

El paper de la biotecnología en el medi ambient

Dra. Natalia Hernández Herreros

Grup Biotecnologia de Polímers

Centre d' Investigacions Biològiques Margarita Salas

Els plàstics són materials excepcionals

Els materials plàstics han permès el gran desenvolupament industrial i tecnològic del segle XX i han donat lloc al tipus de vida que portem en l'actualitat

Barats

Resistència a la humitat

Elasticitat

Mal-leabilitat

Plàstics més comuns



PET



HDPE



PVC



LDPE



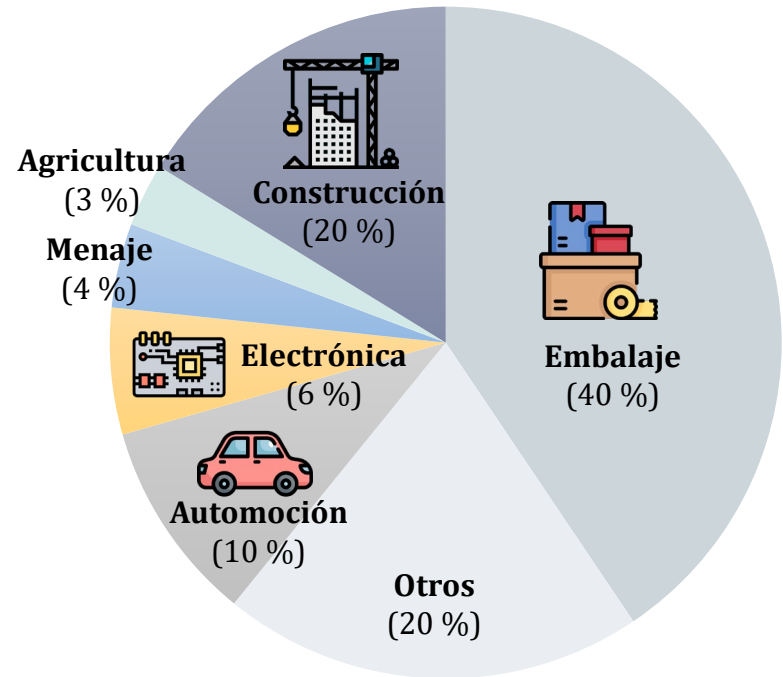
PP



PS



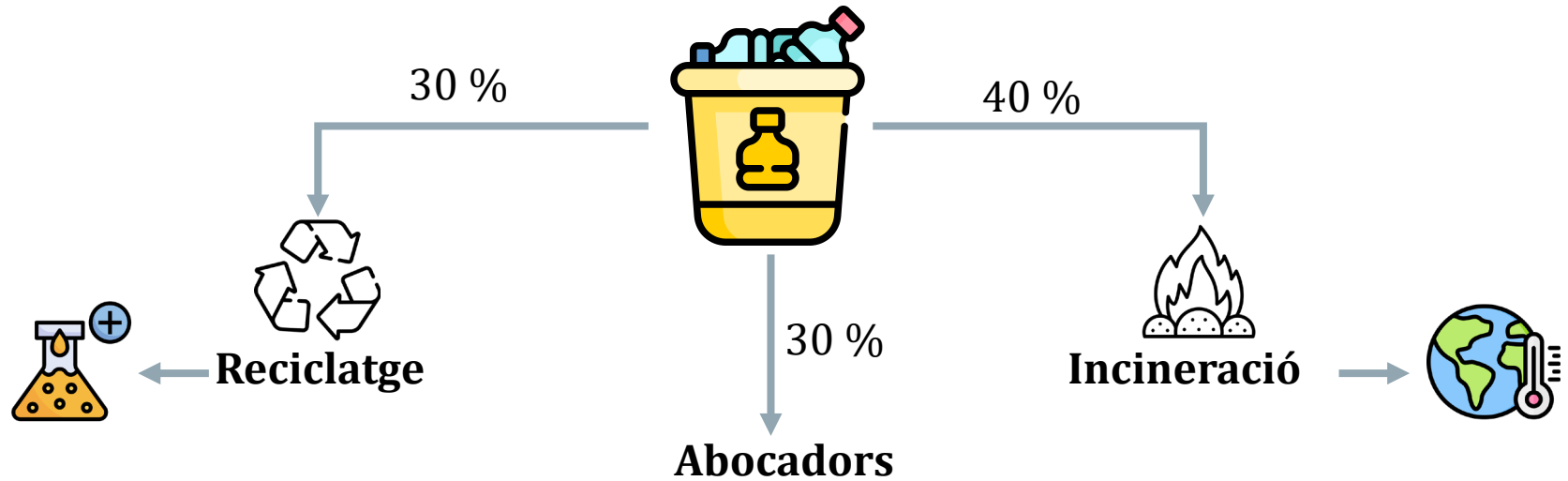
Sectors amb més demanda



Modificado de *Plastics Europe*, 2020

Productes d'un sol ús

Producció mundial de plàstics: 368 milions de tones a l'any³



Ecosistemes i éssers vius

Plastics Europe, 2020³

Productes d'un sol ús

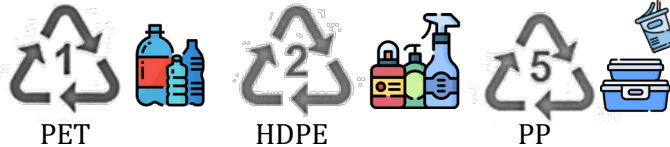


Reciclatge

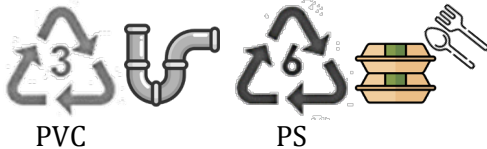
No tots els plàstics es reciclen per igual

- Es requereixen materials gairebé purs.
- El polímer perd les seves propietats en cada cicle.

COMUNAMENT



DE VEGADES



GAIREBÉ MAI



Incineració

Alternativa per a plàstics no reciclables

- Susceptible a mescles de materials
- Recuperació energètica



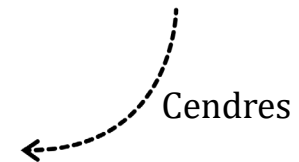
1 tona de plàstic



1,4 tones de carbó

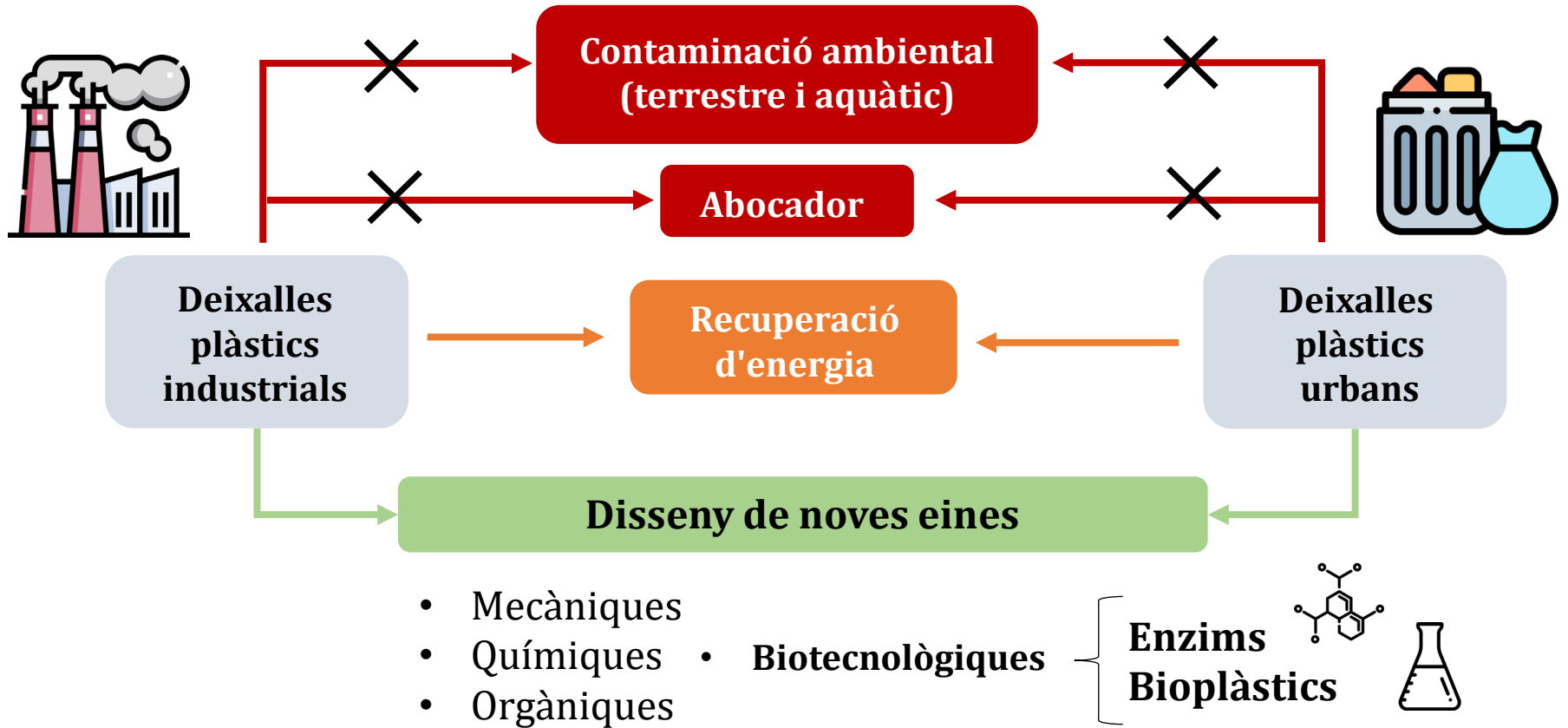
Alliberament de CO₂ a l'atmosfera

- Ciments
- Formigons
- Materials ceràmics
- Paviments



Cendres

Els problemes dels residus plàstics



Sobre què investiguem? BIOPLÀSTICS

Un bioplàstic és un plàstic d'ORIGEN NATURAL produït per un organisme viu i amb caràcter BIODEGRADABLE

Ampolla de bioplàstic



Imagen de Ercros S.A

Plàstic convencional



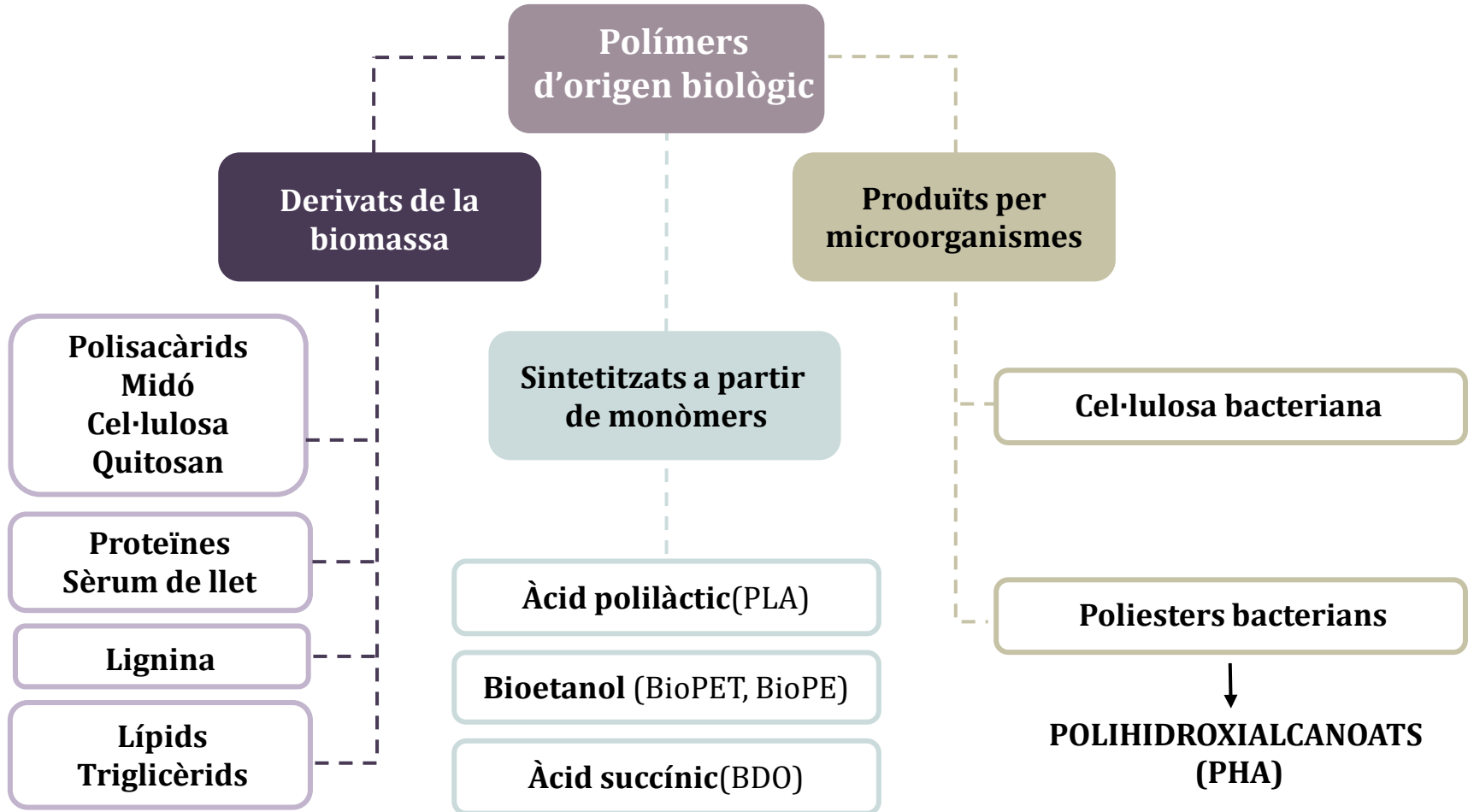
20 anys



450 anys

Els bioplàstics: polímers de base biològica

- Derivats de recursos renovables
- De caràcter biodegradable, biocompatibles i/o compostables
- Propietats mecàniques i tèrmiques similars als plàstics d'origen petroquímic

