

## Estrategia de enseñanza de Biología Molecular para la edición genética *In Silico*: Una experiencia disruptiva

Molecular Biology teaching strategy for *In Silico* gene editing: A disruptive experience



Jessica Jacqueline Verdezoto Prado <sup>1</sup>

 <https://orcid.org/0000-0002-3875-7100>

Universidad Regional Amazónica Ikiam | Facultad de Ciencias de la Vida | Tena – Ecuador | CP 150150

Cristhian David Chicaiza Ortiz <sup>2</sup>

 <https://orcid.org/0000-0003-3970-4550>

Universidad Regional Amazónica Ikiam | Biomass to resources group | Tena – Ecuador | CP 150150;  
China-UK·Low-Carbon College, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Vanessa Pamela Navarrete Villa <sup>3</sup>

 <https://orcid.org/0000-0002-4867-486X>

Universidad de Tianjin | Environmental Science and Engineering | Tianjin – China | CP 300072

 [cristhianchicaiza@hotmail.com](mailto:cristhianchicaiza@hotmail.com)

 <http://doi.org/10.26423/rcpi.v11i1.684>

Páginas: 55-64

### RESUMEN

Las técnicas *In silico* se emplean para simular experimentos reales mediante herramientas computacionales en biología molecular. El objetivo de este estudio fue fomentar el uso de ensayos *In silico* en los estudiantes de la carrera de ingeniería en biotecnología de la Universidad Regional Amazónica Ikiam. La metodología consistió en tres fases: a) planificación y organización, b) práctica y ejecución, c) evaluación del proyecto. En este sentido, cada grupo utilizó fuentes bibliográficas indexadas en Scopus, Springer, PubMed; además, de bases de datos como *Bioweb* y *Genbank*; bancos de genomas AddGene, EMBL y NCBI; para ensamblar un nuevo plásmido en *Benchling*. Como resultado principal se obtuvieron 6 proyectos que buscan alternativas a desafíos actuales en áreas de la salud, ambiente y agricultura. Entre los proyectos vinculados a la salud se tuvo dos proyectos G-1 y G-2, mientras que los proyectos enfocados al componente ambiental G-4 y G-5 y los relacionados al mejoramiento agrícola G-3 y G-6. De acuerdo con la encuesta realizada al finalizar el semestre, los proyectos de aula tuvieron una alta aceptación. Se recomienda emplear estas estrategias en asignaturas relacionadas a las ciencias biológicas.

**Palabras clave:** ADN, aprendizaje basado en proyectos, biotecnología, educación superior.

### ABSTRACT

*In silico* techniques are used to simulate experiments using molecular biology computational tools. This study aimed to promote the use of *in silico* assays in students of biotechnology engineering at the Universidad Regional Amazónica Ikiam. The methodology consisted of three phases: a) planning and organization, b) practice and execution, and c) project evaluation. In this sense, each group used bibliographic sources indexed in Scopus, Springer, and PubMed; databases such as Bioweb and Genbank; genome banks AddGene, EMBL, and NCBI; to assemble a new plasmid in Benchling. The main result was six projects that sought alternatives to current health, environmental, and agricultural challenges. Among the projects linked to health, there were two projects, G-1 and G-2, while the projects focused on the environmental component, G-4 and G-5, and those related to agricultural improvement, G-3, and G-6. According to the survey conducted at the end of the semester, the classroom projects were highly accepted. It is suggested that these strategies be utilized when studying topics associated with the biological sciences.

**Keywords:** DNA, project-based learning, biotechnology, higher education,

Recepción: 18 abril 2022 | Aprobación: 16 junio 2023 | Publicación: 28 junio 2023

<sup>1</sup> Estudiante de pregrado de Ingeniería en Biotecnología, por la Universidad Regional Amazónica Ikiam

<sup>2</sup> Master's Degree in Environmental Engineering, por la Universidad de Tianjin - China

<sup>3</sup> Ingeniera en Biotecnología Ambiental, por la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ESPOCH

## 1. INTRODUCCIÓN

La incorporación de nuevas características con múltiples usos en los organismos vivos ha sido uno de los grandes avances en el estudio de la biología molecular. Esta línea de investigación ha demostrado cuando se introduce un segmento de ácido desoxirribonucleico (ADN) en la célula con brazos homólogos en ambos extremos, éste puede integrarse en el genoma huésped mediante recombinación homóloga (HR) y provocar los cambios deseados en la célula; este proceso fue descrito como el primer paso crítico en la edición de genes (Capecchi, 1989). Es así que, a finales de los 90's se desarrollaron las primeras tecnologías de edición del genoma, y en el 2009, una nueva herramienta de edición genética facilitó la edición del ADN, denominada: Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente espaciadas o *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR) (Antunes, 2022).

La edición genética de diversos organismos ha sido un área en rápido avance que ha atraído la atención de varios investigadores durante la última década (Khalil, 2020). La capacidad de ejecutar alteraciones genéticas selectivas permite a los investigadores considerar diferentes posibilidades al respecto, desde abordar cuestiones de biología básica hasta producir potencialmente terapias novedosas para el tratamiento de enfermedades (Clement *et al.*, 2020). En este sentido, las nuevas tecnologías de edición genética pueden favorecer la calidad humana, como alternativa de recuperación de las condiciones ambientales de ecosistemas contaminados, la producción agrícola y ganadera. Las aplicaciones más relevantes incluyen: la edición del genoma en cultivos y sistemas agrícolas que permitan sobreponerse a fitopatologías, resistencia a nuevas plagas; la crianza con mayor rendimientos de animales de ganado porcino, bovino y aves de corral (Pradhan *et al.*, 2022); de igual manera, para prevenir y tratar enfermedades humanas, a través de medicina personalizada que comprende: terapias génicas, celular e ingeniería de tejidos, permitiendo el tratamiento de enfermedades como la fibrosis quística y la diabetes (Khan, 2019).

