

ENXEÑERÍA XENÉTICA

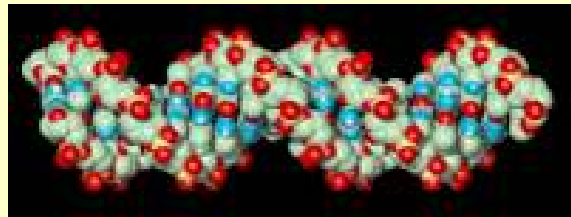


Carmen Cid Manzano

**I.E.S. Otero Pedrayo. Ourense. Departamento Bioloxía e
Xeoloxía.**

Bioteconoloxía é a disciplina baseada na utilización de seres vivos ou os seus compoñentes, para realizar determinados procesos químicos con finalidade industrial.

Gran parte da biotecnoloxía actual baséase en técnicas de **enxeñería xenética** que permiten o illamento, a modificación e a expresión do material xenético.



A Enxeñería Xenética é unha nova ciencia que trata da manipulación dos xenes e dos seus produtos. Os métodos de traballo son tamén coñecidos como **técnicas do ADN recombinante**.

PROCEDIMENTOS BÁSICOS EN ENXEÑERÍA XENÉTICA

- Obtención de fragmentos de ADN por encimas de restricción**
- Reacción en cadea da polimerasa (PCR)**
- Obtención de xenes a partir de ARN_m**
- Inserción de fragmentos de ADN en vectores de clonado**
- Clonación xénica en bacterias**
- Hibridación**
- Determinación da secuencia de nucleótidos no ADN**

1970 - Smith e Nathans

Descubrimiento das encimas de restricción



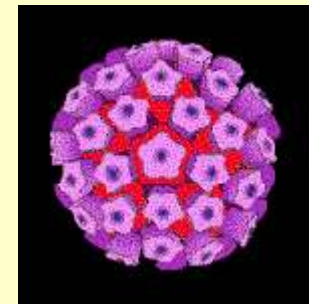
Hamilton Smith

- Descubriu *HindII* en *Haemophilus influenzae*

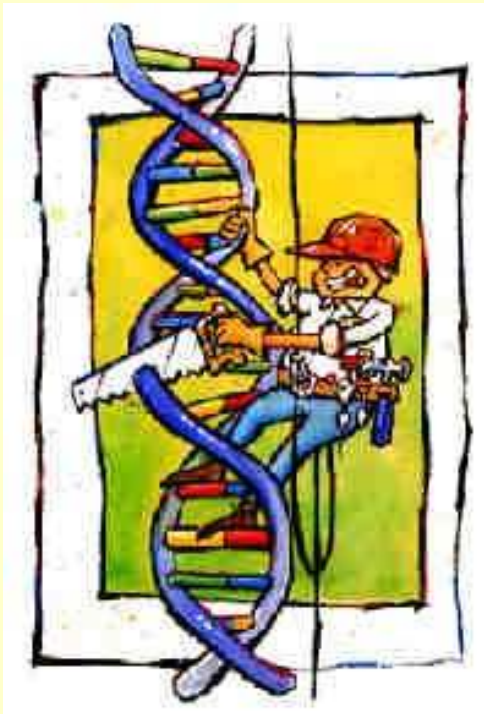


Daniel Nathans

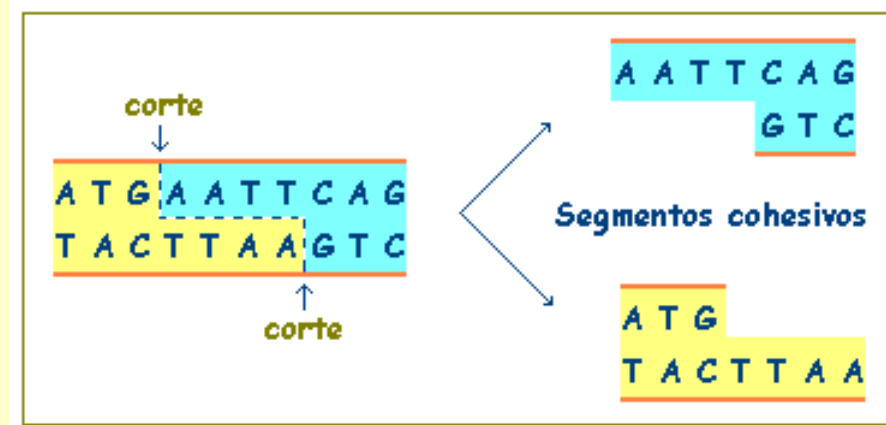
- Utilizou *HindII* para facer o primeiro mapa de restricción do SV40



Obtención de fragmentos de ADN por encimas de restricción

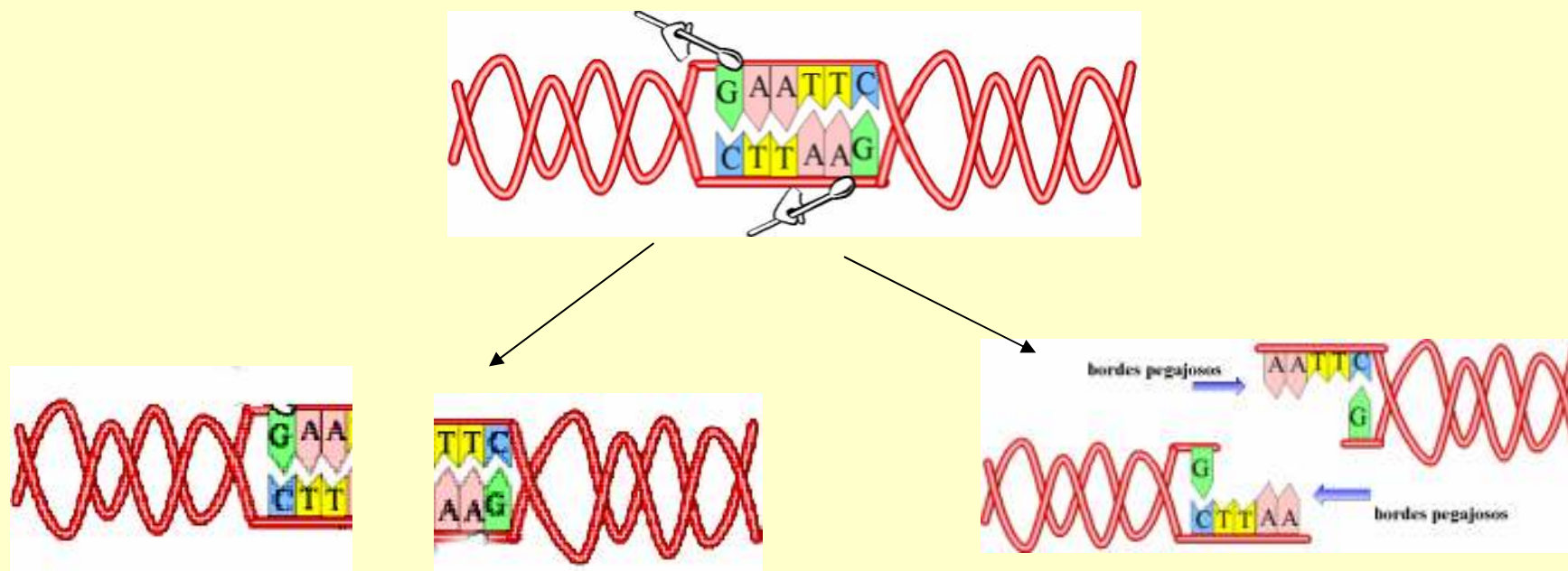


As encimas de restricción son unhas encimas presentes en determinadas bacterias que son capaces de romper o ADN extraño que pode infectalas, recoñecendo secuencias específicas. Hoxe en día coñécense máis de 200 de estas "tesoiras moleculares" distintas.



Cortan o ADN por sitios específicos chamados **secuencias de recoñecemento**, formadas por catro ou oito pares de bases, que, na bacteria orixinal, están protexidas para evitar que se destrúa o seu propio ADN.

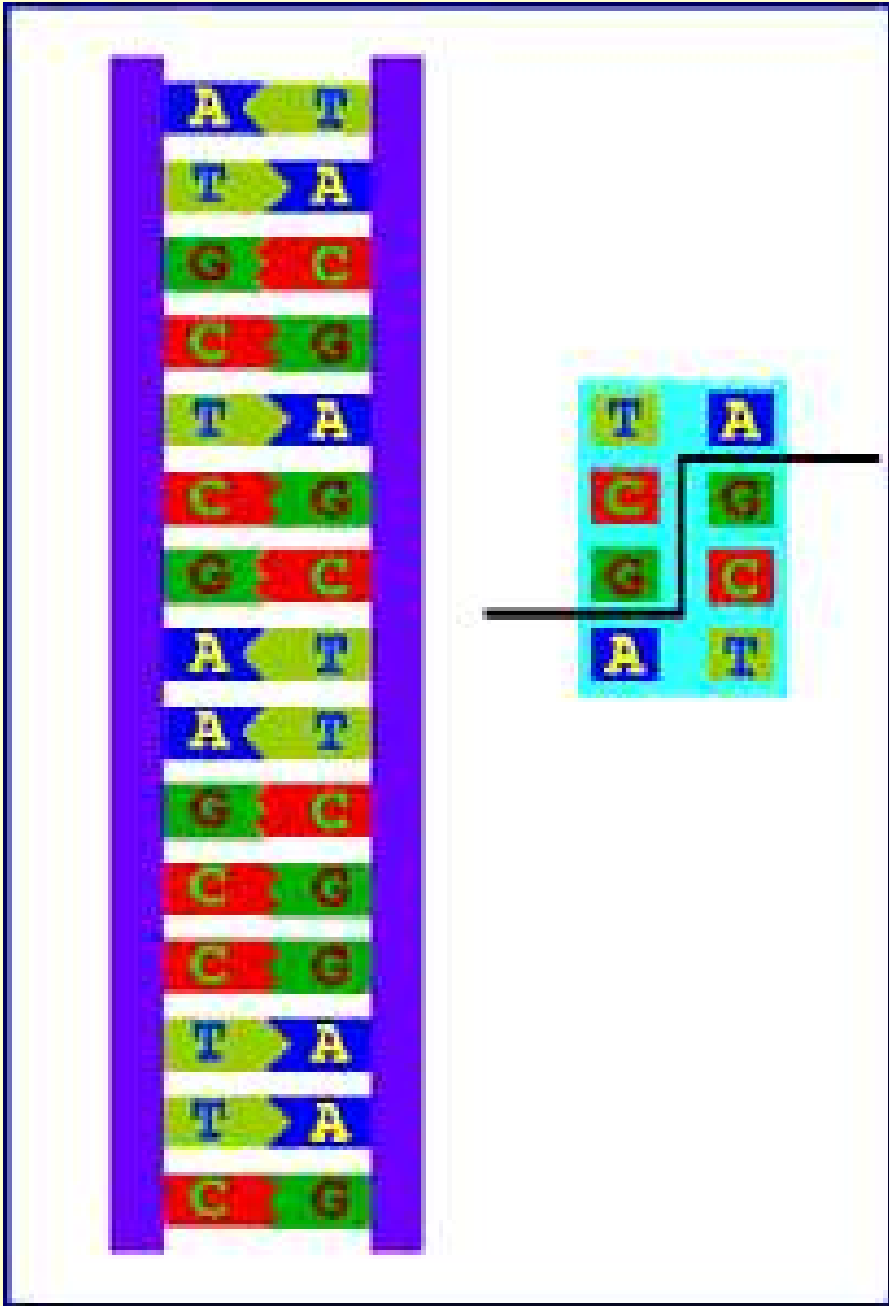
Algunhas encimas de restricción cortan as dúas cadeas do ADN no mesmo nucleótido, outras, en cambio, cortan cada cadea por lugares separados e, ó facelo, xeran extremos cohesivos, que permiten que as moléculas de ADN que os levan formen pontes de H e tendan a xuntarse. Isto permite a unión de fragmentos de ADN de procedencia diferente, sempre que se rompiera pola mesma encima de restricción.

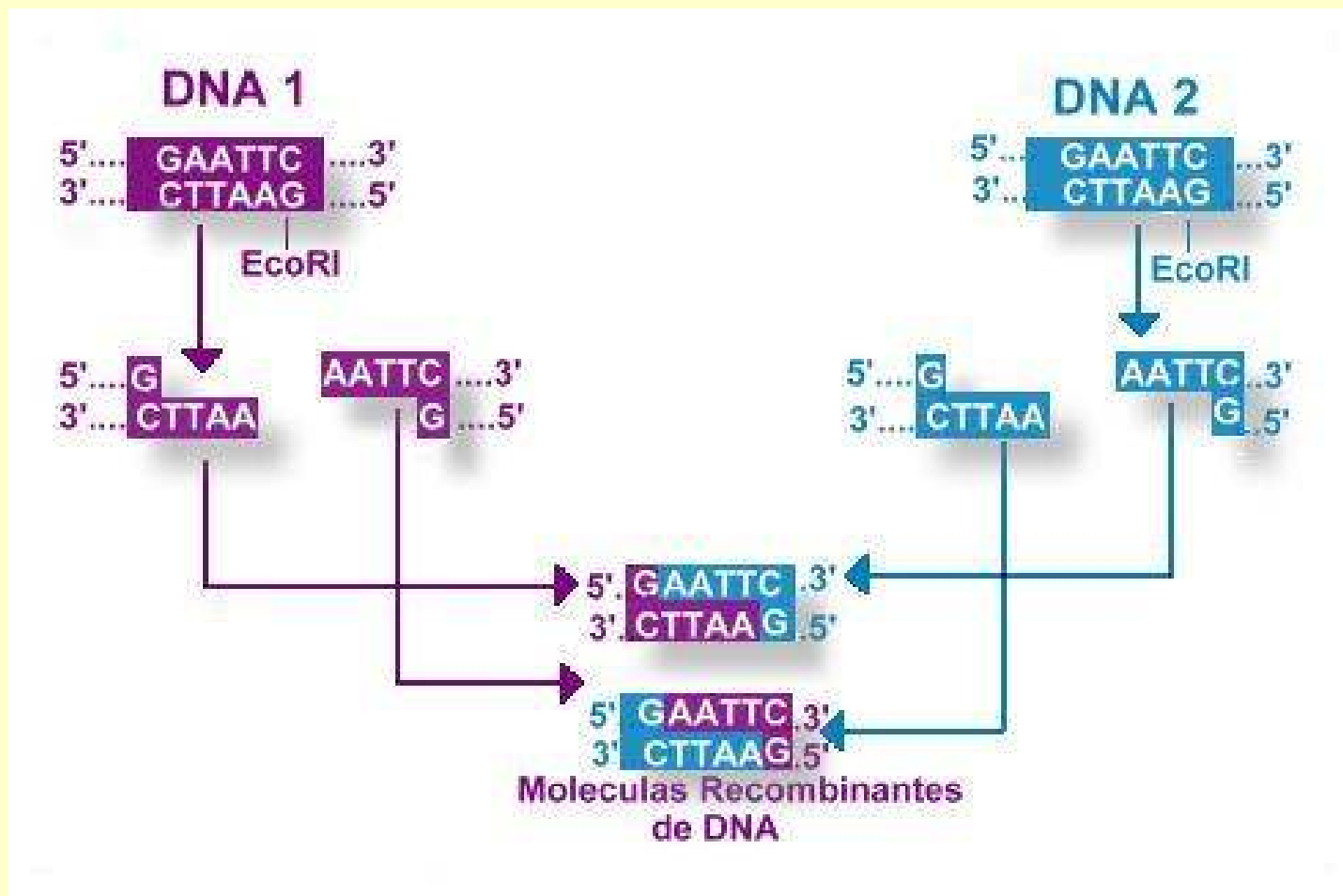


**Corte no mesmo nucleótido
(Extremos romos)**

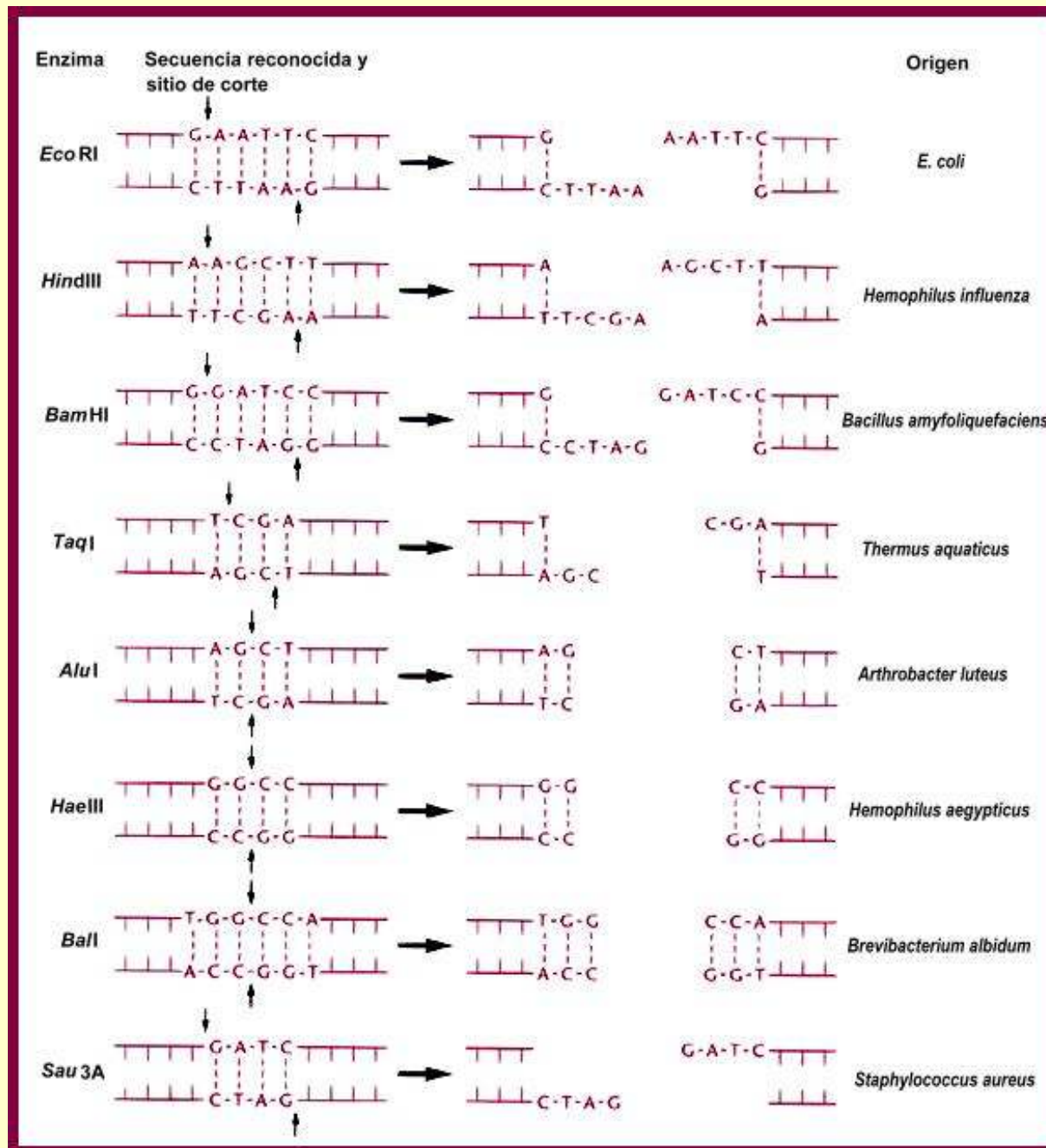
Corte con extremos cohesivos

Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)





