

Taller de Ciencia para Jóvenes 2006, CIMAT, Guanajuato

Visita al CINVESTAV: 21 de Julio 2006

Horario de actividades:

9:45 AM	Llegada al Cinvestav y distribución entre los laboratorios.
12:30 PM	Presentación sobre el Cinvestav Campus Guanajuato (Auditorio) y recorrido por algunas instalaciones del Cinvestav
1:30 PM	Comida + receso
3:30 PM	Regreso al laboratorio: electroforesis y elaboración de reportes
5:30 PM	Presentación de reportes
7:30 PM	Salida del Cinvestav

Laboratorios del Centro que participan en la actividad

Responsable:	Atiende:	No. de alumnos
1. Nefthalí Ochoa	Héctor Gordon	4
2. Plinio Guzmán	Laura Aguilar	4
3. Axel Tiessen	Tere Carrillo	4
4. Gertrud Lund	Dalia Rodríguez	4
5. Laura Silva	Giovanni	4
6. June Simpson	Silvia, Jasmín y Rocío	4
7. J. Pablo Martínez	Juan Carlos Ochoa	4
8. M. Gómez	Luis Jorge	4
9. Laboratorio 11	Eva Martínez, Miriam Salazar	8

Organización de la visita:

Lab. Dr. Rafael Rivera: Alicia Rancel, Harumi Shimada, Jimena Carrillo

Lab. Dra. Gabriela Olmedo: Francisco Ayala, Eva I. Martínez

Recorridos a cargo de: Sugey

Discusión de resultados a cargo de: Gabriela Olmedo, Susana de la Torre,
Luis David Alcaraz

Ayuda secretarial: Laura Camacho

Coordinación general de la visita : Gabriela Olmedo

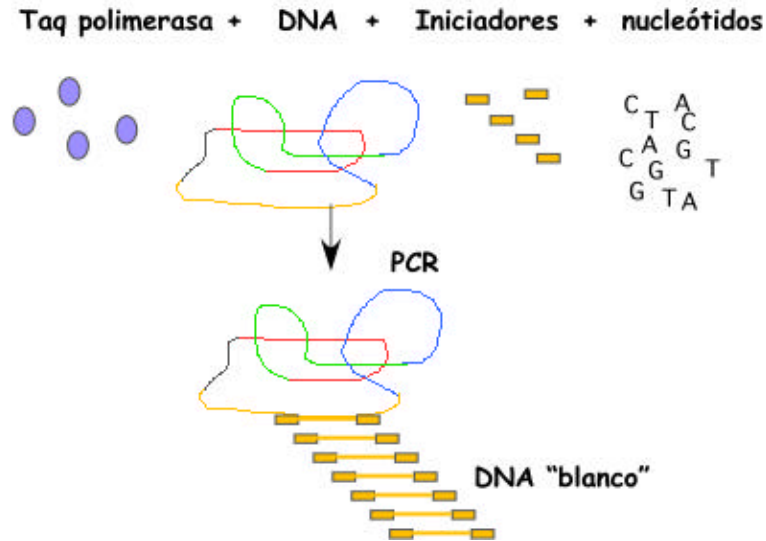
Introducción: ¿Cómo saber si una planta es transgénica?

Un organismo transformado genéticamente posee genes que no se encuentran de manera natural en ese tipo de organismos no transformados. En el caso particular de una planta transgénica de maíz, el transgen más comúnmente utilizado para plantas transgénicas comerciales es el de genes llamados *cry* que provienen de la bacteria de suelo *Bacillus thuringiensis* (generalmente llamada solo Bt). El gen *cry* por tanto, sólo se encontrará solo en una planta transgénica de maíz pero no en una planta no transgénica.

El método de la reacción en cadena de la polimerasa permite detectar la presencia cualquier gen, siempre y cuando conozcamos su secuencia de bases y podamos diseñar iniciadores específicos para ese gen. Así pues, si usamos iniciadores específicos para el transgen que está en la planta de maíz, éste se amplificará un millón de veces y, si podemos detectarlo, fácilmente podremos determinar si el DNA que estamos analizando proviene de una planta normal o de una planta transgénica, pues este gen no se identificará en la normal pero sí en la transgénica.

¿Cómo se detecta el DNA amplificado? Se utiliza una técnica muy común de la biología molecular, que consiste en separar el DNA en una matriz de gel y posteriormente teñir el DNA para poder verlo directamente. Este es el método de electroforesis cuyo procedimiento se describe más adelante.

Para esta práctica recibirán muestras de DNA provenientes de una planta normal y de otra transgénica. Ustedes deberán de realizar el PCR de estos DNAs y mediante el análisis de sus resultados podrán determinar cuál DNA proviene de cada tipo de planta.



Uso de micropipetas

Introducción

Por diversas razones, en el laboratorio se utilizan cantidades y volúmenes muy pequeños que requieren el uso de equipo especializado como son las micropipetas. Estas se usan para dispensar volúmenes muy pequeños de líquidos con la mayor exactitud posible. La intención de esta práctica es que te familiarices con las micropipetas, pues las vas a necesitar en la práctica de PCR.

Las micropipetas más comunes miden volúmenes de 1 ml (1000 μ l) o menos y son las siguientes:

Modelo	Rango de volumen	Punta
P2	0.2 a 2 μ l	blanca
P20	2 a 20 μ l	amarilla
P200	20 a 200 μ l	amarilla
P1000	100 a 1000 μ l	azul

1 ml = 1,000 μ l = 1 cm³

Práctica: PCR para detección de transgenes

MATERIAL

(4 tubos por equipo)

2 muestras PROBLEMA de planta: una transgénica y la otra no (P1 y P2)

2 juegos de oligos: 35S (banda de 195 pb) para detectar transgen y 16S (banda de 315 pb) para verificar integridad del DNA

Etiquetar 4 tubos y agregar los reactivos según la tabla:

tubo	1	2	3	4
Mezcla de PCR	15 μ L	15 μ L	15 μ L	15 μ L
Oligos* 35S			5 μ L	5 μ L
Oligos* 16S	5 μ L	5 μ L		
DNA P1	5 μ L		5 μ L	
DNA P2		5 μ L		5 μ L
Volumen total	25 μ L	25 μ L	25 μ L	25 μ L

*También se les conoce como “iniciadores”

CONDICIONES DE AMPLIFICACIÓN

94 °C 1.5 minutos

94 °C 1 min. }
55 °C 1 min. } 35 veces
72 °C 1 min. }

72 °C 5 min.

4 °C indefinido

PREGUNTAS

¿Qué indican los resultados?, ¿cuál fue la muestra positiva a transgenes y cuál la negativa?

Compara tus resultados con los de otros equipos, ¿son iguales?. Si no son iguales, ¿por qué?

¿Qué crees que hay en la ‘mezcla de PCR’?

¿Qué controles faltaron en la práctica?

¿Para qué sirve cada control?

¿Qué pasa si la banda que aparece con los oligos 35S es muy tenue?, ¿sería una muestra transgénica o no?