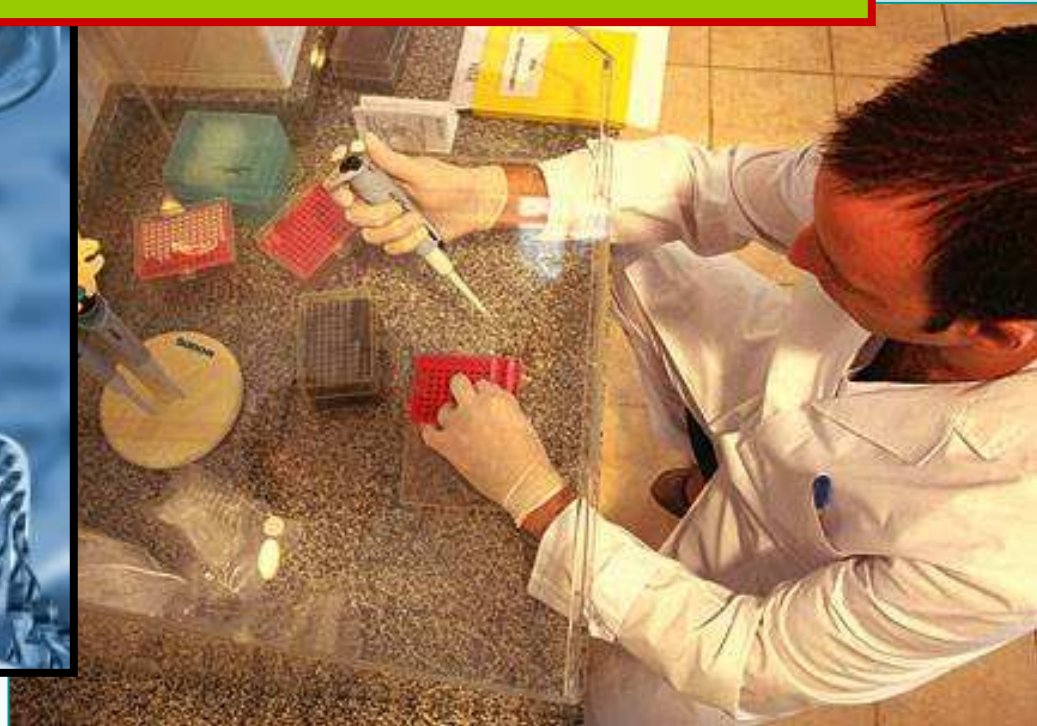
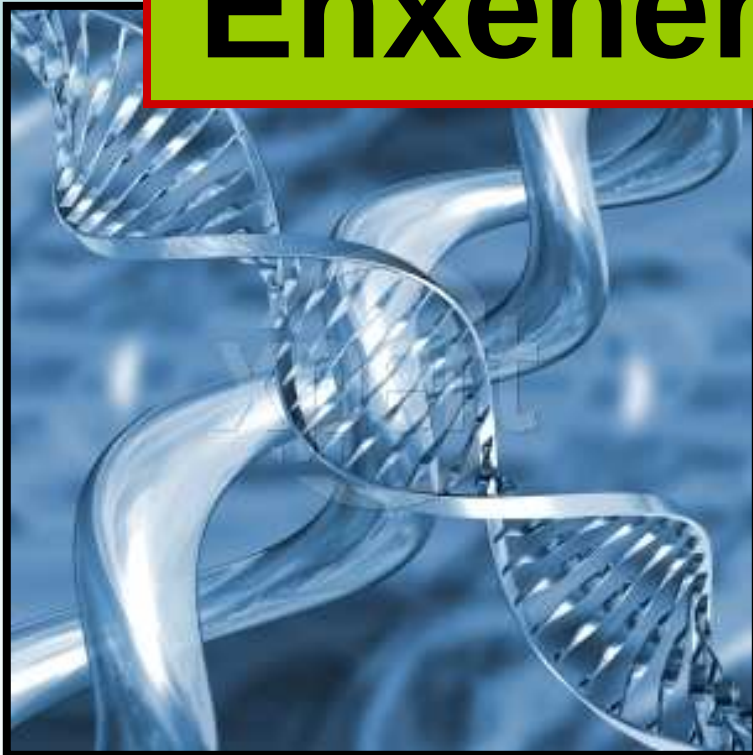


Enxeñería xenética



Carmen Cid Manzano e Emilia Nogueiras Hermida

Ciencias para o mundo contemporáneo

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

Enxeñería xenética

Conxunto de técnicas que permiten:

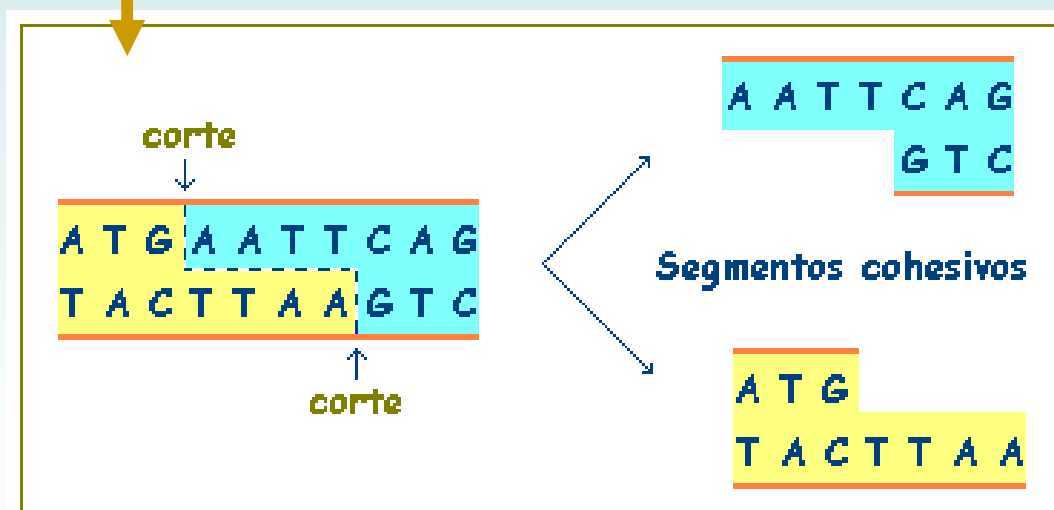
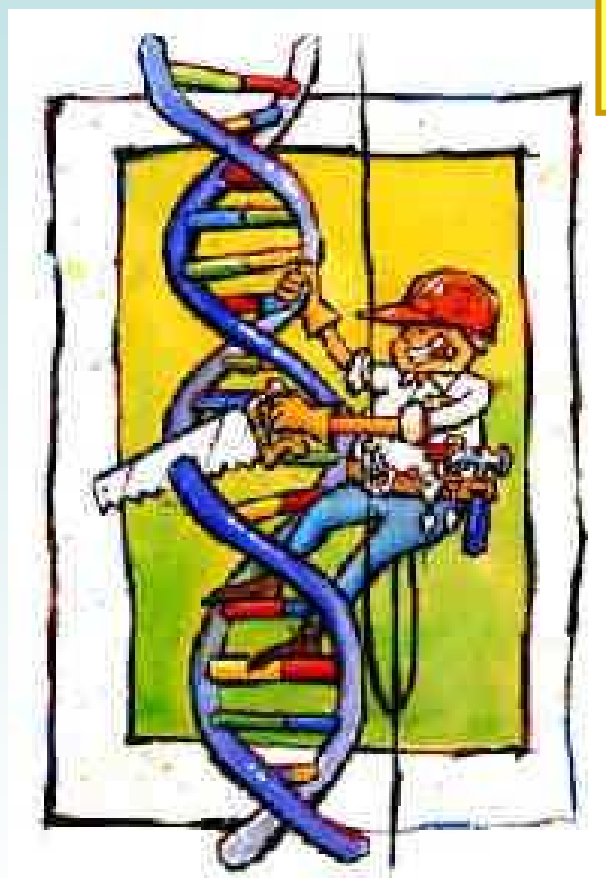
- ☐ Fragmentar o ADN.
- ☐ Analizar os fragmentos de ADN: probas de ADN.
- ☐ Hibridación de ADN. *Biochips*
- ☐ Secuenciar o ADN. Proxecto Xenoma Humano.
- ☐ Terapia xénica.
- ☐ Crear organismos modificados xeneticamente (OMX) ou transxénicos.

