ISSN 1665-0514

KUXULKAB'

REVISTA DE DIVULGACIÓN

División Académica de Ciencias Biológicas

• Volumen XV • Número 27 • Julio - Diciembre 2008 •

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

4 BILLONES DE

DESAPARECEN ✕ DÍA EN EL PLANETA

KUXULKAB'

ISSN 1665-0514

REVISTA DE
DIVULGACIÓN

División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Kuxulkab´ Voz chontal - tierra viva, naturaleza

CONSEJO EDITORAL

Dra. Lilia Gama
Editor en jefe

Dr. Randy Howard Adams Schroeder
Dr. José Luis Martínez Sánchez
Editores Adjuntos

Biol. Ma. Leandra Salvadores Baledón
Editor Asistente

COMITÉ EDITORIAL EXTERNO

Dra. Silvia del Amo
Universidad Veracruzana
Dra. Carmen Infante
Servicios Tecnológicos de Gestión Avanzada
Venezuela
Dr. Bernardo Urbani
Universidad de Illinois
Dr. Guillermo R. Giannico
Fisheries and Wildlife Department,
Oregon State University
Dr. Joel Zavala Cruz
Colegio de Posgraduados, Campus Tabasco

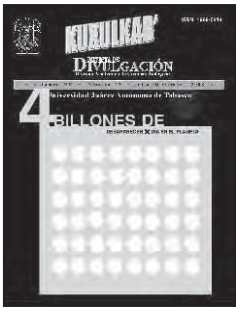
Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez
División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Publicación citada en:

- El índice bibliográfico PERIÓDICA., índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias. Disponible en http://www.dgbiblio.unam.mx
- E-mail: publicaciones@cicea.ujat.mx
- httm:// www.ujat.mx/publicacion

KUXULKAB' Revista de Divulgación de la División Académica de Ciencias Biológicas, publicación semestral de junio 2001. Número de Certificado de Reserva otorgado por Derechos: 04–2003-031911280100-102. Número de Certificado de Licitud de Título: (11843). Número de Certificado de Licitud de Contenido: (8443). Domicilio de la publicación: Km. 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco. Tel. y fax (93) 54 43 08. Imprenta: Imagen Gráfica, Morelos y Pavón No. 211. Col Miguel Hidalgo C. P. 86150 Villahermosa, Tabasco. Distribuidor: División Académica de Ciencias Biológicas Km. 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco.

Nuestra Portada:



Diseñada por:
Lilianna López Gama
Estudiante de diseño y
comunicación visual
FES Cuautitlán

Editorial

Estimados lectores de Kuxulkab´.

Durante este segundo semestre del 2008, hemos visto otra vez como la naturaleza puede causar afectaciones importantes en este territorio, de tal forma que nos requiera buscar alternativas de adaptación a estas circunstancias y por ende tener cada día una mayor conciencia de los impactos que ocasionamos al ambiente y que seguramente se magnifican dada la vulnerabilidad geográfica de nuestro estado.

En este número tenemos una diversidad de temas que tocan información importante de los recursos naturales de Tabasco y que van del agua como un recurso de interés global y los peces, al latex, incluyendo datos de los cambios que ha sufrido el territorio debido a la deforestación. En ellos se presentan resultados de tesis que se desarrollan en nuestros diferentes programas educativos, que se vinculan a algunos de los proyectos de investigación que se realizan en nuestra escuela por académicos y estudiantes. Los ocho artículos incluidos en este número presentan principalmente resultados de investigaciones aplicadas en una amplia gama de temas como: medir la deforestación importante problema ambiental de la actualidad o una propuesta de control biológico además de técnicas de acuacultura. Se presenta a su vez, información resultante de investigaciones relacionadas con la gestión en el área ambiental.