La edición de genes es una técnica que altera secciones particulares de ADN, lo que permite la sustitución de nuevas secuencias genéticas. La palabra "edición" se refiere a una metáfora de producción de textos en la que se eliminan letras y luego se reescriben (Silva *et al.*, 2019). Se trata de una tecnología que permite controlar la activación o inactivación de la expresión génica y realizar adiciones, supresiones y sustituciones precisas en el genoma. Esto permite la reparación de un gen dañado, la sustitución de un gen ausente, la interferencia en la expresión de un gen y la sobreexpresión de una característica en un gen normal (Khalil, 2020).

Las técnicas de edición de todo el genoma parte de la comprensión de las diferentes etapas del dogma central, considerando la modificación de secuencias de ADN

mediante deleciones, procesamiento de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) (transcripción) y cambios postranscripcionales, lo que da lugar a una expresión génica alterada y a una actividad proteínica funcional (traducción) (Khan, 2019). Estos métodos comparten tres fases clave: los mecanismos de entrada de la herramienta genética en la célula y posteriormente en el núcleo; la modificación de la transcripción de los genes y la función de procesamiento posterior; y, por último, el resultado final en forma de producto proteico reprimido, sobre expresado o simplemente alterado (Khan, 2019).

En este sentido, para lograr dicho propósito existen varias herramientas de edición genética, como las meganucleasas, las nucleasas de dedos de zinc (ZFN), las nucleasas efectoras similares a activadores de la transcripción (TALEN), clonación y CRISPR. El método más exitoso es el sistema CRISPR-Cas9 (proteína 9 asociada a CRISPR) (Antunes, 2022). CRISPR-Cas9 se adaptó a partir de un sistema natural de edición del genoma utilizado por las bacterias para defenderse (El-Bassyouni y Mohammed, 2018). Por otro lado, el uso de plásmidos es uno de los métodos de entrega de genoma no viral que permite la entrega del plásmido de iteres en el hospedero a editar de manera efectiva produciendo la transformación del material genético (Garcillán-Barcia *et al.*, 2022).

El método consiste en es la introducción de un fragmento de ADN, comúnmente llamado "inserto" en un vector, capaz de replicarse independientemente del genoma de la célula hospedera, generando copias de una molécula recombinante (Sandoval *et al.*, 2013).

No obstante, entre las mayores dificultades asociadas a la tecnología de edición genética está las implicaciones éticas, regulaciones legales en ciertos países, a medida que las nuevas aplicaciones de biología molecular crecen en complejidad, la atención pública e implicaciones ambientales y para la salud humana se vuelve más relevantes (Trump *et al.*, 2022). Al igual que la disponibilidad de técnicas que pueden repercutir en el funcionamiento de esta tecnología. Además, otro principal inconveniente del uso de equipos y tecnologías destinados a la edición genética es que el procedimiento *In vivo/In vitro* es muy costoso, los reactivos e insumos químicos necesarios en el proceso no están disponibles comúnmente y su valor adquisitivo es alto (Karre, 2020).

Cada paso de la edición genética requiere una cantidad significativa de tiempo, dinero y mano de obra. Afortunadamente, los avances en informática brindan oportunidades para corregir estas deficiencias e impulsar estos estudios. Los métodos *In silico* basados en diversos algoritmos y marcos tienen distintas ventajas y son adecuados para una amplia gama de aplicaciones (Zhang *et al.*, 2020). En comparación con las técnicas *In vivo*, que se realizan en organismos vivos, la modelización *In silico* permite realizar experimentos más prácticos, en menor tiempo y sin la afectación del

organismo. Además, los métodos computacionales sustituyen el uso de modelos animales en la investigación, lo que respalda la lógica del desarrollo de fármacos candidatos novedosos y seguros (Labun, 2020).

En particular, dada la importancia que la comunidad científica concede a las investigaciones *In silico*, cada vez es mayor el número de revisiones sistemáticas que abarcan esta técnica, lo que permite un examen crítico de los resultados indicados por múltiples estudios sobre un tema concreto, así como una síntesis de los principales hallazgos (Teixeira *et al.*, 2022). Se están llevando a cabo varios estudios, por ejemplo en el campo de la medicina, los modelos computacionales *In silico* permiten la evaluación de diversos tratamientos para enfermedades (Zhang *et al.*, 2020) como el tratamiento de la tuberculosis (Timo *et al.*, 2019), la readaptación de fármacos utilizando el acoplamiento molecular para tratar el COVID-19 (Moradi *et al.*, 2022), la búsqueda de terapias derivadas de flavonoides (Taldaev *et al.*, 2022), predicción *In silico* para la selección de excipientes (Todke y Devarajan, 2022), entre otros. En un contexto más actual, el brote de COVID-19 fue considerado una de las condiciones esenciales en las que la bioinformática y los enfoques *In silico* demostraron su valor. El uso de servidores web previamente diseñados, como I-TASSER y Phyre2, resultó útil para el modelado molecular de estructuras proteínicas antes del análisis cristalográfico, el cribado virtual de posibles inhibidores para diversas dianas virales, el estudio de interacciones moleculares relacionadas con el SARS-CoV-2 mediante herramientas especiales de acoplamiento molecular, simulaciones dinámicas y herramientas inmunoinformáticas como VaxiJen, herramientas de predicción de epítomos de células T y células B para investigar el potencial de la vacuna COVID-19 (Moradi *et al.*, 2022).