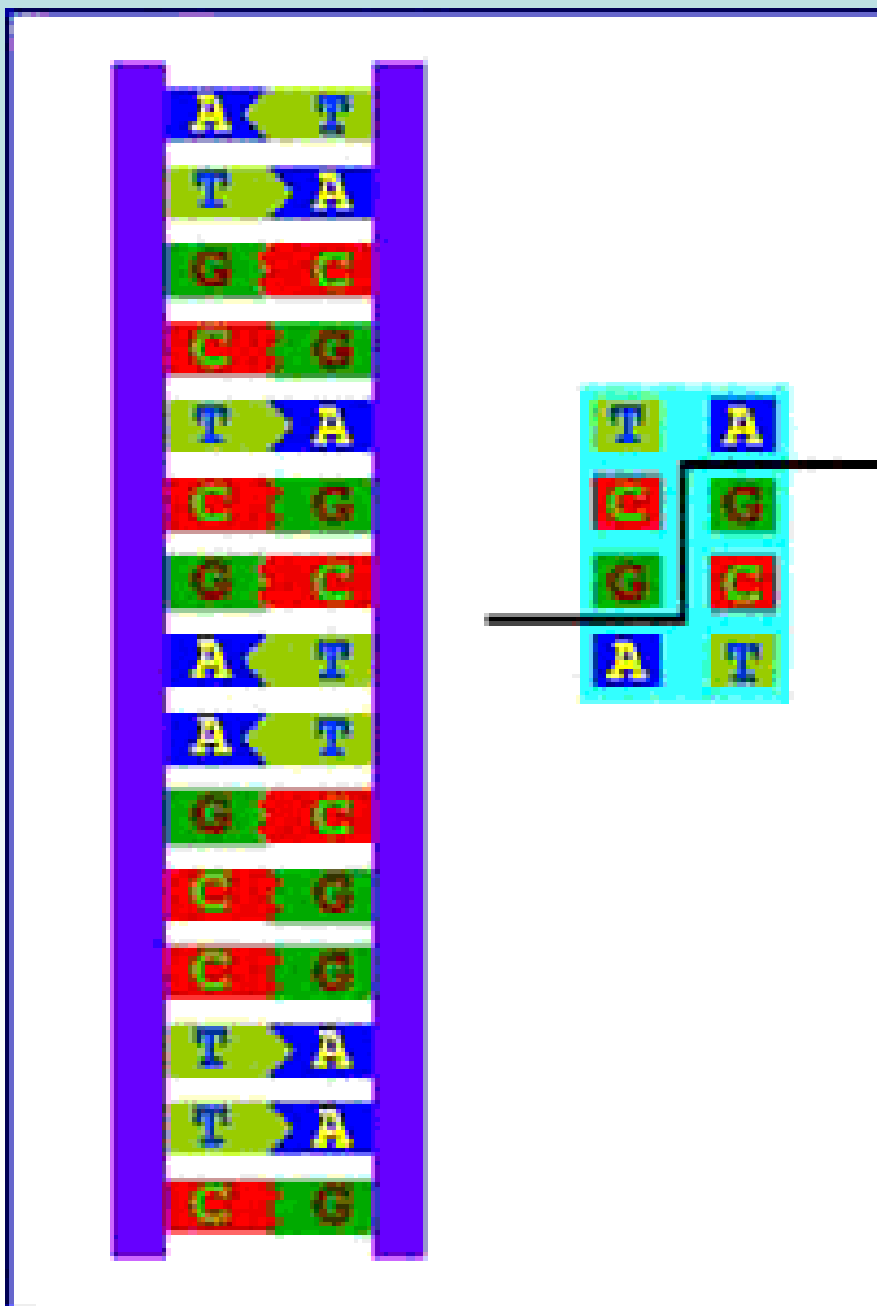
Visualización do vídeo: <http://www.youtube.com/watch?v=dA8BUZPnhbc>

Técnicas de enxeñería xenética

Fragmentar o ADN

Encimas de restricción





EL PAÍS, martes 20 de mayo de 2008

Un laboratorio 'resucita' genes de una especie extinguida hace 70 años

- ▶ Fragmentos de ADN del tigre de Tasmania funcionan en ratones
- ▶ Los investigadores creen que en el futuro será posible revivir dinosaurios

http://www.elpais.com/articulo/sociedad/laboratorio/resucita/genes/especie/extinguida/hace/anos/elpepisoc/20080520elpepisoc_5/Tes

Recuperación de genes del tigre de Tasmania

Origen:

Australia (hace 4 millones de años)

Familia:

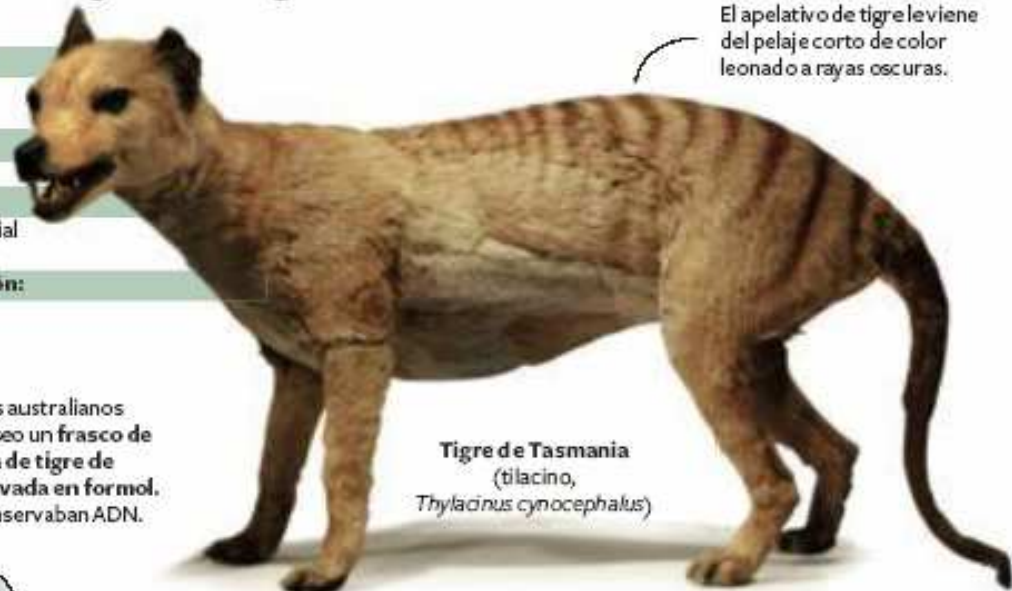
Thylaciniidae

Descripción:

Carnívoro marsupial de tamaño medio.

Fecha de extinción:

1936.



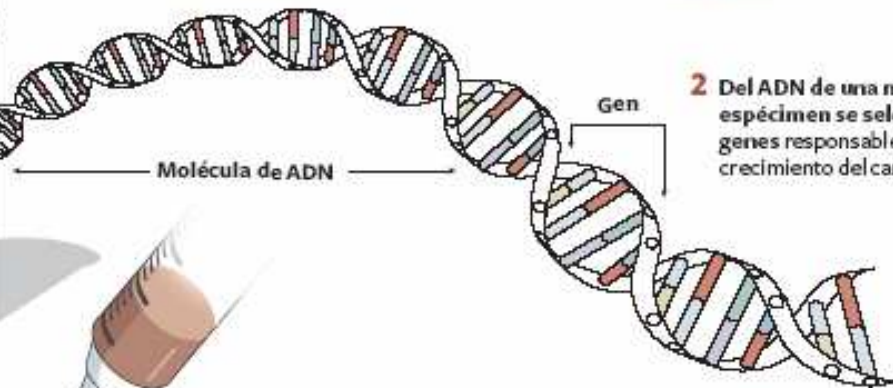
El apelativo de tigre le viene del pelaje corto de color leonado o a rayas oscuras.

Tigre de Tasmania
(tilacino,
Thylacinus cynocephalus)

- 1 En 1999, científicos australianos hallaron en un museo un frasco de 1866 con una cría de tigre de Tasmania conservada en formol. Sus tejidos aún conservaban ADN.



Solución de alcohol y formol



- 2 Del ADN de una muestra del espécimen se seleccionan genes responsables del crecimiento del cartilago.



Embrión

- 3 Los genes se introducen en células embrionarias de ratón de nueve días de desarrollo.

- 4 Así, el embrión consigue desarrollarse y los genes de tigre de Tasmania se desarrollan con normalidad en el ratón.