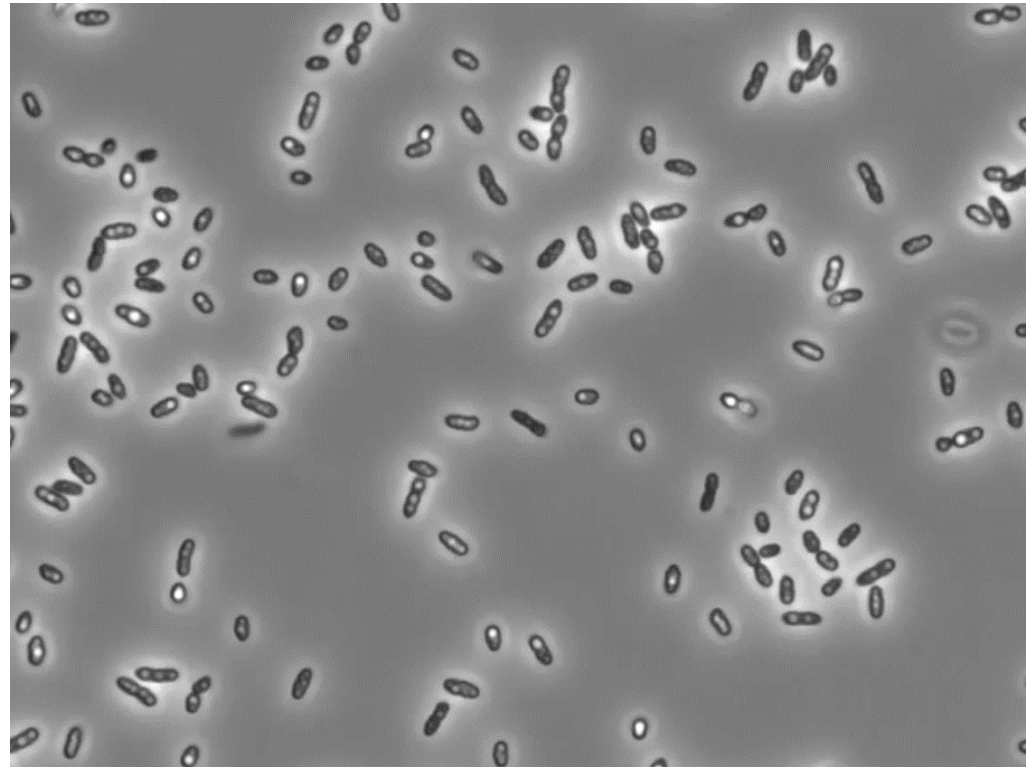


Com produïm els bioplàstics? Utilitzant bacteris

Bacteris a través d'un microscopi(40X)



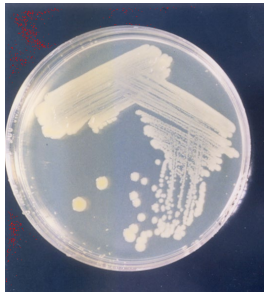
Bacteris creixent en una placa Petri



Producció de bioplàstic al laboratori

1

Fermentació



Bacteri productor de PHA

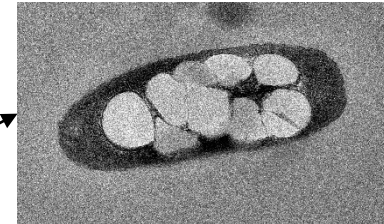
Nutrients



0 h



16 h



3

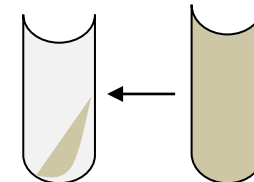
Extracció amb solvents orgànics



Bioplàstic

2

Centrifugació



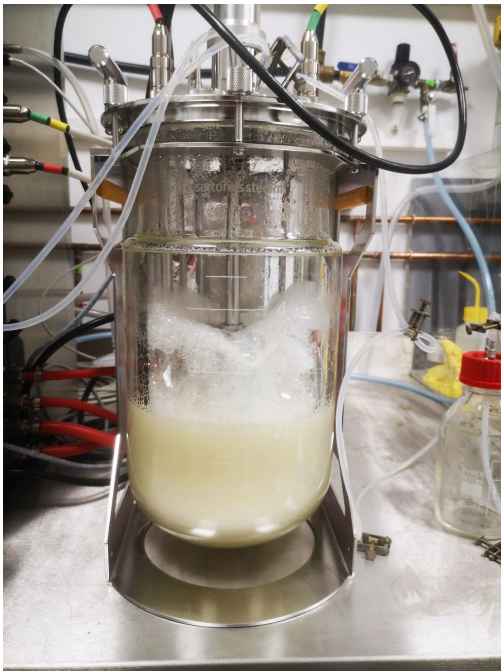
4,000 × g
15 min

4

Anàlisi del polímer

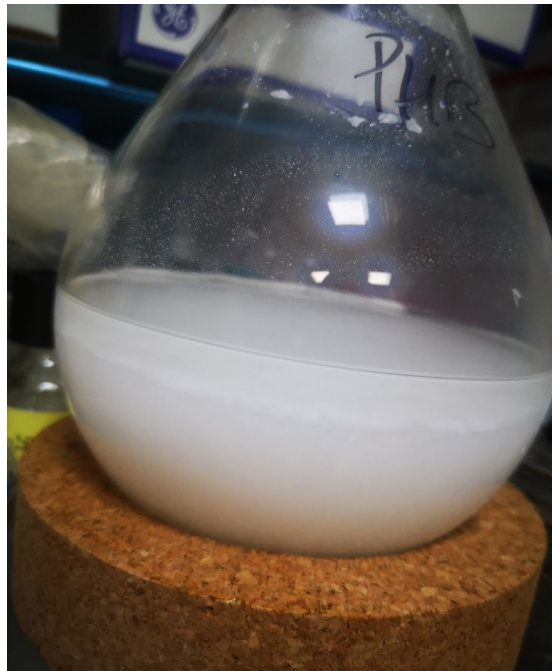
Trenquem la membrana dels nostres bacteris i obtenim un líquid blanc

1



Biorreactor

2



Bioplàstic líquid

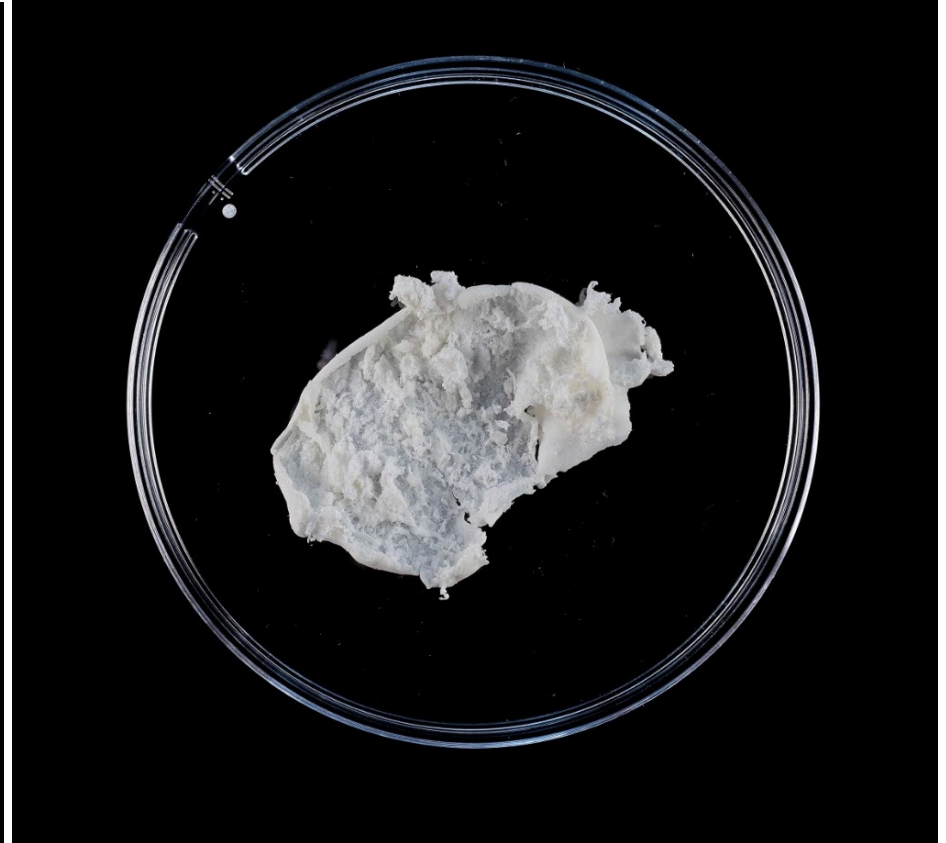
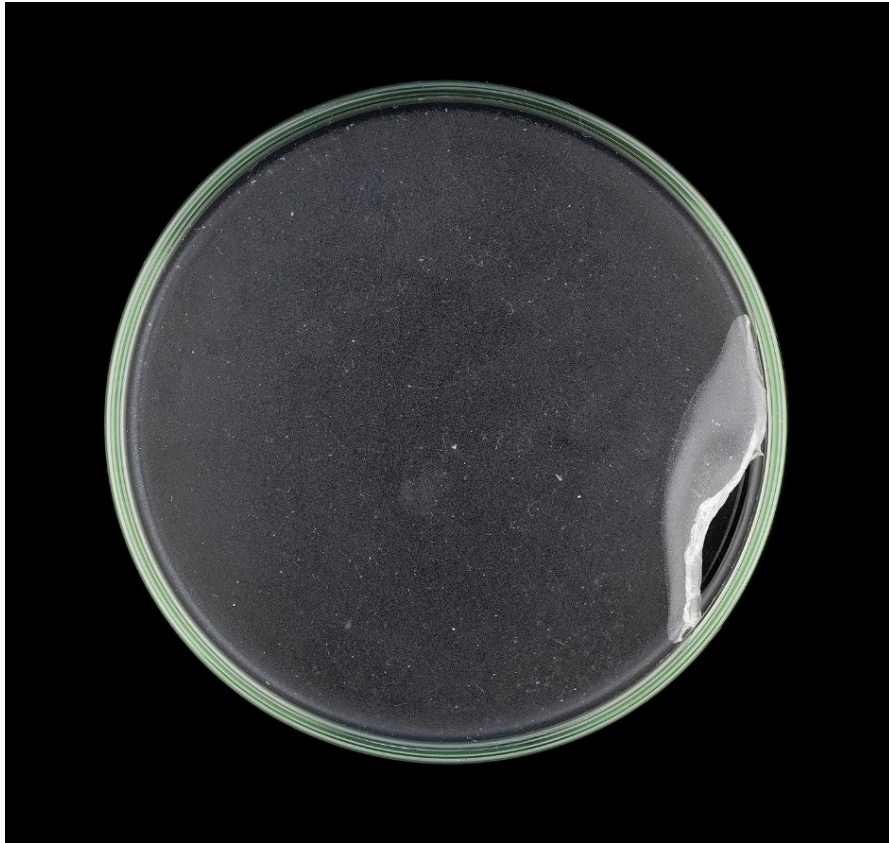
3



Bioplàstic en procés d'assecatge

Un cop sec...