A su vez, en el área ambiental se han desarrollado varias investigaciones dentro de la edición de genes con herramientas *In silico* como por ejemplo, el aumento de la producción de lípidos con biocatalizadores, la construcción de ARN oligo guía y la predicción de la región funcional de una proteína putativa mutante de un gen específico (CrACCase por ejemplo) para diseñar el aumento del contenido de lípidos en ciertas especies como puede ser *Chlamydomonas reinhardtii* (Pratami *et al.*, 2022). En este sentido, Pratami *et al.*, 2022, mejoraron el método *In silico* para encontrar la potencia del gen y la proteína de la Acetil-CoA Carboxilasa (CrACCase) y predecir su mutante. Otra aplicación en biotecnología ambiental es el diseño de biosensores para productos farmacéuticos, insecticidas o contaminantes orgánicos persistentes por medio de la proteína  $\beta$ -lactoglobulina de la leche de vaca (BLG, por sus siglas en inglés) (Cortes-Hernandez y Domínguez-Ramírez, 2019). Otro este estudio destaca el potencial para identificar rápidamente enzimas y microorganismos que biodegraden hasta 40 veces más rápido ciertos

contaminantes emergentes (Aukema *et al.*, 2017).

De igual manera, los métodos eficaces de edición genética son una importante herramienta agrícola porque permiten una alteración muy selectiva (no aleatoria) de los genes de las plantas en su entorno cromosómico nativo. Una de las ventajas más significativas de la adopción de técnicas de edición genética, tanto *In silico* como *in vivo*, para la mejora de cultivos es la capacidad de mejorar numerosos rasgos simultáneamente en líneas de élite. Esta opción acelera la creación de productos comerciales, lo que a menudo resulta inviable cuando se utilizan métodos de mejora tradicionales (Correa *et al.*, 2021). Otro ejemplo es el desarrollo de resistencia a la polilla de la papa (*Solanum tuberosum*) por variaciones por medio de transgénicos, con pruebas validadas en el crecimiento de las ratas sin afectación del sistema inmunológico (Rahnama *et al.*, 2017). Además se está trabajando a escala comercial con la planificación experimental óptima *In silico*, la conectividad completa del dispositivo de biofabricación, las plataformas de virtualización y el diseño basado en la nube permitirán cambios de diseño rápidos y una alta flexibilidad hacia automatización (Carbonell *et al.*, 2020).

Las herramientas de edición genética, en general, tienen el potencial no sólo de provocar una revolución biotecnológica en el desarrollo de cultivos y alimentos, proyectos ambientales y, patologías humanas, sino también de dar lugar a abusos y explotaciones de diversa índole, incluida la modificación genética de la línea germinal. Muchos especialistas han expresado auténticas preocupaciones bioéticas (Khan, 2019). La necesidad apremiante exige una traslación coordinada y controlada de los componentes necesarios de las tecnologías relacionadas con la edición genética para la medicina molecular y otros negocios no clínicos de cultivos, alimentos y ambiente (Furtado, 2019). En consecuencia, es necesario realizar debates de expertos, tomando en cuenta el compromiso de los biotecnólogos, las opiniones de los expertos en bioética, los marcos reguladores legislativos y las directrices y supervisión finales para la aplicación limitada finalmente permitida (Zhang *et al.*, 2020). Por otro lado, pese a que el número de herramientas *In silico* ha aumentado en los últimos años, se carece de un análisis exhaustivo de sus funciones en el procedimiento global, desde la identificación del sistema hasta su aplicación, por lo que es probable que muchos investigadores biológicos se pierdan en la selección de las herramientas adecuadas para su determinada intención (Khurshed *et al.*, 2019).

El desarrollo exponencial de bases de datos de interés biológico ha transformado la investigación biológica en una organización con un gran volumen de información. Este aumento de la información disponible ha ido acompañado de avances en nuestra capacidad para comprender y extraer estos nuevos datos (Bhat *et al.*, 2022). Gracias a las herramientas informáticas, los especialistas en ciencias biológicas y biotecnológicas (tanto profesionales como estudiantes) pueden ahora

analizar rutinariamente conjuntos de datos masivos de microarrays, reconstruir redes biológicas, encontrar patrones de plegamiento de proteínas y modelizar la actividad celular completa. Todos estos avances están siendo impulsados por metodologías computacionales que se adaptan a la disponibilidad de datos, con el propósito explícito de detectar patrones fisiológicamente significativos en los datos (Murray *et al.*, 2007).