Ratón

“La base científica de ‘Parque Jurásico’ estaba bien pensada”

E. DE B., Madrid

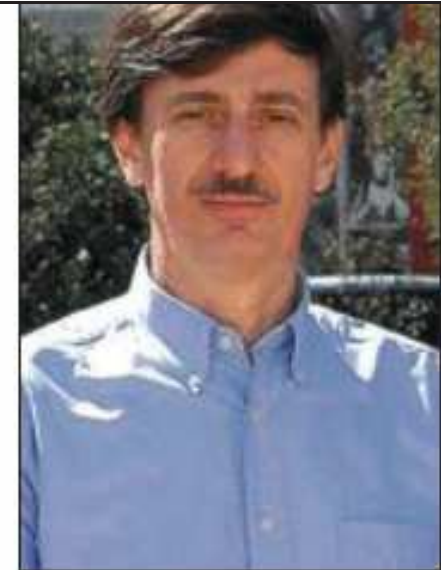
La posibilidad de recuperar ADN de especies extinguidas lleva a pensar en la película *Parque Jurásico* y en la resurrección de dinosaurios. Algo muy lejano, pero que con cada avance científico parece menos irreal. El responsable del Banco de Germoplasma y Tejidos de Especies Silvestres del CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Eduardo Roldán, no evita la ironía cuando se le nombra. “La ciencia en que se basaba *Parque Jurásico* estaba

muy bien pensada. Otra cosa es que se encuentre material genético bien conservado”, matiza.

El trabajo hecho con el tigre de Tasmania “es una vuelta de tuerca más que demuestra que el ADN se conserva mejor de lo que pensábamos”, dice Roldán. Él ha trabajado con híbridos de gata y lince para intentar salvar esta última especie, y afirma que hay científicos de Japón y Estados Unidos que han recuperado esperma de ratones congelados hace 10 o 15 años. Ello da un nuevo valor a las colecciones de los museos de cien-

cias naturales, que ahora se usan sobre todo “para establecer relaciones filogenéticas” (*árboles genealógicos*) de las especies.

La creación de híbridos no es ciencia-ficción. “Es el enfoque experimental que se usa hoy con el ARN mensajero [una copia del ADN del núcleo] de mamíferos, que se introduce en anfibios y se consigue que se expresen las proteínas. Estas llegan a la membrana e incluso se recomponen los receptores celulares”, explica. Así que siempre “queda la duda de que se pueda ir más allá. En



Eduardo Roldán.

ciencia no se debe decir que algo es imposible, porque luego el tiempo te puede hacer quedar en ridículo”, sentencia.

Para que pode servir a Xenética?

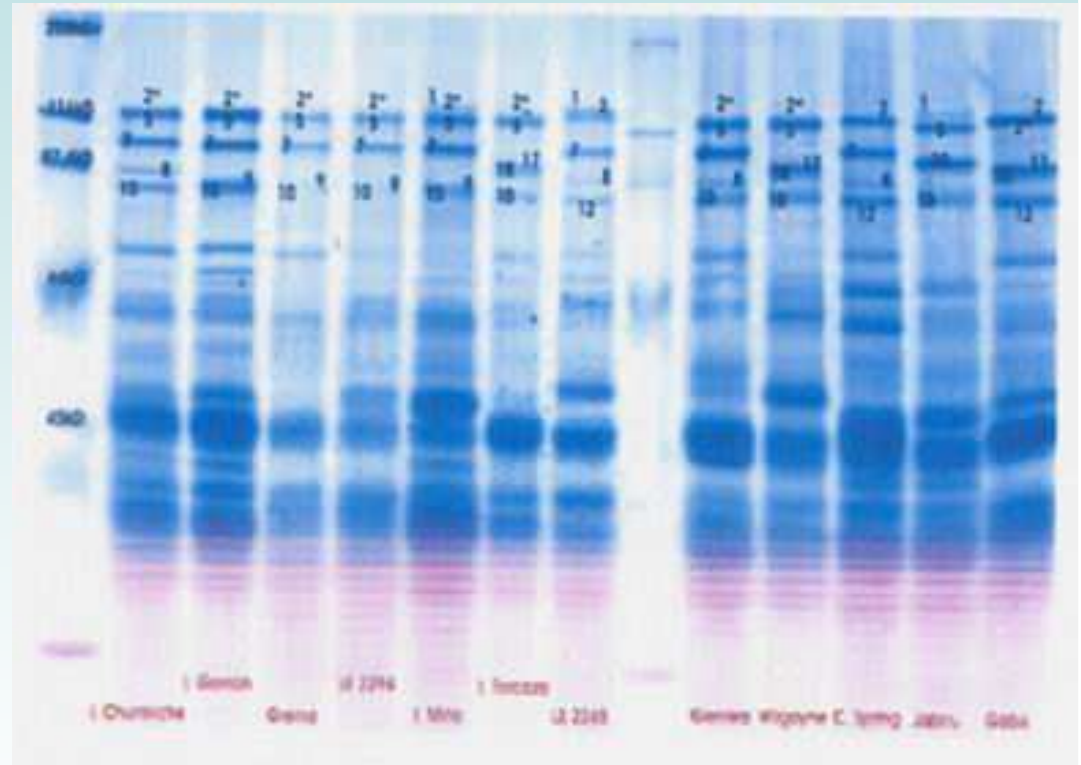
<http://www.youtube.com/watch?v=dA8BUZPnhbc>

I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense



Análise dos fragmentos de ADN: probas de ADN

A técnica da **electroforese** permite obter o patrón de bandas característico e exclusivo do ADN dun organismo (**pegada xenética**).



A **pegada xenética** pode utilizarse para realizar **probas de paternidade**, para **identificar a persoas** (desaparecidas, autoras dun delito, etc.),...

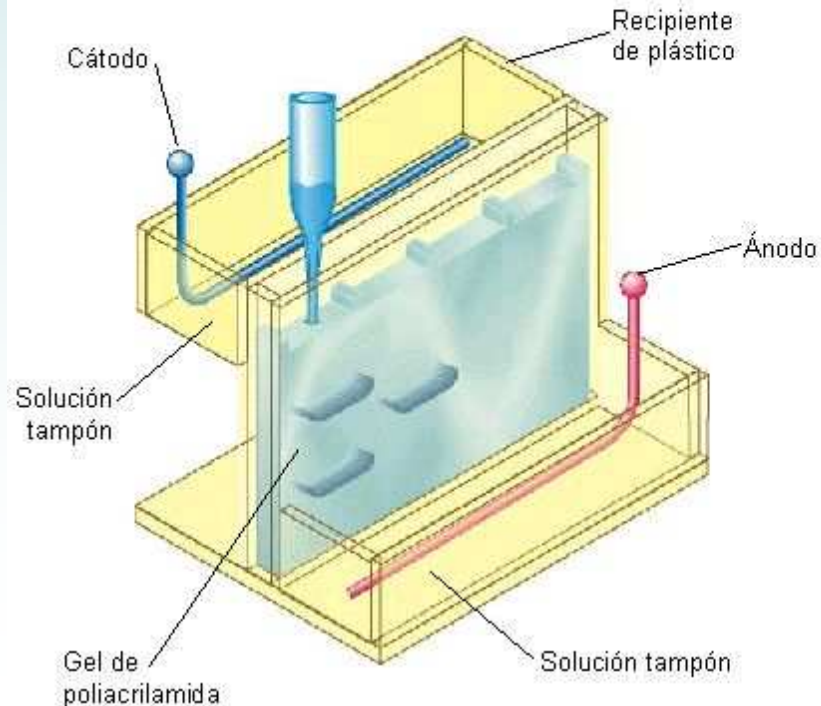
A **electroforesis** é unha técnica para a separación de moléculas segundo a súa mobilidade nun campo eléctrico.

A separación adoita realizarse sobre a superficie hidratada dun soporte, por exemplo de xel .

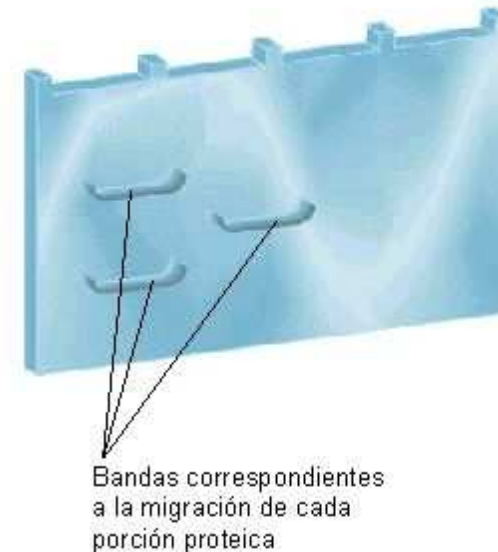
Ao poñer a mezcla de moléculas e aplicar un campo eléctrico, estas moveranse polo xel. As pequenas moveranse máis rapidamente e avanzarán máis e as máis grandes quedarán cerca do lugar de partida.