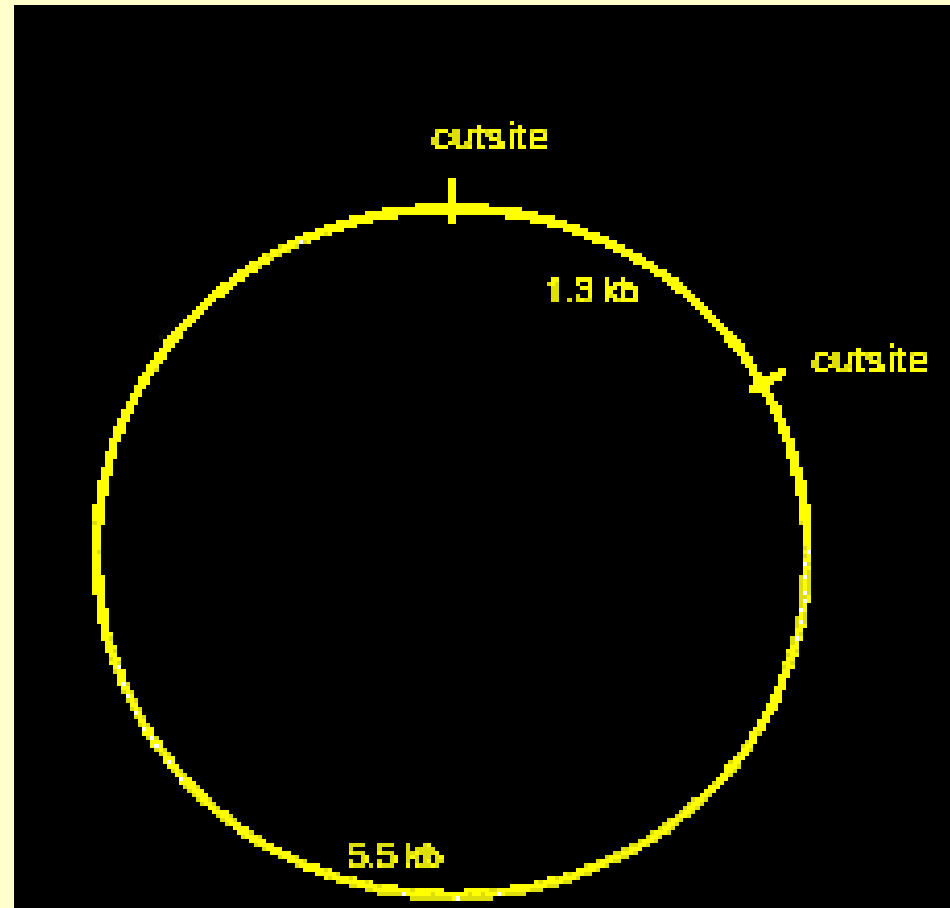
Unión entre fragmentos de ADN con extremos cohesivos



As enzimas de restrição serven ás bacterias como defensa contra os virus.

Distintas enzimas de restrição ou “tesoiras moleculares”

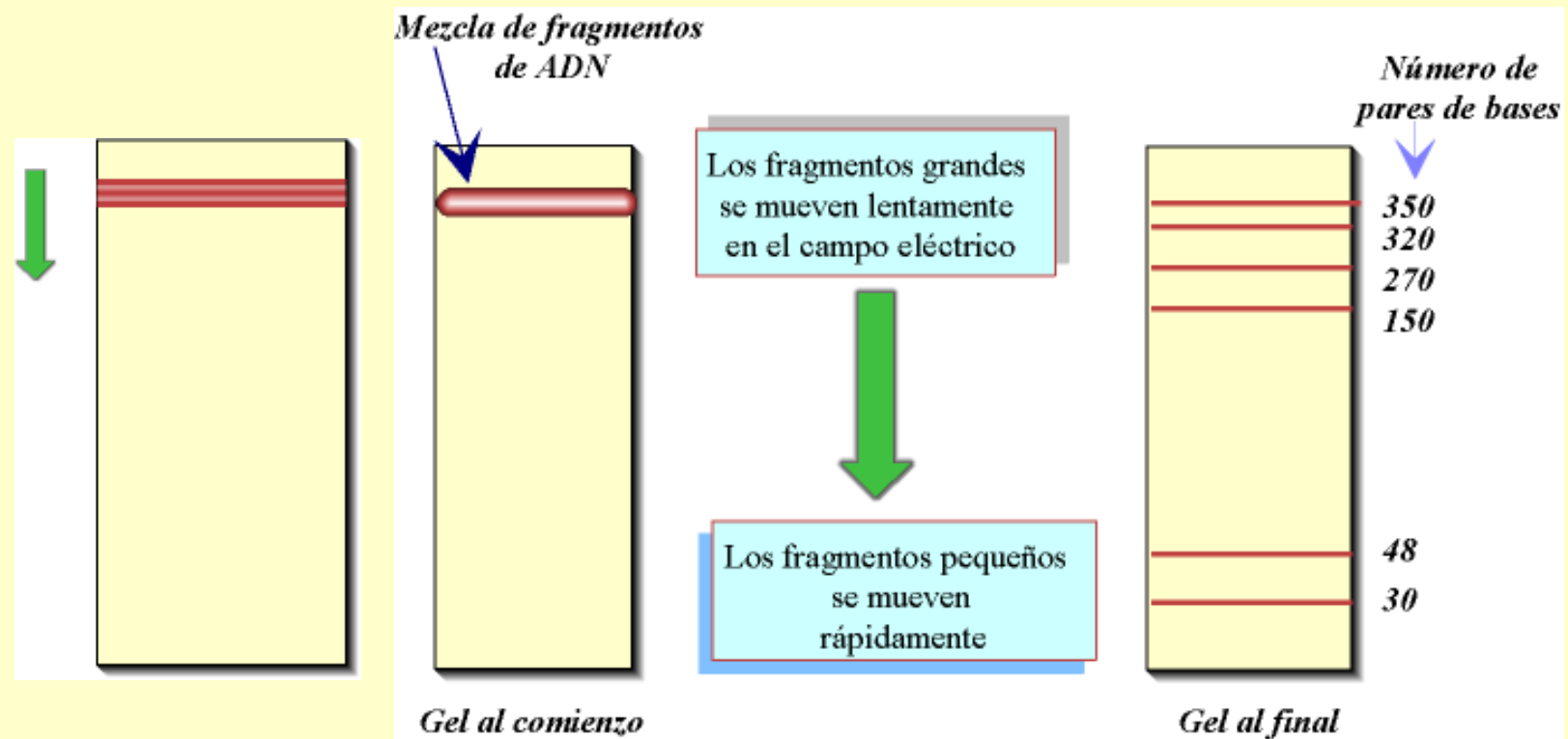
O nome da enzima deriva do microorganismo orixe.



Na figura, un plásmido circular de 6,8 kb ten dous sitios de recoñecemento para unha encima concreta. O produto da dixestión completa é unha parella de fragmentos de tamaños 5,5 kb e 1,3 kb.

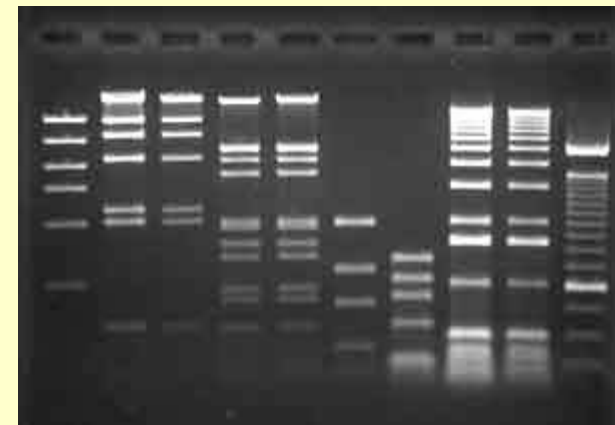
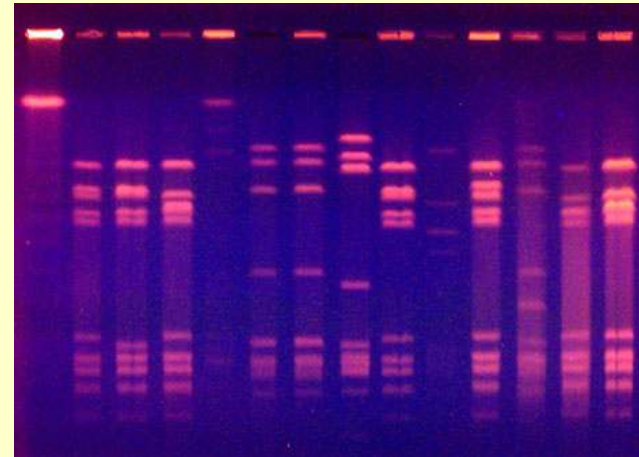
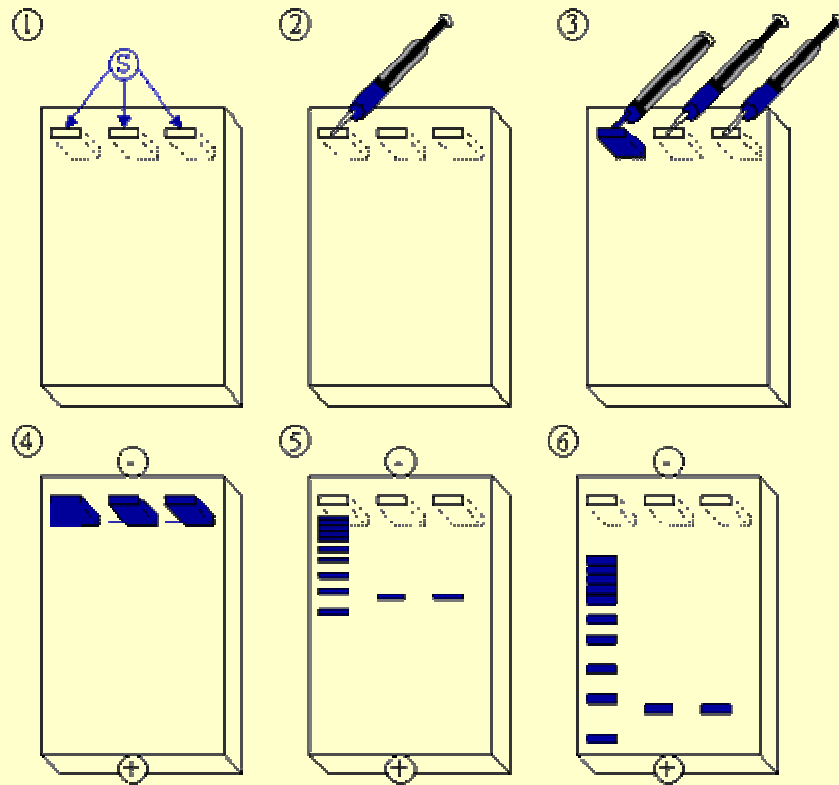
Os fragmentos obtidos pódense separar por tamaños, mediante a técnica de **electroforesis**: Separación de moléculas en función da súa carga (carga/masa e forma).

Soportes: agarosa e acrilamida



Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)

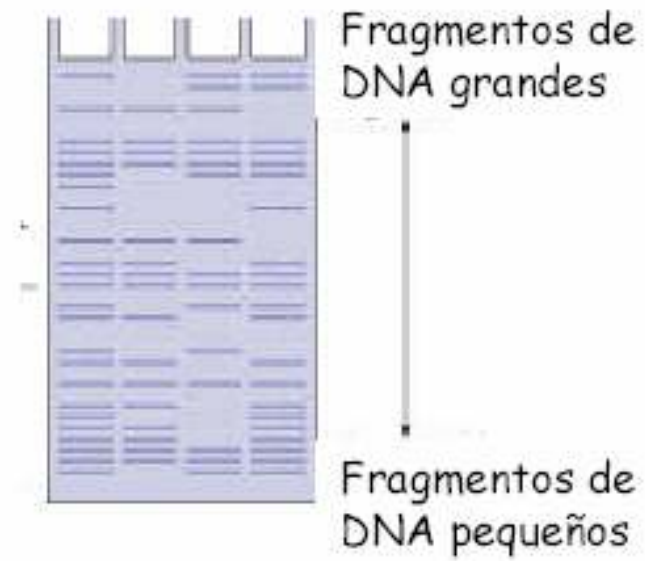
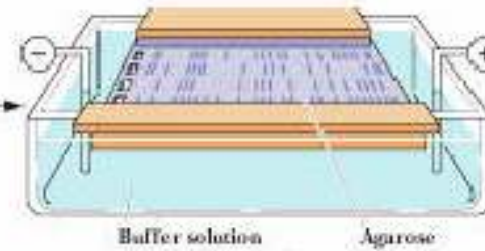
Exemplos de electroforese: Agarosa



1 Digest DNA with restriction endonucleases



2 Perform agarose gel electrophoresis on the DNA fragments from different digests



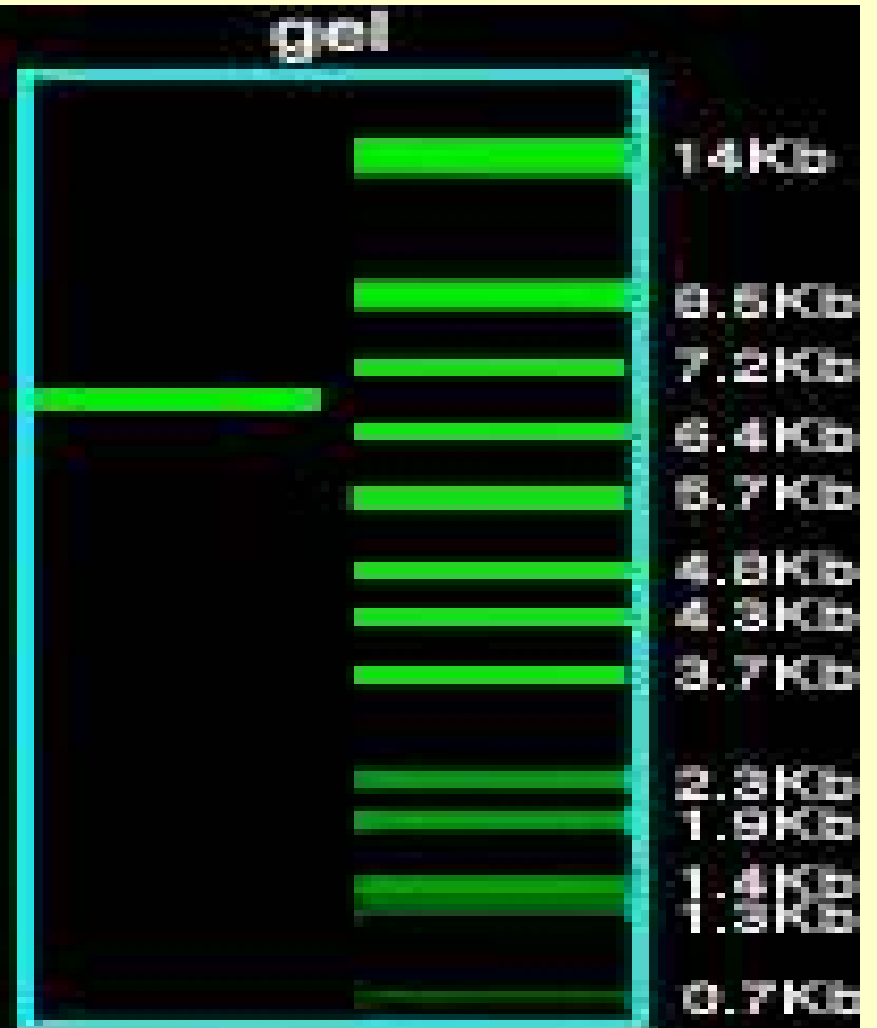


6.8Kb



6.8Kb

fragments



CLONACIÓN DE SEGMENTOS DE ADN *IN VITRO* MEDIANTE A REACCIÓN EN CADEA DA POLIMERASA (PCR)

A PCR consiste en clonar segmentos de ADN nun tubo de ensaio.



A PCR utiliza unha encima ADN polimerasa dunha bacteria que vive en augas termais, *Thermus aquaticus* (así a encima pode traballar a altas temperaturas).



Thermus aquaticus

A PCR require coñecer a secuencia de nucleótidos dun xene desexado, xa que para que funcione, é preciso dispoñer de segmentos curtos de oligonucleótidos (20 nucleótidos), complementarios de secuencias presentes no xene ou xenes desexados, que actúen como cebadores ou primer para a ADN polimerasa.

A PCR é un proceso cíclico no que quentando e arrefriando alternativamente a solución, pódense obter millóns de copias de ADN en tempos relativamente breves.

A PCR necesita:

- O fragmento de ADN que se quere replicar;
- ADN-pol;
- Desoxinucleótidos trifosfatos das catro bases (A,T,C,G);
- Moléculas de cebador (oligonucleótidos sintéticos).



A técnica da PCR foi desenvolvida polo **Dr. K.B. Mullis** a partir de 1983. Recibiu o Premio Nobel de química 1993

AMPLIFICACIÓN DUN FRAGMENTO DE ADN MEDIANTE PCR

Rexión de ADN a amplificar

1. Quitar para separar as cadeas

2. Arrefriar e engadir os cebadores, oligonucleótidos sintéticos

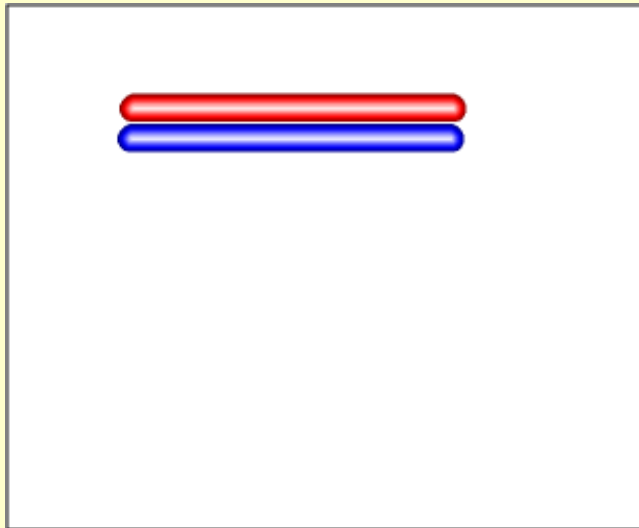
3. Engadir a ADN polimerasa termoestable para catalizar a síntese de ADN en dirección 5'3'

Repetir os pasos 1 e 2

A síntese de ADN (paso 3) está catalizada pola ADN polimerasa termoestable aínda presente

Repetir desde o paso 1 ó 3

Despois de 25 ciclo o fragmento de ADN amplificouse unhas 10^6 veces



A título anecdótico diremos que se produce un ciclo cada 4 ou 5 minutos, o que supón aproximadamente uns 100.000 millóns de copias unha soa tarde...
Realízase de forma automática nun aparato como se ve na fotografía.



A técnica PCR úsase:

- Estudos comparativos ou evolutivos;
- Para clonar ADN de restos humanos e mesmo de animais ou plantas xa extinguidos;
- Para a detección precoz ou prenatal de enfermidades conxénitas;
- Aplicacións en prácticas de medicina forense, xa que se poden xerar fragmentos de ADN dos individuos, que constitúen as súas pegadas xenéticas, de maior fiabilidade que as pegadas dactilares;
- Probas de paternidade;
- etc.