En este sentido, el ADN de los seres vivos puede editarse con diversos fines (Sandoval *et al.*, 2013) por medio de plásmidos. Es por ello que el presente estudio tiene como propósito fomentar el uso de ensayos *In silico* en los estudiantes de la carrera de ingeniería en biotecnología de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, por medio del desarrollo de proyectos de aula en el que se obtenga un plásmido recombinante que permita la transformación de un organismo, enmarcados en el aprendizaje de la Biología Molecular.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La estrategia pedagógica empleada se llevó a cabo en tres fases, que ha sido validada por varios estudios previos. Entre ellos, se cuenta con una revisión sistemática que valida la posibilidad de favorecer la estrategia de aprendizaje mediante proyectos de aula (Alonso-Fernández *et al.*, 2019; Chicaiza-Ortiz *et al.*, 2022). Para este caso se consideró toda la población de estudiantes del curso (biología molecular) y la técnica de recolección de datos fue por medio de encuestas

### Fase de planificación y organización

Los estudiantes conformaron 6 grupos para llevar a cabo un proyecto de aula sobre edición genética que duró aproximadamente 4 meses. Para mostrar el progreso del proyecto, se presentó un informe final y se llevó a cabo una exposición oral. Durante el desarrollo del proyecto, se utilizó el método colaborativo que permite la construcción colectiva del conocimiento común y del método de investigación científica para buscar y seleccionar información relevante en publicaciones especializadas en biología molecular y biotecnología a través de una revisión (Chicaiza-Ortiz *et al.*, 2023). Además, se usaron herramientas digitales para facilitar el desarrollo del proyecto *In silico*. Así mismo, se brindó apoyo académico y retroalimentación continua, que concluyó con una evaluación del proyecto como en el primer capítulo de Estrellado *et al.* (2020).

### Fase práctica y ejecución

Cada grupo hizo una revisión de literatura relevante que le permitió definir su tema y objetivos de trabajo con base a artículos y capítulos de libros empleando las palabras claves: edición genética, clonaje molecular, organismos genéticamente modificados y/o problemática pública de origen sanitario, alimentario o

ambiental. Los motores de búsqueda fueron Google Scholar, Scopus, Springer, Scielo, Pubmed, prefiriendo documentos de los últimos diez años que sean replicables y cuya información complementaria (elementos fundamentales para la edición, secuencias, vectores empleados, enzimas de restricción) se encuentre disponible.

Una vez seleccionado el organismo sobre el cual se trabajó, se buscó información de los genes de interés en bases de datos como: Bioweb, GenBank para considerar las características aplicables que respondan a un problema determinado. Además, se obtuvo las secuencias de los genes en bancos genómicos, incluidos AddGene, EMBL, NCBI, estos aportaron con las secuencias genéticas, región codificante, sitios de corte, enzimas restricción, entre otros elementos importantes. Cabe mencionar que en algunos de los proyectos fue necesario un plásmido vector que sirvió de estructura molde.

Para el ensamblaje del plásmido *In silico* se utilizó la plataforma de investigación y desarrollo de biotecnología, *Benchling*. Como primer paso se creó una cuenta personal y posteriormente, un proyecto de trabajo. Dentro de la carpeta se importó las secuencias tanto del gen de interés como del plásmido vector sobre el cual se modificó la secuencia. A continuación, se reconoció los sitios de corte, las enzimas de restricción en el plásmido vector y con la ayuda del asistente de ensamblaje “*Assembly Wizard*”, el cual genera fragmentos de regiones en la secuencia abierta, se realizó la inserción automática de la secuencia del gen de interés en dicho sitio de corte reconocido. Este paso es fundamental para obtener una vista previa del plásmido resultante, al igual que sugerencias a tomar en cuenta al momento de llevar a cabo estos experimentos a nivel de laboratorio, evitando posibles complicaciones, Figura 1.

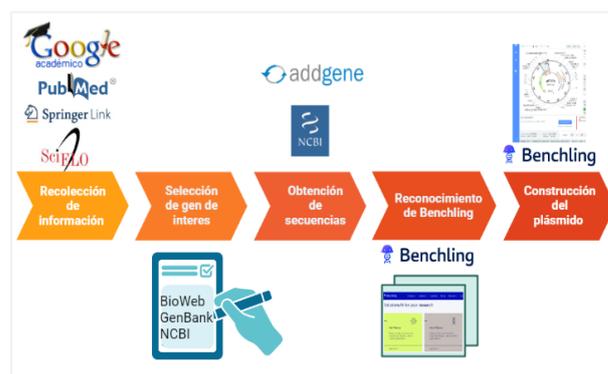


Figura 1. Flujo de trabajo de la fase práctica.

### Fase de evaluación del proyecto

Con el propósito de evaluar las fortalezas y deficiencias de la estrategia de aprendizaje desarrollada para la edición genética *In silico* se realizó una encuesta de retroalimentación posterior a la sustentación grupal de cada proyecto desarrollado, dentro de la cual se

plantearon preguntas de opinión, comprensión, efectividad, utilidad, grado de dificultad de la estrategia, entre otras opciones (García-Carpintero, 2017; Cortes-Hernandez y Domínguez-Ramírez, 2019).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Fase de planificación y organización

A pesar de que el desarrollo de una investigación depende de diversos factores limitantes como son el uso de recursos, presupuesto y disponibilidad de equipos, las ventajas que conlleva realizar el estudio *In silico* son múltiples. En este sentido una de las principales ventajas es el uso de recursos, ya que la disponibilidad de herramientas y plataformas computacionales abaratan costos y tiempos, lo que permite que una investigación pueda avanzar más rápido (Carbonell *et al.*, 2020). Los resultados implicaron la participación de 40 estudiantes de un curso de Biología Molecular de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Regional Amazónica Ikiam. Se trabajó en 6 grupos y cada grupo concretó un proyecto de aula en el que se evidenció la

comprensión de los conocimientos relacionados a la edición genética. Se logró compilar los resultados de los grupos, demostrando por medio de una encuesta aplicada a los estudiantes, donde se evidenció la aplicación de los fundamentos teóricos de la edición genética por medio de herramientas *In silico*.