Imatges CIB-CSIC

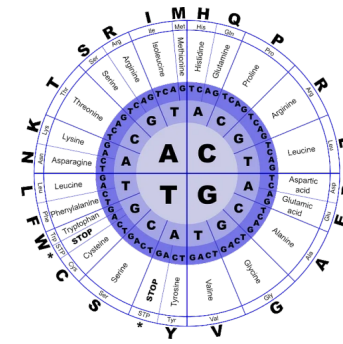
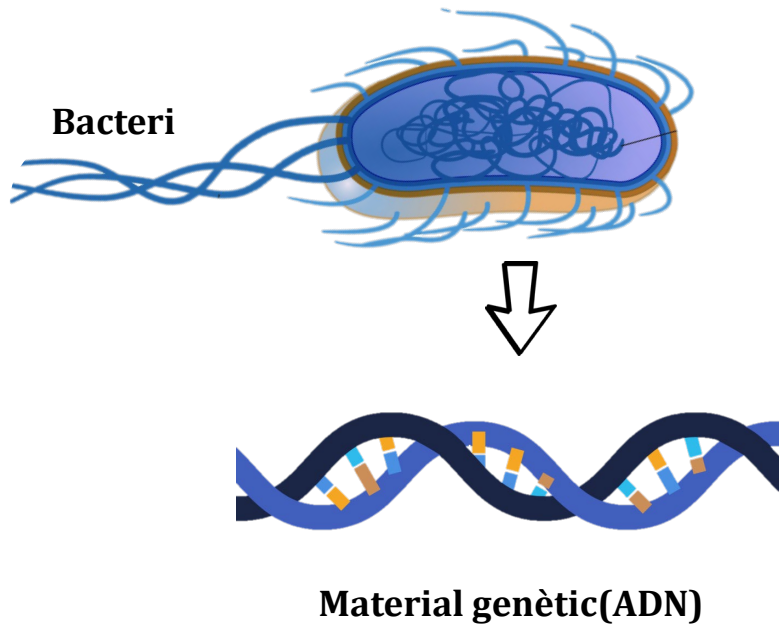


Cada cep bacterià produeix un plàstic amb unes característiques determinades

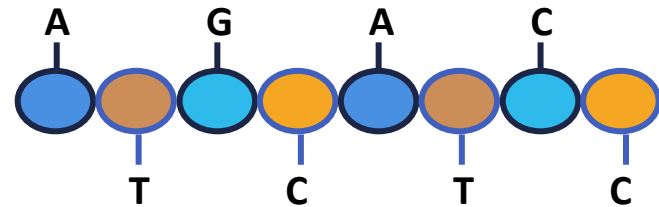
La biotecnologia

La biotecnologia és l'aplicació de la tecnologia als sistemes biològics per crear productes

L'ENGINYERIA GENÈTICA



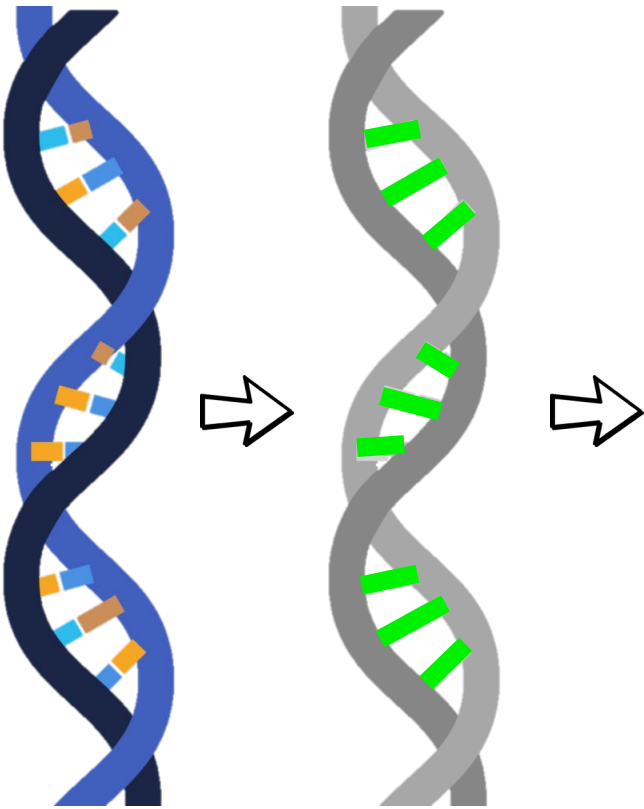
Codi genètic



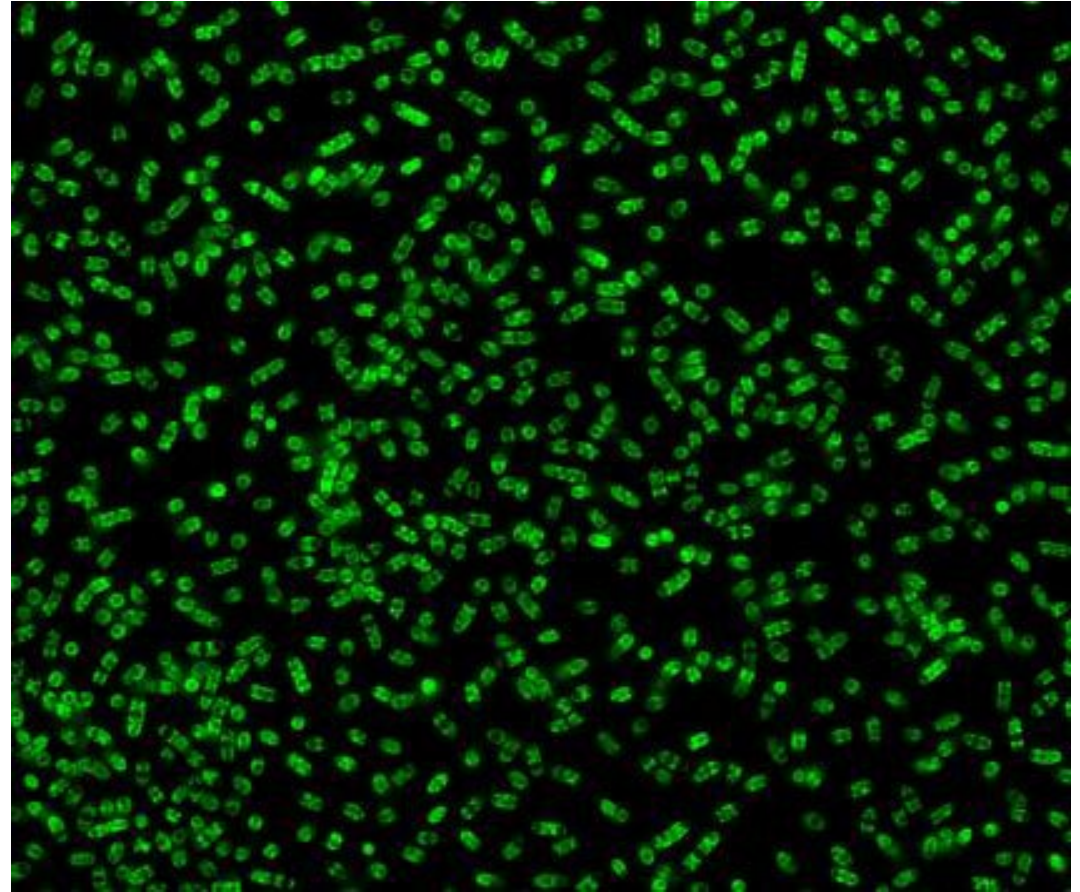
Gens

Contenen informació que determina les característiques dels bacteris

Exemple pràctic: bacteris fluorescents

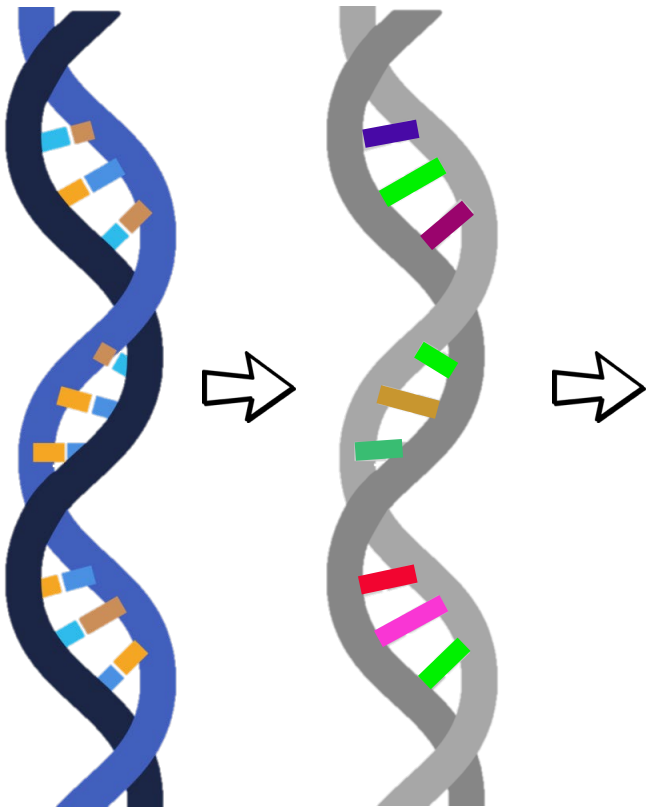


Gens amb fluorescència

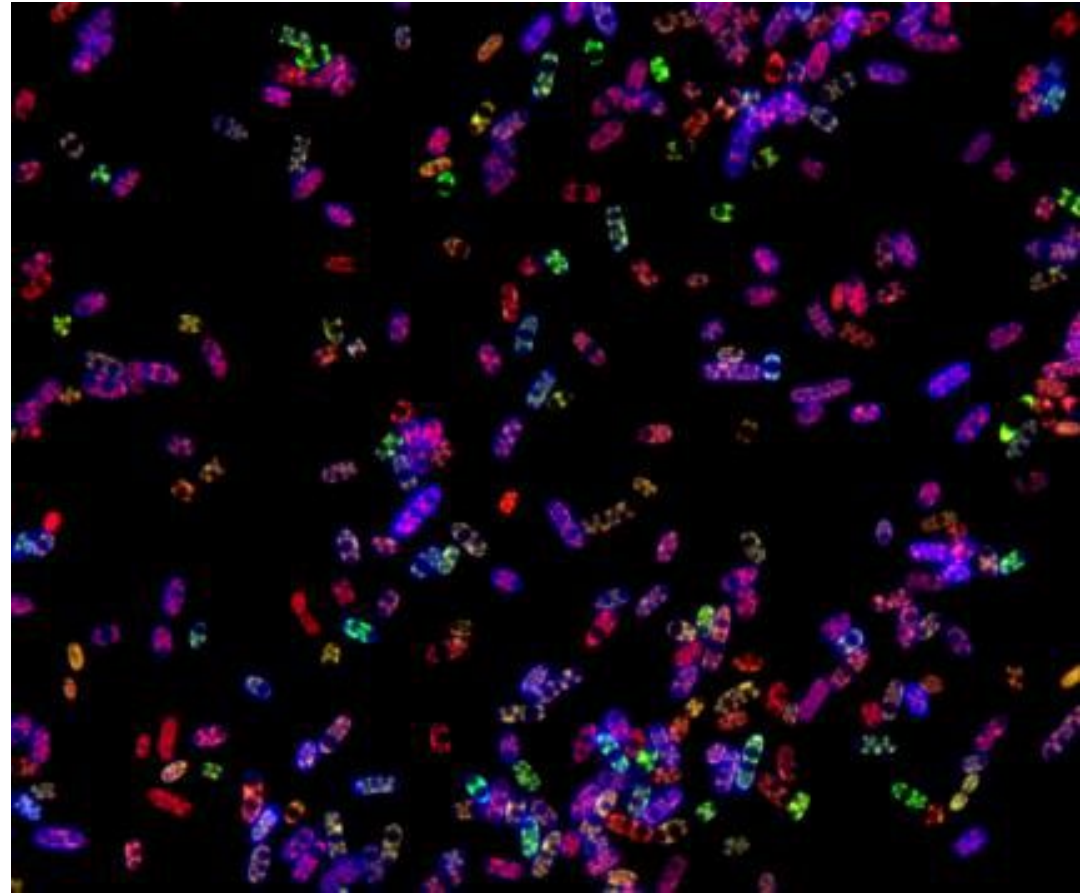


Imatges CIB-CSIC

Exemple pràctic: bacteris fluorescents



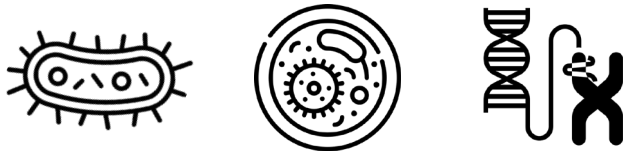
Gens amb fluorescència



Imatges CIB-CSIC

Aplicacions de l'enginyeria genètica

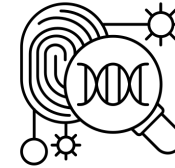
Medicaments i teràpia gènica



- Insulina
- Hormones del creixement
- "Substitució de gens defectuosos"

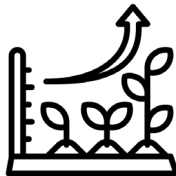
Medicina forense

Empremta genètica
Identificar víctimes/agressors
Estudis antropològics



Agricultura i ramaderia

- Temps de maduració dels fruits
- Augmentar la resistència a plagues
- Millorar la tolerància al fred i calor