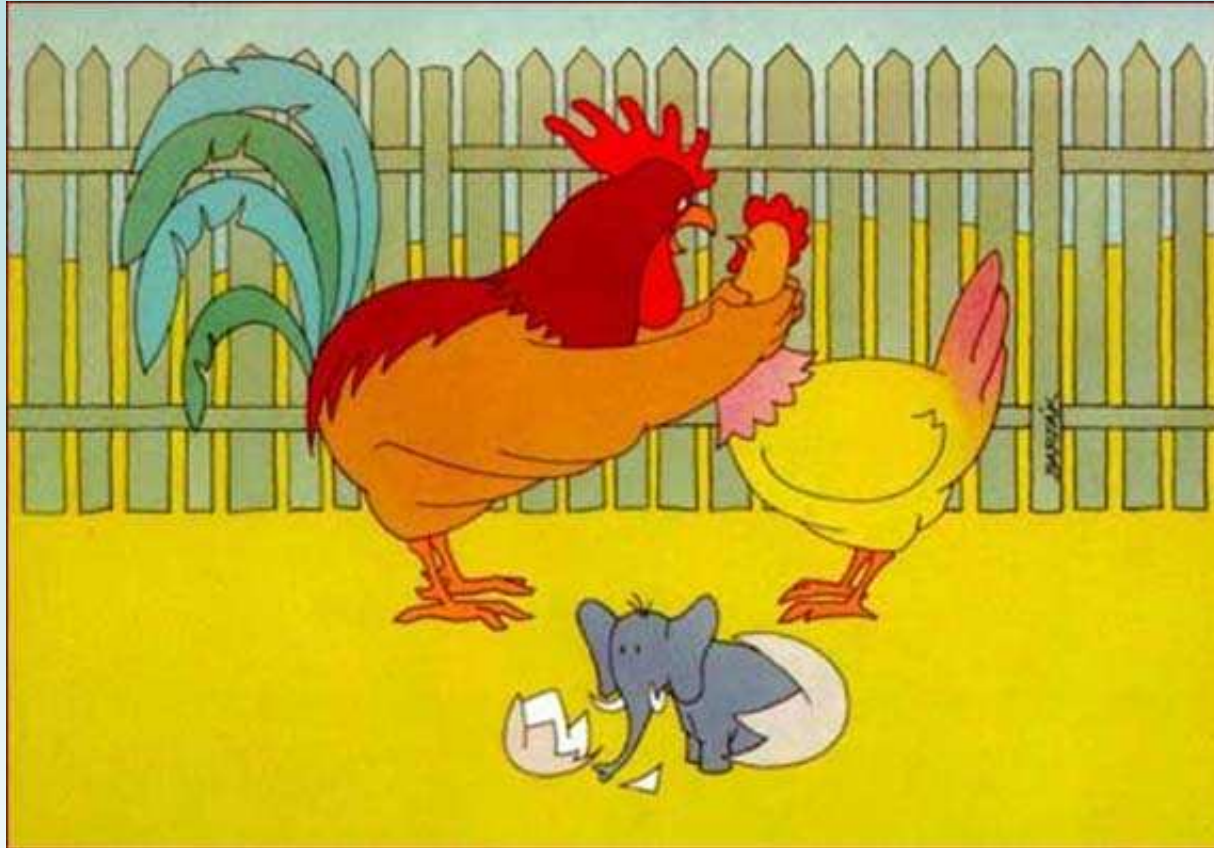
Electroforesis en gel de poliacrilamida

La migración depende de la carga eléctrica de cada porción proteica.

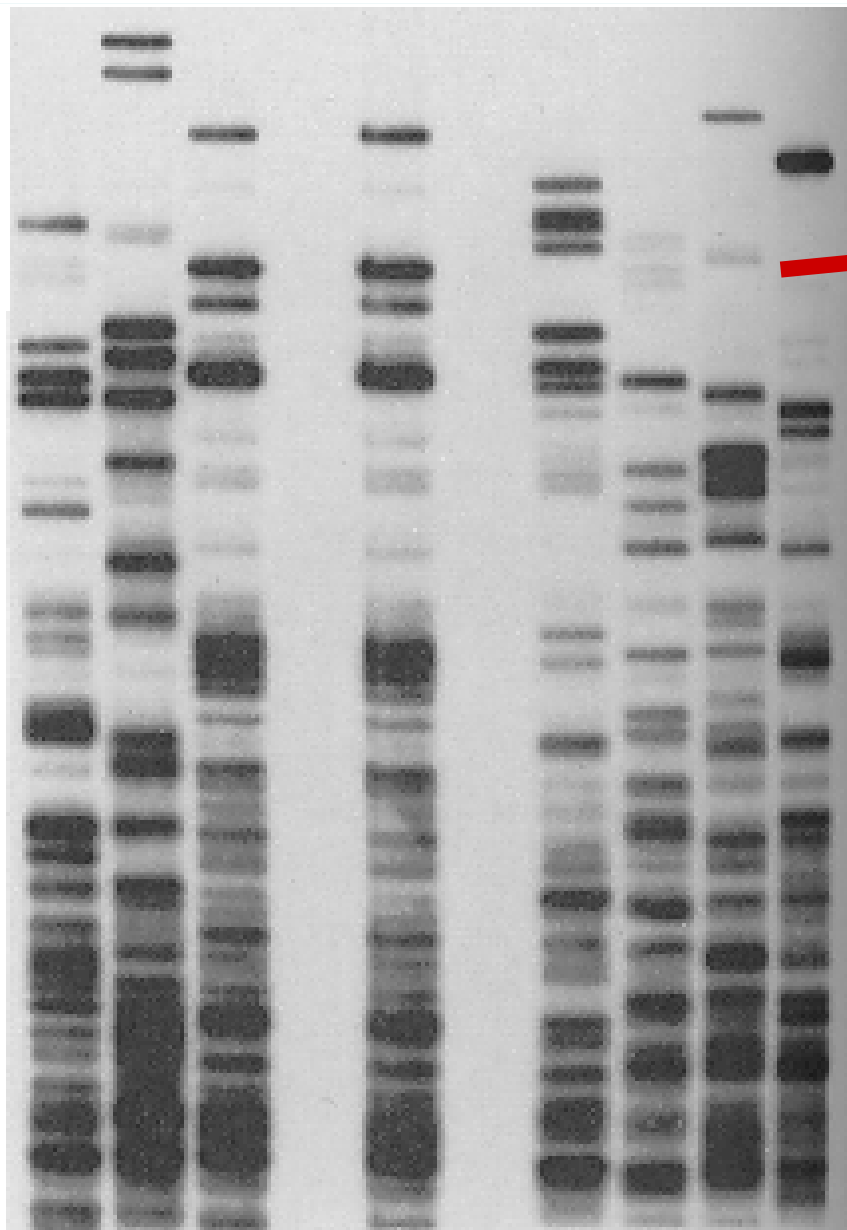


Las manchas se revelan mediante un colorante.





O ADN obtense dun resto da saliva nun cigarro (contén células da mucosa bucal), dunha mancha de sangue (leucocitos), dos restos de esperma (espermatozoides), dun pelo (células do folículo piloso), etc.



Imaxe conseguida despois de realizar unha electroforese

No centro o ADN do sangue recollido no lugar do crime. A ambos lados mostramos de ADN de 7 sospeitosos.

¿Quen é o asasino?

Non hai que “ler” todo o xenoma, basta con comparar unhas rexións especialmente variables do ADN dos humanos.

1 2 3 Bloodstain 4 5 6 7
Suspects

Un exemplo da aplicación das probas de ADN

I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense

La ciencia declara heredera a la hija de la criada

Una mujer argentina logra aclarar las intrigas de su vida

JORGE MARIRRODRIGA
Buenos Aires

Que la realidad supera a la ficción es un hecho. Y la historia de una mujer argentina que ha visto cambiada su vida gracias a una prueba de ADN es la enésima confirmación en un relato en el que hay hasta robo de cadáveres de por medio. Y es que Eva Paole, de 70 años, que hasta el viernes habitaba en una humilde casa en La Pampa (Argentina), sobreviviendo con una pensión de poco más de 170 euros al mes, ha podido demostrar que en realidad es el fruto de la relación prohibida entre un rico hacendado casado y su criada. Como resultado de ello heredará la cifra de 40 millones de dólares (27 millones de euros).

De pequeña, Paole nunca se cuestionó por qué disfrutaba de un buen trato en su entorno. Ella vivía con sus padres y luego creció, se casó y tuvo hijos. De hecho, la muerte en 1983 de Rufino Otero, un rico hacendado de la zona, con 26 campos, dos aviones particulares y unas 5.000 cabezas de ganado, no pa-

só de ser el fallecimiento del antiguo patrón. En 1990 moría la esposa de Otero, y dado que el matrimonio no había tenido hijos toda la fortuna familiar pasó a un sobrino.

Pero lo que llevaba años en la región siendo un sordo rumor, pasó a ser un secreto a voces y luego ni siquiera un secreto. Los hijos de Paole le conta-

Cuando se abrió el ataúd se descubrió un cuerpo desnudo con cicatrices

ron a su madre lo que se decía y ella entendió entonces por qué aquel a quien había creído su padre se negó a que llevara su apellido.