A maior parte do ADN non presenta diferencias entre individuos da mesma especie. Sen embargo, algunhas rexións chamadas **hipervariables** están formadas pola repetición, un nº determinado de veces, dunha secuencia característica. Ese nº varía moito dunhas persoas a outras.

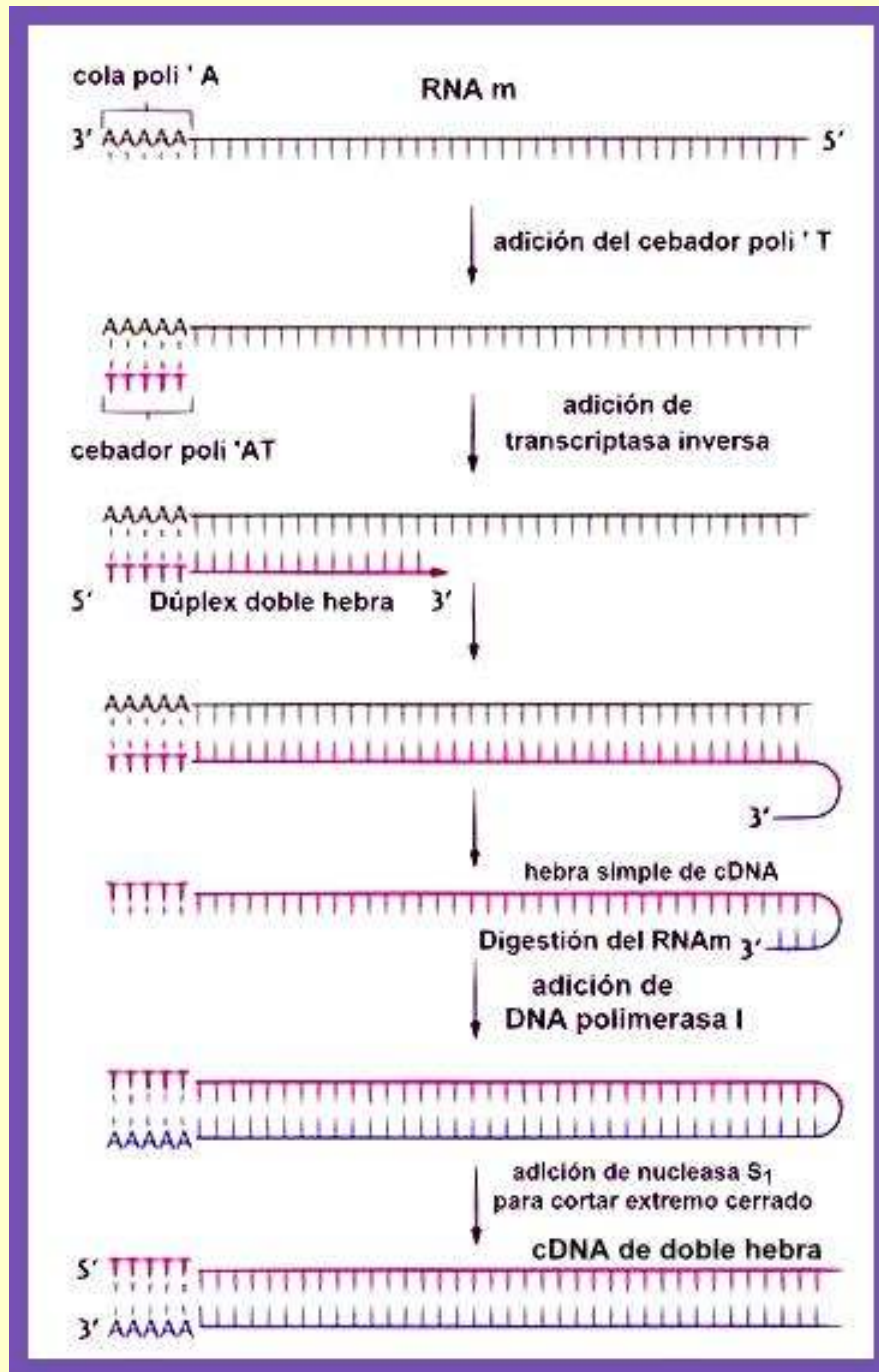


Obtención de xenos a partir de ARNm

No caso que coñezamos a secuencia de aminoácidos dunha proteína, pódese sintetizar *in vitro* o ARNm correspondente, ou ben illar das células o ARNm desexado e, a partir do ARNm por acción dunha reversotranscritasa ou transcriptasa inversa obter o ADN complementario (ADNc) do ARNm correspondente.

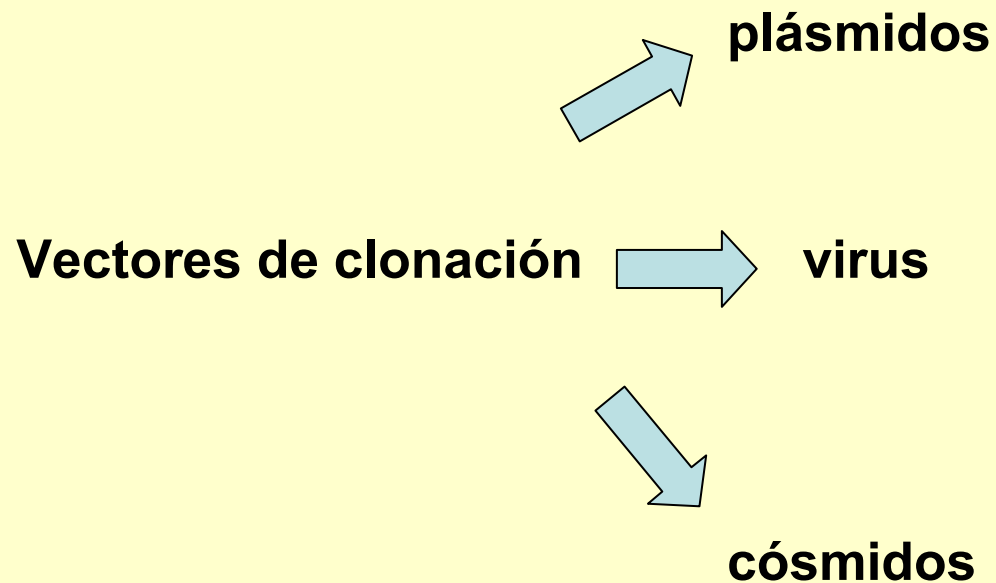
Esta última técnica ten moita importancia en células eucarióticas porque o ADN destas células ten segmentos que non codifican proteínas (intróns) e que se eliminan durante o proceso de maduración do ARNm. Polo tanto a utilización do ARNm para illar un xen presenta a vantaxe de non obter intróns que si están presentes no ADN.

A partir da cadea de ADNc pódese obter a outra cadea e obter o ADN bicatenario sen intróns que pode ser introducido no ADN de outro organismo.



Aínda que o ARNm só represente nunha célula de 1-1,5% del total, o ARNm pódese recoñecer pola presenza da cola poli-A que se atopa no extremo 3'.

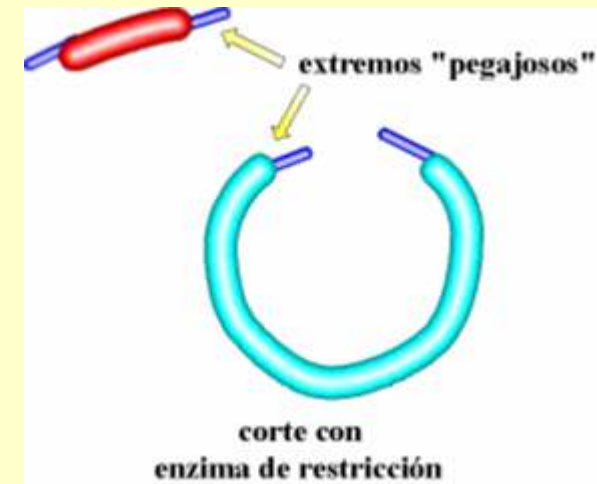
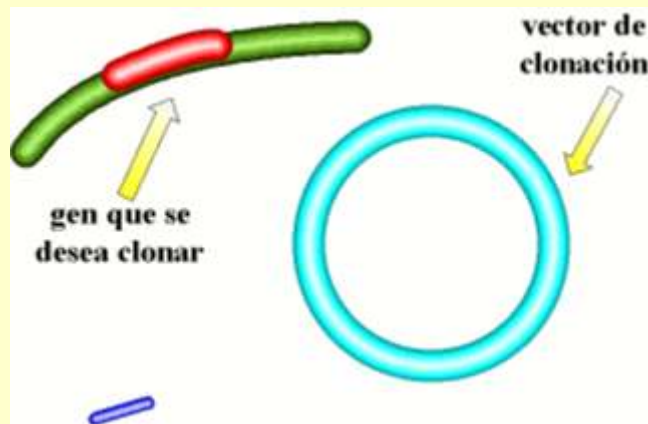
CLONAXE: INSERCIÓN DE FRAGMENTOS DE ADN EN VECTORES DE CLONADO (taxis xenéticos)



Plásmidos

Son moléculas de ADN circular que están dentro dalgunhas bacterias: Son excelentes vectores porque:

- O seu tamaño é manexable.
- Replícanse independentemente do cromosoma bacteriano, polo que se poden formar ata 10 plásmidos por célula, o que, en varias xeracións supón unha gran cantidade de copias de ADN.
- Posúen xenes de resistencia a antibióticos, esta característica permitirá comprobar se o plásmido penetrou nunha célula ou non.
- Presentan capacidade para penetrar tamén en células eucarióticas como por exemplo levaduras e plantas.



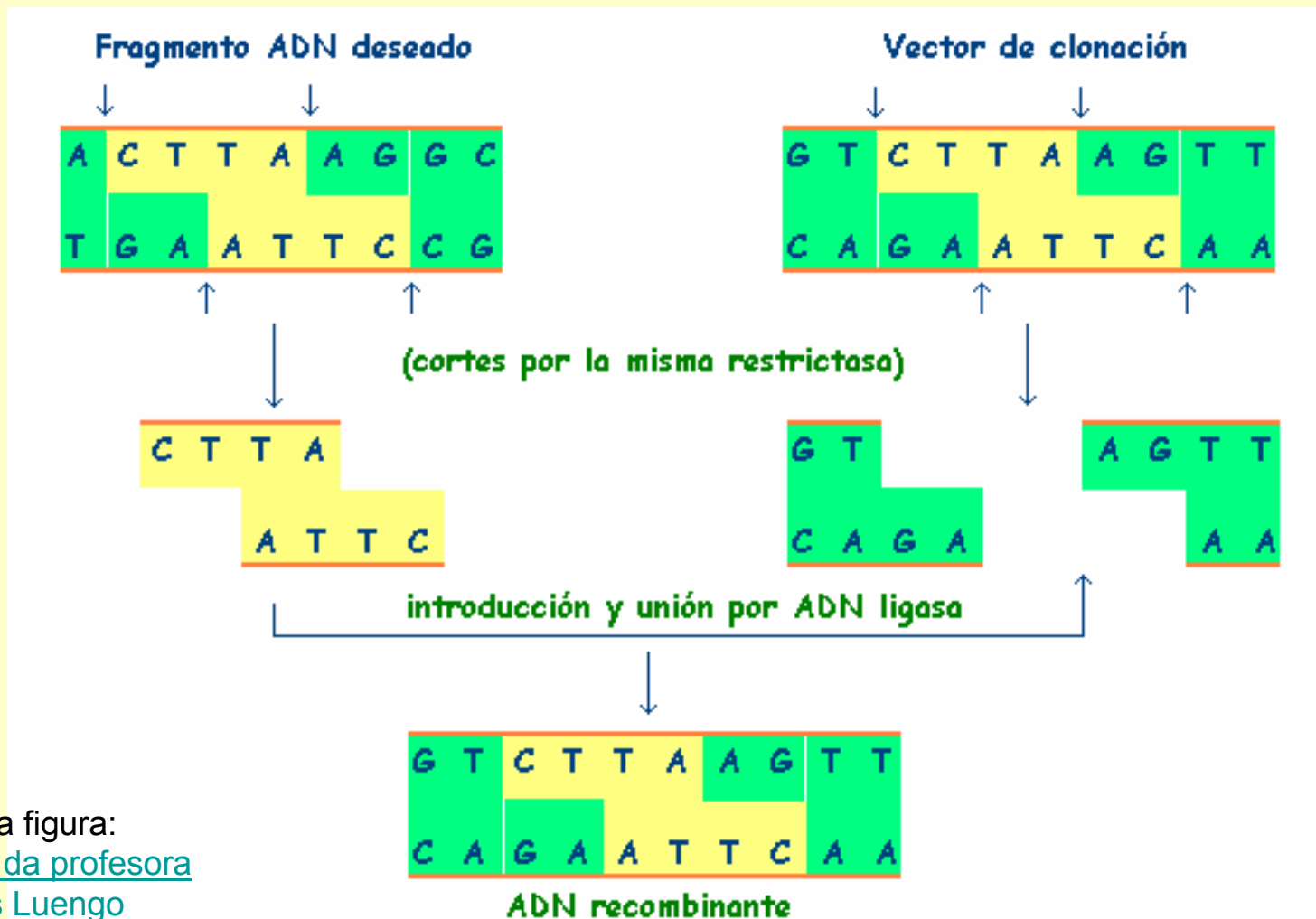
Unha encima de restricción cortou o xene e o plásmido, quedando uns bordes cohesivos.



Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)

A unión do ADN que contén o xene que se desexa clonar co **vector de clonación**, realízase coa **ADN-ligasas**. O resultado é unha molécula de **ADN recombinante**, xa que contén fragmentos de ADN de distinta procedencia.

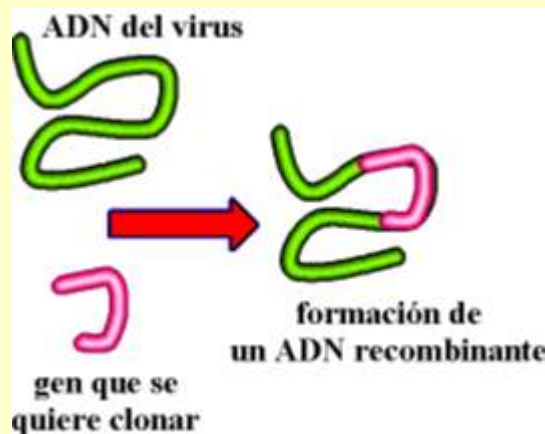
Para realizar a unión do fragmento desexado ó vector escollido, este tamén debe ser cortado pola mesma restrictasa (encima de restricción) utilizada para obter o fragmento. Deste xeito os segmentos cohesivos dun e outro fragmento están formados por bases complementarias e poden unirse (**hibridación**). A ADN-ligasa cataliza a unión dos extremos dos fragmentos.



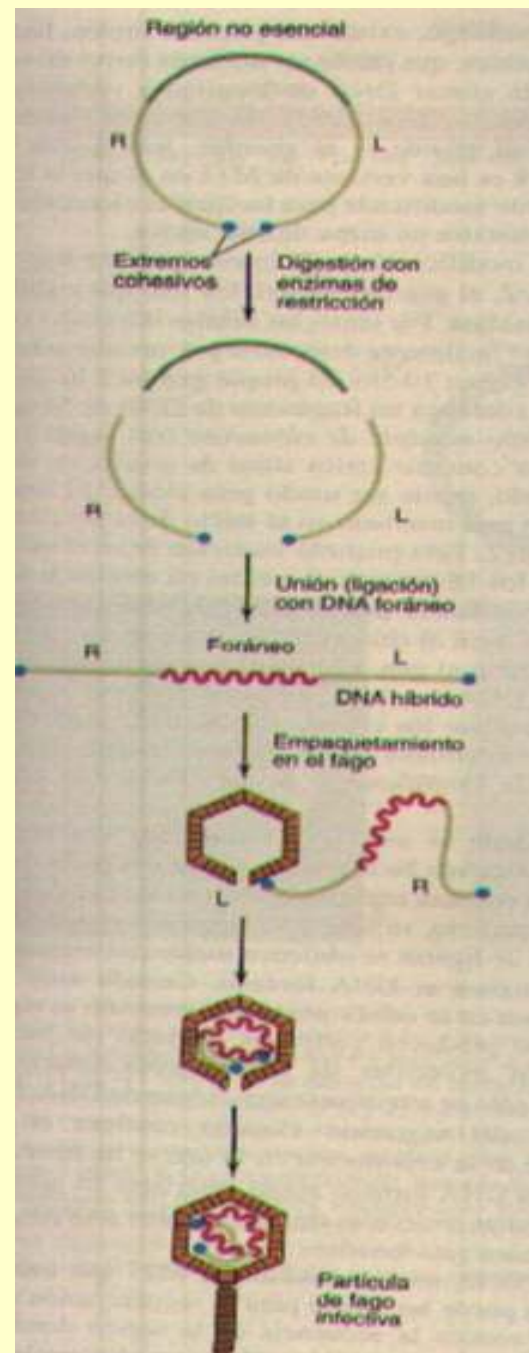
Fonte da figura:
[Páxina da profesora](#)
[Lourdes Luengo](#)

Virus Bacteriófagos

Son virus que parasitan a bacterias. Emprégase este método cando o fragmento de ADN que se quiere clonar é de maior tamaño que o dos plásmidos.



Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)

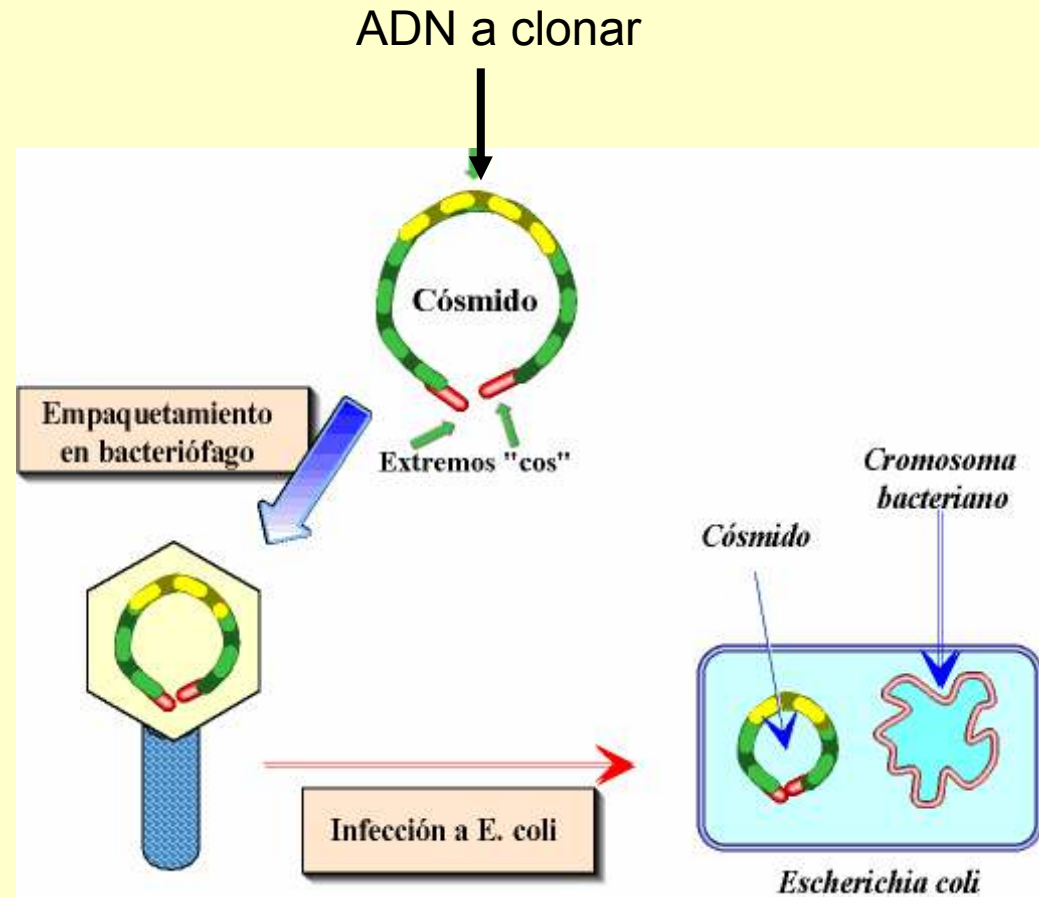


Cósmidos

O cósmidos son vectores plasmidiais contendo o ADN a clonar e só os lugares **cos** (extremos cohesivos) son do xenoma do fago.

