gen dins una cèl·lula són:

- Plasmidis
- Virus
- Mecanismes no biològics

### 2.1. PLASMIDIS

Un **plasmidi bacterià** és un petit DNA circular de doble hèlix, que complementa la informació genètica – ADN-.

#### 2.1.1. MECANISMES NATURALS DELS BACTERIS:

**Transformació**: procés que el ADN que hi ha al medi extracel·lular entra dins del bacteri per la seva membrana. \* Per fer la membrana més permeable i poder facilitar l'entrada del DNA, s'afegeix clorur de calci.

➤ Per saber quin bacteri ha pogut fer aquest procés, es fica en un medi amb antibiòtic.

**Transducció**: procés d'uns virus que infecta a un bacteri amb un DNA que és d'un DNA bacterià hoste, perquè anteriorment el virus ha infectat un bacteri i la càpsida d'aquest virus s'ha empaquetat amb un fragment de DNA equivocat.

## 2.1.2. PLANTES TRANSGÈNIQUES AMB UN BACTERI ESPECÍFIC (Agrobacterium tumefaciens)

Els plasmidis bacterians no serveixen per introduir gens en cèl·lules eucariotes animals, però s'ha descobert que aquest bacteri específic provoca uns tumors a les plantes que permet que penetri el plasmidi en les cèl·lules eucariotes vegetals.

Aquest bacteri presenta un plasmidi (**plasmidi Ti**) que conté un gen (**T-DNA**) que conté els gens que provoquen els tumors a les plantes.

El procés:

- I. Fan que el bacteri deixi de provocar tumors a la planta, per a que solament insereixi el plasmidi recombinat. (**s'elimina el gen T-DNA**).
- II. **S'elimina la paret cel·lular de la cèl·lula vegetal** per facilitar la introducció del plasmidi recombinat.
- III. Per saber si la planta és transgènica, a més del gen d'interès que s'ha afegit amb el plasmidi, també **s'afegeix un gen marcador**, aquest, per exemple, pot ser un gen que faci la planta fluorescent.

## 2.2. VIRUS -transducció-

- 1) Un **virus infecta un bacteri**. (introdueix el seu DNA dins del bacteri).
- 2) Es **duplica el DNA víric** i es **sintetitzen les proteïnes víriques**.
- 3) **S'encapsula un segment del DNA bacterià**, per error.
- 4) El virus defectiu, **infecta un altre bacteri**.
- 5) El DNA infectat es recombina amb el DNA bacterià.

## 2.3. MECANISMES NO BIOLÒGICS

-> NO s'utilitzen éssers vius. (virus si pq no són e.vius)

- ➔ **Electroporació**: sotmetre la cèl·lula a un alt voltatge durant un petit temps (breu per no matar-la). Això origina uns orificis temporals en la membrana plasmàtica =punt d'entrada del DNA extern.
- ➔ **Microinjecció**: Injecció directa de DNA mitjançant un capil·lar.
- ➔ **Tret de microbales**: Amb una pistola que dispara microbales d'or o tungstè, recobertes de DNA.

## 3. INSERCIÓ DE GENS

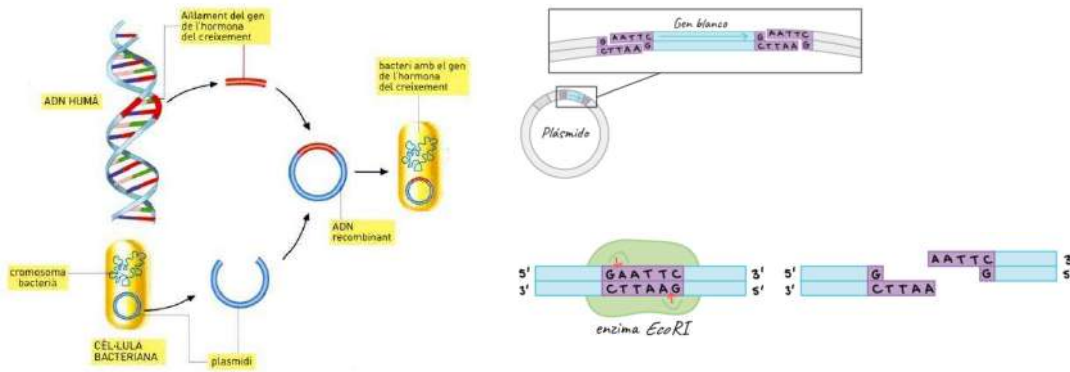
1- **Aïllem un gen** del DNA humà.