De modo que en agosto de 1999 la mujer acudió a la justicia, que ordenó realizar una prueba de ADN al cadáver de Otero. La fortuna estaba entonces en manos de un sobrino de Rufino Otero, quien vio cómo el dine-

ro heredado podía esfumarse igual de rápido que había llegado. Cuando los funcionarios abrieron el ataúd había un cuerpo desnudo con cicatrices. Pero Otero había sido enterrado vestido y no se le había practicado la autopsia. En 2004, un pintor que había participado en el cambio de cuerpos cayó de un andamio y murió.

La justicia tenía ahora un cadáver desaparecido y otro sin identificar. Cuando se logró conocer la identidad del segundo se descubrió que en su tumba había otro cuerpo: ¿El de Otero? No, el de una mujer desconocida.

El juez decidió entonces buscar en la tumba de la madre del millonario para hacer una prueba de ADN y poder compararlo con el de Paole. En 2007, con buena parte de la fortuna dilapidada, el sobrino falleció, pero hace unos días se supo que los análisis de ADN demostraban que Paole, la hija de la criada, es la verdadera heredera. ¿Qué importa la huelga de guionistas de Hollywood?

La prueba del crimen

Written by Héctor Ruiz

Saturday, 10 February 2007 03:19

I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense



Todos sabemos que el análisis del DNA es útil para identificar criminales que han cometido el error de dejar una muestra de su cuerpo (piel, pelo, saliva, etc.) en la escena del crimen. Lo vemos tan a menudo en la serie de televisión CSI que ninguno de nosotros osaría perder ni una pestaña si planeara robar sigilosamente un cuadro del Louvre. También es bien conocida la utilidad del análisis del DNA para realizar pruebas de paternidad, que nos dicen si un niño es hijo o no de su supuesto padre. En general, el análisis del DNA puede determinar relaciones de consanguinidad entre las personas, ya que los familiares próximos compartimos muchos fragmentos de nuestro DNA, y por lo tanto, nos asemejamos físicamente (y psicológicamente).

DNA = DNI



Cada uno de nosotros es único. A nivel genético también, excepto en el caso de los gemelos monocigóticos, que son genéticamente idénticos. Aun así, los genes no tienen la última palabra (más bien tienen la primera) y los factores ambientales hacen que los gemelos acaben siendo también únicos, ya antes de nacer.

Pero dejando de lado la excepción de los hermanos idénticos, cada uno de nosotros tiene un DNA único. Esto se lo debemos fundamentalmente a la invención del sexo, que permite crear infinitas combinaciones de DNA mezclando las del padre y la madre. Por esto dos hermanos (no gemelos) nunca serán iguales. De esta manera, nuestro DNA constituye un auténtico documento de identificación personal que vamos dejando a

nuestro paso sin preocupaciones allá por dónde vamos.

¡Sólo un 0,1% de nuestro genoma nos hace diferentes de los otros humanos, pero como el genoma es muy largo (3000 millones de caracteres), este 0,1% significa muchas diferencias!

¿En qué consiste la prueba de identificación del DNA?

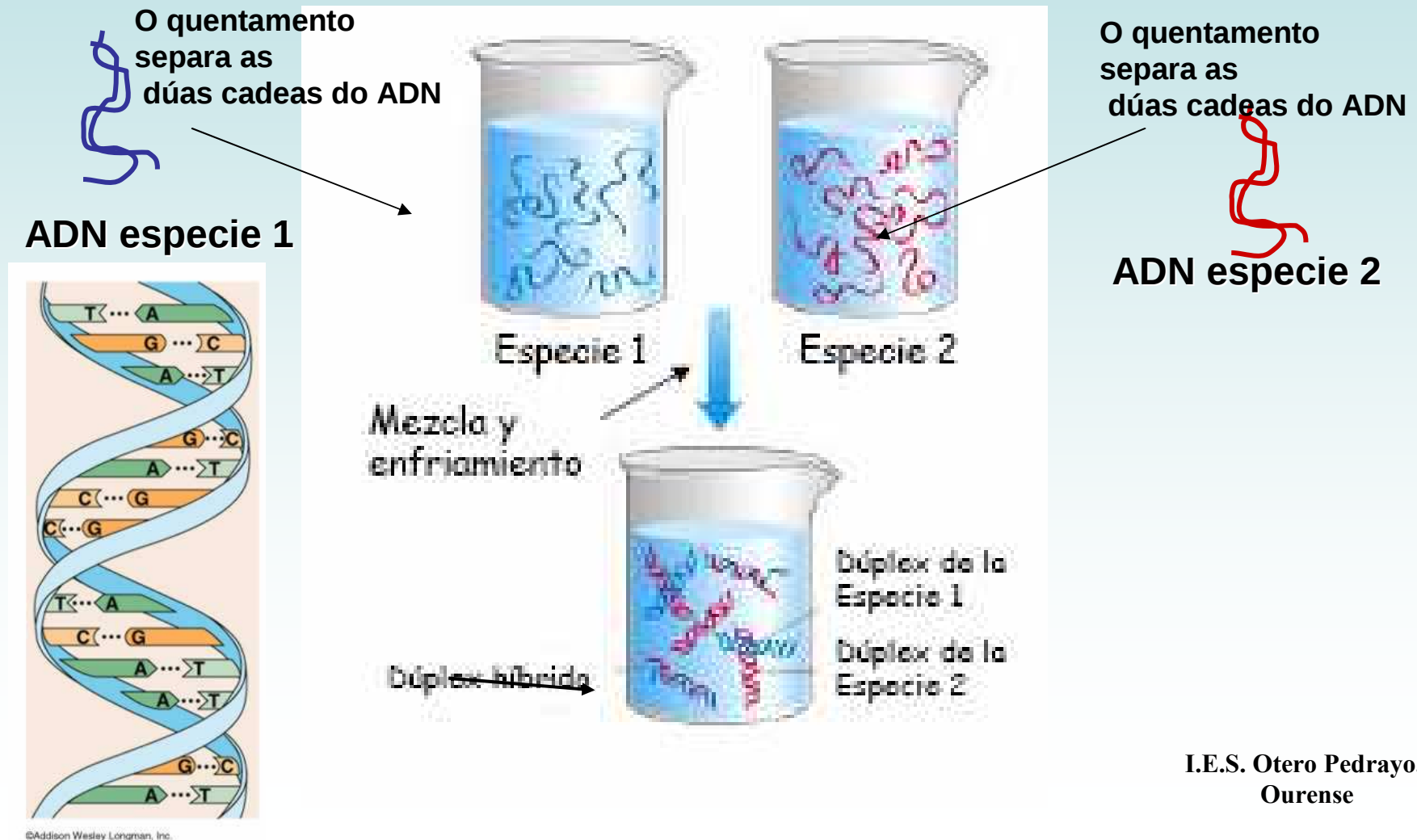


<http://www.portaleureka.com/accesible/biologia/120-biologia/295-La%20prueba%20del%20crimen>