O cósmido resultante pode ser introducido en fagos como no caso anterior.

Utilízase para clonar fragmentos de ADN grandes.



Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)

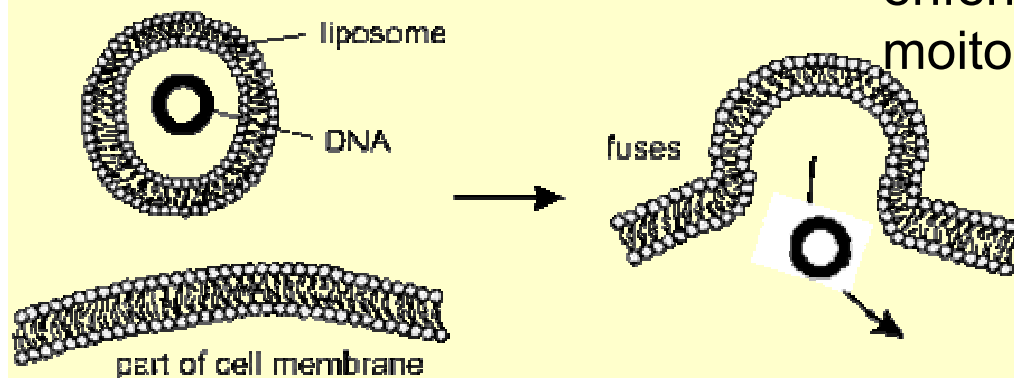
Outros vectores de clonación que poden albergar segmentos maiores de ADN:

- Cromosomas artificiais de levadura (YACs) por exemplo *Saccharomyces cerevisiae*.
- *Cromosomas humanos artificiais (HACs)*.

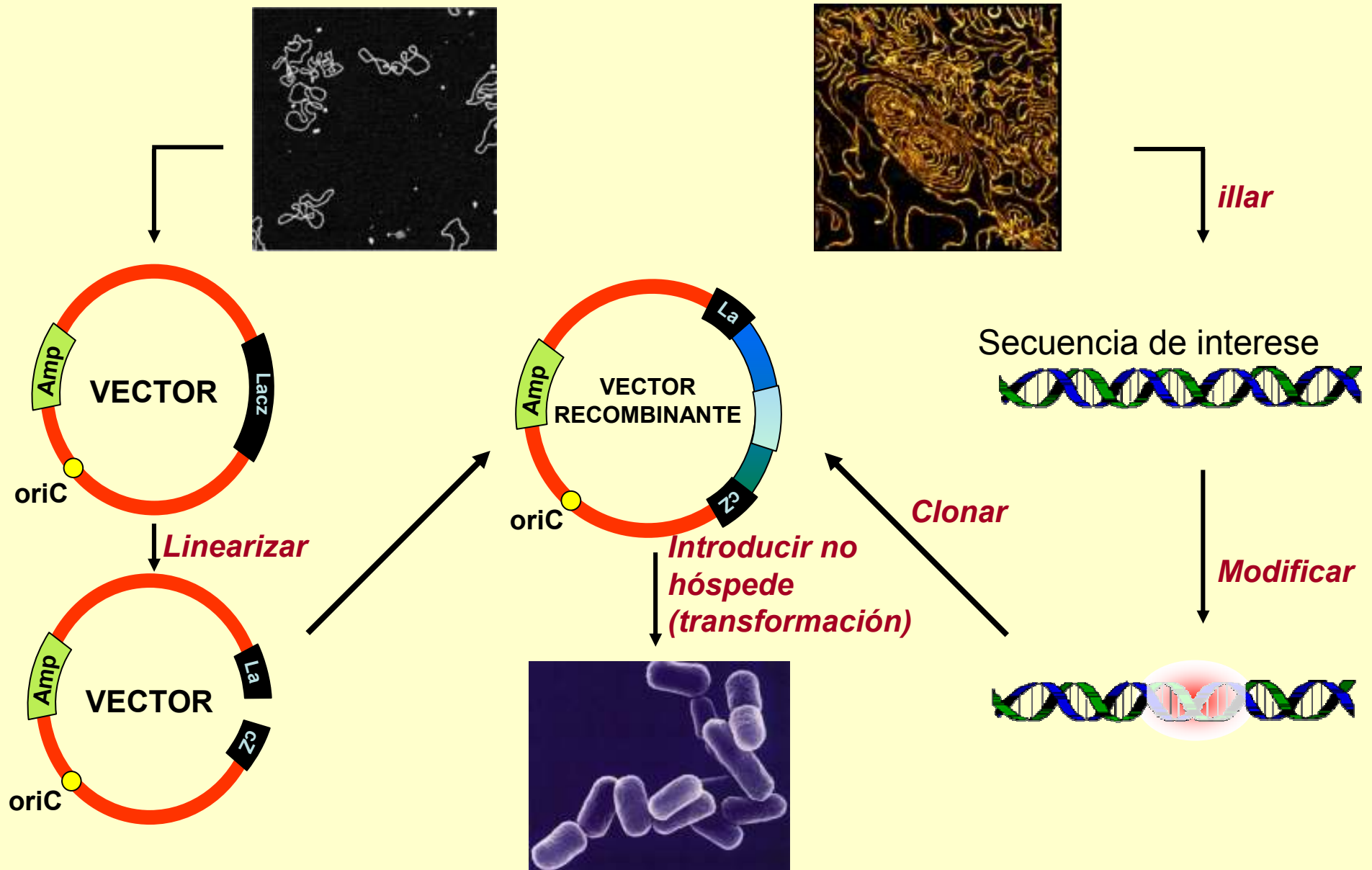
Vectores utilizados en mamíferos para introducir xenos nas súas células (terapia xénica)

- **Viricos:** empréganse sobre todos adenovirus e retrovirus. Os virus elexidos deberán ser de tal natureza que non causen enfermidades graves no receptor, pero ten a desvantaxe de que insertan o xen desexado en zonas indeterminadas, o que pode orixinar trastornos.

- **Liposomas,** son vesículas microscópicas con membrana lipídica e no interior portan o xen normal. Estes non causan enfermidades pero a súa eficacia é moito menor.



Esquema básico

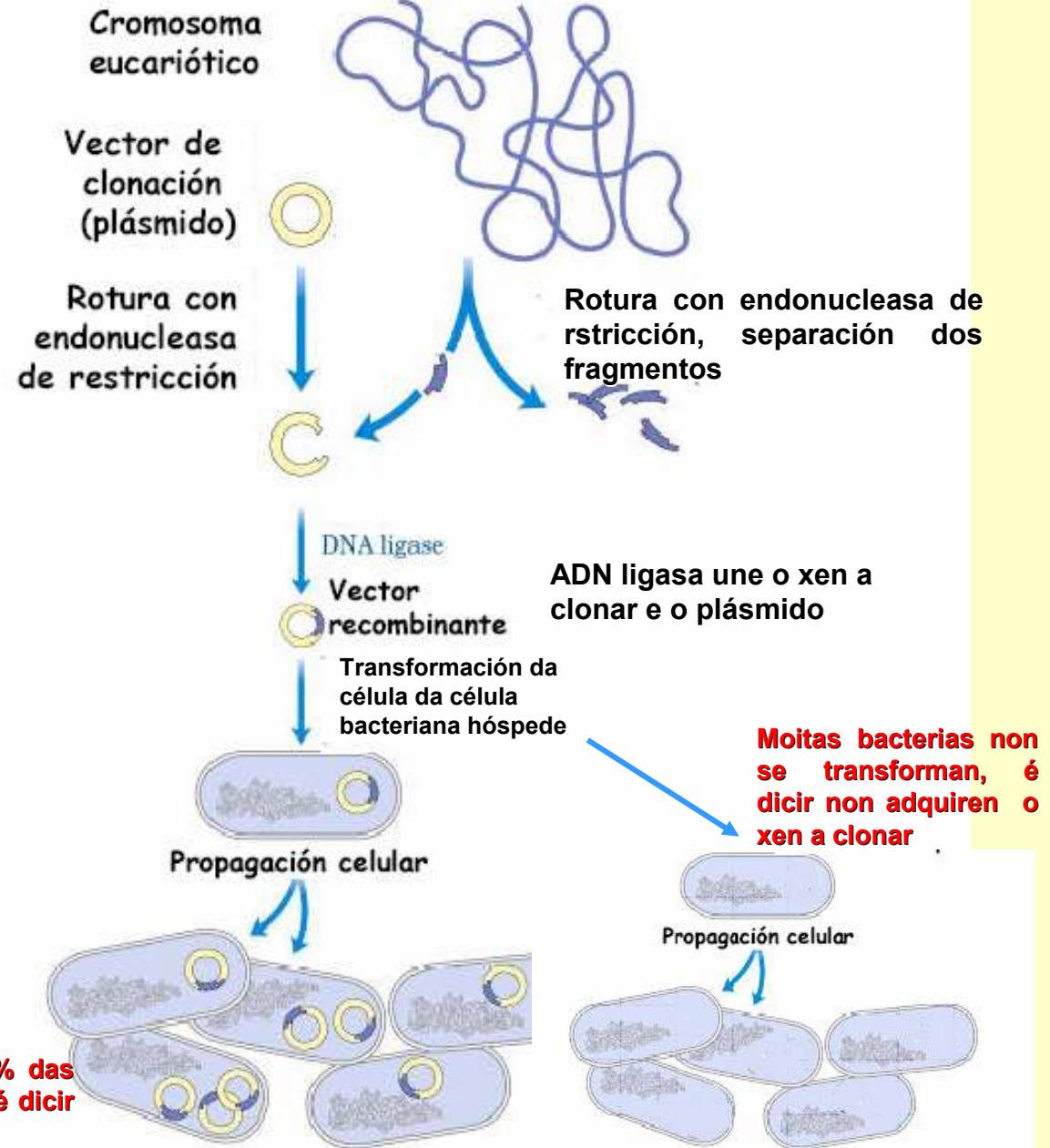


CLONACIÓN XÉNICA EN BACTERIAS OU AMPLIFICACIÓN XÉNICA

Para introducir plásmidos de ADN recombinante formados *in vitro* ás células hópede, empréganse técnicas de **transformación**, mediante métodos físicos ou químicos.

Só aproximadamente o 1% das bacterias transfórmanse, é dicir adquiren o xen a clonar

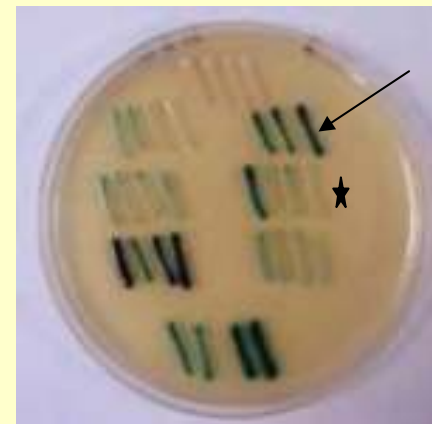
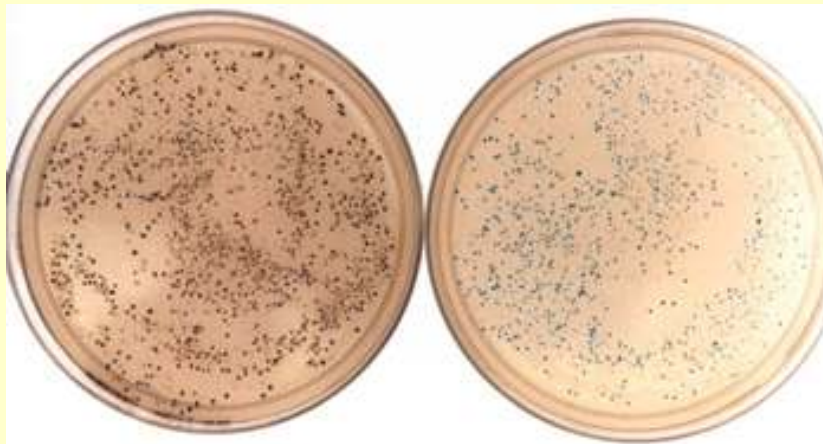
CLONACIÓN DE ADN



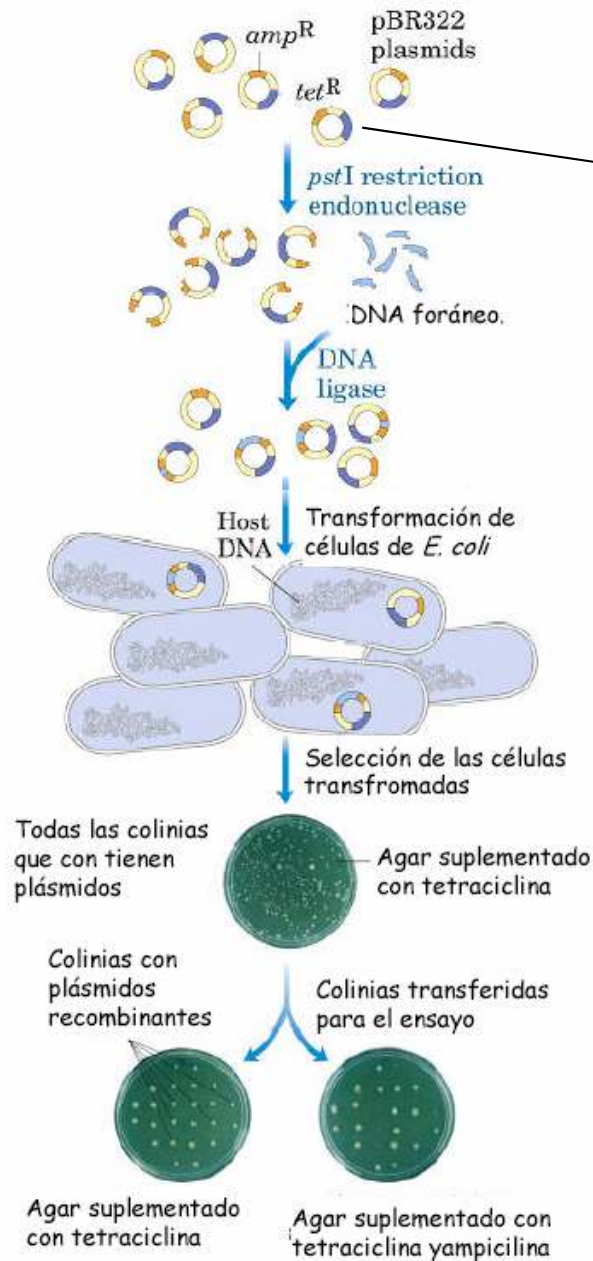
SELECCIÓN DOS CLONES QUE LEVAN O XENE IDÓNEO

Ademais da **orixe de replicación**, os vectores de clonación deben levar outros xenes denominados **marcadores**, que serven para identificar as células que conteñen o vector de clonación. Frecuentemente utilízanse como marcadores:

- **Xenes de resistencia a antibióticos.** Serven para identificar bacterias que conteñen o vector de clonación, porque estas bacterias serán resistentes ó antibiótico do xen marcador.
- **Xenes de luminiscencia.** O vector posúe o xene da luciferasa que confire bioluminiscencia a célula que conteña o vector de clonación.
- **Xenes de complementación.** O vector posúe parte de un xene mentres que a célula hospede porta o resto. Un exemplo é a α -complementación do operón Lac. As bacterias transformadas co vector, completan o xene e poden metabolizar unha molécula engadida ó medio que lles conferirá cor azul intenso. A frecha na figura mostra un exemplo de bacterias co vector e a estrela bacterias que non o conteñen.



Clonación de un DNA foráneo en *E. coli*



Xenes de resistencia a antibióticos. Serven para identificar bacterias que contienen o vector de clonación, porque estas bacterias serán resistentes ó antibiótico do xene marcador.