Les recordamos que esta es la revista de todos y les invitamos a enviarnos sus manuscritos, en espera de que cada vez más estudiantes se incorporen a la divulgación de la ciencia con temas que consideren serán de interés a sus compañeros y se unan a aquellos que han terminado o se encuentran realizando sus proyectos de tesis y cuyos resultados de sus investigaciones comparten con nosotros. Como siempre agradecemos a los colaboradores de otras instituciones interesadas en la divulgación de la ciencia que comparten con nosotros temas de interés general, así como los resultados de sus proyectos y los exhortamos a continuar haciéndolo. Reiteramos nuestro sincero y continuo agradecimiento a los colegas que desinteresadamente colaboran en el arbitraje que nos permite mantener la calidad de los trabajos.

Lilia Gama
Editor en Jefe

Wilfrido Miguel Contreras Sánchez
Director

División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Producción de insulina a partir de organismos bacterianos: Revisión bibliográfica para la técnica molecular

Viridiana Rosabelhi Soto Pol*
Javier Hernández Guzmán
Yazmín Morales Hernández
Onésimo Dios de la Cruz
División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Km 0.5 carretera Villahermosa-Cárdenas entronque Bosques de Saloya
vrspbjr@hotmail.com*

Resumen

La diabetes *millitus* es una de las enfermedades con mayor impacto en la sociedad. Esta problemática provoca que las personas presenten la glucosa elevada en la sangre (hiperglucemia) y otras alteraciones que cambian el metabolismo. Las enzimas de restricción se utilizan para cortar de manera abierta un plásmido, por lo que la misma enzima se utiliza para cortar el gen deseado fuera del cromosoma; esta reacción hace dos cortes que emparejan y cuando se combina el gen y el plásmido forman un enlace temporal. Otra enzima denominada ADN ligasa se utiliza para crear un sello permanente. De esta manera se induce a las bacterias que tomen los plásmidos mientras que estas mismas se desarrollan y se multiplican en el medio, generando la insulina de manera natural a partir de bacterias.

Introducción

La diabetes *mellitus* es una de las enfermedades con mayor impacto sociosanitario, no solo por su elevada frecuencia, sino por las consecuencias de las complicaciones crónicas que comporta esta enfermedad. Esta se caracteriza por tener una insuficiente producción de insulina por células denominadas beta del páncreas, esta problemática provoca que las personas presenten una elevación de la glucosa en la sangre, la cual es llamada hiperglucemia y otras alteraciones que cambian el metabolismo (Santisteban-Segundo, 1999; Bosch *et al.,* 2002).

En el caso de los individuos genéticamente predispuestos, la obesidad y el sedentarismo conducen a la resistencia a la insulina, estado que precede a la diabetes y además, se suele acompañar de otros factores de riesgos cardiovasculares como la dislipidemia, la hipertensión y factores protrombóticos y otras alteraciones como la debilidad, sueño, delgadez, obesidad, infarto, ceguera o insuficiencia renal (Bosch et al., 2002; Hryciw *et al.,* 2004).

En 1978, se logró la clonación en donde se produjeron una gran cantidad de copias idénticas de bacterias capaces de producir la insulina, para que fuese utilizada por las personas con la enfermedad de la diabetes, sin embargo, no fue hasta 1982 que se pudo comercializar la insulina producida por las bacterias hacia la disposición de los enfermos (Caputo *et al.,* 2005; Bericevik *et al.,* 2002).

Debido a que la Biotecnología, con la ayuda de la Ingeniería genética ha logrado extraer la insulina que son capaces de producir las bacterias y otras especies complejas como los porcinos y los vacunos muchas de las personas hoy día tiene la capacidad de presentar una vida con mayor normalidad (Muniappan y Ozcan, 2007; Erb, 1980).

Por toda la importancia que tiene esta enfermedad ante la población actual y por el avance de la manipulación genética a nivel molecular en microorganismos bacterianos, se pretende lograr la inserción de un ADN recombinante a otro organismo para lograr que produzca una nueva proteína, para que esta sea fabricada naturalmente por las personas.