Técnicas de enxeñaría xenética

Hibridación de ADN

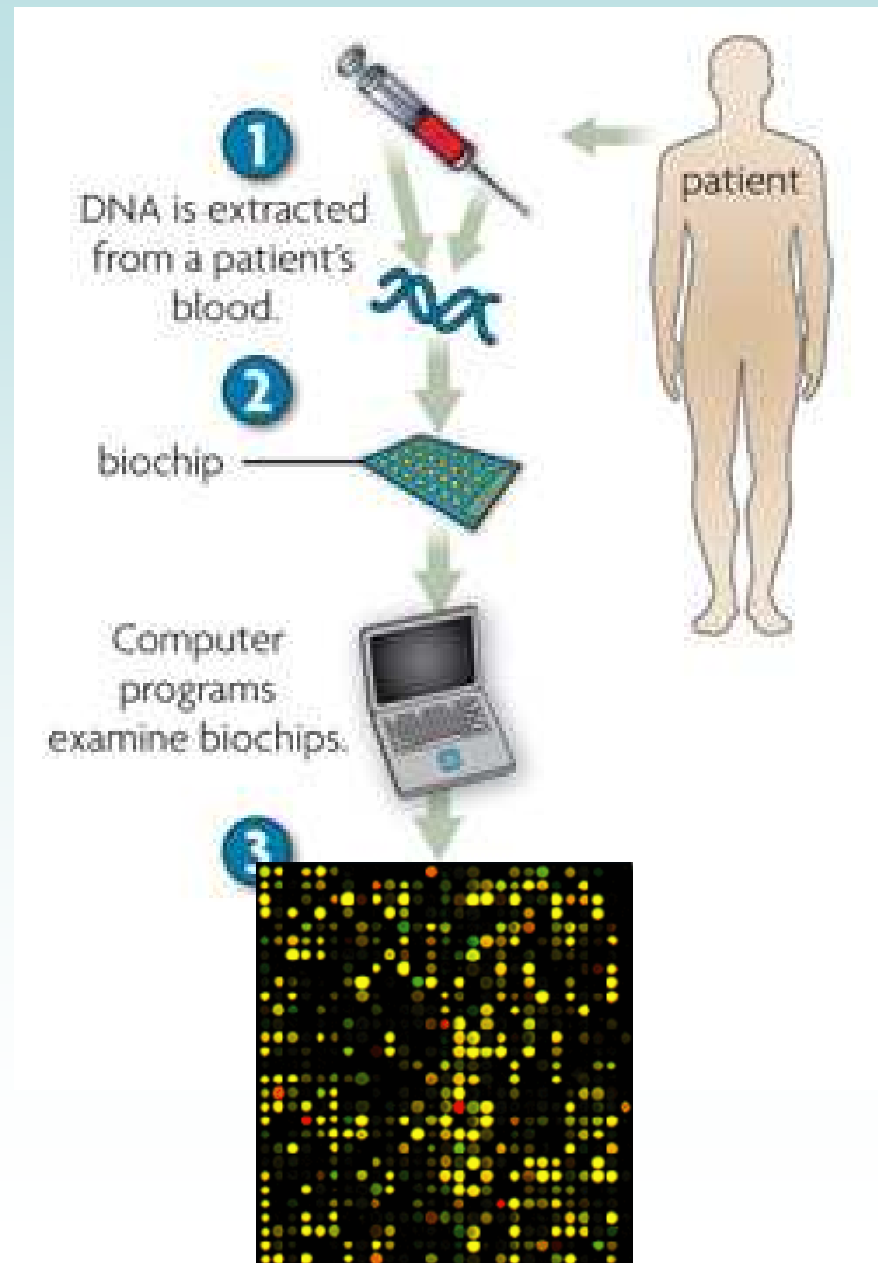
Proceso polo cal se combinan dúas cadeas de ADN de distinta procedencia.



Hibridación mediante sondas de ADN: Biochips

Biochips: dispositivos de pequeño tamaño (chip) que contienen material biológico (cadea ou sonda de ADN de secuencia coñecida) e que se empregan para a obtención de información xenética.

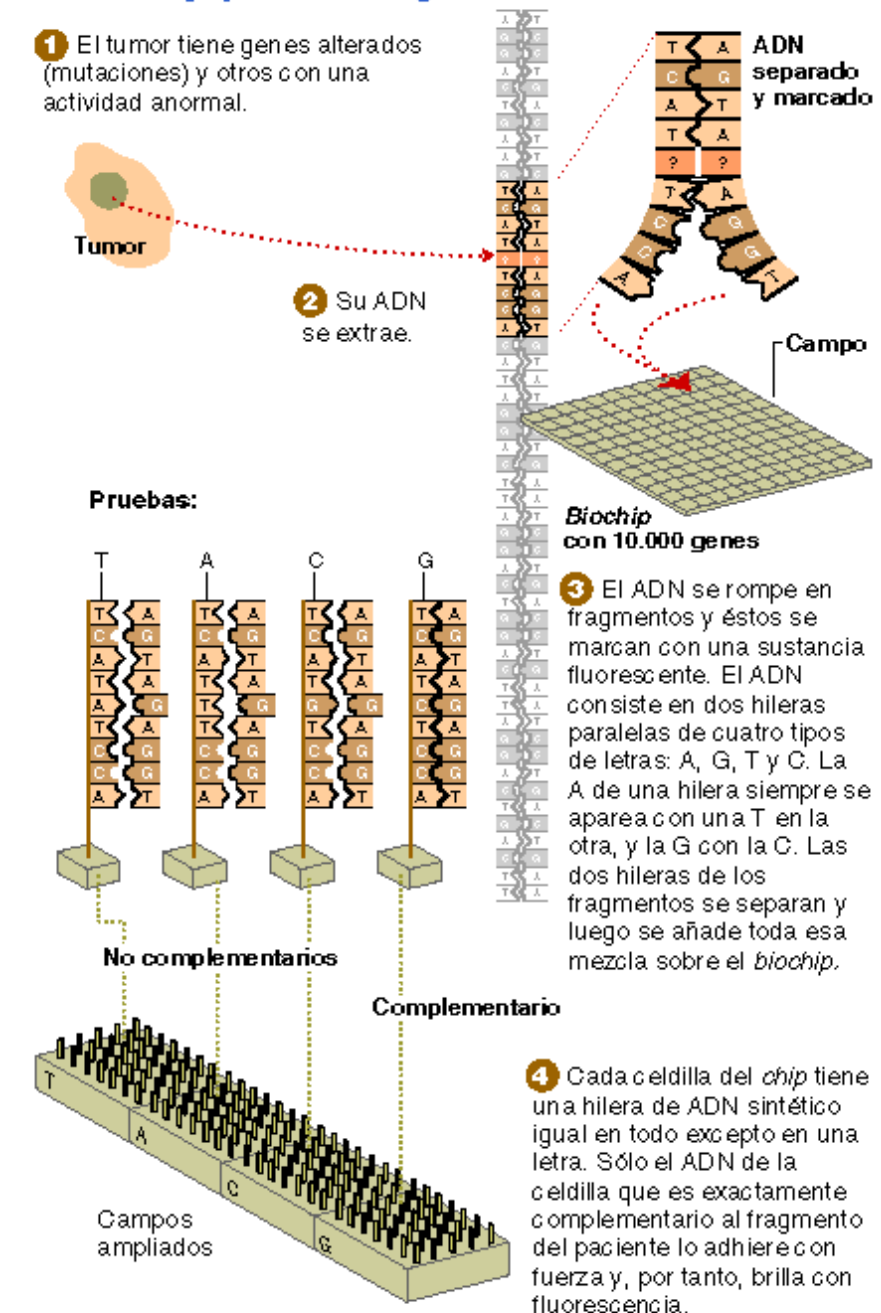
Estes dispositivos coñécense tamén como Microarrays de ADN ou polos nomes das empresas que os comercializan (GeneChip, MassArray).



Deste xeito pódense coñecer:
mutacións que o paciente ten nos
seus xenes; detección de xenes dos
cancros; detección de enfermidades
infecciosas, etc.

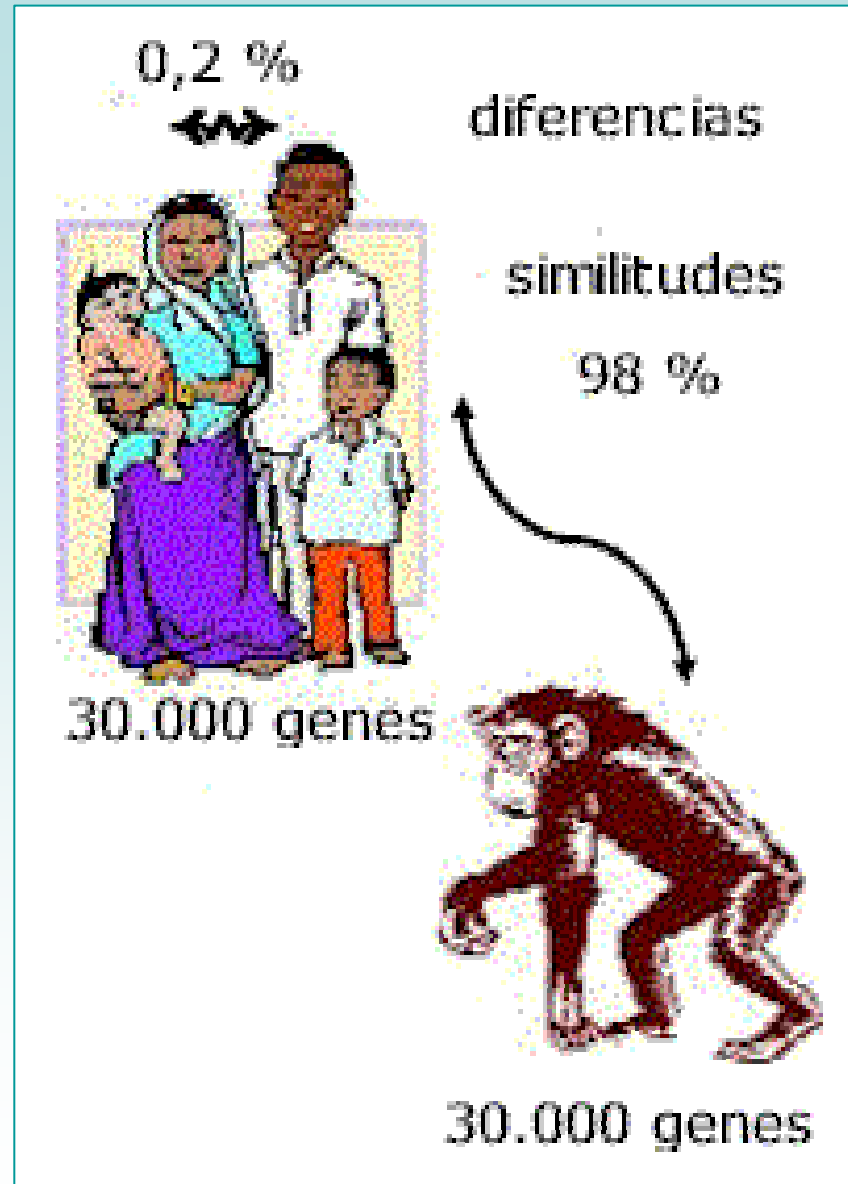
<http://estaticos.elmundo.es/elmundo/2008/graficos/may/s2/test.swf>