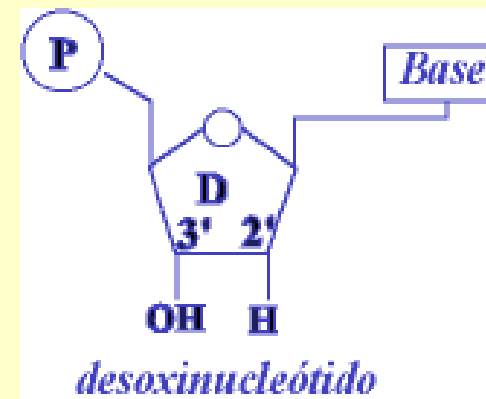
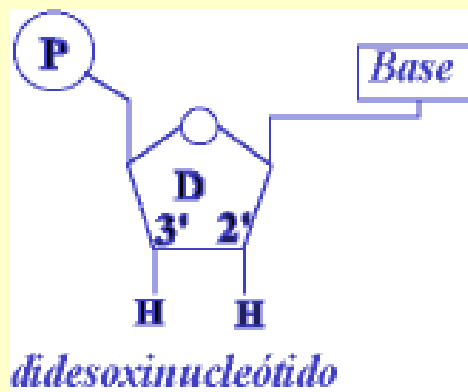
1977

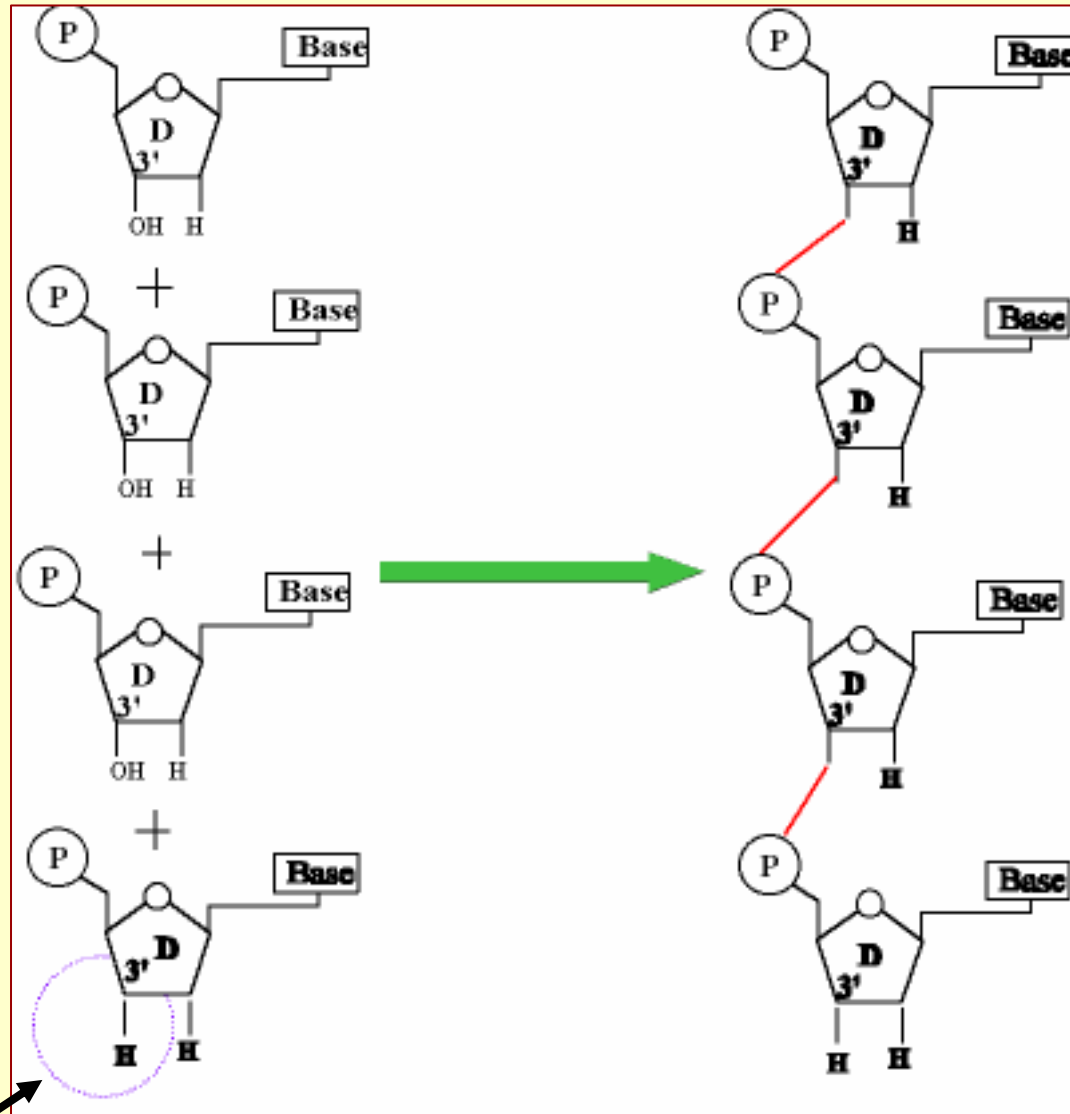
Allan Maxam e **Walter Gilbert** (foto) da Universidade de Harvard University e **Frederick Sanger** del U.K. Medical Research Council (MRC) desenvolveron métodos para secuenciar o DNA.

Determinación da secuencia de nucleótidos no ADN

Técnica de determinación de cadea de Sanger (técnica do didesoxi)

Denomínase tamén dos didesoxirribonucleótidos, por ser necesarios ditos compostos, é dicir nucleótidos de ADN que no carbono 3' non presenten un grupo-OH. Debido a esta característica, a ADN polimerasa, cando trata de formar a cadea complementaria colócase un didesoxirribonucleótido detén a síntese, posto que non poderá formar un novo enlace fosfodiéster entre o C 3' do desoxirribonucleótido e o C 5' do nucleótido que ven logo.





Non pode unirse ningún nucleótido

Para esta técnica necesítase:

Como "molde" utilízase unha das cadeas do fragmento de ADN que se vai a secuenciar.



Como "cebador" para iniciar a síntese, necesítase un curto oligonucleótido complementario do extremo da cadea.



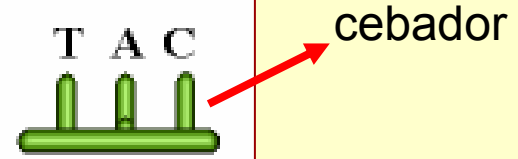
Desoxinucleótidos das catro bases: dAMP, dTMP, dGMP, dCMP.

Didesoxinucleótidos dunha base en cada unha das catro reaccións de secuenciación.

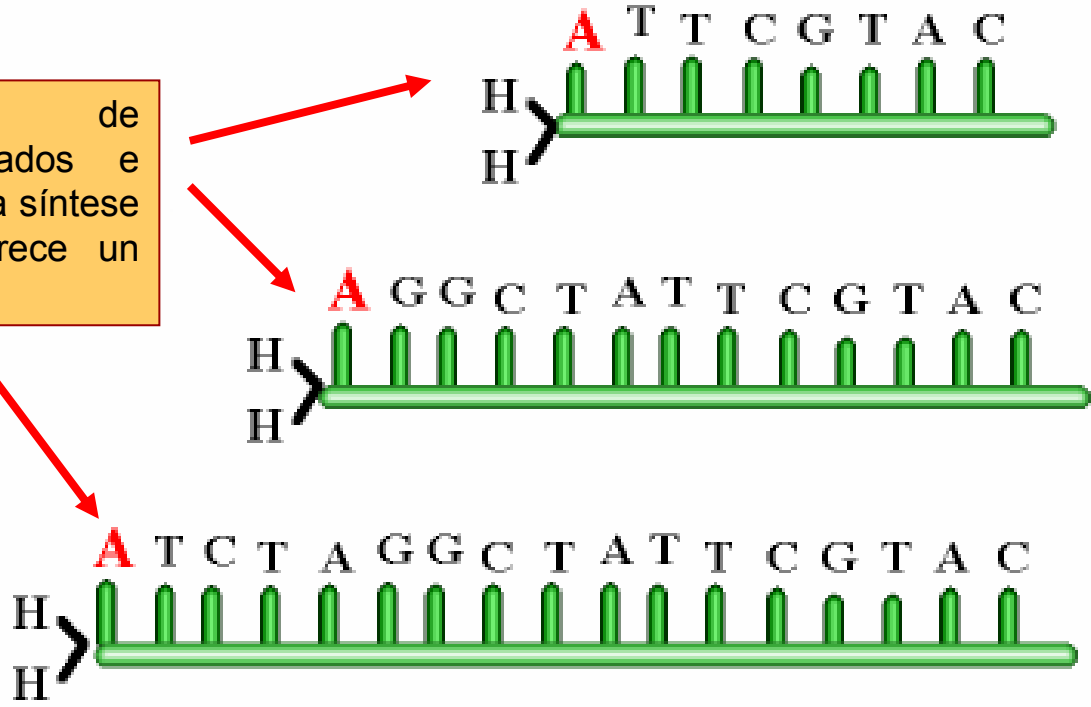
ADN a secuenciar



Engadimos ADN polimerasa, desoxinucleótidos trifosfatos dos catro tipos(dATP, dCTP, dGTP, dCTP e desoxinucleótidos trifosfatos **ddATP**)

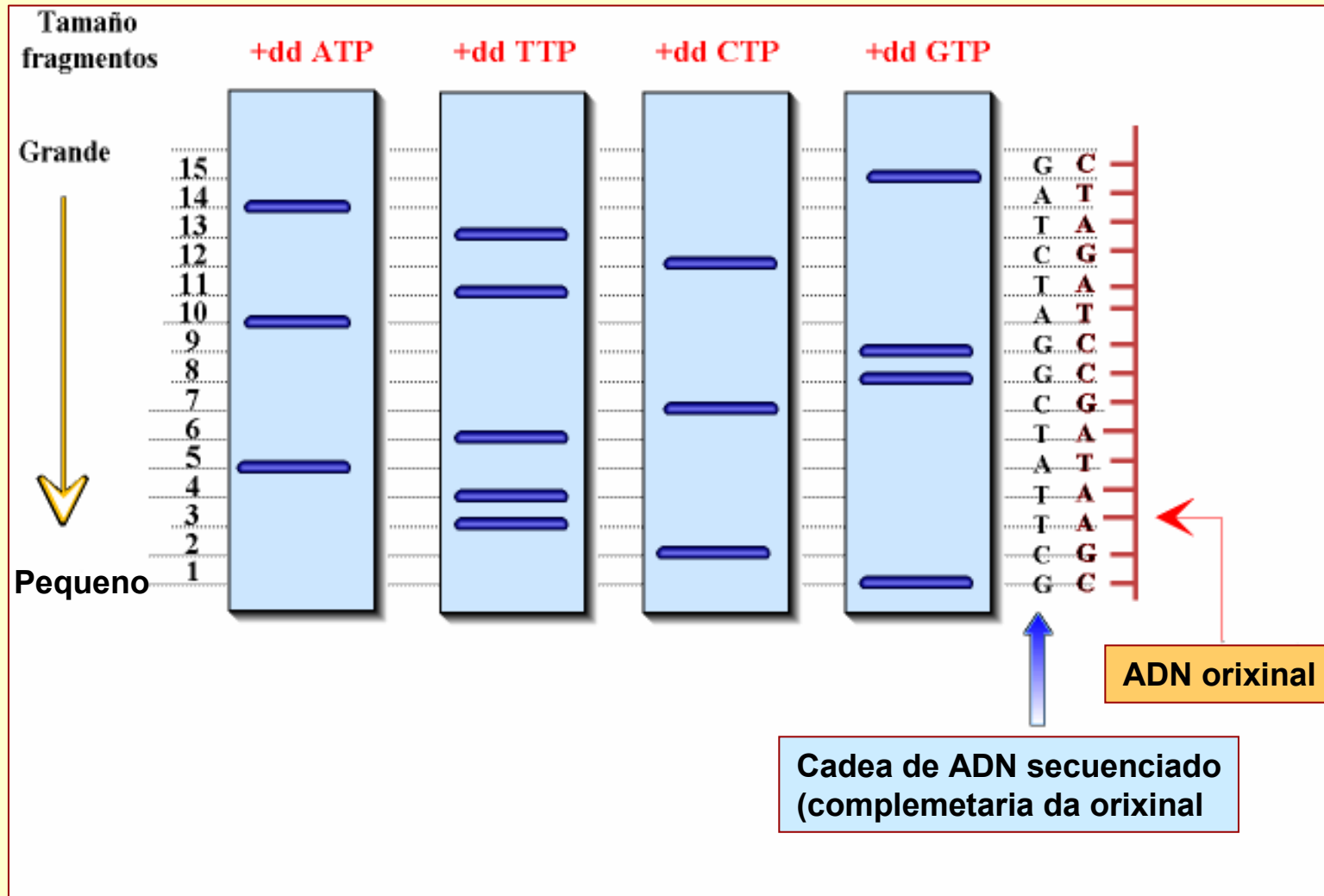


Fragments de ADN copiados e detida a súa síntese cando aparece un **dd ATP**

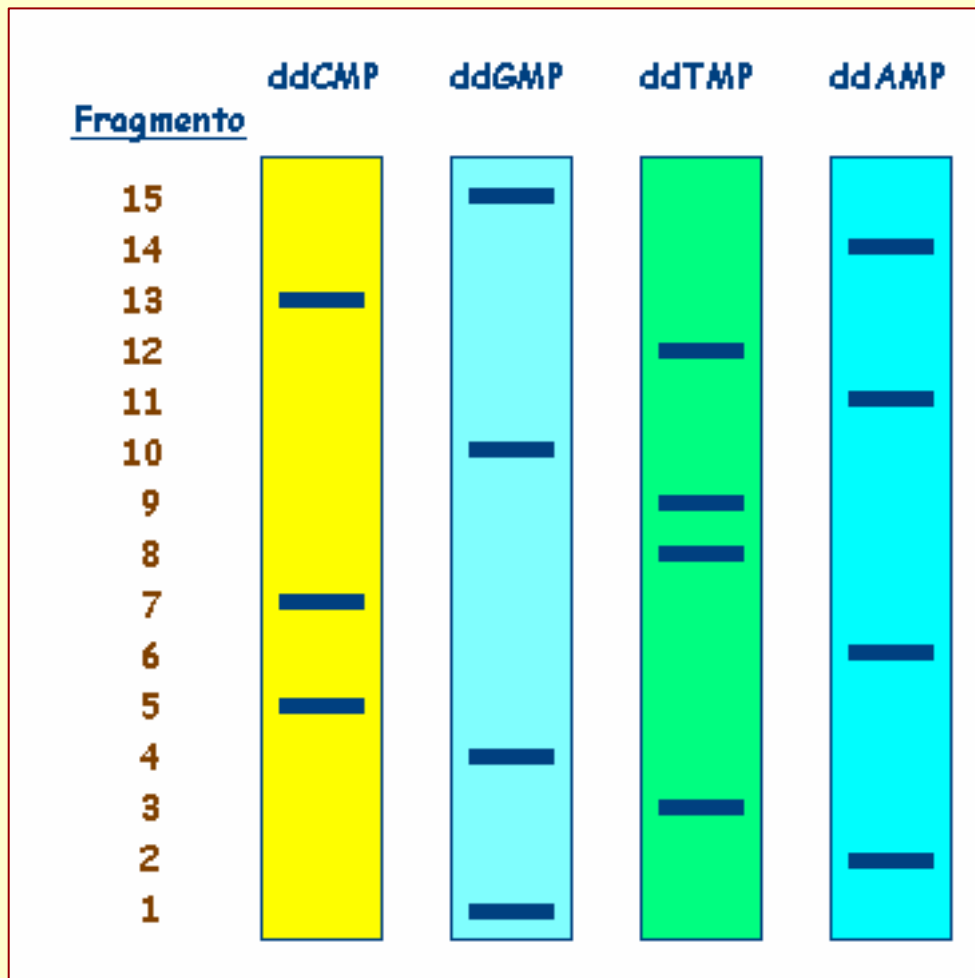


Fonte da figura: [Páxina da profesora Lourdes Luengo](#)

Deben prepararse catro reaccións de secuenciación, cada unha cun didesoxi distinto. Os fragmentos resultantes sepáranse por tamaño mediante electroforese, autorradiográfanse, e a sucesión de bandas de cada unha das catro reaccións, comparándoas entre sí, dan a secuencia do ADN.



Indica a sequencia da cadeia de ADN:



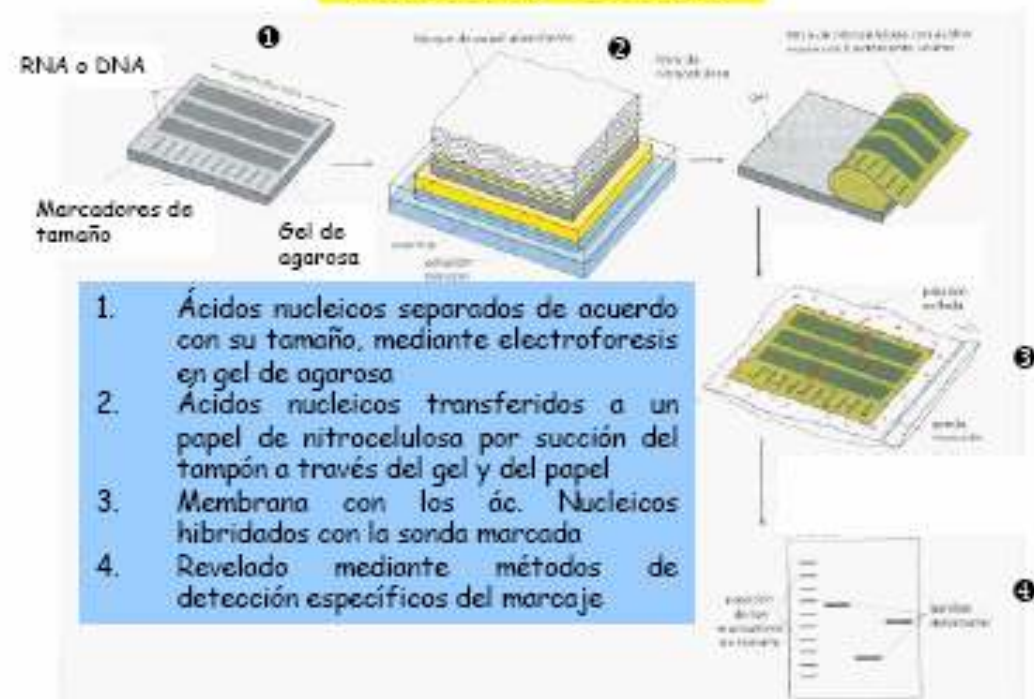
G 3'
A
C
T
A
G
T
T
C
A
C
G
T
A
G 5'

Hibridación

- Basease na capacidade que teñen as secuencias de ácido nucleico de cadea sinxela para asociarse con moléculas de secuencia complementaria
- DNA-DNA: *Southern blot*
- RNA-DNA: *Northern blot*
- *Western blot*: denomínase así á detección de proteínas con anticorpos.

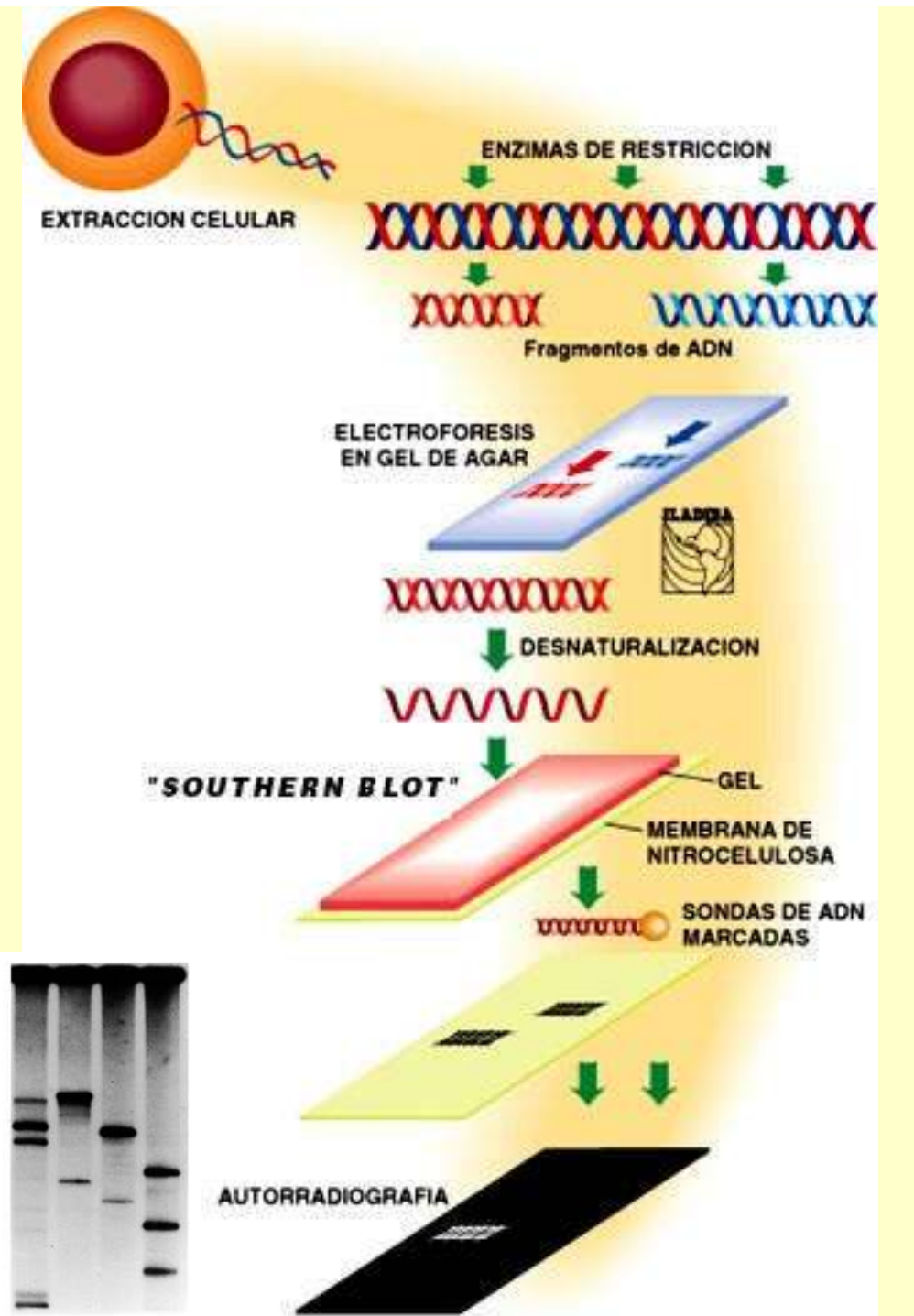


Northern y Southern



Southern blot

- Extracción do DNA
- Fragmentación do DNA
- Separación dos fragmentos
- Desnaturalización
- Transferencia a membrana
- Hibridación con sonda marcada
- Autorradiografía



APLICACIONES PRÁCTICAS DA ENXEÑERÍA XENÉTICA

EN MEDICINA

- Elaboración de proteínas potencialmente terapéuticas.
- Farmacoxenética e farmacoxenómica
- Diagnóstico de enfermidades de orixe xenético.
- Terapia xénica.
- Vacinas recombinantes.
- Obtención de anticorpos monoclonais.
- Medicina forense: a pegada xenética



NA INDUSTRIA

- Obtención de encimas.
- Plantas e animais transxénicos.