- Aquest gen el tallem amb uns enzims de restricció específics.
  - ❖ Cada enzim de restricció talla la cadena d'ADN per una seqüència de bases diferents.
  - ❖ Molts NO tallen la seqüència per la meitat; deixen una banda de tall a cada costat. -> **segment cohesiu**.

2- **S'insereix el gen** dins el DNA.

3- El **DNA-ligasa** uneix el gen al DNA víric.

- Si es vol intercalar un gen eucariòtic en un bacteri, no es pot introduir un segment de DNA amb introns i exons (hi ha procés de maduració de l'ARNm) sinó que s'ha d'utilitzar un DNA sense introns.



- **LES ENDONUCLESASES DE RESTRICCIÓ:** enzims produïts pels bacteris per defensa.
  - Tallen les molècules de DNA víric, no tenen capacitat d'infecció.
- **LA TRANSCRIPTASA INVERSA:** produeix DNA a partir d'un filament d'ARNm.
  - ARNm + cua poli-A (ARNm sense introns/exons pq ja ha madurat)
  - S'uneix un **encebador oligo -T**, que és complementari a la cua de poli-A.
  - Amb la **transcriptasa inversa** es fa la cadena complementaria, de DNA, al ARNm. (afegeix desoxiribonucleòtids)
  - **Llaç en forqueta**=part que sobra del DNA que fa d'encebador per la cadena complementaria de DNA.
  - **DNA polimerasa**-> es sintetitza la cadena complementaria de DNA.
  - S'elimina: l'encebador oligo-T i el llaç en forqueta.
  - **EL RESULTAT:** gen eucariota sense exons/introns.

#### 4. SELECCIÓ DEL CLON O DEL GEN D'INTERÈS

Pàg. 245-246

#### 5. LA REACCIÓ EN CADENA DE LA POLIMERASA = PCR

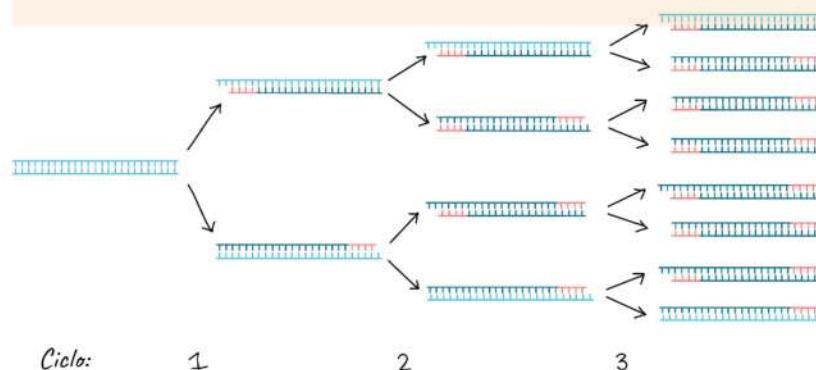
La clonació és la millor manera d'aconseguir moltes còpies d'un determinat segment de DNA, però si la quantitat inicial és molt petita o no és pura, la clonació no es pot fer. Es fa per augmentar la quantitat de DNA inicial.

1r CICLE: 2 molècules

- 1) Desnaturalitzem el DNA: l'escalfem per separar els cadenes.
- 2) Refredem: per permetre que l'encebador s'uneixi a la seqüència diana.
- 3) Extensió: el DNA-pol afegeix nucleòtids.

2n CICLE: 4 molècules

3r CICLE: 8 molècules -> 2 molècules=seqüència diana.



## 6. SÍNTESI DE LA INSULINA

- la insulina és un dipèptid (2 seqüències polipeptídiques).

