

## **1. TÍTULO DO PROXECTO**

***Escherichia coli* na MET Gala: unha posta de longo bacteriana.**

## **2. DATOS PERSOAIS:**

Alumnado: Uxía Rodríguez Álvarez, David Martínez Fernández.

Profesoras: Margarita Becerra Varela, Ilda Blanco González.

IES Aquis Querquernis (Bande).

## **3. RESUMO DO PROXECTO:**

Realizamos unha práctica de enxeñaría xenética, consistente na transformación de cepas da bacteria *Escherichia coli* (non infecciosas) para que producisen fluorescencia. O vector utilizado foi o plásmido pGLO, que se usa frecuentemente en biotecnoloxía. Presenta un xene de resistencia ao antibiótico ampicilina, así como o xene Green Fluorescence Protein (GFP), que proporciona á bacteria que contén o plásmido (transxénica) fluorescencia ao expoñelo á luz ultravioleta. Para que se exprese o xene GFP, ademáis, hai que facer medrar ás bacterias nun medio co monosacárido arabinosa, que posibilita a súa transcrición. Así, as bacterias que medren nun medio con ampicilina terán o plásmido, e polo tanto, se engadimos ao medio arabinosa, presentarán fluorescencia.

## **4. INTRODUCCIÓN:**

A enxeñaría xenética é unha rama da biotecnoloxía que comprende un conxunto de procedementos que empregan tecnoloxías baseadas na manipulación dos xenes para modificar o material xenético dos organismos e, polo tanto, as súas características. Así obtéñense organismos modificados xeneticamente (transxénicos), mediante a tecnoloxía do ADN recombinante. Un ADN recombinante é un fragmento de ADN, que denominamos vector (xeralmente, un plásmido), no cal se insire outro dun xene de interese que queremos introducir no organismo recep

## **5. PROPÓSITO DO TRABALLO:**

A finalidade do traballo é desenvolver técnicas reais de investigación nun laboratorio escolar, así como a búsqueda de aplicacións de ditas técnicas.

## **6. ESTUDO DO ESTADO DA ARTE:**

A idea do traballo partiu nunha discusión en clase acerca do uso de xenes que producen fluorescencia como marcadores en diversos organismos: peixes cebrá, gusanos como *Caenorhabditis elegans* ou procariotas como *Escherichia coli*. Unha búsqueda en internet levounos a páxina de BioRad, onde suministran todo o necesario para transformar bacterias nun laboratorio escolar, conseguindo resultados sorprendentes.

En canto ao desenvolvemento de dita tecnoloxía , destacar un par de feitos: en 1960 o biólogo estadounidense Osamu Shimoura logrou illar por vez primeira a proteína verde fluorescente a partir da medusa bioluminiscente *Aequorea victoria*, que emitía luz na zona verde do espectro. Hoxe en día a GFP (*Green Fluorescent Protein*) é unha proteína moi utilizada como biomarcador en bioloxía molecular e con múltiples aplicacións en moitos campos.

En 1988, outro biólogo norteamericano, Martin Chalfie logrou clonar o xene codifica esta proteína, inaugurando a era do uso de GFP como biomarcador.

## 7. HIPÓTESE:

Conseguiamos “vestir” as nosas bacterias co xene GFP para que destaquen ao iluminalas con luz ultravioleta nun medio LB con ampicilina e arabinosa?

## 8. MATERIAL E MÉTODOS:

### 8.1. MATERIAL:

- ⌚ Luvas
- ⌚ Matracas erlenmeier de 500 mL
- ⌚ Pinzas de suxección
- ⌚ Pipetas
- ⌚ Probetas
- ⌚ Microondas
- ⌚ Auga destilada
- ⌚ Plásmido pGLO liofilizado
- ⌚ *E. coli* liofilizadas
- ⌚ Medio de cultivo LB (habitual en biotecnoloxía)
- ⌚ Ampicilina
- ⌚ Arabinosa
- ⌚ Solución transformadora (ST)
- ⌚ Placas de Petri
- ⌚ Asa de sementeira
- ⌚ Luz ultravioleta

### 8.2. MÉTODOS

Preparación do medio de cultivo para as bacterias con auga destilada e LB agar.

Nunha parte engadiuse ampicilina, e na metade desta engadiuse tamén arabinosa, para ter placas de Petri con LB, LB/amp e LB/amp/ara.

Rehidratación das bacterias, resuspendéndoas a bacteria *E. coli*, empregando medio LB.

Sementeira das bacterias nas placas: Sementouse a bacteria en placas LB, e incubáronse.

Transformación das bacterias: Puxéronse en contacto colonias de bacterias que medraron nas placas co plásmido pGLO.

Nova sementeira: Utilizouse a preparación de bacterias postas en contacto co plásmido (+pGLO), e outras que non (-pGLO). Incubáronse de novo 2 días.

## 9. RESULTADOS:

Ao iluminar as placas sementadas con luz ultravioleta obsérvase que se cumpre a hipótese formulada, e que aquelas bacterias postas en contato co plásmido e sementadas en medio con ampicilina e arabinosa presentaban fluorescencia

## 10. CONCLUSIÓNS:

A partir dos resultados comprobamos que é posible a realización de prácticas aparentemente complexas, como son as relacionadas co campo da biotecnoloxía, nun laboratorio escolar.

Unha actividade sinxela que temos previsto realizar é aproveitar as bacterias xa transformadas para, cun pincel, crear imaxes divertidas sobre un medio de cultivo.

## 11. BIBLIOGRAFÍA:

- Biotechnology explorer: Kit de transformación bacteriana con pGLO  
<https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lse/literature/4006097ES.pdf>
- <https://biotecnologiafacil.com/>
- “ La proteína verde fluorescente”  
<https://clickmica.fundaciondescubre.es/conoce/descubrimientos/la-proteina-verde-fluorescente/>
- “Pintando en verde: GFP” <https://www.scienceinschool.org/es/article/2013/gfp/>
- AL-RAMAHI GONZÁLEZ, Yamal (2013). *Ingeniería de proteínas fluorescentes y aplicaciones de localización celular en microorganismos termófilos*. UAM.
- PEREZ MILLAN, María Inés y BECU-VILLALOBOS, Damasia. La proteína verde fluorescente ilumina la biociencia. *Medicina (B. Aires)* [online]. 2009, vol.69, n.3 [citado 2023-03-20], pp.370-374. Disponible en:  
<[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802009000400015&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802009000400015&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0025-7680.