Un *biochip* para el diagnóstico del cáncer



EL PAÍS

Canto máis relacionados están os ADN, maior porcentaxe de hibridación se producirá. Dentro dunha mesma especie, por exemplo, haberá maior proporción de hibridación cando os individuos estean emparentados. Cando se trata de ADN de distintas especies, haberá maior hibridación, canto máis relacionadas evolutivamente estean.



As técnicas de hibridación sirven para detectar secuencias de ADN complementarias e así poder, por exemplo, diagnosticar enfermidades xenéticas que se producen por alteracións na secuencia do ADN.

Los científicos están cada vez más convencidos de la importancia de los factores genéticos en el infarto. Probablemente haya decenas de genes implicados, y los investigadores básicos se están preparando para buscarlos, pero ya hay un gen

muy bien conocido, el de la hipercolesterolemia familiar (HF), cuyas mutaciones confieren un altísimo riesgo cardiovascular: la mitad de sus portadores sufre un infarto u otro grave daño antes de los 55 años. Unos 100.000 españoles

sufren la mutación, pero sólo 20.000 lo saben. Un equipo dirigido por Pedro Mata, presidente de la Fundación Hipercolesterolemia Familiar, comercializa ahora el primer *biochip* del mundo para evitarles un infarto a los otros 80.000.

Un 'biochip' para evitar 80.000 infartos

Científicos españoles comercializan el primer test genómico contra el colesterol hereditario

Técnicas de enxeñería xenética

Secuenciar o ADN

Á determinación da orde da A, T, C e G na molécula de ADN denomínase **secuenciación**.

Os primeiros métodos utilizados para realizala eran lentos e complicados. Arestora, desenvólvense técnicas automatizadas e informatizadas, o que permite que a secuenciación sexa rápida e sinxela.

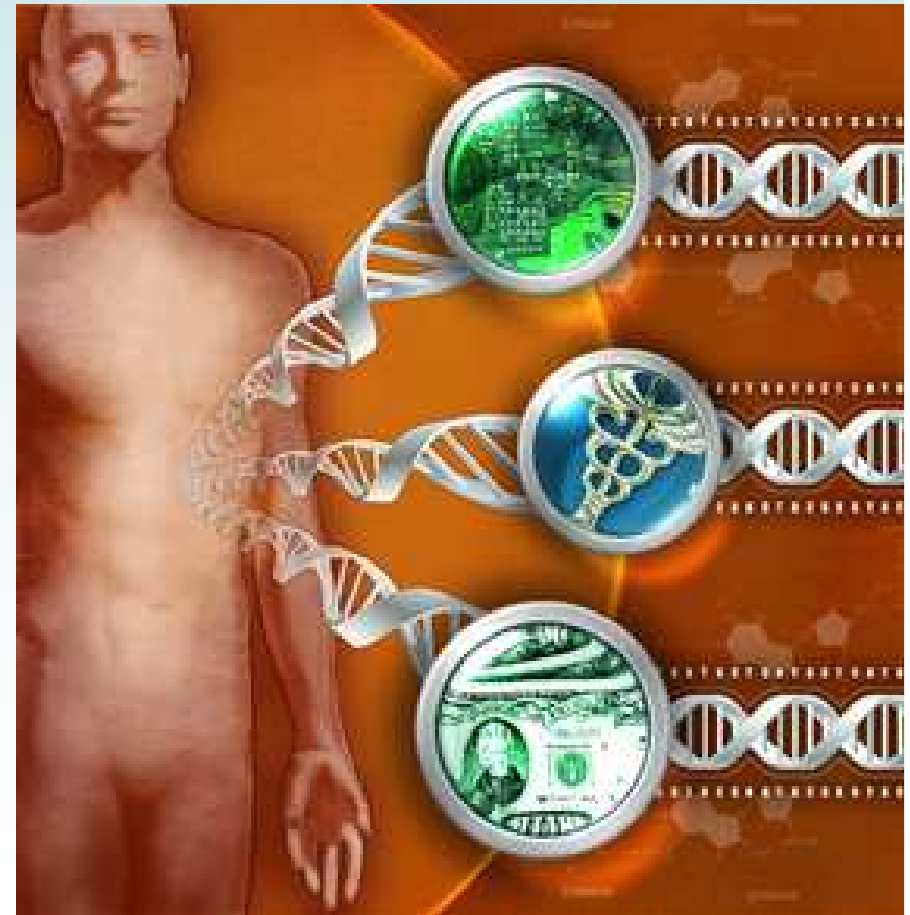


GATTTAAGCGCGTATTA
GACAGATACAGATTTTAA
GTAGACATAGGACATATG
CGCGTCAGATTATGCCTT
AAAGCGCCCCGTAGACG
GACAGATACAGATTTAGG
GCTCAGATTCAGATATGC
TGCCGATTTAGCATAGGG
GACGATTCGATTCGGTTA

Proxecto xenoma humano

O proxecto xenoma supuxo un gran esforzo, realizado a nivel internacional, cuxo obxectivo foi a **secuenciación completa** dos aproximadamente 20 000 - 30 000 xenes que compoñen o **xenoma humano**.

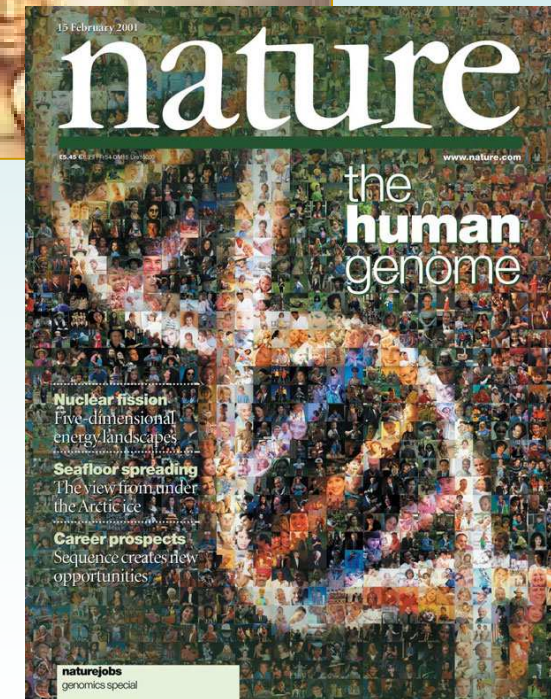
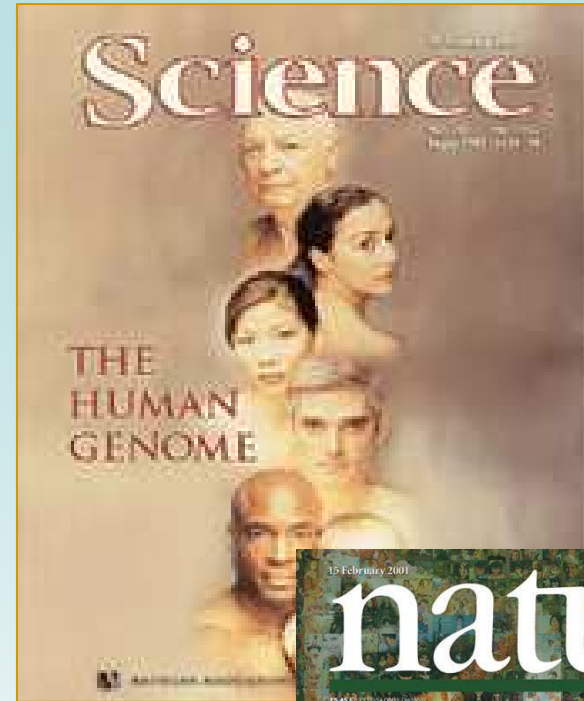
Despois de secuenciar o ADN humano aínda queda por averiguar que significa toda esa información: identificar onde empezan e terminan os xenes no ADN, descubrir a función deses xenes, encontrar zonas que regulen a súa expresión,...