#### Fase práctica y ejecución

Por otro lado, el desarrollo de estos proyectos permitió un incremento significativo en las habilidades de los estudiantes en el proyecto, puesto que desarrollaron una destreza notable en el uso de herramientas digitales como NCBI y *Benchling* para la búsqueda de secuencias de ADN, identificación de genes de interés y el ensamblaje propio del plásmido en cada proyecto definido. La Tabla 1, muestra los resultados de los grupos, el ensamblaje del plásmido recombinante mediante clonaje molecular, con la capacidad de conferir nuevas características al organismo modificado brindando una solución alternativa a una problemática determinada.

**Tabla 1.** Proyectos de aula realizados

Grupo	Objetivo del proyecto	Especie objetivo	Plásmido empleado	Tipo de edición	Resultados
G-1	Diseñar un plásmido que permita la sobreexpresión del gen SKT5 para aumentar la producción de quitina en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para control del peso corporal.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	pDONR221-Cka1	Sobreexpresión del gen SKT5	Obtención del plásmido recombinante "Gracias Dios"
G-2	Diseñar un plásmido para la expresión del gen HBsAg en <i>Arabidopsis thaliana</i> obteniendo una alternativa para la producción del antígeno	<i>Arabidopsis thaliana</i>	pSL1180	Expresión del gen HBsAg	Se logró el plásmido recombinante
G-3	Analizar la factibilidad del silenciamiento del gen NTP II en <i>Agrobacterium tumefaciens</i> para inhibir la resistencia al antibiótico kanamicina	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	pBI121	Silenciamiento del gen NTP II	Deleción de 795 pb en la secuencia inicial
G-4	Transformar la microalga <i>Neochloris oleoabundans</i> para mejorar su potencial en la producción de biodiesel.	<i>Neochloris oleoabundans</i>	pCAMBIA 1305.1	Sobreexpresión del gen DGAT1	Obtención del plásmido recombinante
G-5	Modificar la bacteria <i>Pseudomona putida</i> mediante vectores que ayudan a la sobreexpresión del gen Alks para evaluar su capacidad de biorremediación en ecosistemas contaminados	<i>Pseudomona putida</i>	pGEM easy vector	Sobreexpresión del gen Alks	Obtención del plásmido pGEM_alkM
G-6	Diseñar un plásmido que permita sobreexpresar la proteína GRDP2 para acelerar el crecimiento de <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Plásmido pBI121	Sobreexpresión de la proteína GRDP2	Obtención del plásmido pBI121_GRDP2

Los seis grupos de trabajo lograron obtener resultados, concretar los objetivos y crear un plásmido recombinante que cumplía con las características buscadas, sin embargo, durante el desarrollo del proyecto y sobre todo durante la sustentación de los mismos se logró evidenciar algunas falencias. Una de las limitaciones del estudio fue que un grupo (G-1) no pudo obtener un plásmido vector para trabajar en *S. cerevisiae*, no obstante, el grupo pudo solucionar esta falencia al trabajar con un plásmido sugerido por literatura, que permitía la edición génica en levaduras (Coronas-Serna *et al.*, 2021).

Dos grupos (G-2, G-6) que obtuvieron su plásmido recombinante presentaron evidencias imprecisas, es decir que las imágenes no concordaban con lo sustentado, debido a que el plásmido resultante presentado no contenía el número de pares de bases correctas y los sitios de corte donde se unían los fragmentos de las secuencias no eran visualizados. Lo que redireccionó a someter a cuestionamiento por medio de preguntas sobre el procedimiento, ensamblaje e identificación de los componentes del plásmido. Demostrando en estos casos que, la deficiencia no fue por parte de la estrategia implementada, sino por la falta de conocimientos previos sobre Biología celular, Genética y Microbiología.

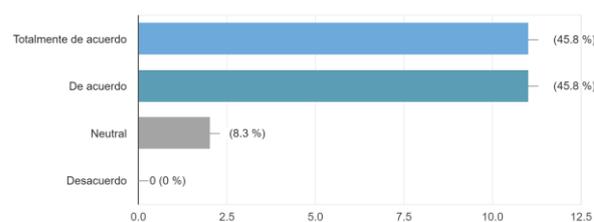
Uno de los grupos (G-3) planteó realizar un silenciamiento genético a través de la edición de pares de bases en un gen determinado. El silenciamiento resultó efectivo en la plataforma Benchling sin embargo, se pudo evidenciar que se omitió algunos pasos fundamentales para realizar el silenciamiento de un gen por edición de pares de bases como son enzimas nucleasas, desaminasas, marco de lectura del codón, editores de bases de Citosinas (CBEs) y editores de bases de Adeninas (ABEs), unión de extremos no homólogos, reparaciones dirigidas, entre otros (Tang *et al.*, 2019). Por ello se asume que, si se intenta replicar el procedimiento a nivel de laboratorio, es muy probable que su viabilidad no sea real.

Otro de los grupos (G-5) que logró desarrollar su plásmido recombinante, en el momento de presentar los resultados incluyó procesos no contemplados que rebasaban los objetivos planteados en un inicio, sin embargo, fue el único inconveniente que presentaron en el desarrollo de su proyecto. Finalmente, uno de los grupos (G-4) tuvo problemas con la plataforma, el ensamblaje del plásmido no fue correcto debido a que las regiones de corte y unión entre las secuencias no coincidían, sin embargo, al cuestionar el procedimiento y conceptos básicos sobre edición genética, ADN recombinante, enzimas de restricción usadas y demás componentes lograron contestar las incógnitas, por lo que se sugirió que se replicara con precisión la metodología para lograr el plásmido recombinante buscado.