Metodología

Técnica general

Se utilizan enzimas especiales para insertar genes humanos en el ADN de las bacterias. Los genes humanos hacen que las bacterias elaboren un nuevo material, que no eran capaces de producir con anterioridad. En condiciones adecuadas, los microbios se multiplican rápidamente, de modo que se puede generar una gran cantidad de la nueva sustancia en un corto período de tiempo. De esta manera, los genes que controlan la producción de insulina humana, se pueden colocar en una célula bacteriana, con el fin de que los microbios elaboren la insulina humana. Después, esta sustancia es extraída del cultivo de bacterias y preparada para su uso por parte de los enfermos que la precisen (Finochieto *et al.,* 2008)

Método recombinante para la producción de insulina

Primeramente, se clonan los genes con la *β*-galactosidasa en el plásmido pBR322 (Figura 1). La recombinación de los plásmidos son amplificados en *E. coli*. Se lleva a cabo una transformación de la bacteria, en dos nucleótidos diferentes, luego la reacción entre la proteína *β*-gal y el gen de la insulina con la metionina hace que el complejo proteico cambie, expulsando de esta manera la molécula de la metionina y produciendo al final la insulina con menos aminoácidos que al inicio del proceso por el método de la recombinación (Ladisch y Kohlmann, 1992).

El mecanismo de la separación de la insulina es a través del sistema RP-HPLC (Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography) por sus siglas en inglés, la cual es utilizada para separar la insulina de otras especies, basada en una gran variedad de diferentes aminoácidos y gracias a la hidrofobicidad de la insulina relacionada con otros componentes. La tendencia de las proteínas debe ser generalmente con las proteínas más grandes que se encuentren en una fase estacionaria, en la cual tienen una gran limitación del soporte de alcalinidad.