Medi ambient

- Bioremediació
- Biosensors
- Disseny de biocatalitzadors



**Ha arribat el moment de practicar...
al laboratori!**

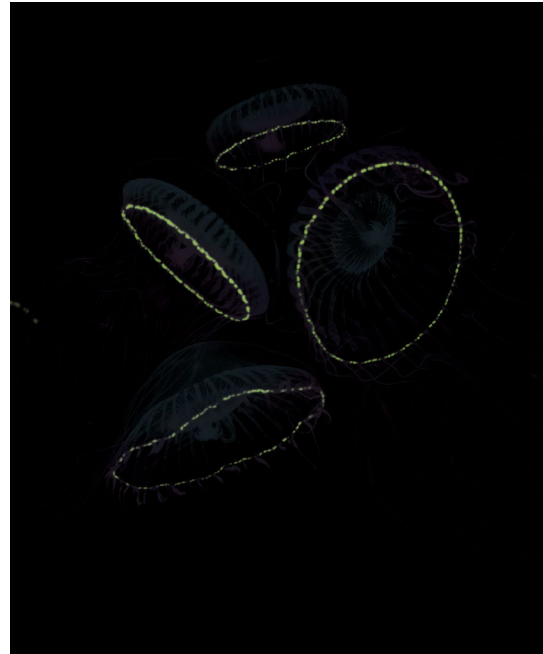


Kit transformació bacteriana pGLO

Proteïna verda fluorescent (GFP)



Under visible light

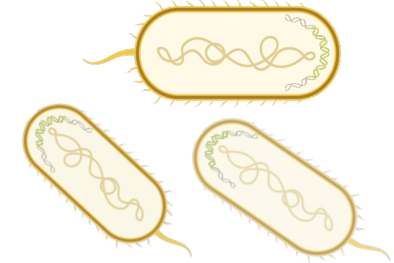
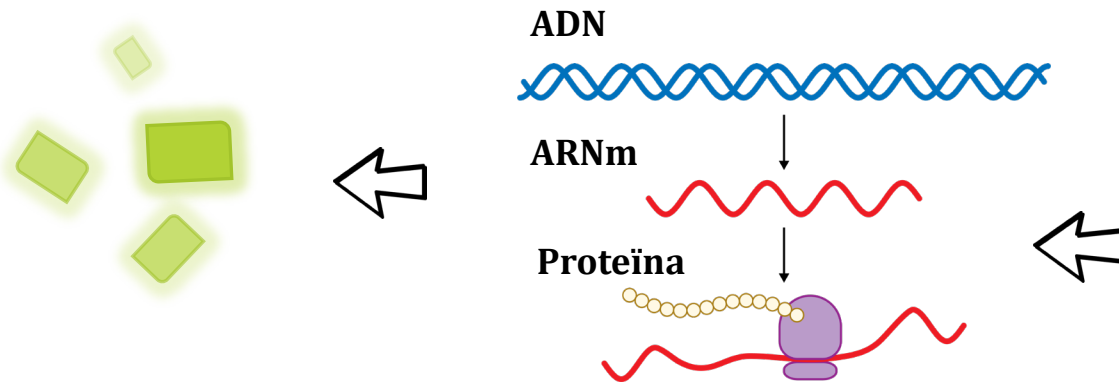
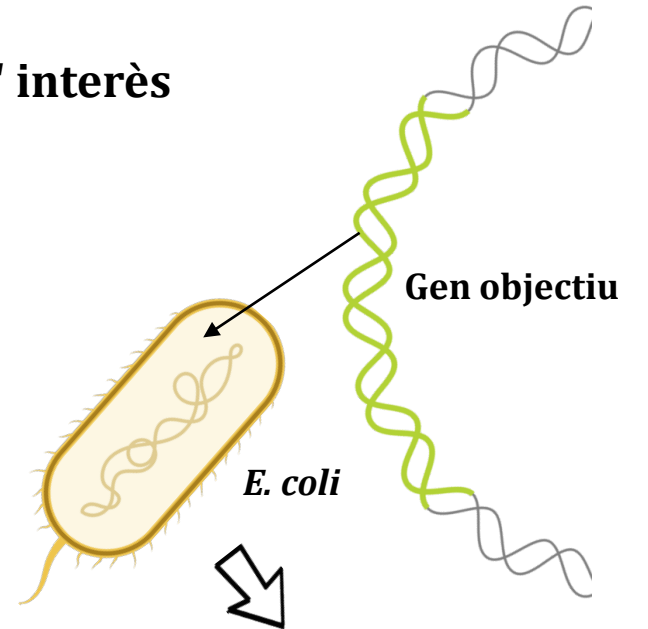


Under ultraviolet (UV) light

The jellyfish *Aequorea Victoria* has a gene for green fluorescent protein which glows green under UV light.

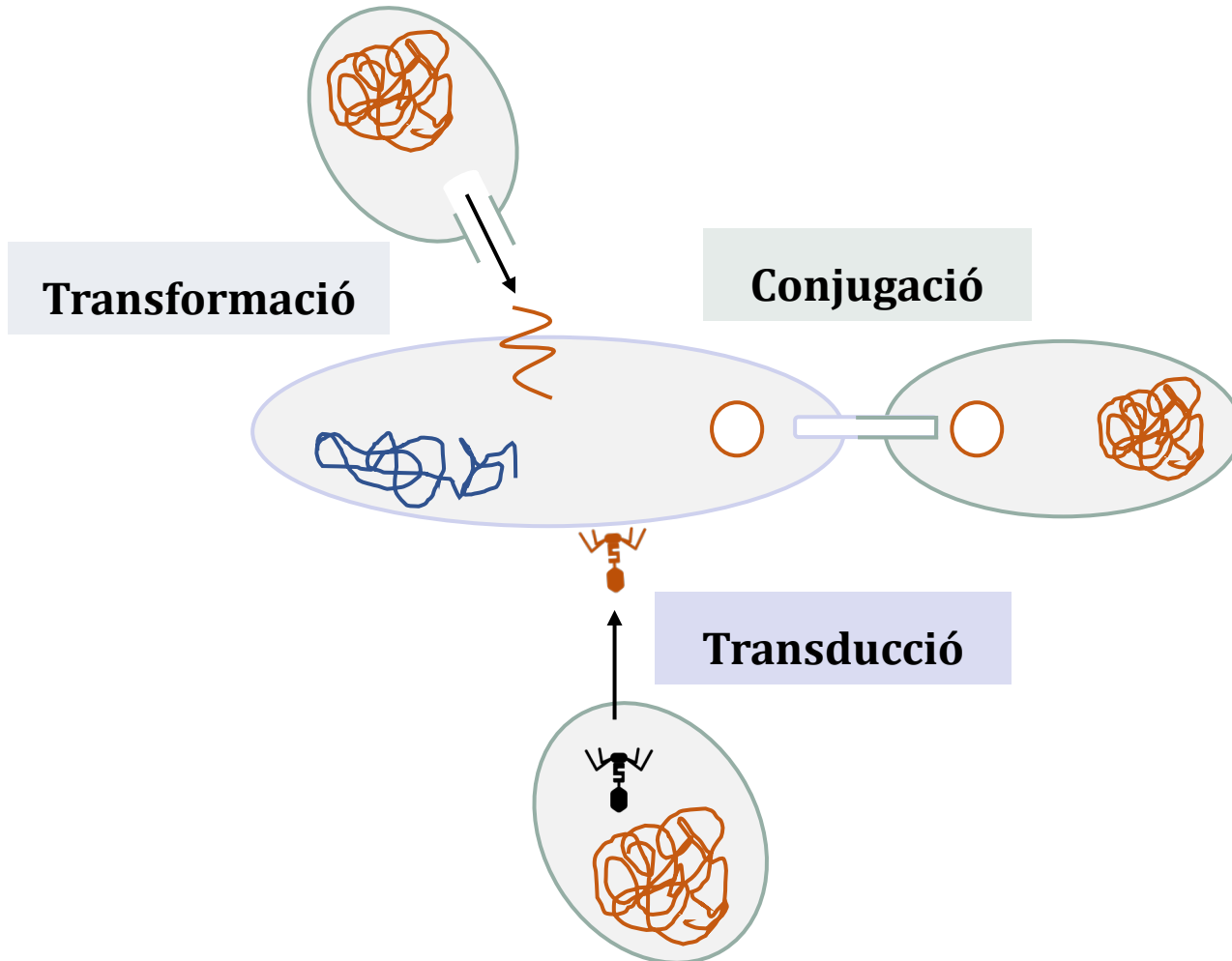
Producció de proteïnes recombinants

1. Identificar el gen que codifica la nostra proteïna d'interès
2. Introduir el gen en un bacteri
3. Com? Mitjançant recombinació bacteriana
4. Aprofitar el creixement dels bacteris
5. Els bacteris transcriuen i tradueixen el gen
6. Nosaltres només hem de purificar les proteïnes