## Fase de evaluación del proyecto

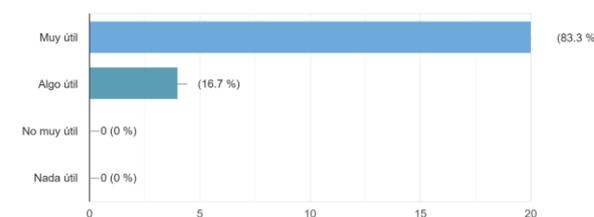
Del mismo modo, con los resultados de la encuesta planteada se evidenció que hay un predominio de estudiantes del género femenino (75%), además de un alto nivel de motivación y compromiso al desarrollar el proyecto, lo que contribuyó a una mayor participación en equipo, como consecuencia, un mejor desempeño. Se enfatizó en las preguntas que abordaron la comprensión y efectividad de tema de aprendizaje, la relevancia de la estrategia de aprendizaje en el desarrollo académico y profesional, además la efectividad de la estrategia en el desarrollo del proyecto.

La Figura 2, muestra los resultados del análisis de la pregunta dos realizada en la encuesta para evaluar la comprensión de la estrategia de enseñanza. Los datos obtenidos indicaron que el grado de comprensión alcanzó una puntuación de 91.6% de aprobación en la categoría “de acuerdo y totalmente de acuerdo”, lo que sugiere que la mayoría de los estudiantes consideraron que la estrategia fue entendible, sin embargo, existe una pequeña parte que se mostró neutral con la estrategia de enseñanza implementada.



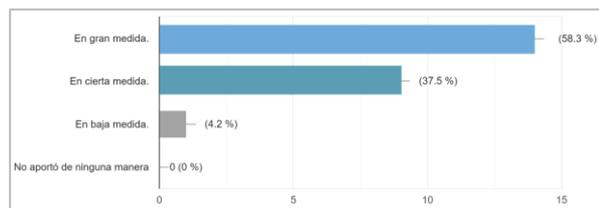
**Figura 2.** Resultado de la Pregunta: ¿Considera que la estrategia de enseñanza le ayudó a comprender mejor el tema que se abordó y fue efectiva para alcanzar los objetivos de aprendizaje?, encuesta realizada en este estudio.

Con relación al nivel de relevancia que la estrategia de aprendizaje pudo aportar a los estudiantes en su formación académica y futura carrera, los resultados indicaron que se logró un 83.3% de aprobación. Esta evidencia (Figura 3) sugiere que los estudiantes tuvieron un alto grado de afinidad y motivación durante el desarrollo del proyecto de aula, considerando que la estrategia de aprendizaje era de relevancia significativa en su posterior formación profesional.



**Figura 3.** Resultado de la Pregunta: ¿En qué medida cree que esta estrategia de enseñanza fue relevante para su formación académica y futura carrera?, encuesta realizada en este estudio.

En los resultados que se obtuvo para analizar el nivel de interés que generó la estrategia de enseñanza con respecto al tema abordado, edición genética *In silico*, se obtuvo un 58.3% de aprobación (Figura 4), que se ve acompañado de 37.5% cuya apreciación es aceptable en cierta medida. Estos resultados sugieren que una parte significativa de los estudiantes mostraron interés en el tema ejecutado; sin embargo, existe un margen que indica que se debería mejorar algunas falencias surgidas durante el desarrollo de la estrategia de aprendizaje.



**Figura 4.** Resultado de la Pregunta: ¿En qué medida cree que esta estrategia de enseñanza fomentó su interés en el tema que se abordó?, encuesta realizada en este estudio.

#### 4. CONCLUSIONES

El uso de modelos *In silico* permite simular rápidamente un gran número de situaciones, ayudando a identificar las soluciones más acertadas y reduciendo el número de pruebas de laboratorio. Los proyectos propuestos tuvieron una duración de cuatro meses netos. Fueron supervisados regularmente por el profesor y ayudante de cátedra de Biología Molecular I de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, quienes proporcionaron retroalimentación continua y evaluaciones de progreso.

En general, los proyectos de aula son un método eficiente para mejorar el conocimiento de los estudiantes sobre la edición de genes y promover el uso de herramientas digitales para el análisis y diseño de plásmidos. A través de un informe final y una presentación oral, se pueden demostrar otras habilidades como la originalidad, la redacción científica, la calidad del trabajo realizado y la capacidad para abordar problemas reales en el campo de la Biotecnología. Para la realización de este tipo de proyectos, es necesario partir del dominio de conceptos fundamentales, que los docentes deben nivelar, para luego, a partir de la comprensión de estos fundamentos teóricos, proponer alternativas a problemas que los alumnos consideren pertinentes. Además, se sugiere que este tipo de actividades puedan ser implementadas en cursos adicionales de ciencias biológicas a nivel secundario y universitario, no sólo a través de herramientas computacionales, sino también a través de prácticas de laboratorio.

#### FINANCIAMIENTO

No aplica.

#### CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

#### AGRADECIMIENTO

A Carolina Castro, responsable del laboratorio de biología molecular de IKIAM; igualmente a Carolina Bolaños, Marco Viteri y Camila Freire, por su retroalimentación constante en la materia.

