

Introducción

- ⇒ Todas las moléculas biológicas o su mayoría son derivados del ADN.
- ⇒ En el ADN está “escrita” toda la información que compone nuestro cuerpo.
 - ⇒ Define nuestro crecimiento
 - ⇒ Define nuestro metabolismo
 - ⇒ Puede definir nuestro carácter
 - ⇒ Es una buena fuente de información sobre nuestro estado de salud
 - ⇒ Predisposición de padecer ciertas enfermedades
 - ⇒ Evolución de las enfermedades (proceso patogénico, degenerativo...)
 - ⇒ Efectos terapéuticos
 - ⇒ Metabolizadores lentos
 - ⇒ Metabolizadores rápidos
- ⇒ Se ha conseguido gracias a la tecnología del ADN recombinante
 - ⇒ Enzimas relacionadas con el ADN recombinante (estudio de los genes)
 - ⇒ Enzimas de restricción
 - ⇒ Ligasas
 - ⇒ Polimerasas
 - ⇒ Transcriptasas inversas
 - ⇒ Polinucleótidos kinasas
 - ⇒ Transferasas
 - ⇒ Exonucleasas

Enzimas de restricción

- ⇒ Cortan el ADN por una secuencia determinada
- ⇒ El ADN está asociado a histonas para evitar mutaciones. En condiciones normales está protegido por las proteínas.
 - ⇒ Para utilizarlo con la tecnología del ADN recombinante se tiene que extraer.
 - ⇒ Una vez extraído se obtienen muchas copias del ADN
 - ⇒ **Antiguamente:** se utilizaban plásmidos y clonajes de bacterias.
 - ⇒ **Actualmente:** se utiliza la técnica de la PCR. Con la polimerasa termorresistente, en un tubo de ensayo y con un termociclador.

Biotecnología

- ⇒ Resistencia de las plantas a plaguicidas
- ⇒ Factores de crecimiento
- ⇒ **APLICACIONES MÉDICAS**
 - ⇒ Tratamiento
 - ⇒ Anticoagulantes
 - ⇒ Eritropoyetina
 - ⇒ Factores de coagulación
 - ⇒ Factores de crecimiento
 - ⇒ Insulina
 - ⇒ Interferones
 - ⇒ Patología molecular: relación genética - patología. Diagnóstico de enfermedades mediante sondas genéticas que permiten la identificación de mutaciones somáticas y germinales.
 - ⇒ Medicina forenses y criminología
 - ⇒ Terapia génica: medicina sustitutiva, reposición de genes sanos...
 - ⇒ En la industria: biotecnología, ingeniería genética, organismos transgénicos...

Clonación y recombinación del ADN

- ⇒ **GENÓMICA**: conjunto de estrategias y tecnología empleadas para la caracterización del genoma:
 - ⇒ GENÓMICA ESTRUCTURAL
 - ⇒ GENÓMICA FUNCIONAL
- ⇒ **PROTEÓMICA**: técnicas para el estudio de las proteínas.
- ⇒ **APLICACIONES RECIENTES**:
 - ⇒ Medicina
 - ⇒ Diagnóstico: medicina preventiva. **Mutación del p53**: tumor vesical (según la mutación)
 - ⇒ Extirpación
 - ⇒ Quimioterapia
 - ⇒ Terapia génica
 - ⇒ Sustitutiva
 - ⇒ Regenerativa
 - ⇒ Farmacología
 - ⇒ Vacunas
 - ⇒ Vectores
 - ⇒ Antibióticos
 - ⇒ Industria
 - ⇒ Clonación reproductiva
 - ⇒ Animales y plantas transgénicas

Objetivos prácticos

- ⇒ La práctica consiste en:
 - ⇒ Aislamiento y cuantificación del ADN a partir de material biológico (hígado de rata).
 - ⇒ Obtención del material genómico (ADN)
 - ⇒ Cuantificación y grado de pureza (260/280 nm). Es importante obtener una pureza alta (relación aproximada de 1.80)
 - ⇒ Estudio de la susceptibilidad del ADN a la rotura o hidrólisis en presencia de agentes químicos productores de especies reactivas oxigénicas
 - ⇒ La identificación de especies reactivas y tamaño de los fragmentos de escisión.

Aislamiento del ADN

- ⇒ Lisis de la célula:
 - ⇒ SDS: disuelve los fosfolípidos
 - ⇒ EDTA: capta los metales
- ⇒ Purificación del ADN: eliminación del medio de proteínas y ARN
 - ⇒ Proteínasa K (hidrólisis inespecífica de proteínas)
 - ⇒ Fenol
 - ⇒ Cloroformo e isoamilalcohol → centrifugación
- ⇒ Concentración del ADN: etanol para precipitar los ácidos nucleicos poliméricos en presencia de sales catiónicas monovalentes como el sodio.
- ⇒ Pureza y cuantificación del ADN: ensayos espectrofotométricos valorando la absorbancia (A) en U.V. a 260 y 280 nm, que resulta proporcional a la muestra.