UNIVERSIDAD DE GRANADA

CEEBI
CONGRESO ESTATAL DE ESTUDIANTES DE BIOCIENCIAS

Subclonaje y preproinsulina recombinante

Autora: Miriam Gámiz Aguilera

Grado de Bioquímica en la Unversidad de Granada

Resumen

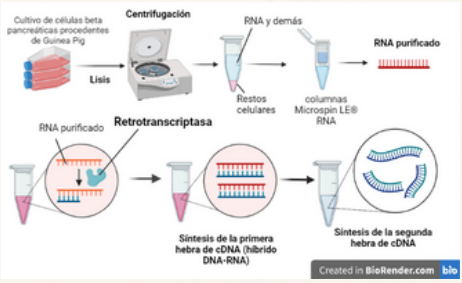
Partiendo del mRNA obtenido a partir de las células pancreáticas de *Guinea Pig*, se puede obtener un cDNA el cual se emplea como inserto que se liga con el vector pEt 11a. De esta forma las bacterias *Escherichia coli BL21* son transformadas con dicho producto de ligación y, posteriormente, llevarán a cabo la expresión de la proteína recombinante.

Introducción

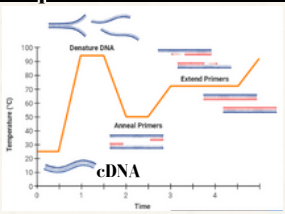
La insulina es sintetizada por las células β-pancreáticas. La pre-proinsulina es el primer producto de la traducción del mRNA obtenido a partir de la transcripción del gen INS, y tras su hidrolisis obtenemos insulina.

Metodología

1.Obtención de cDNA a partir de mRNA



2.PCR: amplificación de la secuencia de interés



2.1.Diseño de primers

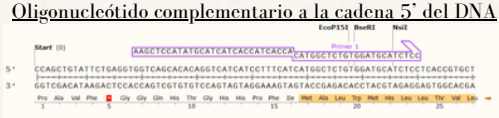
- *Primer 1 (en 5') constituido por:*

  Varios codones extra: facilita el anclaje de la enzima.

  Diana de la enzima de restricción NdeI: incluye un codón de iniciación (ATG) .

  Cola de histidinas

  Oligonucleótido complementario a la cadena 5' del DNA

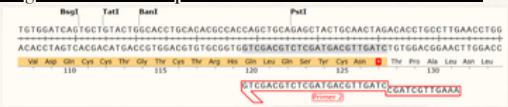


- *Primer 2 (en 3'): constituido por:*

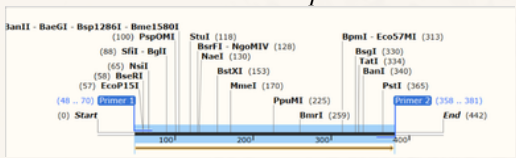
  Varios codones extra

  Diana de la enzima de restricción NheI

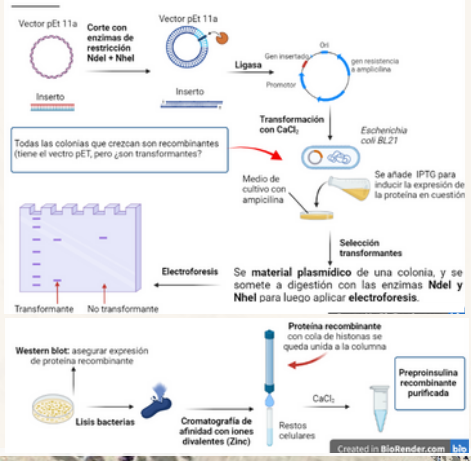
  Oligonucleótido complementario a la cadena 5' del DNA



- *Resultado de la PCR: inserto que se unirá al vector*



3.Clonaje y purificación de la proteína recombinante



Resultados y Discusión

Destaca la posibilidad de producir proteínas recombinantes que se usen para el tratamiento de enfermedades, como es el caso de la insulina que se emplea como tratamiento para la diabetes. Si bien, el uso de otro vector (pUC 18) facilitaría la tarea de selección de transformantes(sin necesidad de realizar electroforesis.

Conclusión

Diseño de un protocolo eficiente para la obtención de pre-proinsulina recombinante.

Bibliografía

- Perera, J. Tormo, A. García, J.L. (2002). Ingeniería Genética. Ed. Síntesis, S.A.
- Baeshen, N. A., Baeshen, et al (2014). Cell factories for insulin production. Microbial cell factories.