OUTRAS APLICACIONES

Sustancia	Empresa	Enfermedad
Factor antihemofílico	Miles, Baxter, Genetics Institute	Hemofilia A
DNasa I	Genentech	Fibrose quística
Eritropoyetina (EPO)	Amgen, Ortho Biotech	Anemia, enf. renal
Glucocerebrosidasa	Genzyme	Enfermidade de Gaucher
Hormona de crecemento	Genentech	Enanismo hipofisario
Insulina	Eli Lilly	Diabetes
Interferón alfa-2a	Hoffmann-LaRoche	Certas leucemias, sarcoma de Kaposi
Interferón alfa-2b	Schering-Plough	Certas leucemias, Sarcoma de Kaposi, hepatitis B e C
Interferón alfa-n3	Interferon Sciences	Herpes xenital
Interferón gamma-1b	Genentech	Enf. granulomatosa crónica
Interleucina-2	Chiron	Carcinoma células renais
Somatotropina	Eli Lilly	Deficiencia hormona crecemento
Activador tisular do plasminóxeno (tPA)	Genentech	Infarto agudo de miocardio, embolismo pulmonar masivo

Proteínas e péptidos terapéuticos recombinantes

A **insulina** é o primeiro caso de proteína por enxeñaría xenética aprobada para uso en humanos (en 1982, co nome comercial de Humulina®, da compañía Eli-Lilly). Hasta a enxeñaría xenética a insulina para diabéticos procedía de páncreas de porcos ou vacas, que aínda que é bioloxicamente activa en humanos, non é idéntica a nosa, de modo que se poden producir algúns problemas de reaccións inmunes adversas.



ESPECIES	AMINOACIDOS			
	A8	A9	A10	B30
CERDO	Thr	Ser	Ile	Ala
HOMBRE	Thr	Ser	Ile	Thr
CABALLO	Thr	Gly	Ile	Ala
CARNERO	Ala	Gly	Val	Ala
POLLO	His	Asn	Thr	Ala
VACA	Ala	Ser	Val	Ala

A **hormona de crecemento** é un péptido de 191 aminoácidos producido pola hipófise. Os nenos que non producen niveis adecuados presentan enanismo hipofisario. Antes, esta enfermidade se trataba con hormona sacada de cerebros de cadáveres, extracción longa e custosa, con pouco rendemento e que pode causar infeccións con virus e príons procedentes dos cerebros dos cadáveres. Todo isto se resolveu coa enxeñería xenética. Millóns de doses da hormona recombinante se administran cada ano a centos de miles de pacientes.

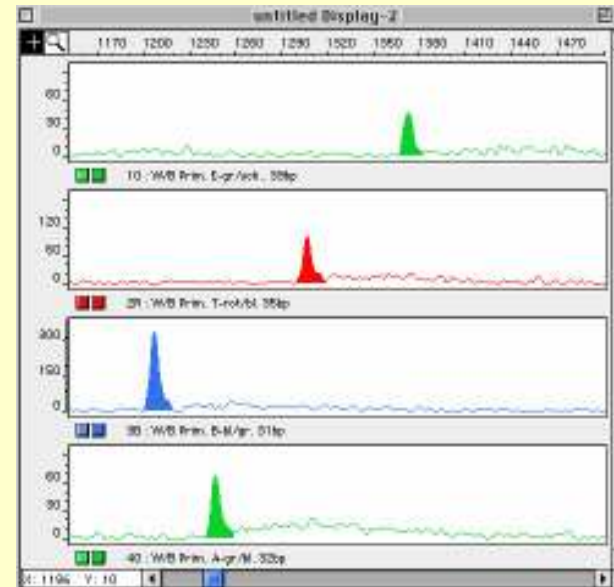


- **Farmacoxenética:**

É o estudo das diferenças xenéticas que influencian a variabilidade individual na resposta a fármacos.

- **Farmacoxenómica:**

Identificación de novas dianas terapéuticas mediante ferramentas xenómicas.



SNP

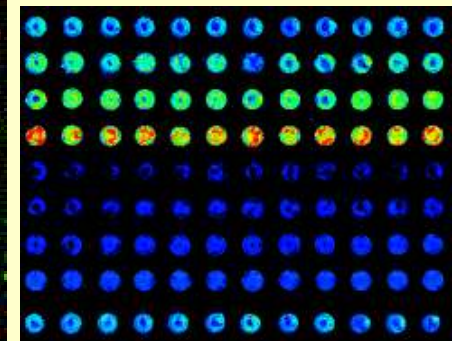
2D6*7

2D6*6

2D6*3

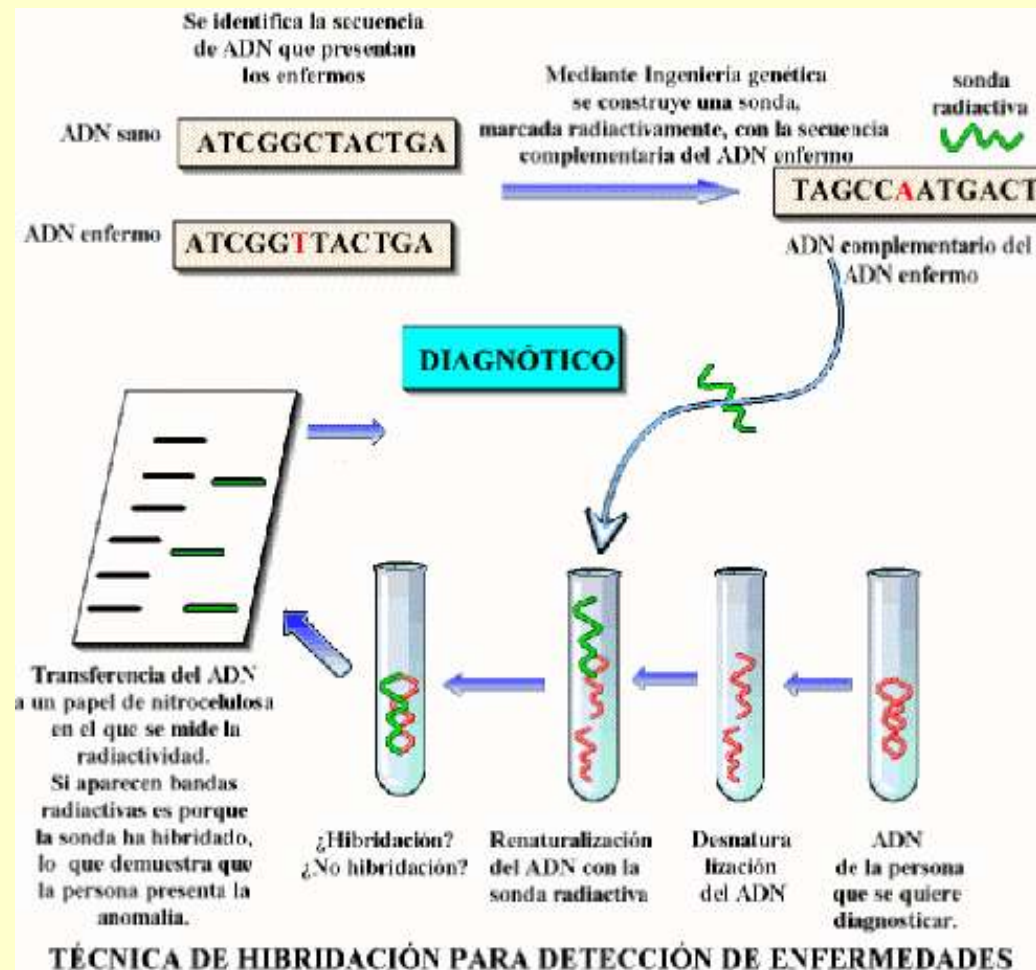
2D6*4

SnapShot
CYP2D6



Diagnóstico de enfermedades de orixe xenético

Entre outras serve para diagnosticar a hemofilia, a anemia falciforme, a distrofia muscular e a enfermidade de Huntintong. Coñecendo a secuencia de nucleótidos dun xene responsable dunha certa anomalía, pódese diagnosticar si este xene anómalo está presente nun determinado individuo. No seguinte debuxo explícase a base do diagnóstico.



UTILIDADE DOS ANÁLISES XENÉTICAS

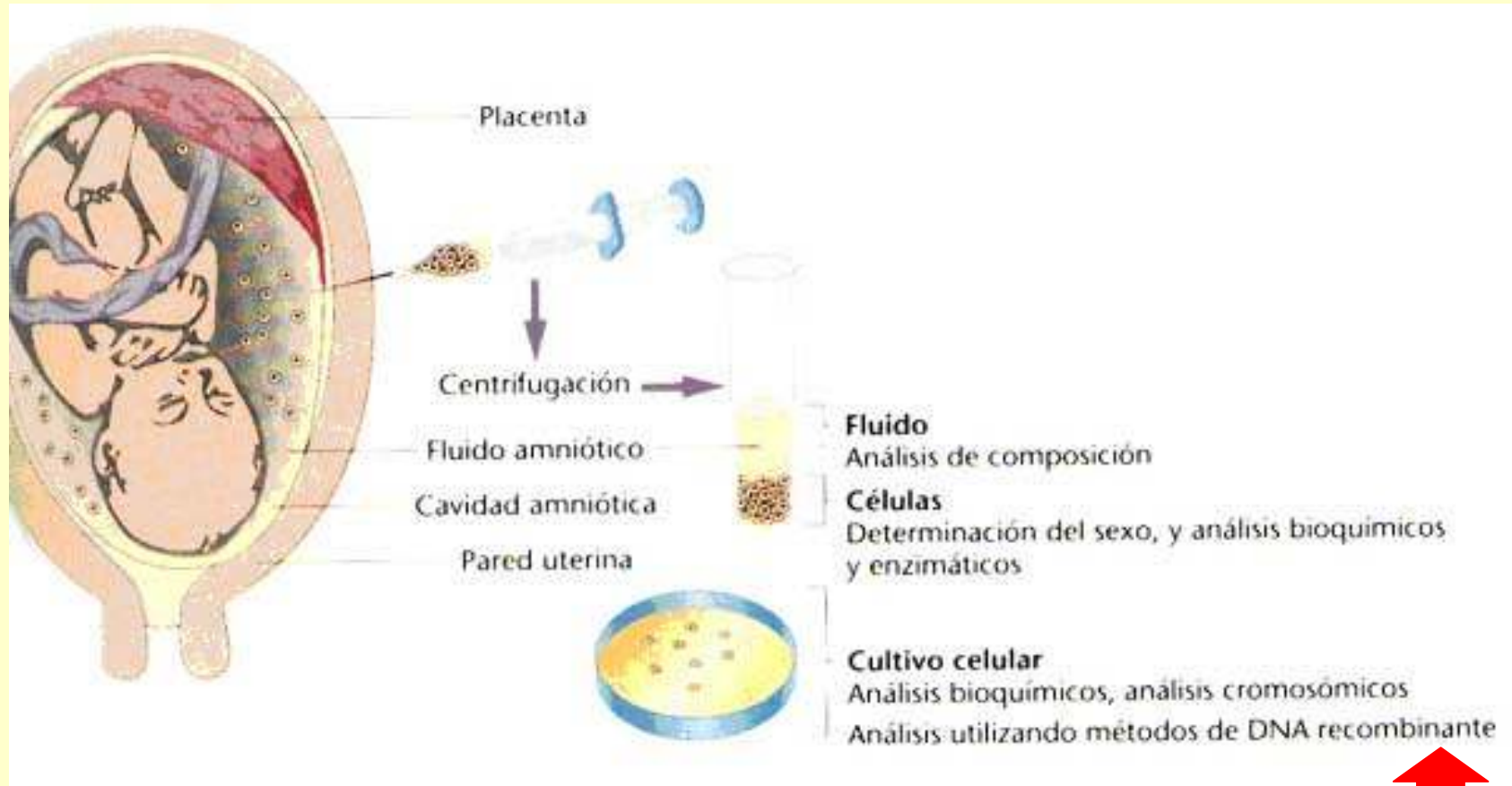
***DIAGNÓSTICO**

***PRONÓSTICO**

***TRATAMENTO**

Consello xenético

Screening pre-natal



Técnica de amniocentese, para detectar enfermedades xenéticas e realizar análise bioquímicos no feto

Consello xenético



Normal Colon



Adenoma



Cancer

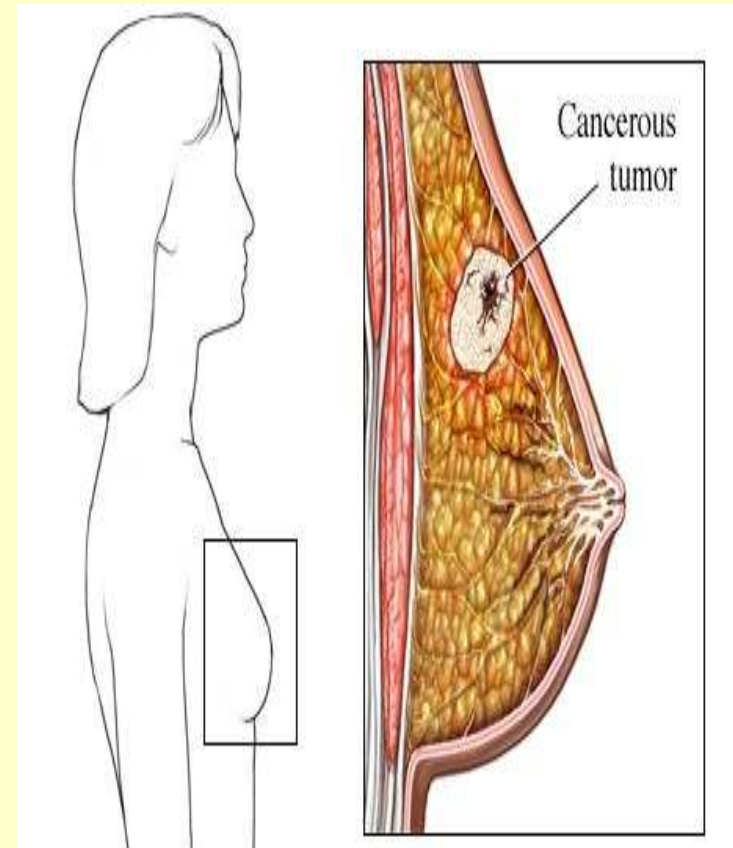
Consello xenético

CANCRO DE MAMA



.- 80% esporádicos

.- 20% predisposición xenética



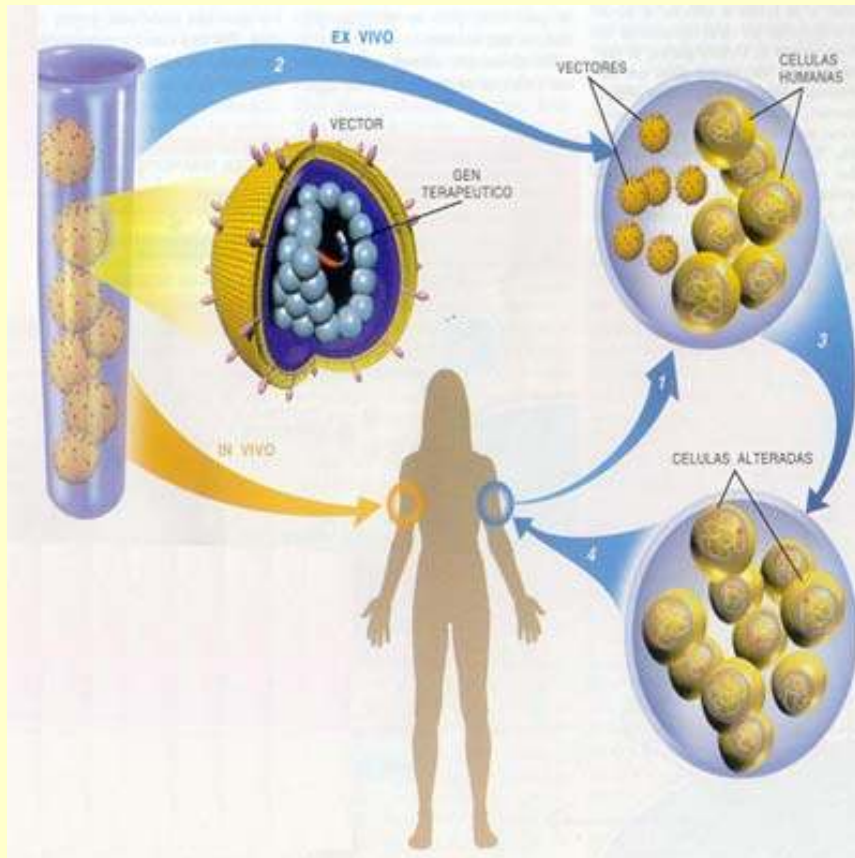
Terapia xenética

A grandes rasgos consiste en remplazar nas células un xene defectuoso, causante da enfermidade, por un xene normal.

Unha boa técnica de terapia xénica debe:

- Identificar e secuenciar o xene alterado e xen normal.
- Clonar ou sintetizar o xene normal.
- Introducir o xene desexado mediante vectores nas células defectuosas.
- Lograr que os xenes cheguen en condicións ó seu obxectivo e que se expresen correctamente.

Estratéxias de terapia xénica:



- **Terapia *in vivo***, introducindo os vectores co xene desexado directamente na persoa enferma. Introdúcense por vía sanguínea e os vectores levarán na súa superficie moléculas que só son recoñecidas polas células diana é dicir polas células nas que queremos realizar a terapia xénica. Así se conseguen modificar os xenes defectuosos en todas as células da determinada liña celular que os posúa; por exemplo, as células dun cancro diseminado.

