



La magia de la ligación: paso crucial en la clonación

Diana Lizzet Murrieta León, Patricia Rosales Flores y
Aracely López Monteon

Dentro del mundo de la ciencia y en la clonación del ADN, también llamada *clonación genética*, la ligación es un proceso muy importante. En este momento, te estarás preguntando, ¿qué es la ligación? y ¿por qué tenemos que ligar para clonar?, estas mismas preguntas me surgieron cuando llegué al laboratorio de biología molecular y mi asombro creció aún más cuando me dijeron “hay que dejar ligando toda la noche”. La verdad no entendía nada; mi mente voló e imaginé que nuestro objetivo sería reproducir muchas ovejas como en el famoso caso de la clonación de la ovejita Dolly. Pronto entendí que la clonación genética no se trata de obtener individuos idénticos.

La clonación genética consiste en obtener copias idénticas de un gen o fragmento de ADN. Todas nuestras células poseen la información necesaria para reproducirse y sobrevivir; dicha información se encuentra contenida en una molécula llamada ADN que se hospeda dentro del núcleo de la célula. El ADN está formado por fragmentos conocidos como genes; en cada gen se encuentra la información que dará lugar a cada proteína como la queratina, necesaria para el cabello, la piel y las uñas.

Ahora bien, ¿cómo fue posible clonar un individuo completo? Esto se logró gracias a la *clonación reproductiva*, mediante la que se reproducen individuos completos e idénticos; la *clonación terapéutica*, a través de la que se obtienen células que son introducidas en otro organismo con la finalidad de aliviar una enfermedad, y la *clonación genética*, a través de la que se obtienen múltiples copias de genes.

En este texto, conoceremos la magia que se encuentra detrás de la clonación genética, así como su impacto en la actualidad y en el futuro. Pongámonos nuestros guantes de laboratorio y descubramos sus secretos y, por qué no, la magia de la unión de los fragmentos de ADN que en el laboratorio es conocida con el término “ligar”.

En la biología molecular, la clonación del ADN es una herramienta fundamental para la manipulación y obtención múltiples copias de un gen o fragmento de ADN; durante el proceso, es necesario unir dos fragmentos de ADN e introducirlos en una célula que se encargará de hacer las copias idénticas del fragmento de ADN. Al paso de unión de los dos fragmentos es a lo que llamamos *ligación*.

¿Cómo se lleva a cabo el proceso de clonación genética?

La clonación genética implica insertar o unir el fragmento de ADN, llamado *gen*, en otro fragmento de ADN de forma circular, el cual se conoce como vector; de esta manera, se obtienen millones de copias del gen.

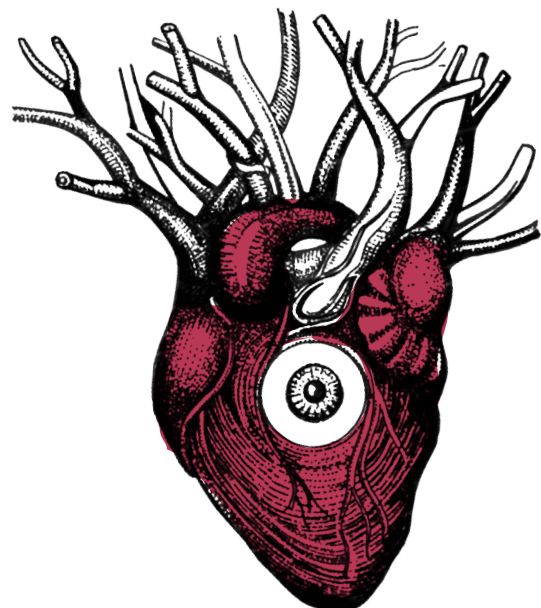
Para entender dicho proceso, recurriendo a la analogía, pensemos cuando en algún momento de nuestra vida hemos convivido con una persona diabética. Sabemos que, en esta enfermedad, el azúcar (glucosa) se acumula en la sangre porque no es capaz de entrar a la célula para ser utilizada como energía, esto se debe a que el gen que dará lugar a la insulina no sirve o sirve a medias y, al no haber insulina, el azúcar se almacena en la sangre y da lugar a la diabetes. La insulina funciona como una llave que abre la puerta de las células para dejar entrar el azúcar; por lo tanto, una persona con diabetes debe inyectarse insulina para poder vivir.