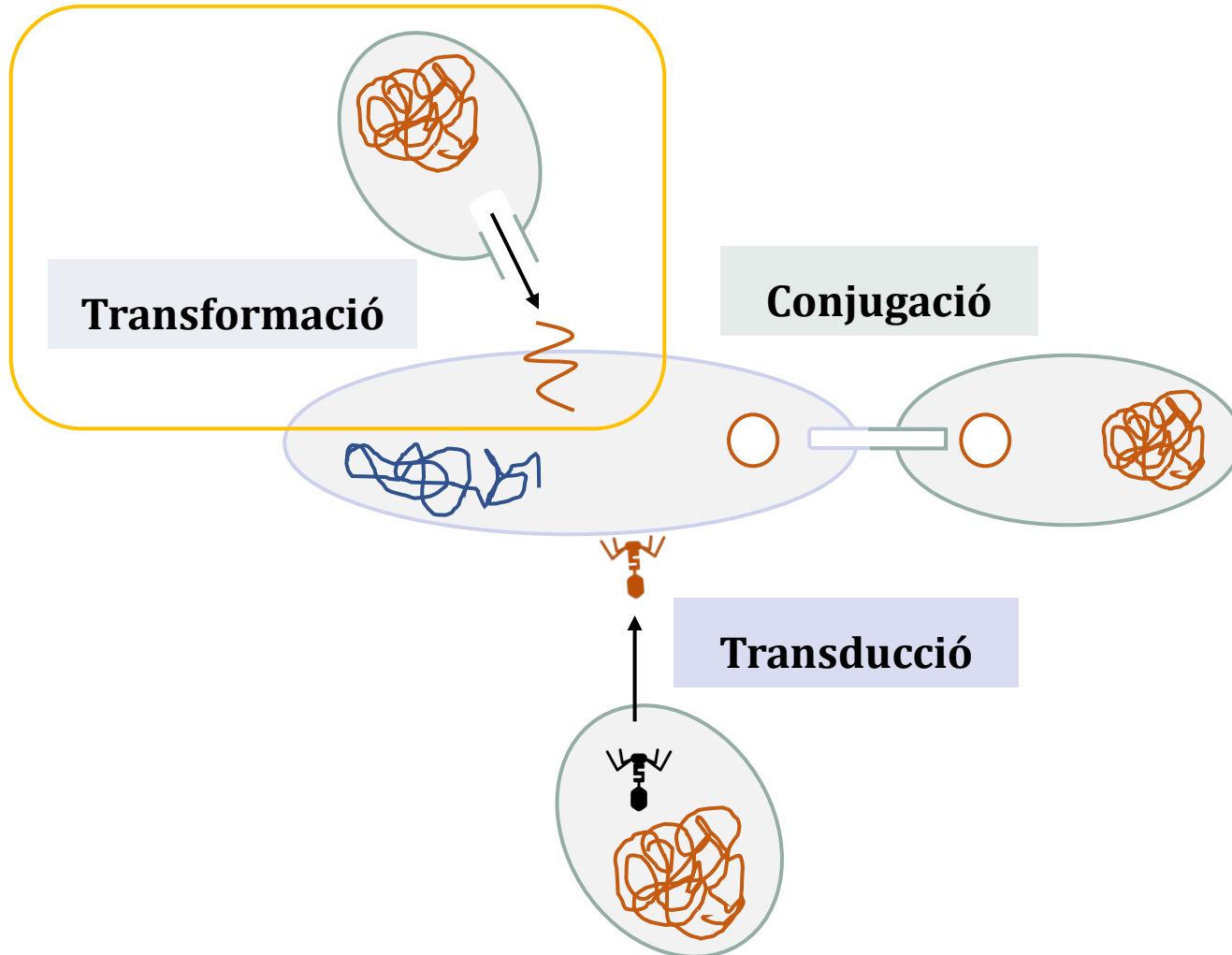


Cultiu de *E. coli*

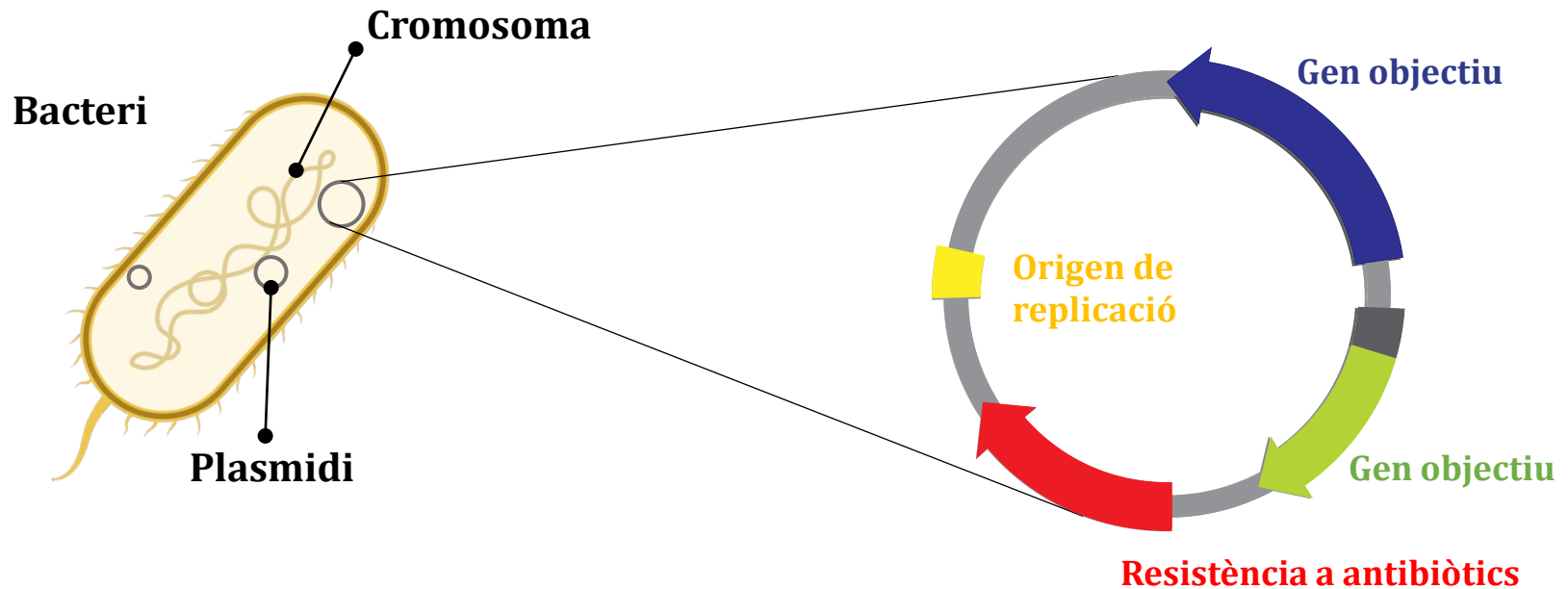
Recombinació bacteriana



Recombinació bacteriana



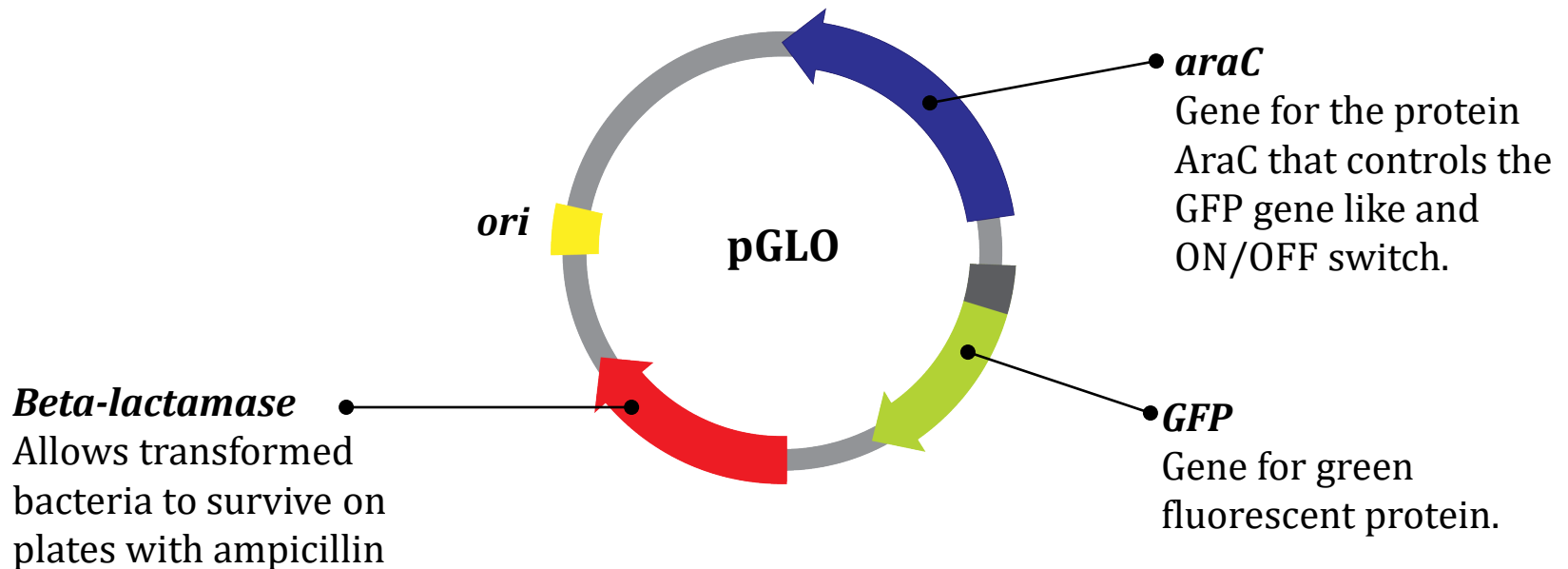
Com és el procés de transformació?



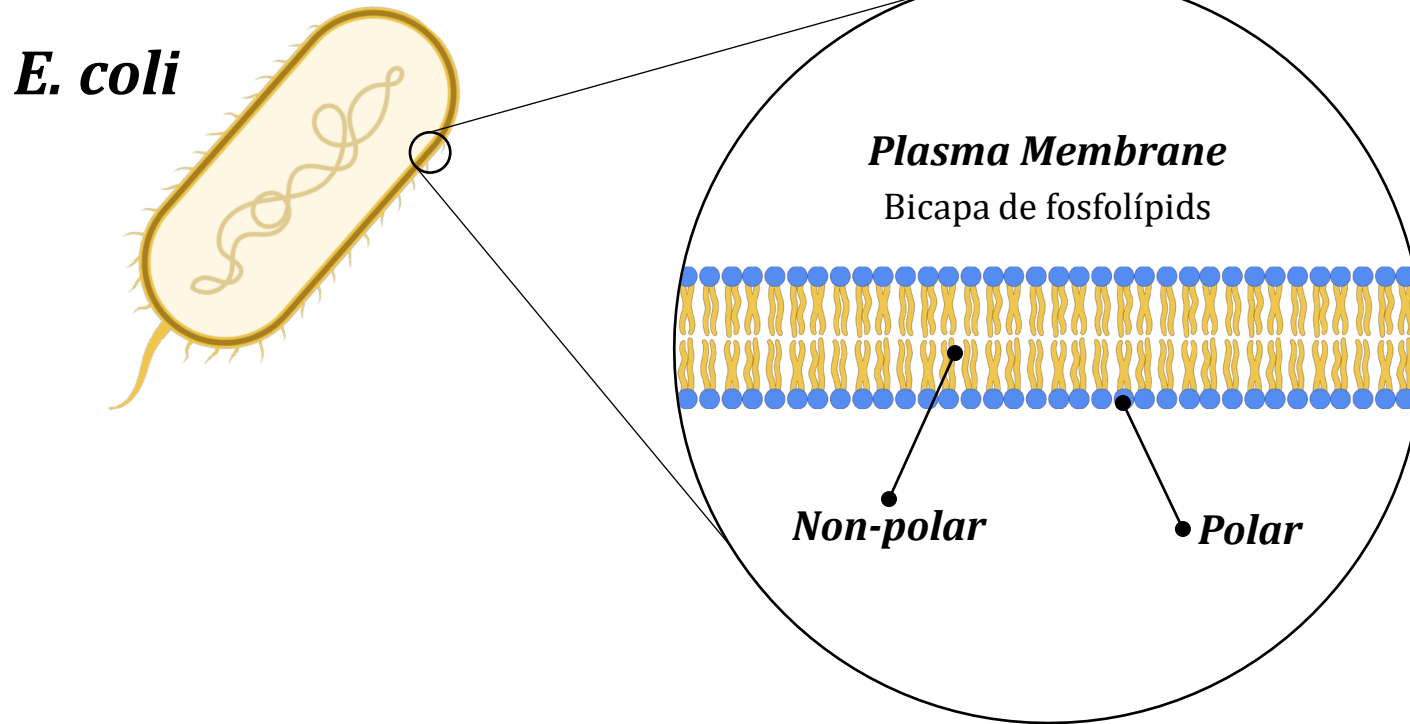
➔ **Els científics podem modificar els plàsmids amb un propòsit específic**

pGLO plasmid

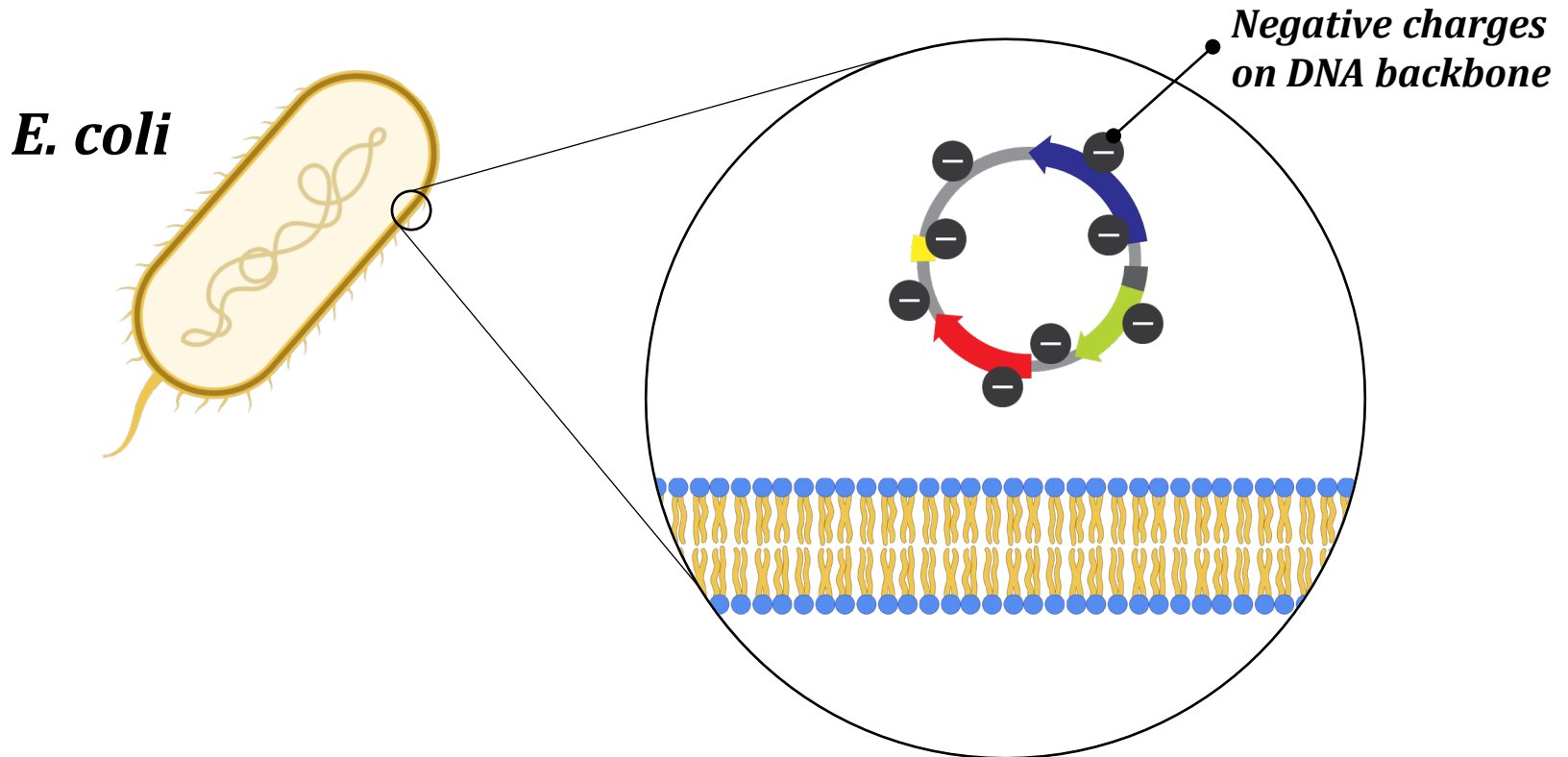
- The pGLO plasmid is engineered to have the *GFP* gene from *Aequorea victoria*.