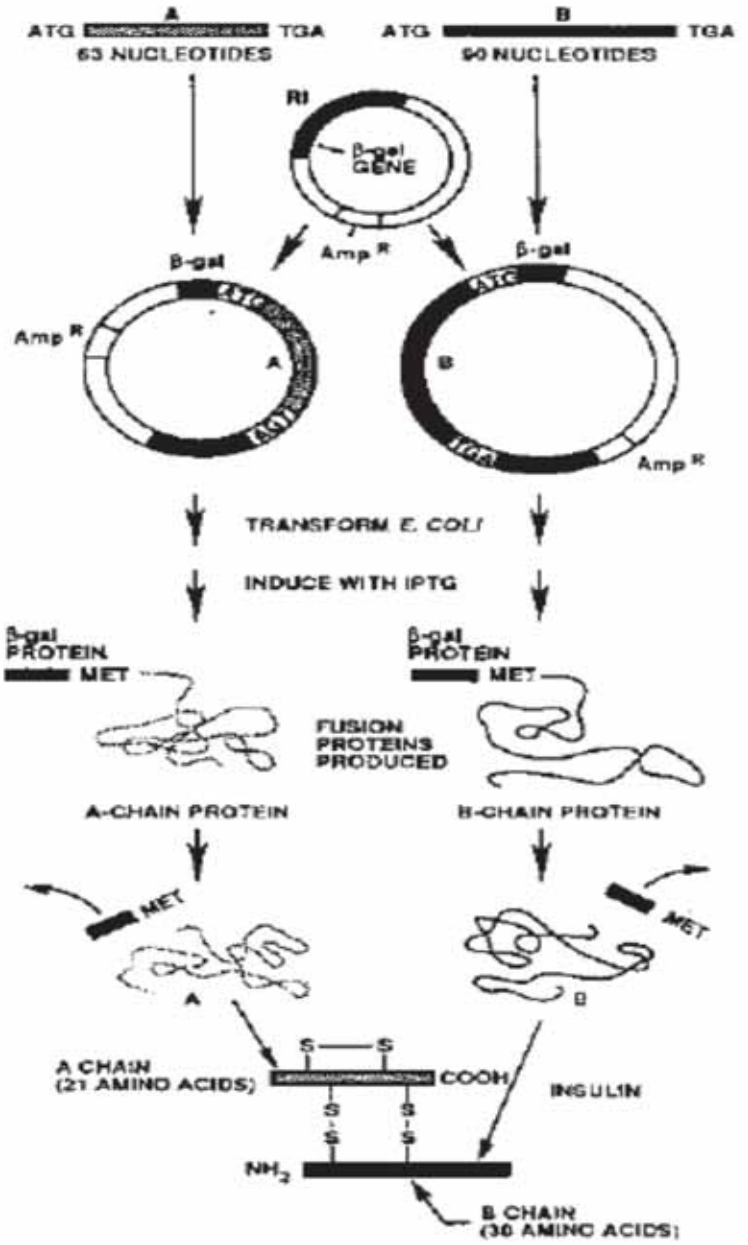


Figura 1. Producción de la insulina a través de la bacteria *Escherichia coli.*

Resultados

Para lograr el correcto funcionamiento se necesita llevar a cabo ciertos pasos: primero, el gen del interés debe ser identificado, por ejemplo, el gen de la insulina tendría que ser aislado de las células bacterianas. Un plásmido es una secuencia circular, *double-stranded* de ADN, que las replica en bacterias y que son parte del cromosoma bacteriano. El gen se inserta en el plásmido en donde es tomada por una bacteria. Las bacterias se

reproducen y comienzan a generar la proteína deseada (Shehata, 2008).

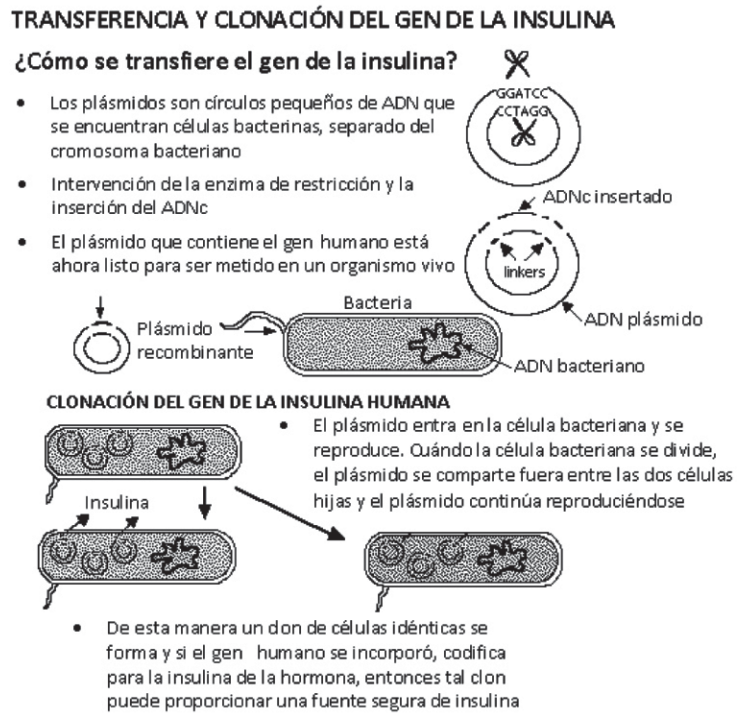


Figura 2. Ilustración que demuestra como la insulina humana se puede producir por las bacterias, usando el ADN recombinante (Fuente: Thinkquest, 2008 modificado).