Con el propósito de explicar lo anterior, podríamos decir que para lograr una clonación exitosa son necesarios una serie de pasos, sin omitir ningún detalle:

1. Aislamiento del ADN de interés:

El primer paso consiste en separar el gen de la insulina del resto del ADN de la célula. Podríamos comparar el ADN de una célula con un pequeño pedazo de cuerda muy larga, en cuya superficie se extiende toda la información que ayuda a que los seres vivos funcionen; imagina que el ADN es el código de un programa de computadora, donde un pequeño fragmento (gen) constituye una parte específica del código encargado de realizar una función en particular, como el gen de la insulina. Así como los programadores pueden examinar y modificar partes específicas del código para mejorar o cambiar un programa. Actualmente, los científicos son capaces de estudiar y trabajar con fragmentos de ADN para entender y manipular funciones biológicas.

El código del ADN está formado por cuatro moléculas que se conocen como nucleótidos: guanina (G), citosina (C), adenina (A) y timina (T). Como el ADN es una molécula de doble cadena, al unirse una G de una cadena con la C de la otra y la A de una cadena con la T de la otra, forman una escalera que simula un caracol, donde las uniones de los nucleótidos forman una especie de peldaños en la molécula de ADN (Figura 1).



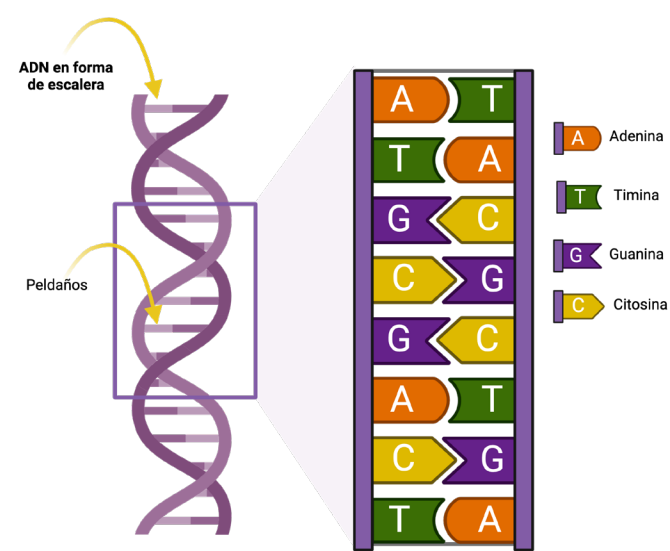


Figura 1. El ADN tiene forma de una escalera de caracol, donde cada unión de bases nitrogenas es un peldaño de la escalera. Fuente: Creación propia, usando <https://BioRender.com>

2. Corte del ADN con enzimas de restricción:

Una vez aislado el fragmento de ADN, se corta en lugares específicos, utilizando enzimas de restricción que funcionan como tijeras, reconociendo y cortando el ADN en lugares específicos; las enzimas de restricción pueden generar diferentes tipos de extremos, principalmente extremos cohesivos o pegajosos, llamados así porque es muy fácil que se vuelvan a unir (Figura 2).