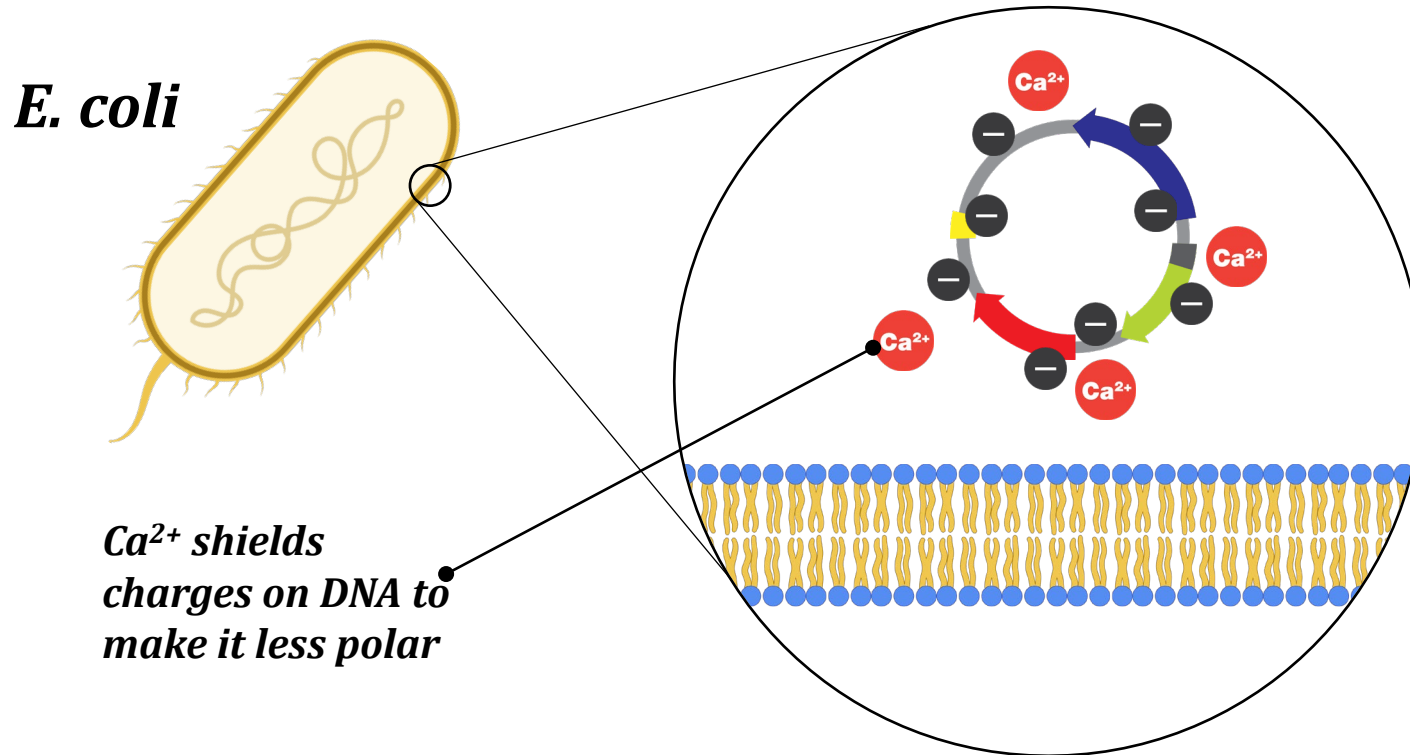
Membrana plàstica en bacteris



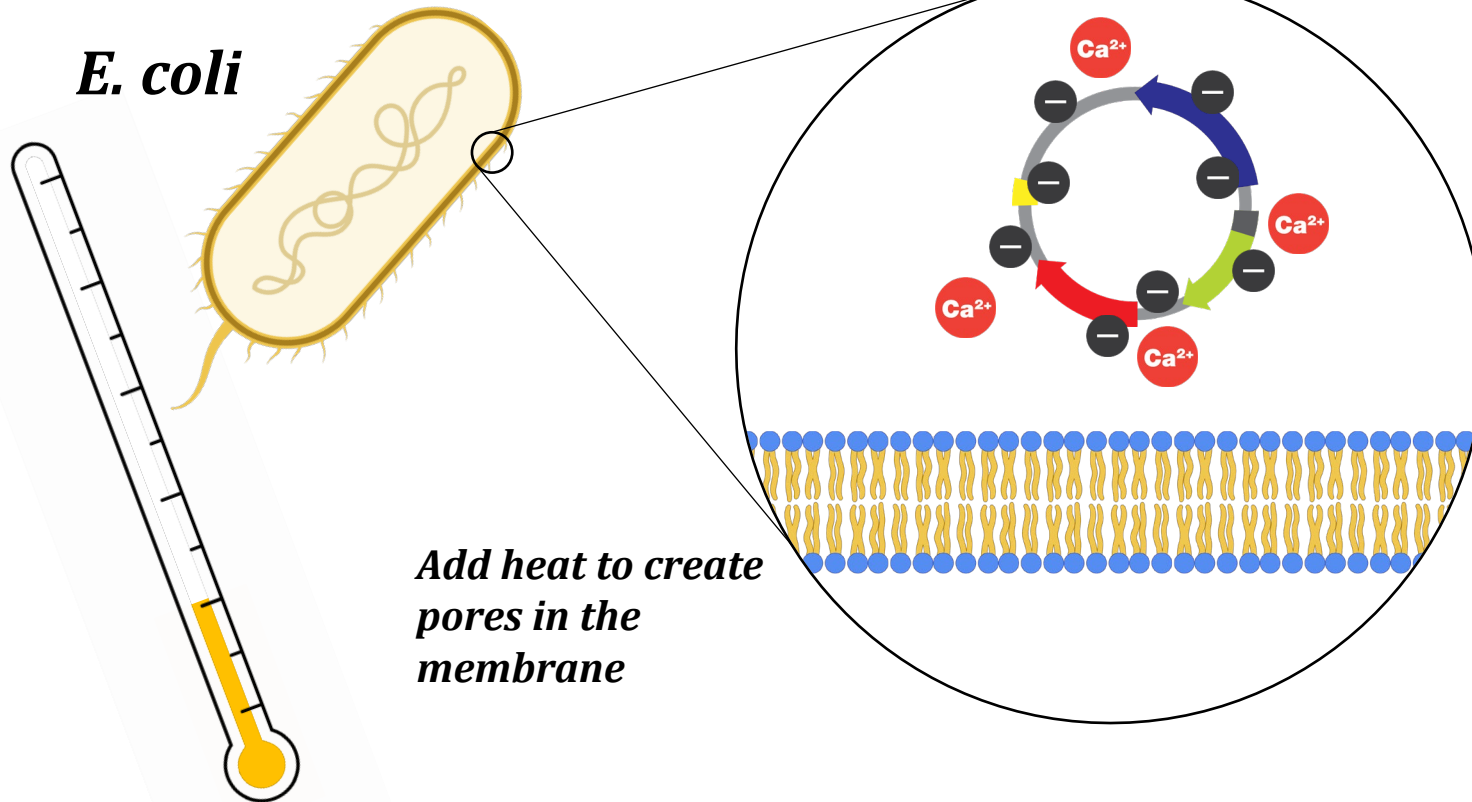
Quan hi afegim el plasmidi.....



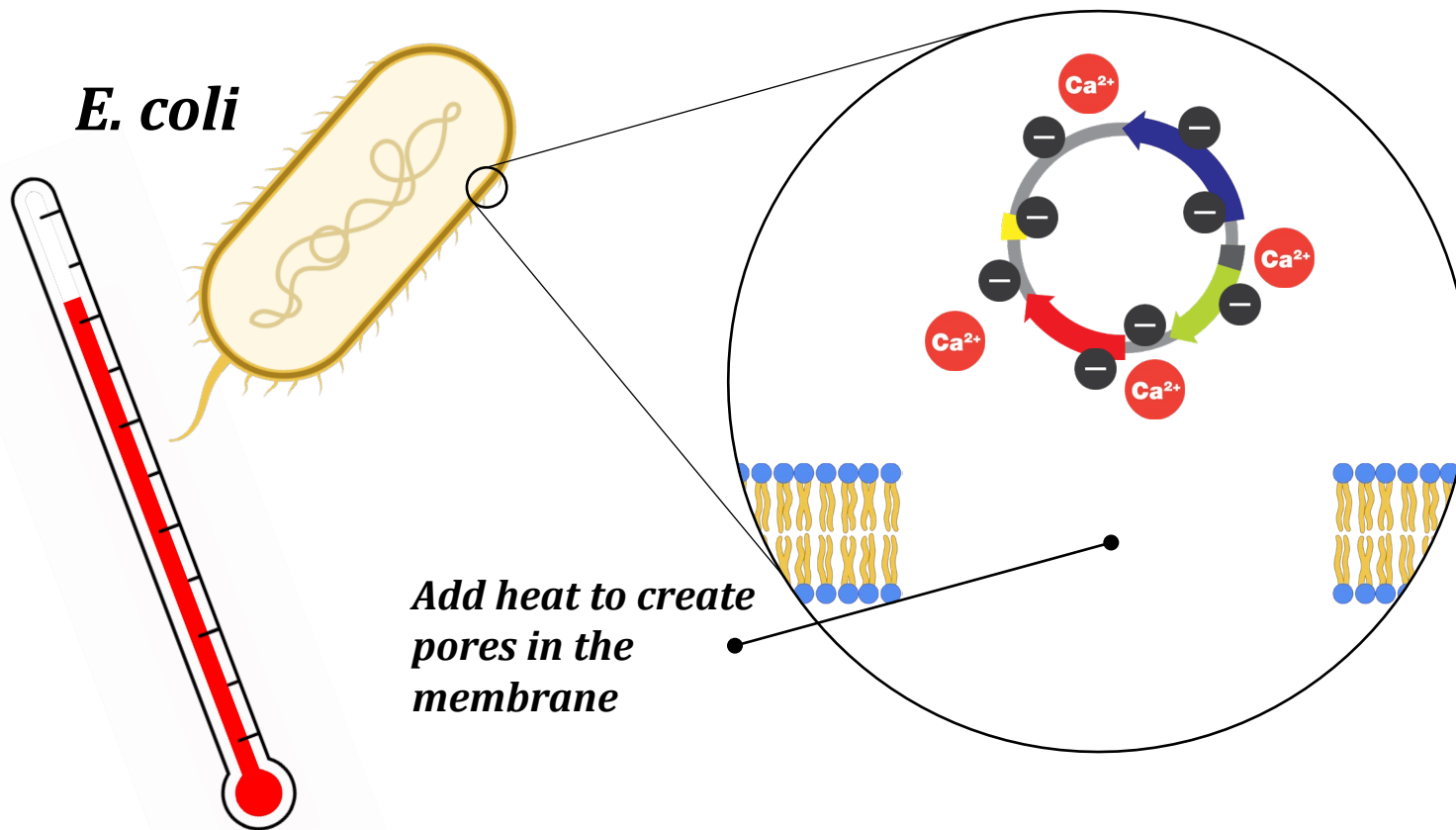
.... i la solució de transformació (CaCl₂)