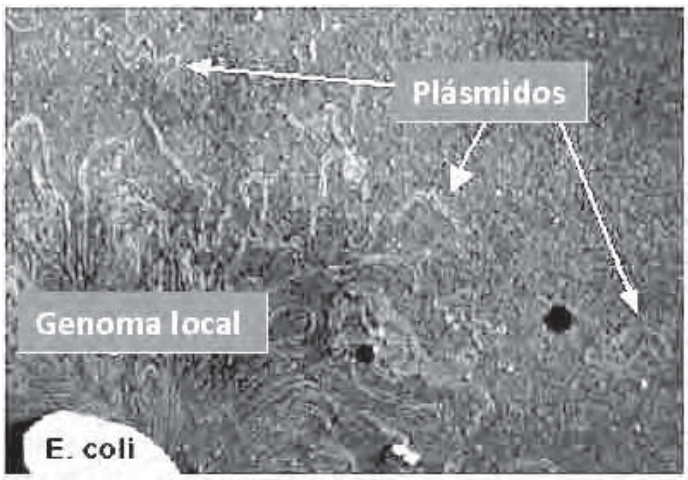


Figura 3. Micrografía electrónica de una célula de *E. coli* donde se realiza la ruptura del ADN. Una porción de la molécula de ADN se enlaza a partir de 4.6 millones de pares de bases, codificando aproximadamente 4100 genes. Los círculos pequeños son los plásmidos.
(Fuente: Thinkquest, 2008 modificado).

Plásmidos bacterianos (Kimball, 2004)

Las enzimas de restricción fueron descubiertas en 1968, las cuales son parte importantes durante el proceso de producción de insulina. En la naturaleza, las enzimas de restricción cortan en una secuencia de nucleótidos, llamada "vista de restricción", la cual se presenta con 4-8 nucleótidos largos. La secuencia en la cadena de ADN que se presenta en las bacterias se complementa con un grupo metílico (-CH3) en donde la adenina y la citosina evita que la enzima de restricción actúe de manera adecuada. El ADN que en algún momento es externo, tal como un fago (un virus o una bacteria) es dividido en secciones a través de la enzima de restricción. Aunque no todas las bacterias cuentan con las enzimas de restricción hay en la actualidad un gran número de estas enzimas que se han descubierto y que son igual de efectivas (Arakaki *et al.,* 2008).

Las enzimas de restricción se utilizan para cortar un plásmido abierto, la misma enzima se utiliza para cortar el gen deseado fuera del cromosoma. Esto hace dos cortes que emparejan y cuando se combina el gen y el plásmido forman un enlace temporal, posteriormente este es sellado con el ADN ligasa (Moks *et al.,* 1987).

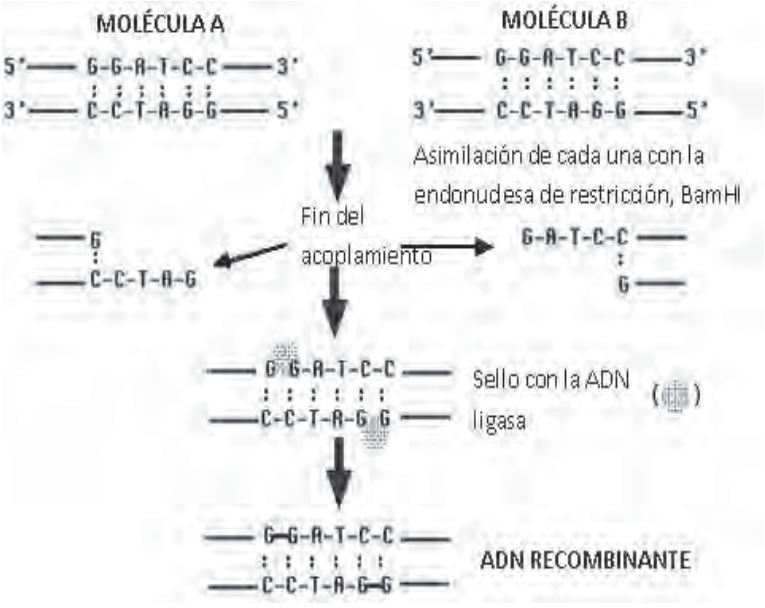


Figura 4. El funcionamiento de una enzima de restricción. El sitio de restricción es GGATCC (Kimball, 2004 modificado).