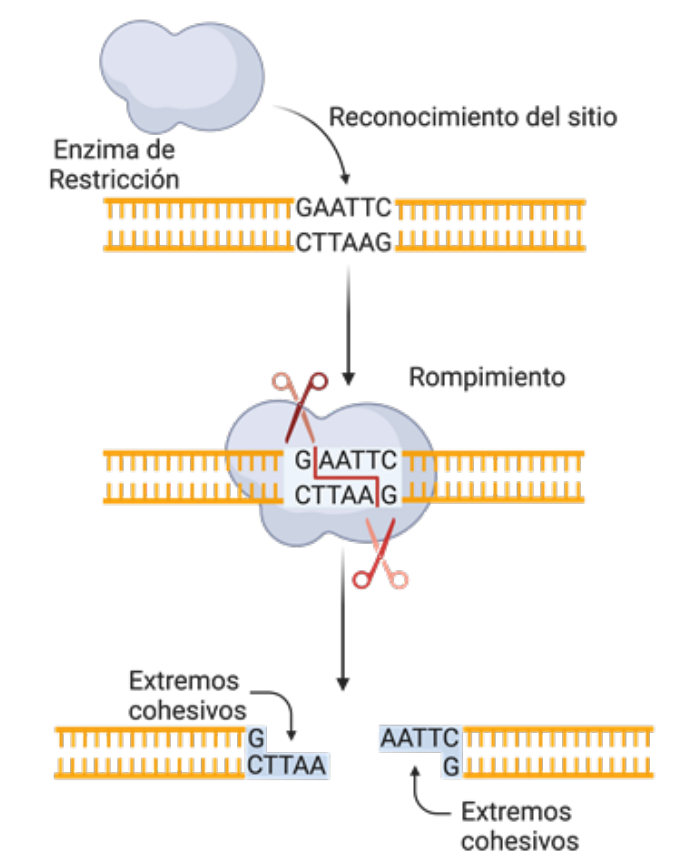


Figura 2. El ADN que se quiera clonar es cortado con enzimas de restricción en sitios específicos, generando extremos llamados cohesivos o “pegajosos”. Fuente: Creación propia, usando <https://BioRender.co>

3. Corte del vector con enzimas de restricción:

Durante este paso, el ADN, que se ha cortado con las enzimas, se introduce dentro de un vector. El vector es una molécula de ADN circular y a las moléculas circulares se les conoce como plásmidos; estos actúan como vehículos, ya que sirven como medio para transportar el ADN de interés a las células que se quieran modificar. Los vectores también deben cortarse con las mismas enzimas de restricción con las que se corta el ADN a clonar, de manera que sean compatibles; este proceso es como cortar una liga. Así, en la zona donde se cortó el vector se une el fragmento de ADN dando lugar a un vector recombinante. Los vectores cuentan con marcadores o secuencias que nos permiten identificar fácilmente a las células que han aceptado e incorporado el ADN clonado; estos marcadores suelen ser genes que inducen resistencia a ciertos antibióticos, lo que provoca que las bacterias que incorporen el vector podrán crecer en medios de cultivo con presencia de antibióticos.

4. Unión o ligación del vector con el fragmento de ADN:

Es en este momento cuando entra en juego la magia de la ligación. Los fragmentos de ADN, cortados previamente, se unen con el vector por medio de una enzima llamada *ADN ligasa*. La ligasa actúa como una especie de pegamento, uniendo de esta manera el fragmento de ADN con el vector. Aunque los nucleótidos tienden a tener atracción y la adenina se unirá a la timina por medio de dos puentes de hidrógeno, mientras que la guanina se unirá a la citosina a través de tres puentes de hidrógeno, la ligasa formará otro enlace llamado *fosfodiéster* que ayudará a que se mantengan unidos de manera estable. Esta etapa es crucial, ya que la ligación determina el éxito del proceso de clonación.

5. Insertar el vector recombinante en una bacteria:

Durante el último paso, el vector, con el ADN insertado (vector recombinante), se introduce en células bacterianas (generalmente *E. coli*), proceso identificado como transformación. Las bacterias se colocan en un medio de cultivo que contenga antibiótico, considerando que las bacterias puedan crecer en presencia de antibióticos. De esta manera, solo las bacterias que han insertado o aceptado el vector recombinante, podrán sobrevivir y crecer en el medio de cultivo gracias al gen de resistencia para el antibiótico que se encuentra en el vector.

Aproximadamente 16 horas después, podemos observar dicho crecimiento, descubriendo pequeñas colonias dentro del medio de siembra. Cada colonia (círculo blanco) corresponderá a una clona que posee el fragmento de ADN. Ahora podemos decir que estamos clonando el gen que dará lugar a la insulina; a este proceso se le conoce como *transformación*, lo cual es posible gracias a que las células bacterianas tienen la capacidad de tomar el ADN externo y multiplicarlo para generar miles de copias.