- **Terapia *ex vivo***, extráense células do enfermo e cultívanse. Insértaselle o xene normal e introdúcense no organismo.

Enfermedad	Incidencia	Gen implicado	Alteración	Células a modificar	Vector
Inmunodeficiencia combinada Severa (SCID)	Rara	Adenosina desaminasa	Falta de función génica	Médula ósea Linfocitos T	Retrovirus
Hemofilia A	Varones	Factor VIII de coagulación	Falta de función	Hepatocitos / Fibroblastos	
Hipercolesterolemia familiar	1/500	Receptor de LDL	Falta de función	Hígado	Retrovirus
Fibrosis quística	1/2.500	CFTR	Falta de función	Pulmón	Adenovirus Liposomas
Distrofia muscular de Duchenne	1/10.000 varones	Distrofina	Falta de función	Músculo	
Cáncer	Alta	Multifactorial	Falta de control de la proliferación y muerte celular	Múltiples tipos celulares	

Tomado de Mayor Menéndez, F.

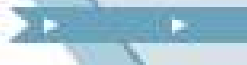
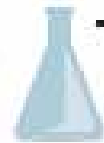
ALGÚNS DOS TRATAMIENTOS QUE SE UTILIZAN ACTUALMENTE

A interferencia do ARN, novas oportunidades en terapia xénica

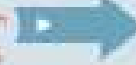
A interferencia de ARN abre excitantes posibilidades para o seu uso en tecnoloxía xénica. Diseñáronse moléculas de ARN de dobre cadea para activar o silenciamento de xenes específicos en humanos, animais ou plantas. No futuro, é de esperar que poderá utilizarse por exemplo en medicina clínica e agricultura. En investigación recentes xa se demostrou o silenciamento dun xene que causa altos niveis de colesterol no sangue tratando animais con ARNs silenciadores. Tamén se intenta desenvolver ARN silenciador para o tratamento de infeccións virais, enfermidades cardiovasculares, cancro e moitas outras enfermidades.

Silenciamento de xenes por ARN de dobre cadea

En el laboratorio, moléculas de ARN de dobre cadea se hacen a medida para activar el complejo RISC para degradar ARN mensajero para un gen.



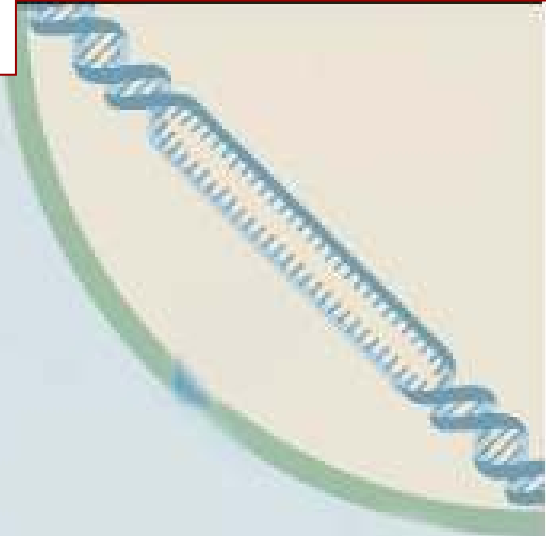
ARN de dobre cadea



RISC
Elimina una de las cadenas de ARN

Degradación del ARN mensajero

Supresión de la síntesis de proteínas

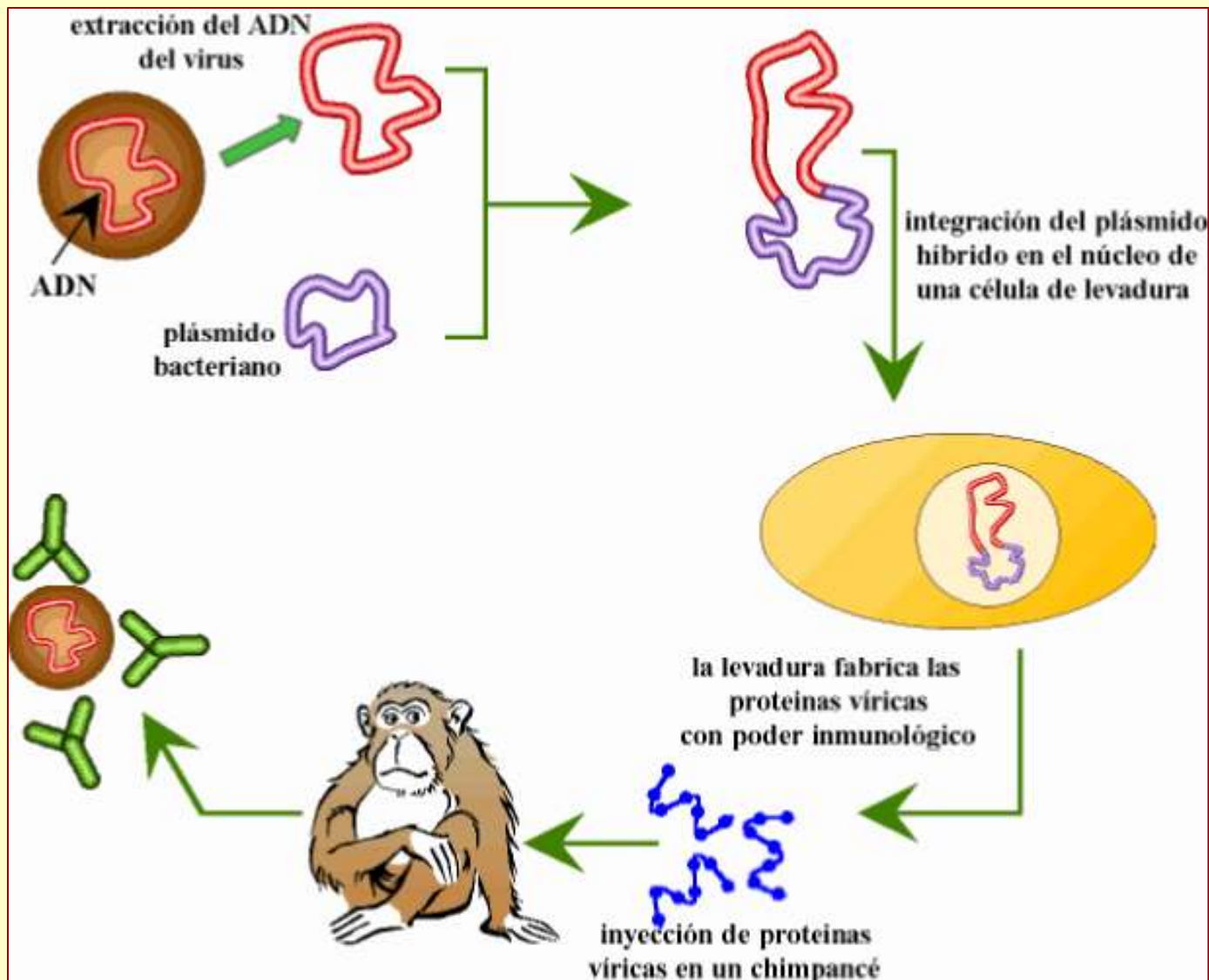


Vacinas recombinantes

As vacinas tradicionais poden ser: microorganismos inactivados (mortos) ou microorganismos vivos pero atenuados, e normalmente requiren cultivar o microorganismo responsable da enfermidade fronte á que se pretende inmunizar. Pero hai varios inconvenientes con este tipo de vacinas:

- Non todos os microorganismos se poden cultivar
- A produción a miúdo é cara
- Requírense medidas de seguridade nos laboratorios produtores que manexan o patóxeno
- Requírense medidas moi estrictas para asegurar a completa inactivación ou a atenuación adecuada da cepa. De vez en cando, a cepa atenuada pode recuperar a virulencia
- Hai enfermidades, como a SIDA, que non parecen dobregarse ó deseño tradicional de vacinas

Moitas vacinas, como a da hepatitis B, obtéñense actualmente por enxeñería xenética. Como a maioría dos factores antixénicos son proteínas o que se fai é clonar o xene da proteína correspondente.

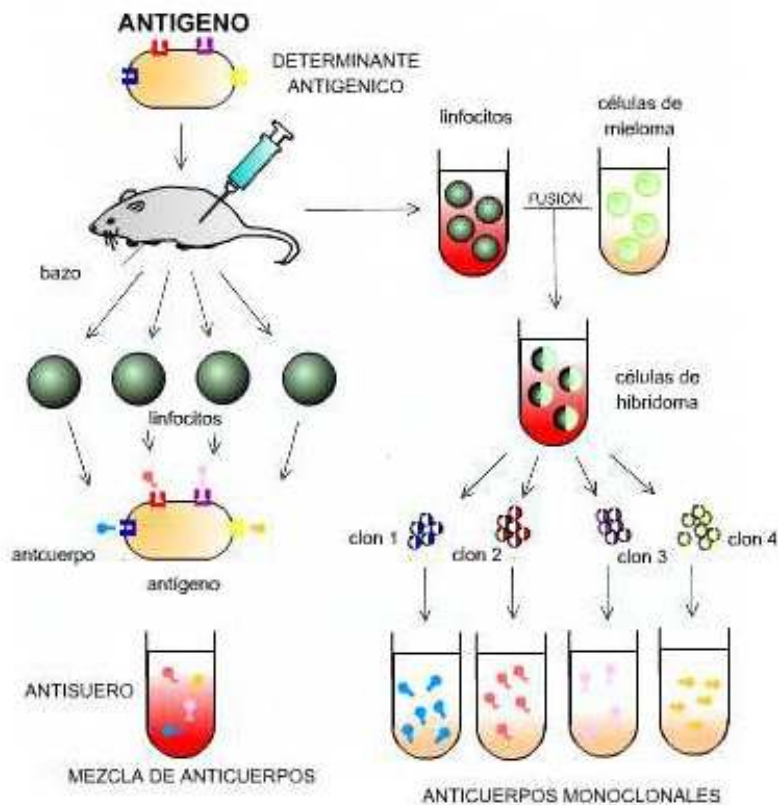


Obtención de anticorpos monoclonais

Os anticorpos serven como defensa fronte as enfermidades infecciosas e substancias estrañas, pero ademais son un medio de curación para os enfermos que non son capaces de producilos.

A técnica dos anticorpos monoclonais permite obter gran cantidade e consiste en inmortalizar as células responsables da súa fabricación, as células plasmáticas.

A forma de conseguilo é hibridando células plasmáticas e células tumorais con capacidade para multiplicarse indefinidamente (células de mielomas), o resultado son células híbridas chamadas hibridomas que se poden clonar. Cada clon, procedente dun só hibridoma, producirá un anticorpo monoclonal.



Os científicos saben desde hai moito tempo como estimular ós animais de laboratorio e ó home para que produzan anticorpos. Despois de inxectar un antíxeno determinado, prodúcese anticorpos fronte ó mesmo, antíxenos que poden ser recollidos. Sen embargo, como un antíxeno pode ter varios determinantes antixénicos (4 na figura), os anticorpos poden ser producidos por clons diferentes das células plasmáticas. Se se puidera illar un destes linfocitos e obter moitas copias, todos os anticorpos que se obterían serían idénticos. Como os linfocitos son moi difíciles de cultivar recórrese á produción dun **hibridoma**. Un hibridoma resulta da fusión dun linfocito cunha célula tumoral que pode crecer e dividirse indefinidamente e que é fácil de cultivar. Os hibridomas conservan a información para fabricar os anticorpos que tiñan os linfocitos de partida. Estes anticorpos reciben o nome de **anticorpos monoclonais** e pódense preparar en grandes cantidades. De feito, existen xa anticorpos monoclonais comercializados.

Os anticorpos monoclonais utilízanse terapéuticamente en casos de cancro e outras graves enfermidades e con fins diagnósticos para detectar hepatite, enfermidades de transmisión sexual, alerxias e mesmo o embarazo



A pegada xenética

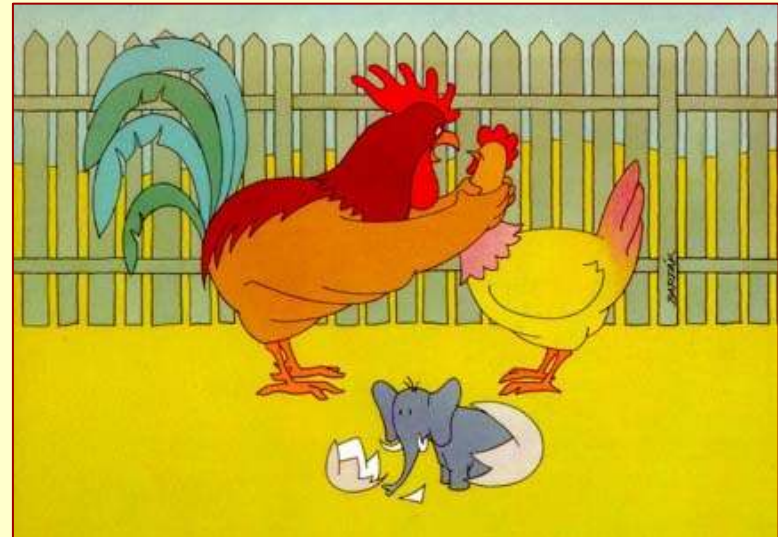
Medicina forense :

Denomínase: **Proba de ADN.**

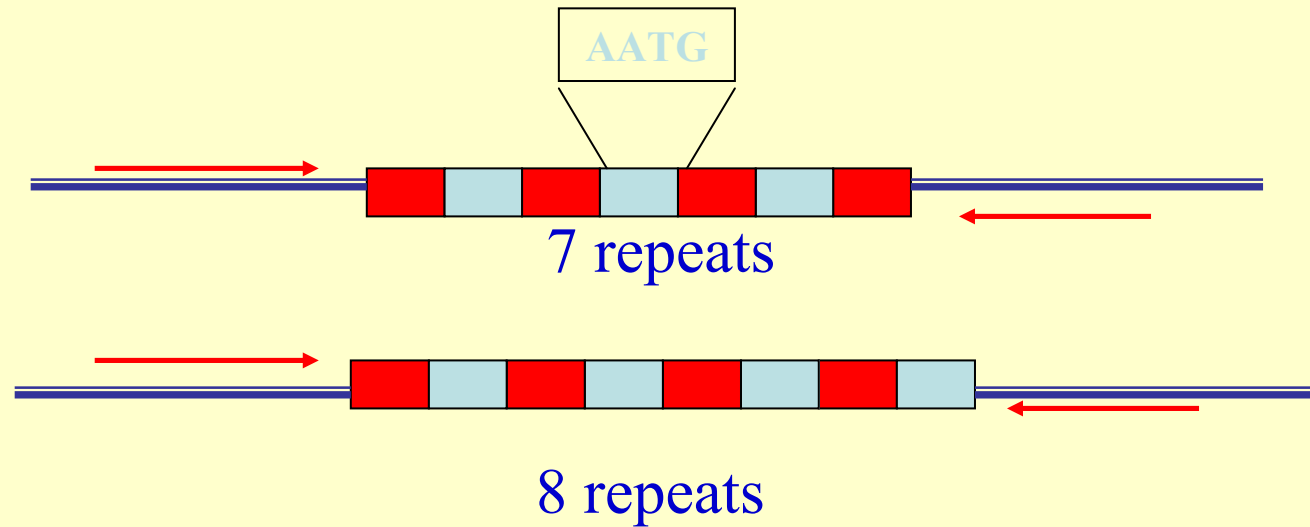
Consiste: en comparar rexións de material xenético non codificante de dúas mostras (minisatélites ou microsateletes) que conteñen moitas repeticións en tándem dunha pequena secuencia de nucleótidos. Os minisatélites son de diferente lonxitude en cada persoa posto que o número de repeticións en tándem é variable.

Realízase: dun resto de saliva nun cigarro (contén células da mucosa bucal), unha mancha de sangue (leucocitos), restos de esperma (espermatozoides) ou un pelo (células do folículo piloso), etc.

A pegada xenética tamén pode utilizarse para realizar **probas de paternidade** e para **identificar a persoas desaparecidas.**