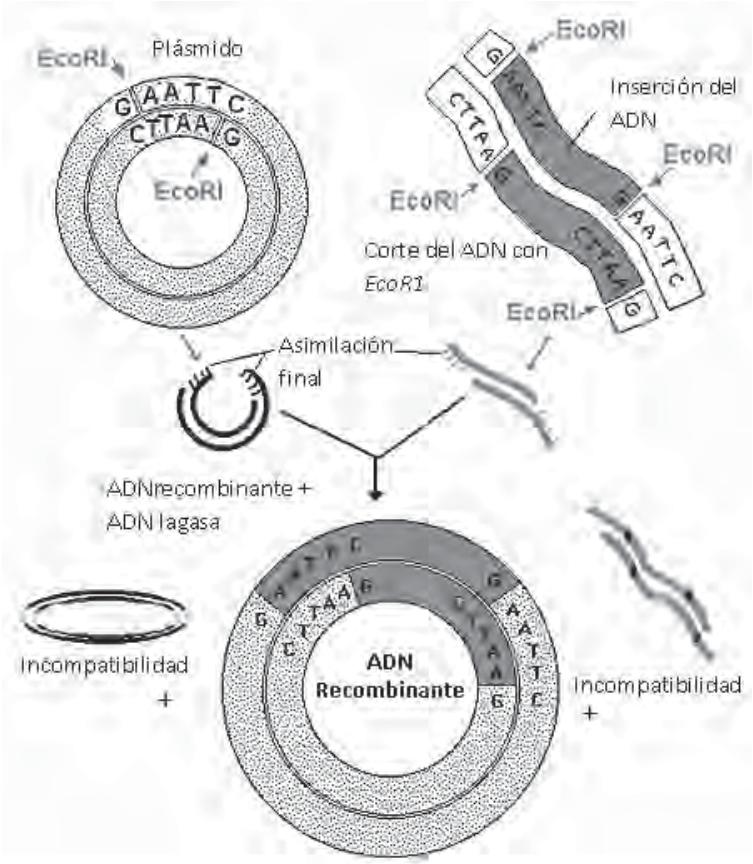


Figura 5. Interacción de la enzima de restricción con el ADN en un plásmido. El sitio de restricción es GAATTC (Fuente: Thinkquest, 2008 modificado).

En la actualidad, los científicos producen un ADN recombinante a gran escala, en donde millones de plásmidos se mezclan con millones de genes, millones de enzimas de restricción realizan una gran cantidad de cortes, los plásmidos atan a los genes múltiples, haciendo de esta técnica muy compleja (Muniappan y Ozcan, 2007).

Los plásmidos que comienzan el procedimiento se llaman vectores reproductivos que es una molécula que puede llevar el ADN externo a una célula y replegarla en esta misma. Este plásmido también incluye un gen que le confiere resistencia a la ampicilina y un segundo gen denominado lacZ. El sito de restricción en donde la enzima de restricción realiza un corte se localiza en el gen lacZ, si el ADN externo se inserta en el gen lacZ donde la enzima de restricción realizó su corte, el gen lacZ da como terminado su función. Las enzimas de restricción se mezclan con los plásmidos y se agregan los genes deseados, es decir, aquellos genes que se desean combinar con los plásmidos. En donde se inducen a las bacterias que interactúen con los plásmidos, al interactuar, las bacterias cambian de color. Después de la interacción de las bacterias con los plásmidos, estos se multiplican en un medio de ampicilina (Ladisch y Colhmann, 1992).

Si un grupo de bacterias toma un plásmido que tiene el gen intacto de lacZ, significa que ese plásmido no es recombinante, en donde tomará un color azulado. Mientras que las bacterias que no tomaron ningún plásmido no tendrán la capacidad crecer dentro de la ampicilina, por lo que solamente aquellas bacterias que tomaron el plásmido crecerán y aquellas que tengan insertado el gen de lacZ tendrán una apariencia blanquecina (Ladisch y Kohlmann, 1992).