El gen o fragmento de ADN que fue introducido mediante el vector dentro de la bacteria es multiplicado, la bacteria actúa como una fábrica de proteínas, puesto que la bacteria utiliza los procesos de replicación para sintetizar muchas copias del gen y, por medio de la transcripción y la traducción, el ADN del gen se transforma en ARN y dando lugar a una proteína, que como es producida en una bacteria se le llama proteína recombinante. De esa forma podemos producir grandes cantidades de insulina humana (Figura 3).

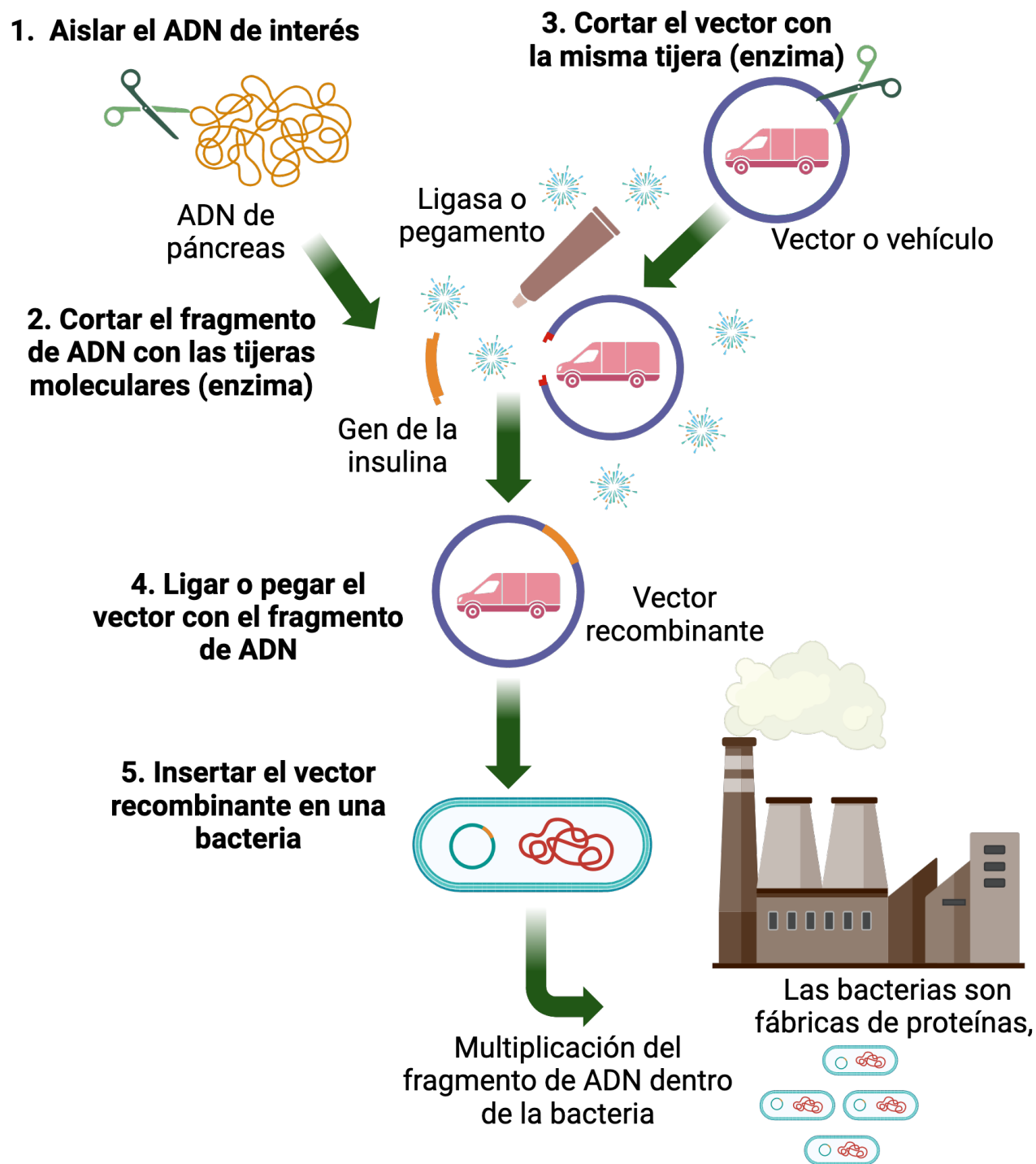


Figura 3. La magia de la ligación permite ligar o pegar el vector (vehículo) con el fragmento de ADN. Las bacterias. Fuente: Creación propia, usando <https://BioRender.com>

Las moléculas de ADN, construidas por métodos de clonación genética pueden tener diversos usos. A continuación, exploramos cómo la ligación de fragmentos de ADN puede influir en futuros desarrollos, aunados a desafíos éticos.

Producción de biofármacos (medicamentos y vacunas)

La clonación nos abre un abanico de posibilidades para contribuir en los avances de medicina personalizada en el futuro; con esta tecnología podemos producir proteínas recombinantes con aplicaciones médicas, es decir, utilizarlas como medicamentos. Un ejemplo clásico es la producción de insulina recombinante humana. Antes de 1978, la insulina que se usaba para tratar a las personas con diabetes provenía del páncreas de los cerdos, lo que implicaba numerosos sacrificios de los animales. Otro uso de las proteínas recombinantes es la producción de vacunas, ¿qué hubiera pasado si no hubiéramos contado con esta herramienta durante la pandemia de la COVID-19?, el virus SARS-CoV-2 hubiera cobrado más vidas de las que cobró. Las vacunas, hoy por hoy, han salvado muchas vidas al protegernos contra enfermedades producidas por patógenos. Las vacunas basadas en proteínas recombinantes han probado ser más seguras que las que parten de virus atenuados o inactivados, pues en estas últimas se ha observado reactivación de los virus o bacterias, provocando infecciones, principalmente en personas, cuyo sistema inmune se encuentra debilitado.

No obstante, existen controversias al respecto, en teoría para que una vacuna obtenga la autorización oficial para ser administrada debe pasar por años de investigación, a fin de evaluar su seguridad y eficacia. Hoy, los investigadores han puesto todo su esfuerzo en el desarrollo de protocolos y procedimientos éticos a fin de proporcionar más beneficios que efectos dañinos a la población.