1- Un bacteri sintetitza una seqüència i un altre diferent sintetitza l'altra seqüència polipeptídica.

2- S'afegeix el gen d'interès al plasmidi.

3- S'introdueix el plasmidi al bacteri.

4- El bacteri sintetitza la proteïna.

5- S'extreuen les proteïnes.

6- S'elimina una part de les proteïnes (de les 2). -> quan ho fem in vivo, les proteïnes maduren i eliminen aquesta part en aquest procés.

7- Unió dels dos polipèptids =formació d'insulina.

També es poden produir altres substàncies humanes: hormona del creixement, factors de coagulació, hormona somatotropina de les vaques.

## 7. INTRODUCCIÓ DE GENS EN CÈL·LULES HUMANES

Utilitzem retrovirus. Perquè les cèl·lules animals no poden agafar l'ADN (plasmidis) del medi, com ho fem amb els bacteris.

### ➤ La manca de l'enzim ADA

- Infants bombolla
- S'afegeix l'ARN a l'ADN del virus i aquest infecta la cèl·lula del pacient.
- El virus passa d'ARN a ADN amb la transcriptasa inversa.
- El gen es **recombina** amb el cromosoma del pacient.

### ➤ Talassèmia

- Hemoglobines diferents -> anèmia

- in vivo: s'introdueix el virus dins el pacient

- ex vivo: s'extreuen cèl·lules del pacient i s'infecten amb el virus.

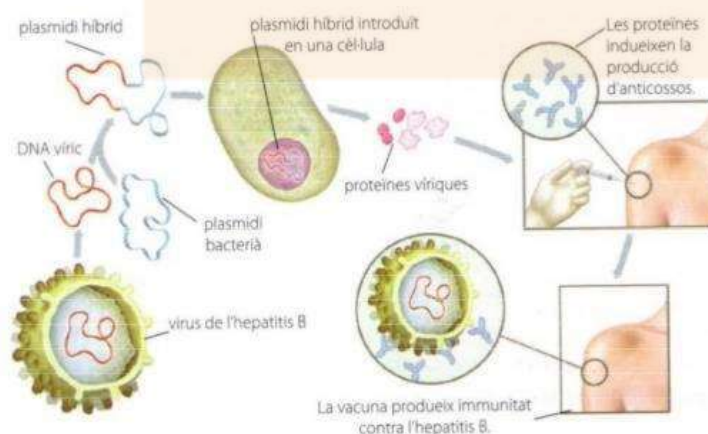
## 8. OBTENCIÓ DE VACUNES RECOMBINANTS

1- S'agafa el DNA del virus de la hepatitis B.

2- S'afegeix al plasmidi d'un virus, i s'afegeix dins del virus.

3- El virus sintetitza les proteïnes víriques (antígens).

4- La vacuna són les proteïnes víriques, que al ficar-les al cos, aquest fabricarà anticossos.



## 9. APLICACIÓ A LA PRODUCCIÓ AGRÍCOLA

- Varietats transgènics del blat de moro: resisteix a les plagues o herbicides.
- Varietat de tomàquets: maduren més lent
- Plantes del tabac transgèniques
- Varietat transgènica d'arròs: conté carotens, que formen la vitamina A.

### 9.1. VIRUS CONTRA PLAGUES EN PLANTES

- Fent les plantes transgèniques.
- Amb herbicides
- Amb virus recombinats que fabriquen substàncies tòxiques o infectes i maten les larves/adults.

## 10. APLICACIÓ A LA PRODUCCIÓ ANIMAL

- Carpes transgèniques: creixen més ràpid (gen: hormona del creixement)
- Salmons transgènics: resisteixen millor a les baixes T<sup>a</sup>.

## 11. EL PROJECTE GENOMA HUMÀ

Es podrà saber quin gen sintetitza cada proteïna.

Es podrà conèixer si una persona és portadora d'una malaltia genètica que no s'ha manifestat. D'aquesta manera es podran prendre les precaucions necessàries.

Exemple: càncer, Alzheimer, asma, malalties neuronals, esquizofrènia...