#### 5. REFERENCIAS

- Alonso-Fernández, Cristina; Calvo-Morata, Antonio; Freire, Manuel; Martínez-Ortiz, Iván; y Fernández-Manjón, Baltasar (2019). Applications of data science to game learning analytics data: A systematic literature review. *Computers & Education*, 141(2019), 103612. <https://doi.org/10.1016/j.compedu.2019.103612>
- Antunes, Luisa (6 junio 2022). *Genome Editing in Humans: A survey of law, regulation and governance principles*. By Scientific Foresight (STOA). EPRS | European Parliamentary Research Service. Disponible en: <https://epthinktank.eu/2022/06/06/genome-editing-in-humans-a-survey-of-law-regulation-and-governance-principles/>
- Aukema, Kelly G.; Escalante, Diego E.; Maltby, Meghan M.; Bera, Asim K.; Aksan, Alptekin; y Wackett, Lawrence P. (2017). *In Silico Identification of Bioremediation Potential: Carbamazepine and Other Recalcitrant Personal Care Products*. *Environmental Science & Technology*, 51(2), 880-888. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04345>
- Bhat, Gh Rasool; Sethi, Itty; Rah, Bilal; Kumar, Rakesh; y Afroze, Dil (2022). Innovative *in Silico* Approaches for Characterization of Genes and Proteins. *Frontiers in Genetics*, 13(2022), 1-20. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.865182>
- Capa Gaona Jhoana; Ordoñez Mendoza Rubí; Chicaiza Cristhian Ortiz; Loján María del Cisne; Alvarado Ávila Ginno; y Romero Paguay José. (2022). Enseñanza de Química, Bioquímica y Biotecnología en tiempos de pandemia: herramientas y experiencias. *Zenodo*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6582193>

- Capecchi, Mario R. (1989). Altering the Genome by Homologous Recombination. *Science*, 244(4910), 1288-1292. <https://doi.org/10.1126/science.2660260>
- Carbonell, Pablo; Le Feuvre, Rosalind; Takano, Eriko; y Scrutton, Nigel S. (2020). *In silico* design and automated learning to boost next-generation smart biomanufacturing. *Synthetic Biology (Oxford, England)*, 5(1), ysaa020. <https://doi.org/10.1093/synbio/ysaa020>
- Chicaiza-Ortiz, Cristhian D.; Rivadeneira-Arias, Virginia del C.; Herrera-Feijoo, Robinson J.; y Andrade, Jean Carlo (2023). *Biotechnología Ambiental, Aplicaciones y Tendencias*. Editorial Grupo AEA. Disponible en: <https://doi.org/10.55813/egaea.l.2022.25>
- Clement, Kendell; Hsu, J. Yonathan; Canver, Matthew C.; Joung, J. Keith; y Pinello, Luca (2020). Technologies and Computational Analysis Strategies for CRISPR Applications. *Molecular Cell*, 79, 11-29. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.06.012>
- Coronas-Serna, Julia M.; Del Val, Elba; Kagan, Jonathan C.; Molina, María; y Cid, Victor J. (2021). Heterologous Expression and Assembly of Human TLR Signaling Components in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*, 11(11), 1737. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biom11111737>
- Correa, B., Rios, L., Volpi e Silva, N., Prado, G. S., & Lopes, J. H. (2021). *Technology in Plant Genome Editing*. Embrapa.
- Cortes-Hernandez, Paulina; y Domínguez-Ramírez, Lenin (2019). *In Silico Mutagenesis, Docking, and Molecular Dynamics: Their Role in Biosensor Design for Environmental Analysis and Monitoring BT - Ecopharmacovigilance: Multidisciplinary Approaches to Environmental Safety of Medicines* (L. M. Gómez-Oliván (ed.); pp. 221-234). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/698\\_2017\\_144](https://doi.org/10.1007/698_2017_144)
- El-Bassyouni, H.; y Mohammed, M. (2018). *Genome Editing: A Review of Literature*. LAP LAMBERT Academic Publishing.
- Estrellado, R. A., Freer, E. A., Motsipak, J.; Rosenberg, J. M.; y Velásquez, I. C. (2020). *Data science in education using R*. London, England: Routledge. Nb. All authors contributed equally.
- Furtado, Rafael Nogueira (2019). Gene editing: the risks and benefits of modifying human DNA. *Rev. Bioét.*, 27(2), 223-233. <https://doi.org/10.1590/1983-80422019272304>
- García-Carpintero, E. (2017). El portafolio como metodología de enseñanza-aprendizaje y evaluación en el practicum: percepciones de los estudiantes. *REDU. Revista de Docencia Universitaria*, 15(1), 241-257. Disponible en: <https://doi.org/10.4995/redu.2017.6043>
- Garcillán-Barcia, M. Pilar; Pluta, Radoslaw; Lorenzo-Díaz, Fabián; Bravo, Alicia; y Espinosa, Manuel (2022). The Facts and Family Secrets of Plasmids That Replicate via the Rolling-Circle Mechanism. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 86(1), e0022220. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00222-20>
- Karre, Ashok (2020). *Gene editing technology, Information Technology*. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Ashok-Karre/publication/347442835\\_GENE\\_EDITING\\_TECHNOLOGY/links/5fdc3550299bf140881b5828/GENE-EDITING-TECHNOLOGY.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ashok-Karre/publication/347442835_GENE_EDITING_TECHNOLOGY/links/5fdc3550299bf140881b5828/GENE-EDITING-TECHNOLOGY.pdf)
- Khalil, Ahmad M. (2020). The genome editing revolution: review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 68(2020), 68. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00078-y>
- Khan, Sikandar Hayat (2019). Genome-Editing Technologies: Concept, Pros, and Cons of Various Genome-Editing Techniques and Bioethical Concerns for Clinical Application. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 16(June), 326-334. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.027>
- Khurshed, Mohammed; Molenaar, Remco J.; y Van Noorden, Cornelis JF (2019). A simple *in silico* approach to generate gene-expression profiles from subsets of cancer genomics data. *BioTechniques*, 67(4), 172-176. <https://doi.org/10.2144/btn-2018-0179>
- Labun, Kornel (2020). *In silico design and analysis of targeted genome editing with CRISPR* [Tesis PhD]. University of Bergen, Noruega. Disponible en: <https://bora.uib.no/bora-xmlui/handle/1956/21443>