Terapia génica

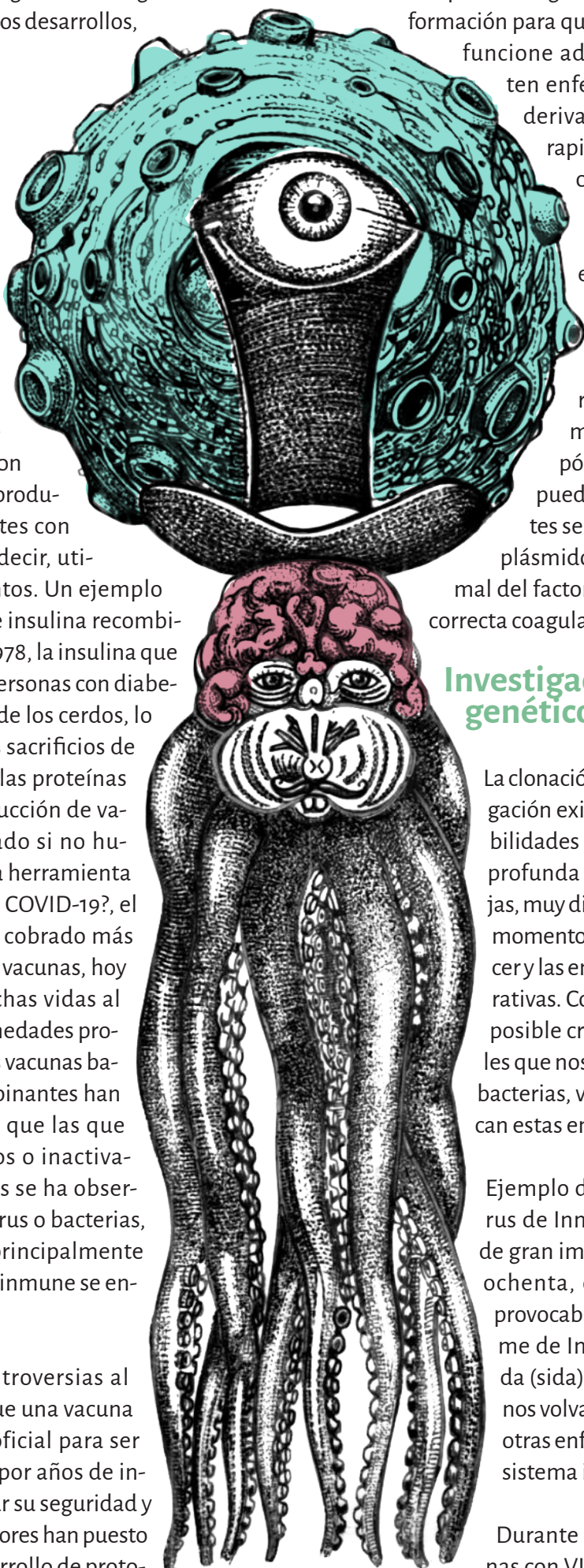
Partiendo de que en los genes se encuentra toda la información para que una célula o un individuo funcione adecuadamente y que existen enfermedades genéticas, que derivan en enfermedades, la terapia génica proporciona al paciente una copia normal del gen que está fallando; por ejemplo, en la hemofilia A, enfermedad donde el gen del factor VIII de la coagulación no funciona, por lo que las personas corren el riesgo de sufrir grandes hemorragias por un simple raspón. Actualmente la hemofilia puede ser curada si a los pacientes se les proporciona un vector o plásmido que contenga un gen normal del factor VIII, el cual da lugar a una correcta coagulación de la sangre.

Investigación y análisis genético

La clonación de genes mediante una ligación exitosa nos abre muchas posibilidades para una investigación más profunda de enfermedades complejas, muy difíciles de manejar, y hasta el momento, incurables, tales como cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. Con ayuda de la clonación, es posible crear modelos experimentales que nos muestren cómo actúan las bacterias, virus o parásitos, que provocan estas enfermedades.

Ejemplo de lo anterior es el VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana) de gran importancia durante los años ochenta, cuando se descubrió que provocaba en las personas el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (sida), un virus que ocasiona que nos volvamos susceptibles a muchas otras enfermedades porque nuestro sistema inmune se deprime.

Durante aquella década, las personas con VIH inevitablemente morían de sida, pero después de años y años de investigación utilizando la clonación, se obtuvieron unas



proteínas, llamadas “interferones”, cuya función es activar el propio sistema inmune para atacar al virus; ahora sabemos que quien tenga VIH no forzosamente morirá de sida.

Biotecnología agrícola

En la agricultura, los genes clonados o productos de la ligación pueden producir cultivos transgénicos para que, de esta manera, sean más resistentes a enfermedades, plagas o a los diferentes cambios climáticos. Si bien este avance ayuda a enfrentar desafíos alimentarios, además de favorecer la economía de muchos agricultores, esto ha generado muchas interrogantes y posturas opuestas, debido a que surge la preocupación de si estos alimentos son aptos para el consumo o hasta qué punto podrían alterar al medioambiente, pues al modificar genes que impiden que las plantas tengan plagas, también se puede afectar a insectos que son beneficiosos. Al respecto, surgen otras inquietudes como qué tan justo sería que solo algunas empresas tuvieran el control de ciertos productos y qué tan saludables serían los alimentos modificados (Figura 4).