Para realizar los marcadores de forma radiactiva o con un marcador fluorescente en el ADN desnaturalizado de las bacterias se puede efectuar con variaciones de temperatura o con productos químicos. Cuando estas son marcadas, la cadena complementaria del ADN de la bacteria se enlaza con el gen de la insulina. De esta manera sabemos cual es la bacteria que tiene el gen deseado de la insulina, en donde esta misma puede colocarse como medio de cultivo para que se pueda duplicar el gen de la insulina, también es conocida como la técnica de hiperhibridación del ácido nucleico (Ladisch y Kolhmann, 1980).

Conclusión

La técnica de recombinación de ADN de los plásmidos bacterianos es parte de una de las tecnologías de la ingeniería genética con grandes aplicaciones de interés científico y económico. Estas aplicaciones tienen un amplio espectro de beneficios, no solo para la medicina sino también para la industria farmacéutica y la fabricación en masa de gran cantidad de productos derivados de la producción de proteínas. En general, gracias a las actuales técnicas para la manipulación del ADN es posible producir en gran cantidad insulina genéticamente compatible con el paciente. Es prácticamente idéntica a la producida de manera natural en el organismo humano y por lo tanto completamente útil y aprovechable para aquellas personas que no pueden producir la insulina denominados personas diabéticas. La producción de la insulina mediante los procesos anteriormente

expuestos abre las puertas a una nueva industria de producción en masa que beneficia a millones de personas en Tabasco y de todo el mundo.

Literatura citada

Anunson, A., Baker, D. y Cracraft, J. 1999. Escuela del gen. Recuperado de Think Quest (30/08/2008): http://library.thinkquest.org/28599/agriculture.htm?tq skip1=1.

Arakaki, A., Nakazawua, H., Nemoto, M., Mori, T. and Matsunaga, T. 2008. Formation of magnetite by bacteria and its application. Journal of the Royal Society Interface. 5: 977-999.

Baricevic, I., Nedic, O., Nikolic, J. A., Marjanovic, S., Ristanovic, E. and Lako, B. 2002. Alteration of circulating insulin-like growth factors in patients infected with bacteria *Helicobacter pylori* or *Francisella tularensis.* Jugoslov. Med. Biohem. 21(4): 339-343.

Bosch, X., Alfonso, F. y Bermejo, J. 2002. Diabetes y enfermedad cardiovascular. Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI. Revista Española de Cardiología. 55(5): 525-532.

Caputo, M., Cerrone, G. E., López, A. P., González, C., Mazza, C., Cedola, N., Puchulu, F. M., Targovnik, H. M. y Frechtel, G. D. 2005. Genotipificación del gen HLA DQBB1 en diabetes autoinmune del adulto (LADA). Medicina. 65: 235-240.

Erb, P. 1980. Analysis of the *in vitro* immune response to insulin. Immunology. 40: 385-394.

Finochieto, P., Barreyro, F., Holod, S., Peralta, J., Franco, M. C., Méndez, C., Converso, D. P., Estévez, A., Carreras M. C. and Poderoso, J. J. 2008. Control of muscle mitocondria by insulin entails activation of Akt2-mtNOS pathway: Implications on for the metabolic syndrome. 3(3): 1-13.

Hanna, K. 2004. Realce genético. Recuperado del Instituto Nacional de la Salud (25/07/2008): http//www.genome.gov/pfv.cfm?pageid=10004767.

Hryciw, D. H., Lee, E. M., Pollock, C. A. and Poronnik, P. 2004. Molecular changes in proximal tubule function in diabetes *mellitus.* Proceedings of the Australian Physiological and Pharmacological Society. 34: 75-83.