- Moradi, Mohammad; Golmohammadi, Reza; Najafi, Ali; Moosazadeh Moghaddam, Mehrdad; Fasihi-Ramandi, Mahdi; y Mirnejad, Reza (2022). A contemporary review on the important role of in silico approaches for managing different aspects of COVID-19 crisis. *Informatics in medicine unlocked*, 28(100862), 2352-9148. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100862>
- Murray, David; Doran, Peter; MacMathuna, Padraic; y Moss, Alan C. (2007). In silico gene expression analysis – an overview. *Molecular Cancer*, 50(2007), 6-50. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-6-50>
- Pradhan, Chandan Kumar; Nayak, Suraja, Kumar; y Baliyarsingh, Bighneswar (2022). In Silico Tools and Approach of CRISPR Application in Agriculture. *Advances in Agricultural and Industrial Microbiology*, 2(2022), 177-189. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-9682-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-16-9682-4_10)
- Pratami, Mentari Putri; Fendiyanto, Miftahul Huda; Satrio, Rizky Dwi; Nikmah, Isna Arofatur; Awwanah, Mo; Farah, Nadya; Permata Sari, Nastiti Intan; y Nurhadiyanta (2022). In-silico Genome Editing Identification and Functional Protein Change of *Chlamydomonas reinhardtii* Acetyl-CoA Carboxylase (CrACCase). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 15(3), 431 – 440. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.54319/jjbs/150312>
- Rahnama, Hassan; Nikmard, Mahdi; Abolhasani, Mohsen; Osfoori, Rahim, Sanjarian, Forough; y Habashi, Ali Akbar (2017). Immune analysis of cry1Ab-genetically modified potato by in-silico analysis and animal model. *Food Science and Biotechnology*, 26(5), 1437-1445. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0181-4>
- Sandoval Rodríguez, Ana S.; Mena Enríquez, Mayra; y Márquez Aguirre, Aana L. (2013). Capítulo13: Vectores de clonación y expresión. En A. M. Salazar Montes, A. S. Sandoval Rodríguez, & J. S. Armendáriz Borunda (Eds.), *Biología molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. McGraw-Hill Education. Disponible en: <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=1118679813>
- Silva, E. A. J., Estevam, E. B. B., Silva, T. S., Nicolella, H. D., Furtado, R. A., Alves, C. C. F., Souchie, E. L., Martins, C. H. G., Tavares, D. C., Barbosa, L. C. A., y Miranda, M. L. D. (2019). Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). *Braz J Biol*, 79(4), 697-702. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.189089>
- Taldaev, Amir; Terekhov, Roman; Nikitin, Ilya; Zhevhlakova, Anastasiya; y Selivanova, Irina (2022). Insights into the Pharmacological Effects of Flavonoids: The Systematic Review of Computer Modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms23116023>
- Tang, Jinling; Lee, Trevor; y Sun Tao (2019). Single-nucleotide editing: From principle, optimization to application. *Human Mutation* 40(12) 2171-2183. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/humu.23819>
- Teixeira Gomes, Ana F.; Fortunado de Medeiros, Wendjilla; Silva de Oliveira, Gerciane; Medeiros, Isaiane; Da Silva Maia, Juliana K.; Leal Bezerra, Ingrid W.; Piuvezam, Grasiela; y Heloneida de Araujo Morais, Ana (2022). In silico structure-based designers of therapeutic targets for diabetes mellitus or obesity: A protocol for systematic review. *PLOS ONE*, 17(12), e0279039.
- Timo, Giulia O.; Reis, Rodrigo, S. S. V. D.; Melo, Adriana F.; Costa, Thales V. L.; Magalhães, Pérola O.; y Homem-de-Mello, Mauricio (2019). Predictive Power of In Silico Approach to Evaluate Chemicals against *M. tuberculosis*: A Systematic Review. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 12(3), 1424-8247. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ph12030135>
- Todke, Pooja A.; y Devarajan, Padma V. (2022). In-silico approach as a tool for selection of excipients for safer amphotericin B nanoformulations. *Journal of Controlled Release*, 349(2022), 756-764. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.07.030>
- Trump, Benjamin; Cummings, Christopher; Klasa, Kasia; Galaitsi, Stephanie; y Linkov, Igor (2022). Governing biotechnology to provide safety and security and address ethical, legal, and social implications. *Frontiers in Genetics*, 13, 1052371. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1052371>

Zhang, Yuwei; Zhao, Guofang; Ahmed, Hadi Fatma; Yi, Tianfei; Hu, Shiyun; Cai, Ting; y Liao, Qi (2020). In silico Method in CRISPR/Cas System: An Expedite and Powerful Booster. *Frontiers in Oncology*, 10(2020), 1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.58440>

*Artículo en normas APA 7ma. Edición.*



Artículo de **libre acceso** bajo los términos de la **Licencia Creative Commons Reconocimiento – NoComercial – CompartirIgual 4.0 Internacional**. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre y cuando se realice sin fines comerciales y estén debidamente citados bajo la misma licencia.