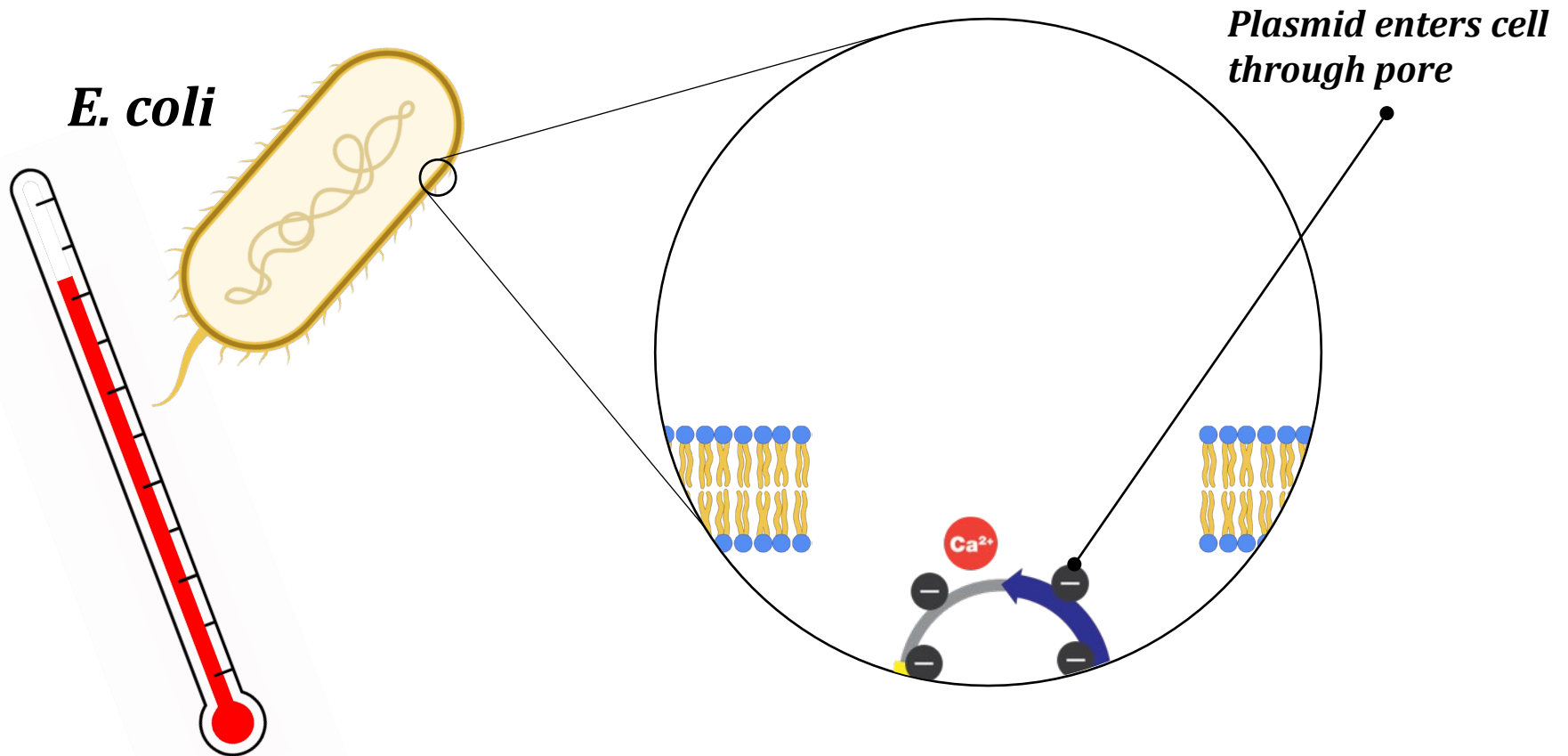
Mètode: *Heat Shock*



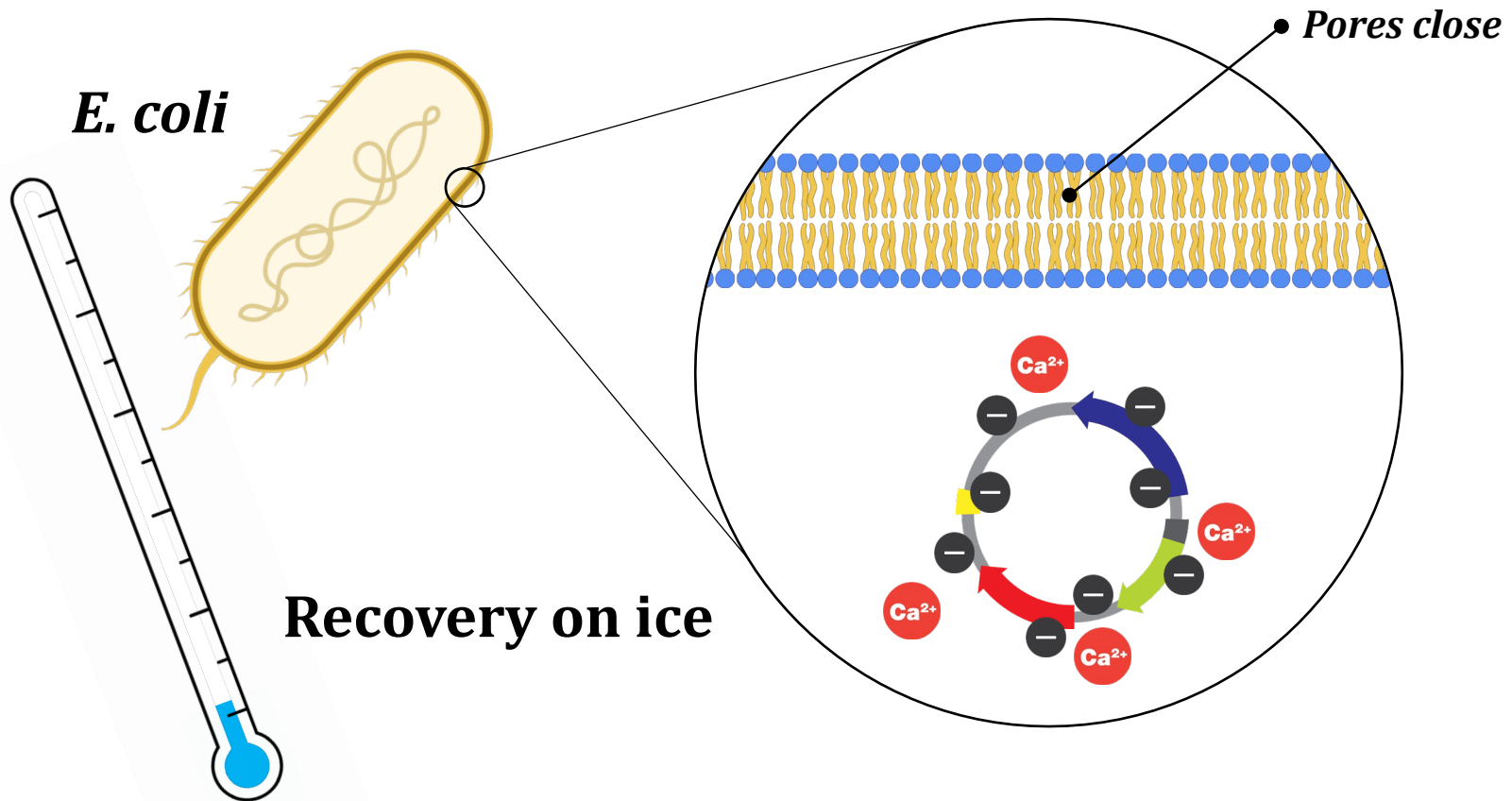
Mètode: *Heat Shock*



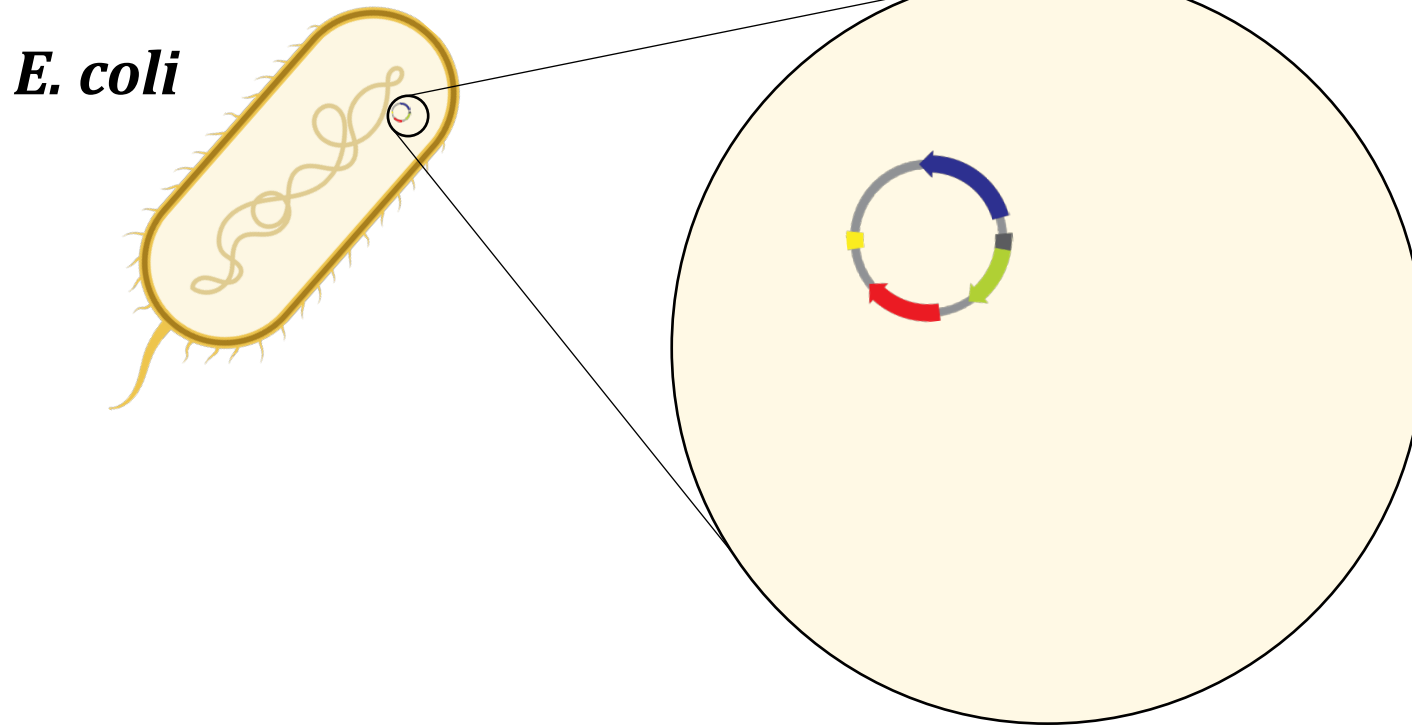
Mètode: *Heat Shock*



Mètode: *Heat Shock*

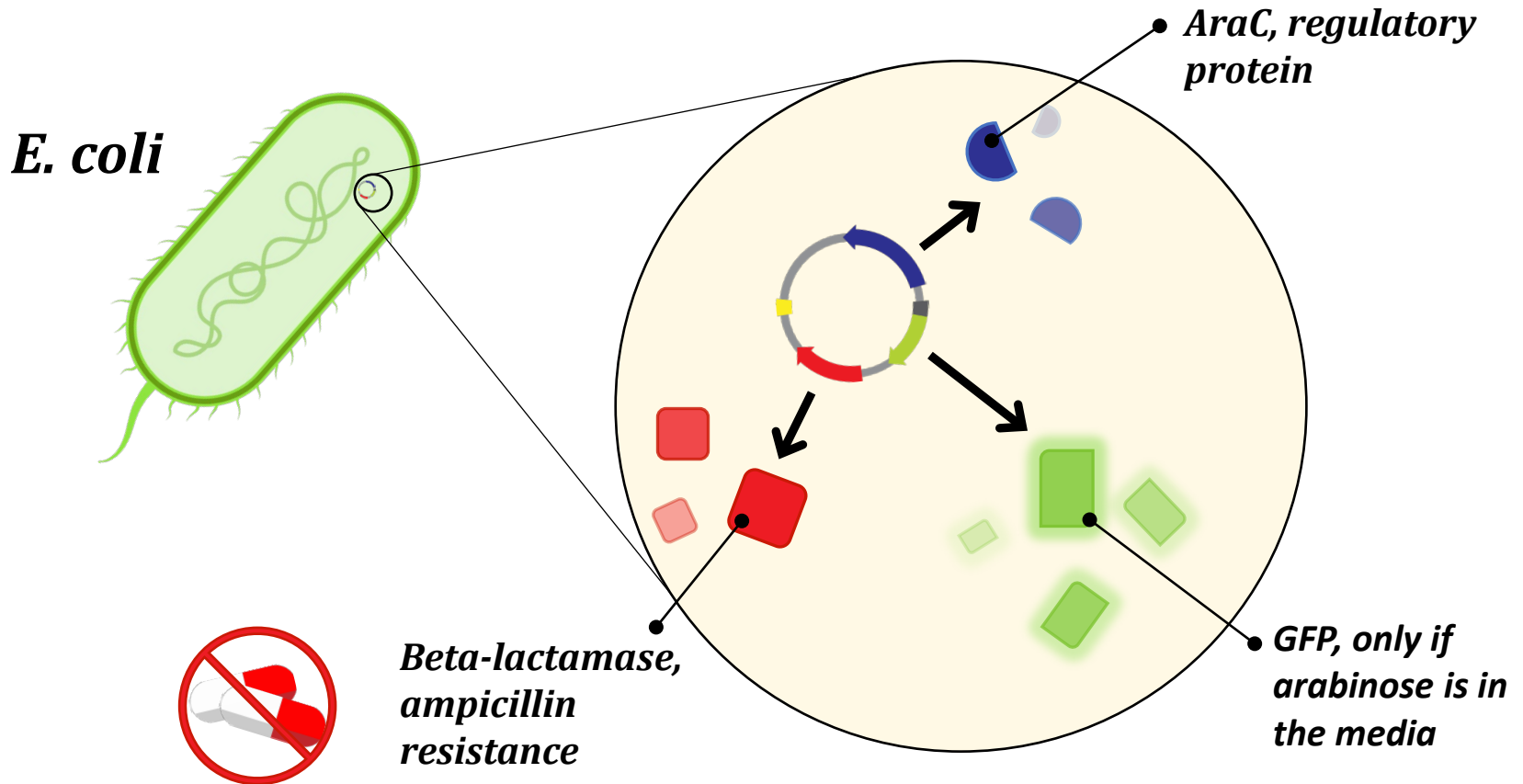


Mètode: *Heat Shock*



Recovery: Culture media (10 min)

Plaquetig enmig selectiu: LB+Amp+ara



Ara, us toca a vosaltres!