Instituto de Tecnología de Massachusetts, MIT. 1989. Genes de la reproducción. Recuperado: (09/09/2008): http://web.mit.edu/esgbio/www/rdna/cloning.html.

Kimball, J. W. 2004. Reproducción recombinante del ADN y del gen. Recuperado: (17/07/2008): http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/R/RecombinantDNA.html#Plasmids.

Ladisch, M. R. and Kohlmann, K. L. 1992. Recombinant human insulin. Biotechnology Prog. 8(6): 469-478.

Moks, T., Abrhamsén L., Holmgren, E., Bilich, M., Olsson, A., Uhlén, M., Pohl, G., Sterky, C., Hultberg, H., Josephson, S., Holmgren, A., Jornvall, H. and Nilsson, B. 1987. Expression of human insulin-like growth factor I en bacteria: Use of optimized gene fusion vectors to faciliate protein purification. Biochemistry. 26: 5239-5244.

Muniappan, L. y Ozcan, S. 2007. Induction of insulin secretion in engineered liver cells by nitric oxide. Biomed Central Physiology. 7(11): 1-9.

Santisteban-Segundo, S. 1999. Epidemiological and genetic aspects of Diabetes *mellitus* in the Peruvian population. Revista Española de Cardiología. 22(3): 321-330.

Shehata, M. F. 2008. Important genetic checkpoints for insulin resistance in salt-sensitive (S) dahl rats. Cardiovascular Diabetology. 7: 7-19.

CONTENIDO

El Valor Socio-Ambiental del Agua: El Reto Futuro de la Política Pública en México
JOSÉ A. OSEGUERA PONCE **5**

Análisis de Regresión Lineal en un Sistema de Información Geográfico para determinar la Tasa de Deforestación en el Estado de Tabasco
JUAN JAVIER CASTILLO RAMIRO, LILLY GAMA Y CAROLINA ZEQUEIRA LARIOS **15**

El camino hacia el *Homo sapiens*
ARMANDO ROMO LÓPEZ Y JULIA MARÍA LESHER GORDILLO **19**

Hongos Entomopatógenos como una alternativa en el control Biológico
MANUEL ANTONIO GARCÍA GARCÍA, SILVIA CAPPELLO GARCÍA,
JULIA MARÍA LESHER GORDILLO Y RENE FERNANDO MOLINA MARTÍNEZ **25**

Producción de insulina a partir de organismos bacterianos: Revisión bibliográfica para la técnica molecular
VIRIDIANA ROSABELHI SOTO POL, JAVIER HERNÁNDEZ GUZMÁN,
YAZMÍN MORALES HERNÁNDEZ Y ONÉSIMO DIOS DE LA CRUZ **29**

El látex en México, Una Visión Histórica
RENÉ FERNANDO MOLINA MARTÍNEZ Y JULIA MARÍA LESHER GORDILLO **35**

Determinar el Análisis de Riesgo Toxicológico de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos a la salud humana de los trabajadores, utilizando el modelo Caltox
JOSÉ GUADALUPE CARMEN MORALES FORTANEL **41**

Técnicas de Reversión Sexual Aplicadas en Acuicultura
JUAN MANUEL VIDAL LÓPEZ, WILFRIDO MIGUEL CONTRERAS SÁNCHEZ,
CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ, ARLETTE AMALIA HERNÁNDEZ FRANYUTTI
Y ULISES HERNÁNDEZ VIDAL **49**

NOTA

Preferencias alimenticias de las especies comerciales más importantes del genero Lutjanus en el litoral costero del estado de Tabasco, México
ARTURO GARRIDO MORA, PAVEL ALEKSEI CASTILLO–ENRIQUEZ Y FCO. JAVIER FELIX TORRES **55**

Buscadores Verdes (Green Browsers)
LILLY GAMA **59**

NOTICIAS

Proyectos de Investigación **63**

Avisos **69**

DACB

ISSN - 1665 - 0514