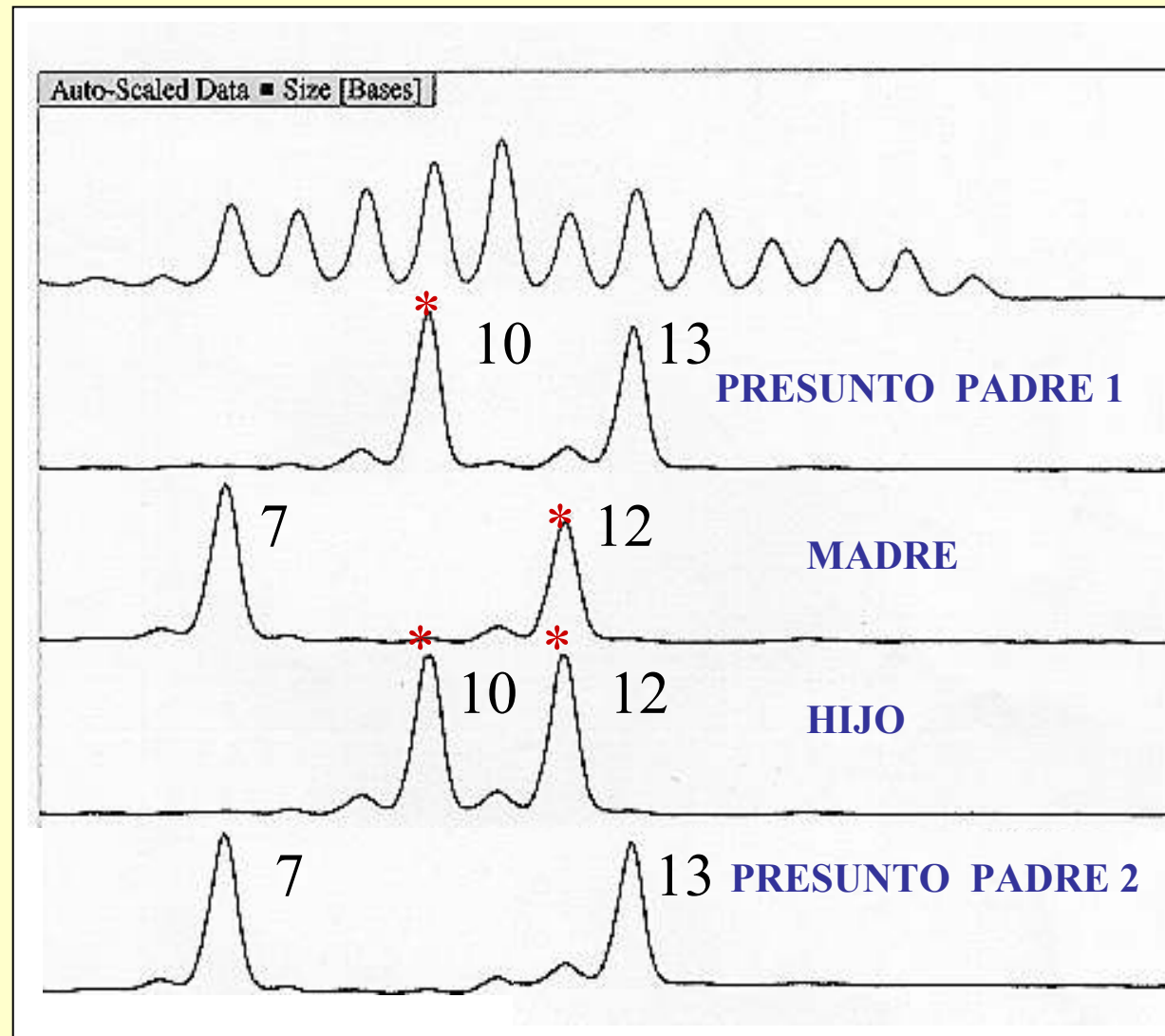


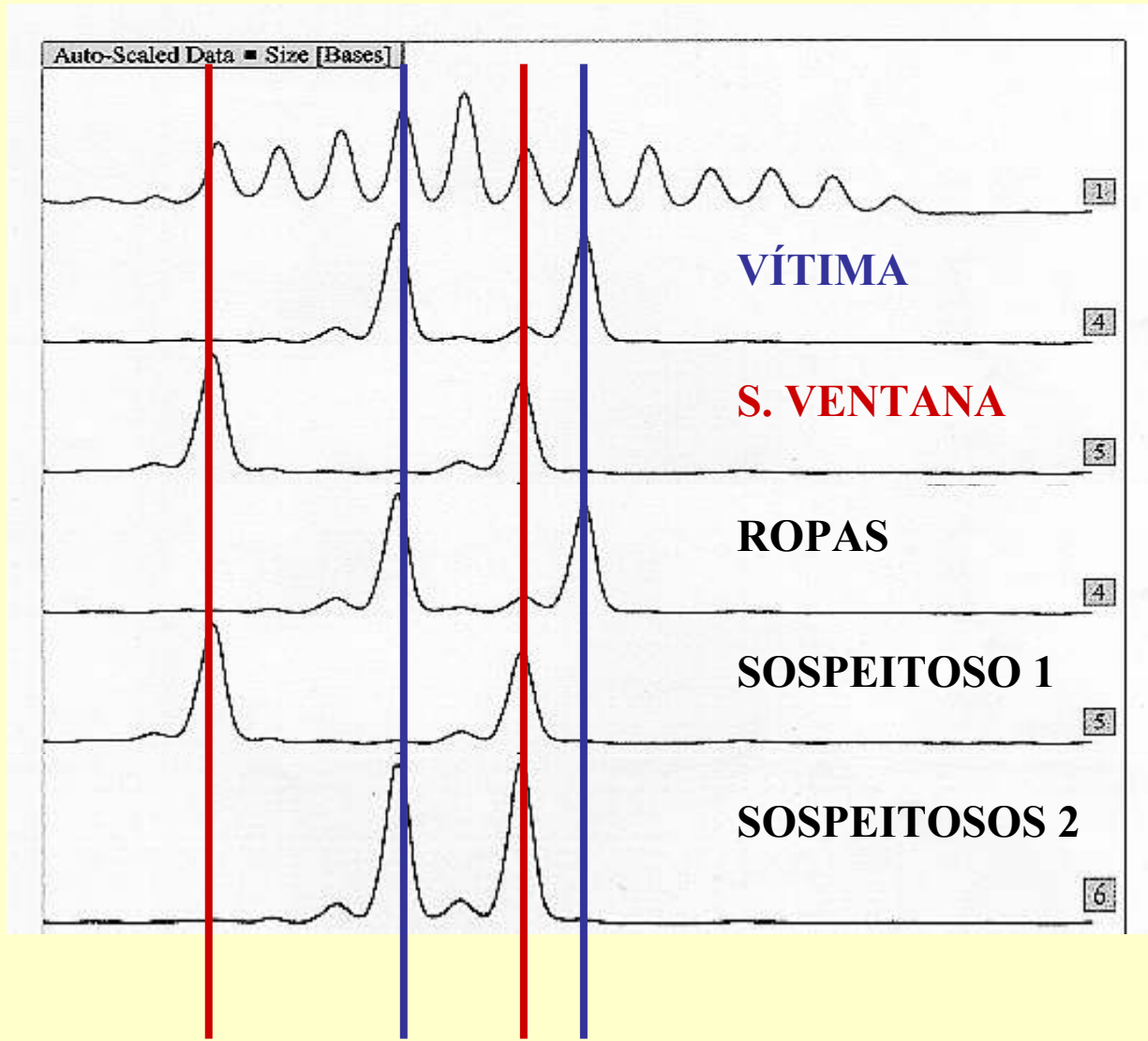
Repeticiones cortas en tandem (en inglés Short Tandem Repeats o STRs)



↓ PCR empleando os cebadores
marcados en vermello

**Por electroforesis no xel podemos distinguir ambas formas
alélicas xa que xerán fragmentos de tamaño distinto
debido á variación no número de repeticións**





Na industria

Tipo de encimas	Actividade económica	Millóns / ano
Sacarosas e isomerasas	Procesamiento del almidón, endulzantes y jarabes ricos en fructosa Fabricación de textiles	150
Proteinasas	Detergentes Carnes, quesos Procesamiento de pescado Procesamiento de tejidos	400
Renninas (quimosinas)	Coagulación de la leche para producción de quesos	60
Lipasas	Detergentes Procesamiento de pieles Saborizantes Procesamiento de carne y queso	20
Celulasas	Producción de zumos de frutas Producción de olivas Modificación de granos y fibras "Envejecimiento" de prendas vaqueras	20

Encimas recombinantes

Na industria

Encimas recombinantes	Actividade económica
Sacarosas e isomerasas	Procesamento do amidón, endulzantes e xaropes ricos en fructosa
Proteinasas	Deterxentes Carnes, queixos Procesamento de peixe Procesamento de tecidos
Proteinasas	Coagulación da leite para produción de queixos
Lipasas	Deterxentes Procesamento de peles Saborizantes Procesamento de carne e queixos
Celulasas	Producción de zumes de froitas Producción de olivas Modificación de graos e fibras “Envellecemento” de prendas vaqueiras

EN PLANTAS E ANIMAIS

¿Que é un transxénico?



Beneficios dos transxénicos



Riscos dos trasxénicos



MAÍZ

Resistencia a herbicidas e insectos



TOMATES

Maduración retardada, piel más gruesa, resistencia a plagas



PATATAS

Inmune contra el escarabajo, menos aceite para freirlas



TRIGO

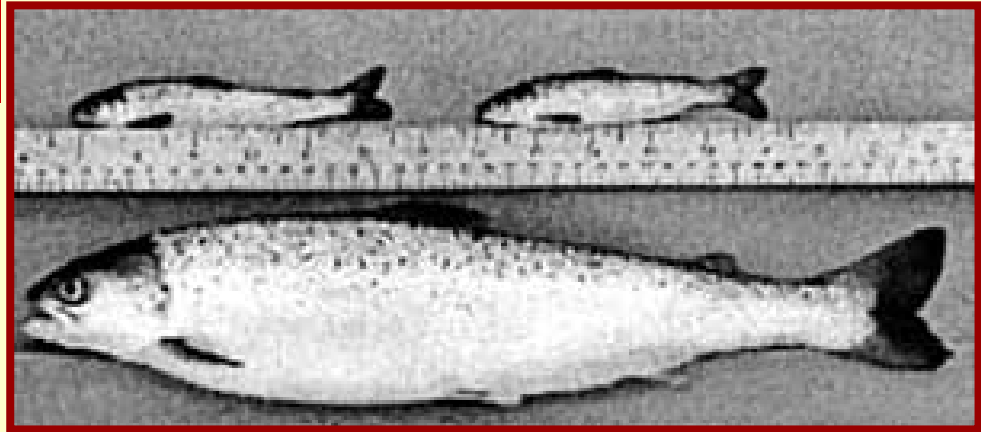
Harina de mejor calidad
Nuevas cualidades de algunos productos agrícolas



CAFÉ TRUEBA

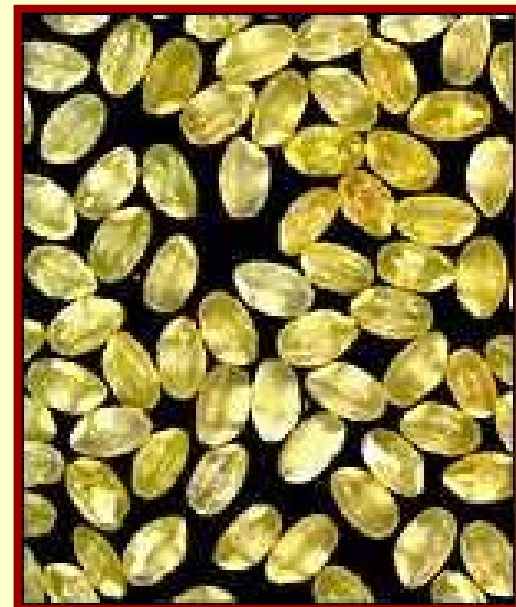
Mejor sabor, menos cafeína

NOVOS ALIMENTOS



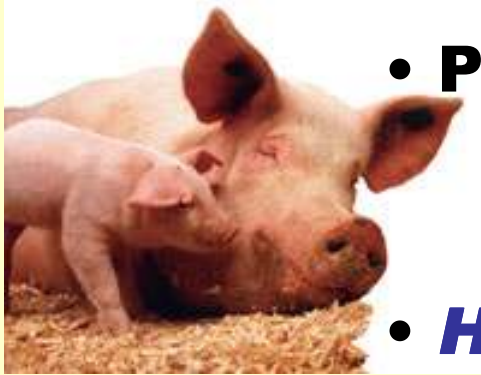
SALMÓN TRANSXÉNICO consta co promotor da proteína de anticonxelamento de outra especie de peixe. Crece de 4 a 6 veces máis rápido que un salmón non transxénico.

ARROZ DOURADO con beta caroteno de xenes de *narciso* e de *Erwinia uredovora*, pigmentos que se transforman en provitamina A ó ser inxeridos.



Enxeñería Xenética NOVOS ANIMAIS

- **1987** secreción de *Beta-lactoglobulina* en leite de ratón.



- Producción de *proteína C humana* en leite de porcos, para desordes coma hemofilia.
- *Hormonas de crecemento humano* en tecido de porco.

- *Antitrombina humana III*, anti-coagulante sanguíneo en leite de cabras transxénicas.
- Cabras transxénicas para producir *BioSteel* fibra feita polo home con propiedades de tea de araña.



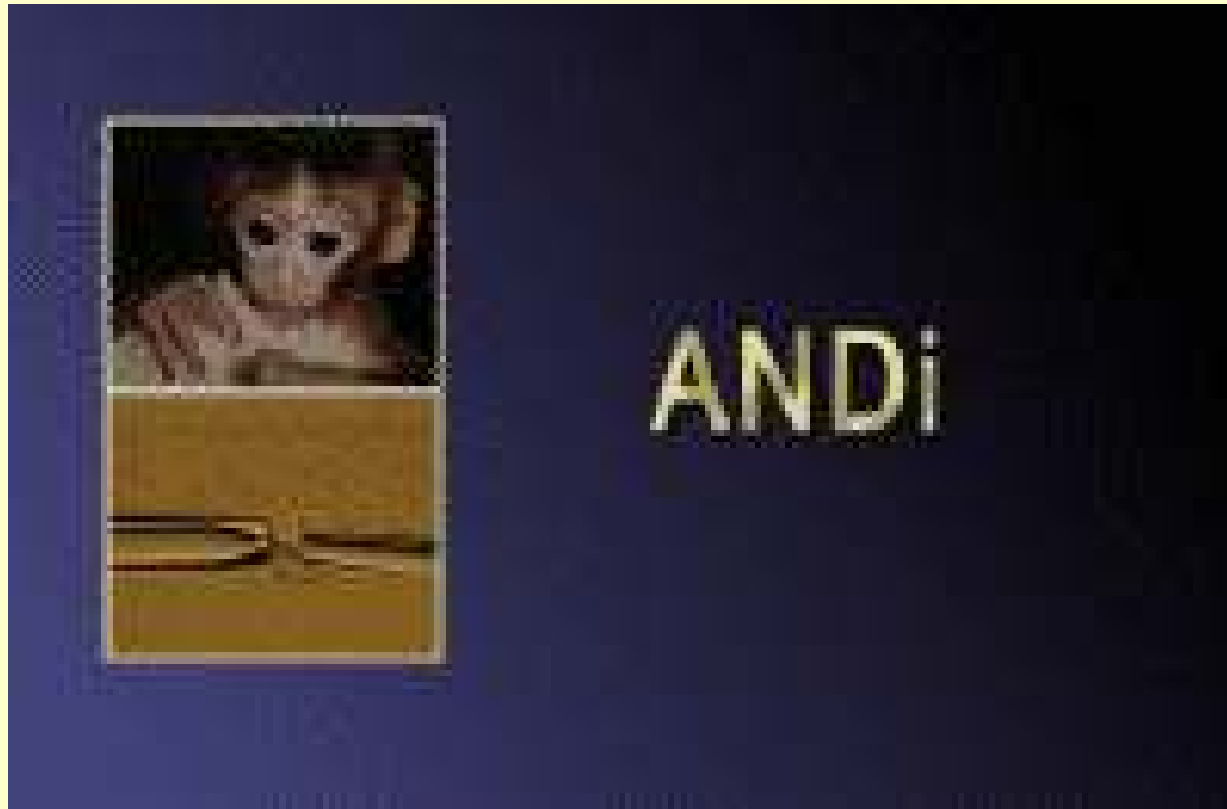
Outros exemplos de aplicación da enxeñería xenética

➤ Síntese de antibióticos

➤ **Síntese de aminoácidos:** os aminoácidos prodúcense para varios fins, sobre todo como aditivos melloradores do sabor de alimentos e como suplementos de dieta, así como en industria química, cosmética, para suministros médicos, etc.

➤ **Síntese do índigo:** o índigo emprégase como colorante para as prendas texanas (*blue-jeans*), e ata agora o proceso era puramente químico e contaminante. Desenvolveuse un sistema para producir este colorante de modo limpo en bacterias manipuladas xeneticamente (non se requiren substancias químicas perigosas como anilinas, formaldehido, cianuro, etc). Se está investigando para que a **enxeñería xenética impulse procedementos industriais "verdes"**.

➤ Etc.



"ANDi" é o primeiro animal xenéticamente modificado na familia dos primates, naceu en outubro do ano 2000 (O nome de ANDI é un xogo de palabras coa iniciais en inglés do ADN).

¿É posible realmente manipular o xenoma dos seres vivos de forma controlada e segura?

¿É posible seleccionar embrións, crear órganos, modificar alimentos e curar enfermidades mediante a enxeñería xenética sen riscos?

¿Podemos modificar o noso xenoma e dominar a vida humana sen perigos?

Cada vez que a ciencia avanza, unha parte da sociedade s'ntese ameazada. Ante os temores que esperta calquera gran avance científico ou técnico convén non perder de vista os seus beneficios.

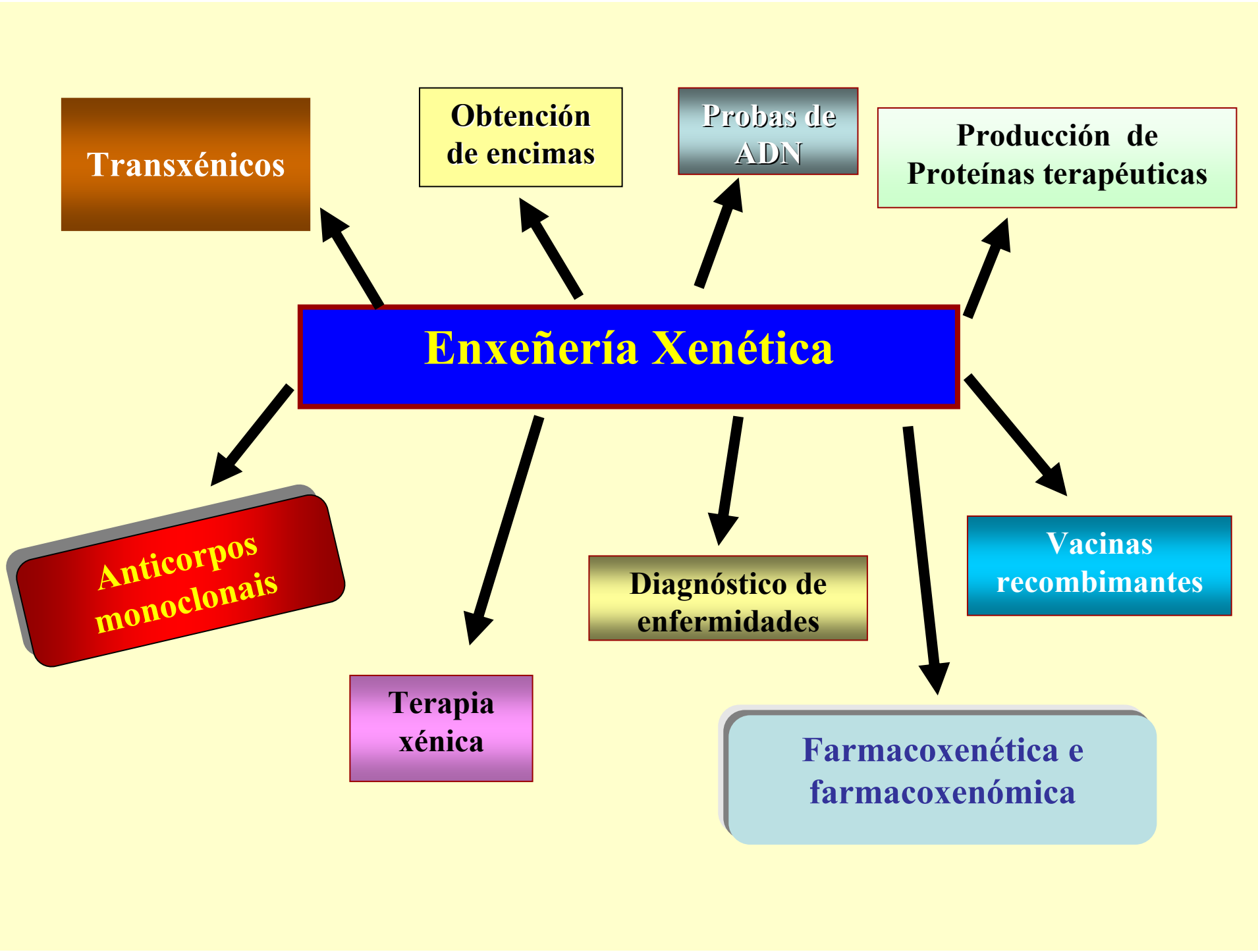
¿Que nos ensinou a historia?.

Que a ciencia se pode utilizar tanto para o ben como para o mal. Que a ciencia sen criterio pode ser perigosa. E que o progreso sen a ciencia, probablemente, nunca exista.

INCONVENIENTES DA ENXEÑERÍA XENÉTICA

Os inconvenientes ou desvantaxes que presenta a enxeñería xenética poden proceder do mal uso dela. A isto deu resposta o **Comité Internacional de Bioética da Unesco** fixando os seguintes obxectivos:

- Salvagardar a dignidade e os dereitos do ser humano.
- Imposibilitar a discriminación social e ideolóxica.
- Impedir desastres ecolóxicos.
- Evitar o desenvolvemento ou aparición de enfermidades que puideran ser incontrolables.





*Departamento Bioloxía e Xeoloxía
I.E.S. Otero Pedrayo. Ourense.*