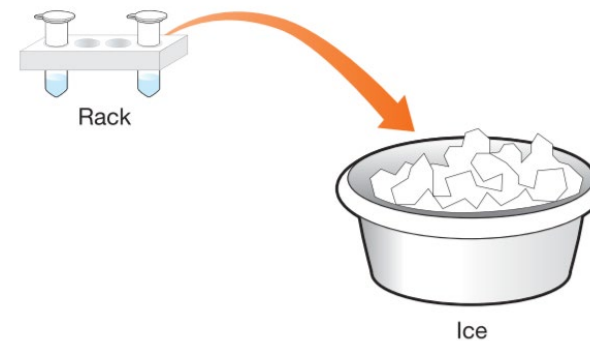
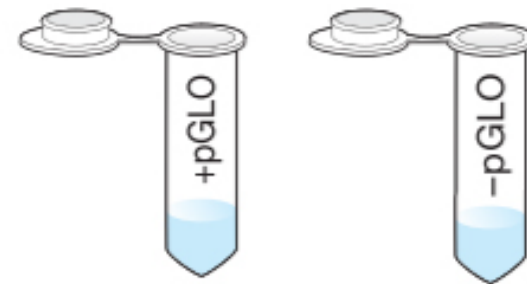
- 8 grups
- Protocol i anàlisi de resultats
- 1 pack de plaques estèrils
- 1 placa Petri d'*E. coli* competent
- 1 tub de medi de cultiu LB
- Pipetes pasteur i nanses de sembra
- Rack de glaç
- Bany d'aigua calenta



Label tubes

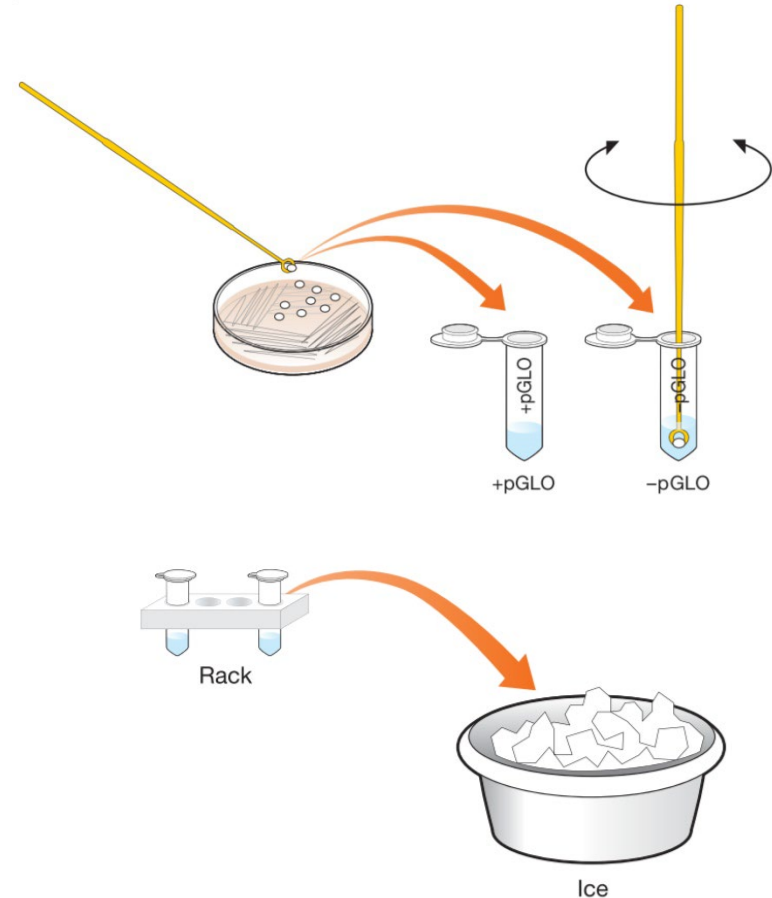
You have tubes with 250 μ l transformation solution.

1. Label one **+pGLO** and the other **-pGLO**.
2. Add your initials.
3. Place into foam rack and on ice.



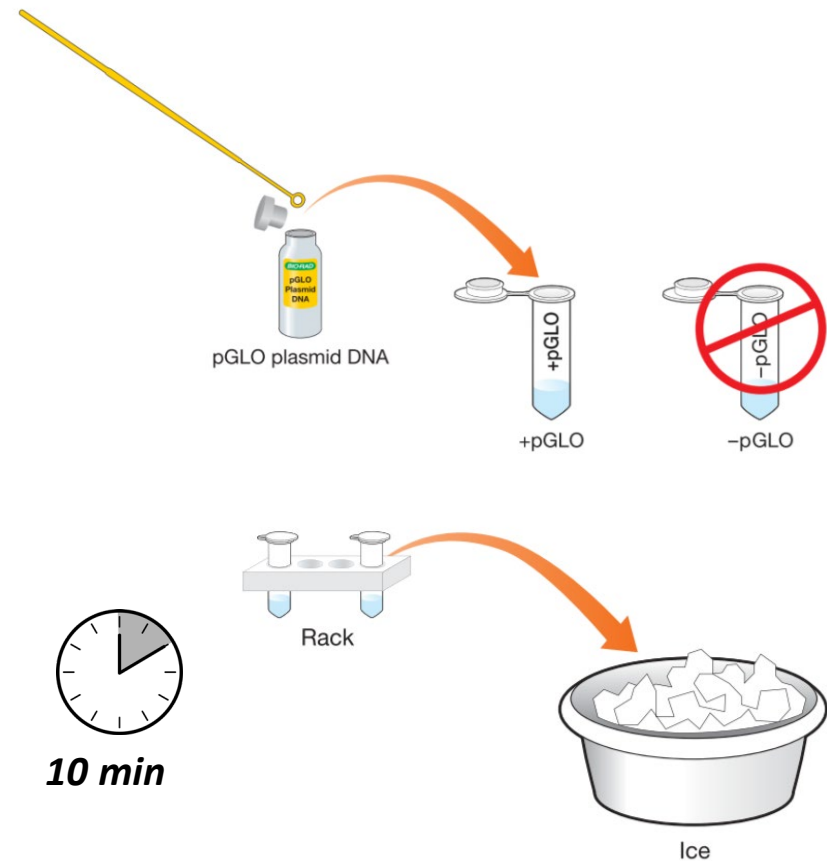
Pick colonies

4. *Using a sterile loop* pick 1–2 large *E. coli* colonies.
5. Add to the **+pGLO** tube. Spin the loop to disperse the bacteria. No clumps!
6. Using a *new* loop, at 1–2 colonies to **-pGLO** tube.
7. Place tubes into foam rack and on ice.



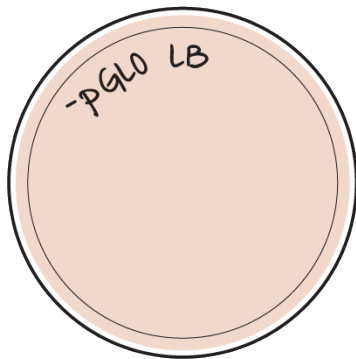
Add plasmid DNA

8. Add 10 μ l (1 loop full) pGLO plasmid to **+pGLO** tube.
DO NOT ADD TO -pGLO tube.
9. Place tubes into foam rack and on ice for 10 min.

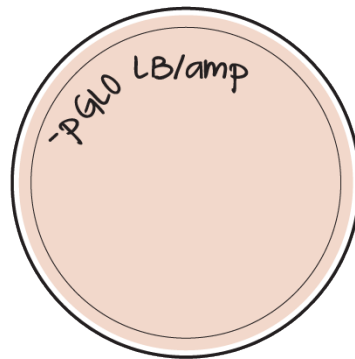


Label plates

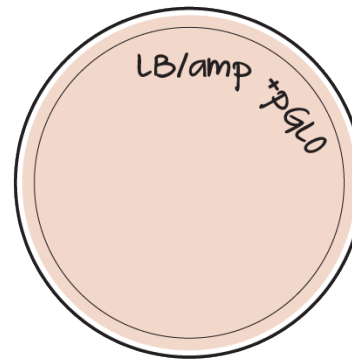
10. While your tubes are on ice, label the **bottom** of your plates.
11. Add your group ID or initials.



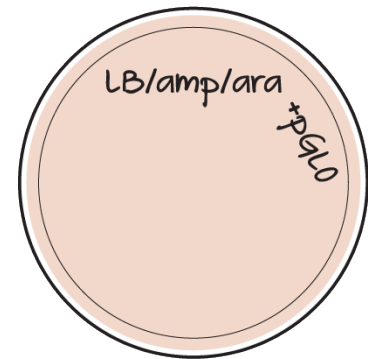
LB
-pGLO



LB/amp
-pGLO



LB/amp
+pGLO



LB/amp/ara
+pGLO

Heat shock

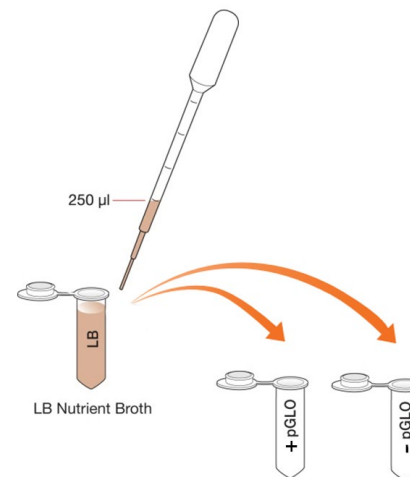
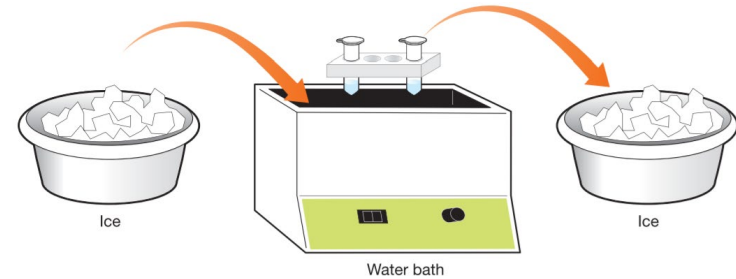
Get your timers ready!

12. Heat shock tubes at 42°C for exactly 50 sec.

13. *Immediately* return tubes to ice for 2 min.

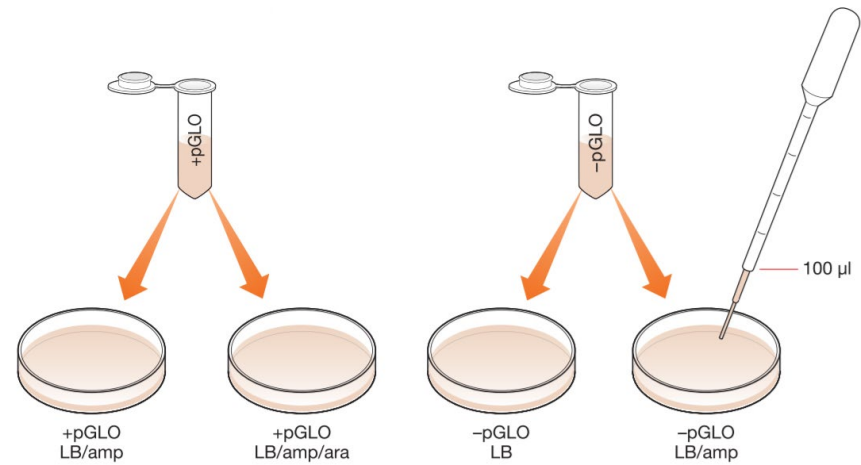
14. Add 250 µl LB broth to both tubes.

15. Leave at room temperature for 10 min.



Plating Bacteria

16. Flick tubes to mix.
17. Using a new sterile pipet, add 100 μ l bacteria to appropriate plates (+pGLO or -pGLO).
18. Use a loop to spread bacteria evenly.
Use a new loop for each plate.
19. Incubate overnight at 37°C or for 2 days at room temperature.



Plates

		<i>-pGLO LB</i>	<i>-pGLO LB/amp</i>	<i>+pGLO LB/amp</i>	<i>+pGLO LB/amp/ara</i>
<i>Components</i>	<i>Bacteria</i>				
	<i>DNA</i>				
	<i>Ampicillin</i>				
	<i>Arabinose</i>				
	<i>Grow?</i>				
	<i>Glow?</i>				

Transformation Efficiency

- How successful was your transformation?

You can calculate the transformation efficiency and compare with other groups.

$$\text{Transformation efficiency} = \frac{\text{Total number of colonies growing on the agar plate}}{\text{Amount of DNA spread on the agar plate (in } \mu\text{g)}}$$

Example

$$\frac{87 \text{ colonies growing on plate}}{0.16 \mu\text{g of DNA spread}} = 543 \text{ transformants}/\mu\text{g}$$

(or 5.4×10^2 transformants/ μg)

El paper de la biotecnología en el medi ambient

Dra. Natalia Hernández Herreros

Grup Biotecnologia de Polímers

Centre d'Investigacions Biològiques Margaritas Salas