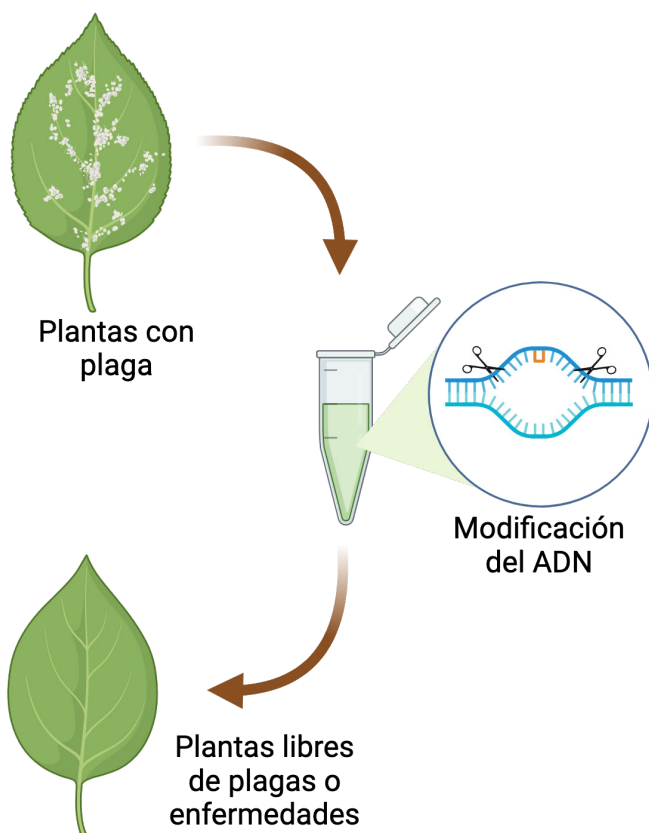


Figura 4. Modificación genética aplicada en la agricultura.
Fuente: Creación propia, usando <https://BioRender.com>

Desafíos y consideraciones éticas

Si bien las técnicas de clonación nos brindan muchas oportunidades para mejorar situaciones que, por ahora, no son posibles de controlar, también presentan fuertes desafíos éticos que deben ser considerados y resueltos. La capacidad de manipular el ADN y crear organismos genéticamente modificados ha sido motivo de grandes debates sobre la seguridad y la responsabilidad que conlleva su uso. De ahí la urgencia de establecer protocolos y normas dirigidos a proteger la seguridad y a mitigar las inquietudes que este tipo de técnicas puedan causar. Es necesario asegurar que todos aquellos que se encargarán de la clonación molecular, hagan un uso responsable y ético.

En conclusión, **la ligación en biología molecular es una etapa importante en el proceso de clonación del ADN**, al permitir la unión de fragmentos de ADN con el vector, armando una especie de rompecabezas para obtener genes que funcionen adecuadamente y pueden eliminar o controlar enfermedades. Los avances en la producción de biofármacos, terapia génica, investigación genética y biotecnología agrícola deben ir siempre de la mano de la ética, siempre pensando en el beneficio de la sociedad.

Si bien la clonación nos brinda grandes oportunidades en el campo de la medicina y la biotecnología, también conlleva a una inmensa responsabilidad de carácter ético, de ahí que todos los interrogantes deberán ser seriamente considerados. Asimismo, es necesario establecer protocolos éticos que garanticen un uso responsable de las técnicas de clonación, donde el proceso de ligación es la magia que los investigadores siempre desearán ver como medio para lograr la satisfacción de ayudar a controlar una enfermedad, sea en humanos, animales o plantas.



Referencias

- Hanneman, M., Suza, W., Lee, D. & Hain P. (s.f.). Tecnología de ADN recombinante. *LibreTexts*. Iowa State University. <https://espanol.libretexts.org/@go/page/56663>
- López Domínguez, J., Moran Sarmina, K. M., Placier Sosa, D. & López Monteon, A. (2018). Tecnología del ADN recombinante. *Kuxulkab'*, 23(47), 41-47. <https://doi.org/10.19136/kuxulkab.a23n47.2627>
- The College of Physicians of Philadelphia. (10 enero 2018). La ética y las vacunas. *History of Vaccines*. <https://historyofvaccines.org/vaccines-101/la-etica-y-las-vacunas/es>