I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense

O 6 de abril de 2000 anunciouse publicamente a terminación do primeiro borrador do xenoma humano e en febreiro de 2001, as dúas prestixiosas revistas científicas **Nature e Science**, publicaron os resultados.

O acceso aos datos é totalmente gratuíto a través da [base de datos GenBank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/): a información pertence a toda a humanidade.



Ir ás páxinas:

<http://www.elmundo.es/especiales/2001/02/ciencia/genoma/portada.html>

Historia do Proxecto xenoma

http://www.google.es/search?q=proyecto+genoma+swf&hl=es&rlz=1T4GGLL_esES320ES320&start=10&sa=N

De quen é o ADN que se secuenciou no proxecto xenoma humano?

A secuencia que hai no GenBank procede de mostras de distintos donantes anónimos. Hai secuencias mezcladas de distintos homes e mulleres, o que significa que o xenoma que podemos ler non se corresponde cunha única persoa, senón que é unha mezcla que non existe na realidade.

Macip, S. (2008): *Inmortales y perfectos*. Barcelona: Destino.



A secuencia do xenoma humano é única para cada individuo



Le e comenta o artigo *Cómo se 'cocina' un ser humano*.
Biomedicina / Genética. N. 4 / **EL PAÍS** SALUD. Sábado 9 de mayo
de 2009 www.dnaarrays.org/P_ElPaís.pdf

Que repercusión terá na nosa saúde?

O coñecer a secuenciación do xenoma humano significou unha nova era na medicina.

Aínda que na actualidade a repercusión é relativamente reducida, a medida que se vaian coñecendo **xenes asociados a enfermidades** poderemos mellorar a súa prevención e tratamento.



Visualización do flash: Proxecto xenoma

<http://estaticos02.cache.el-mundo.net/noticias/2000/graficos/abril/semana1/genoma.swf>

Sen embargo, non podemos olvidar que a maioría das enfermidades veñen definidas por un grupo inmenso de factores ambientais e xenéticos.

A presenza de determinados **marcadores xenéticos** (variación na secuencia de ADN dun xene que aparece con frecuencia asociado a unha enfermidade) só nos vai indicar a probabilidade que hai de padecer dita enfermidade.

Ademais serve de pouco predecir a probabilidade de padecer unha enfermidade para a que aínda non se coñece cura, como pasa en moitos casos.

Quiero saber de qué voy a morir

EL PAÍS, viernes 16 de mayo de 2008

El perfil genético con la probabilidad de contraer enfermedades concretas ya está en el mercado

● ¿Es útil? ¿Es aconsejable? ¿Mejor no enterarse?

http://www.elpais.com/articulo/sociedad/Quiero/saber/voy/morir/elpepisoc/20080516elpepisoc_1/Tes

EL PAÍS, jueves 6 de noviembre de 2008

Conócese a ti mismo (por 8.000 euros)

- Nuevas técnicas de 'lectura' del ADN abaratan el genoma
- ¿Acabará comercializándose?



http://www.elpais.com/articulo/sociedad/Conocete/ti/mismo/8000/euros/elpepusoc/20081106elpepisoc_1/Tes

Evolución humana a la carta

La posibilidad de mejorar genéticamente al 'Homo sapiens' será pronto posible ● Los científicos debaten si es ético 'fabricar' hombres más fuertes o más sanos

http://www.elpais.com/articulo/sociedad/Evolucion/humana/carta/elpepusoc/20080816elpepisoc_1/Tes

Estamos a punto de pasar de ler o noso código xenético a ser capaces de escribilo.

Craig Venter, *The Guardian*, 2007

Pódese utilizar o ADN en contra do seu propietario?

Indica os posibles prexuizos que nos pode ocasionar que a secuencia do noso ADN sexa coñecida:

-
-
-
-
-
-
-

Gran Bretaña borrará archivos de ADN de base de datos

07-may-2009

LONDRES _ Gran Bretaña cedió el jueves a un fallo judicial y prometió retirar cerca de un millón de registros de ADN de gente inocente de su vasta base de datos nacional, pero muchos tendrán que esperar hasta 12 años para que borren su información. Se guardarán por seis años los archivos de ADN de gente arrestada bajo sospechas de una gran cantidad de delitos menores, desde robo de carteras hasta embriaguez pública, aún que no se presenten cargos contra ellos.

Críticos acusaron al gobierno de desobedecer abiertamente el espíritu del fallo de la Corte Europea de Derechos Humanos y de socavar la presunción legal establecida por las leyes británicas. La corte rechazó en diciembre el almacenamiento "indiscriminado y generalizado" de información genética por parte del gobierno británico. "La gente en Gran Bretaña debe ser...

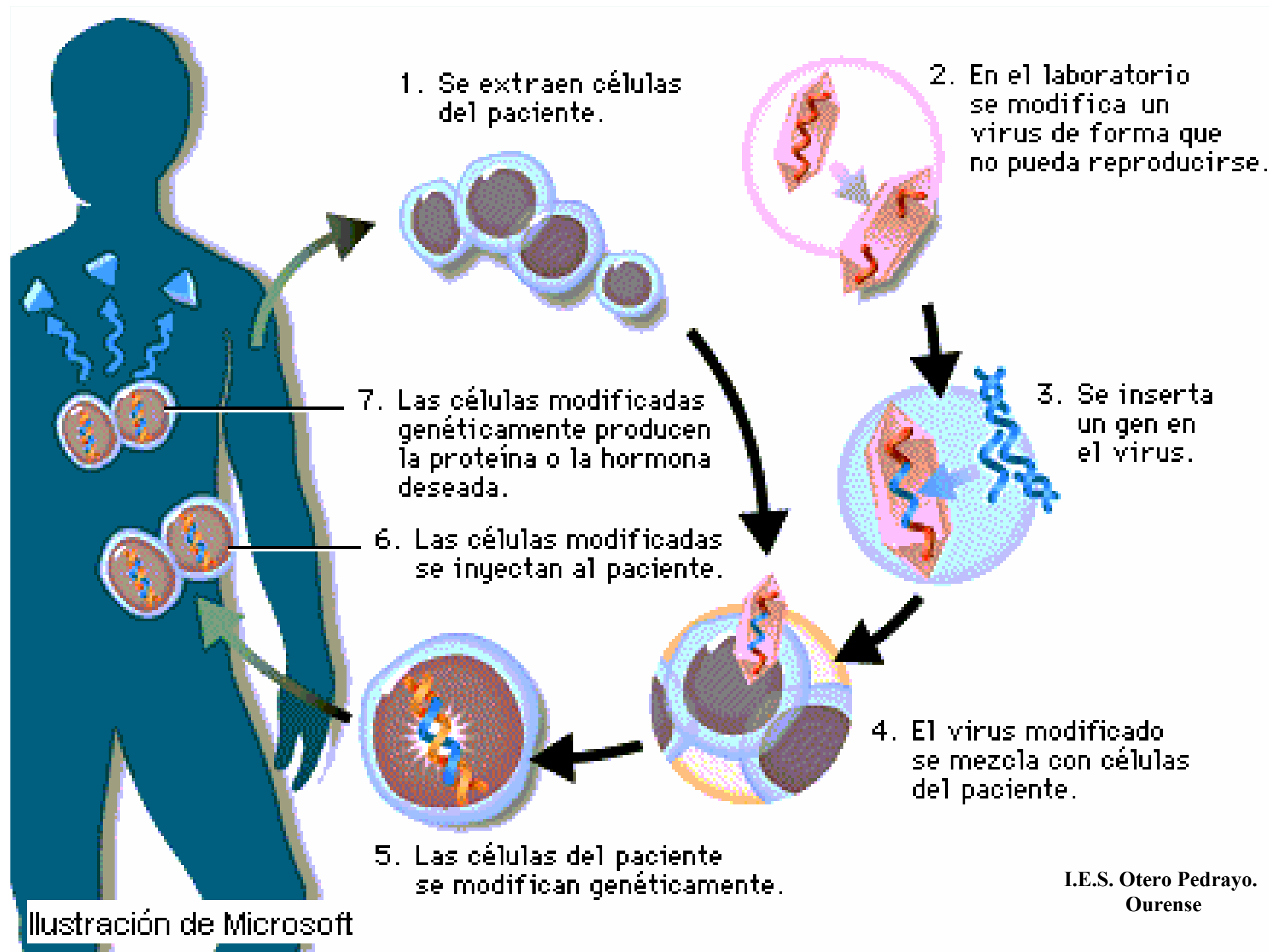
Técnicas de enxeñería xenética

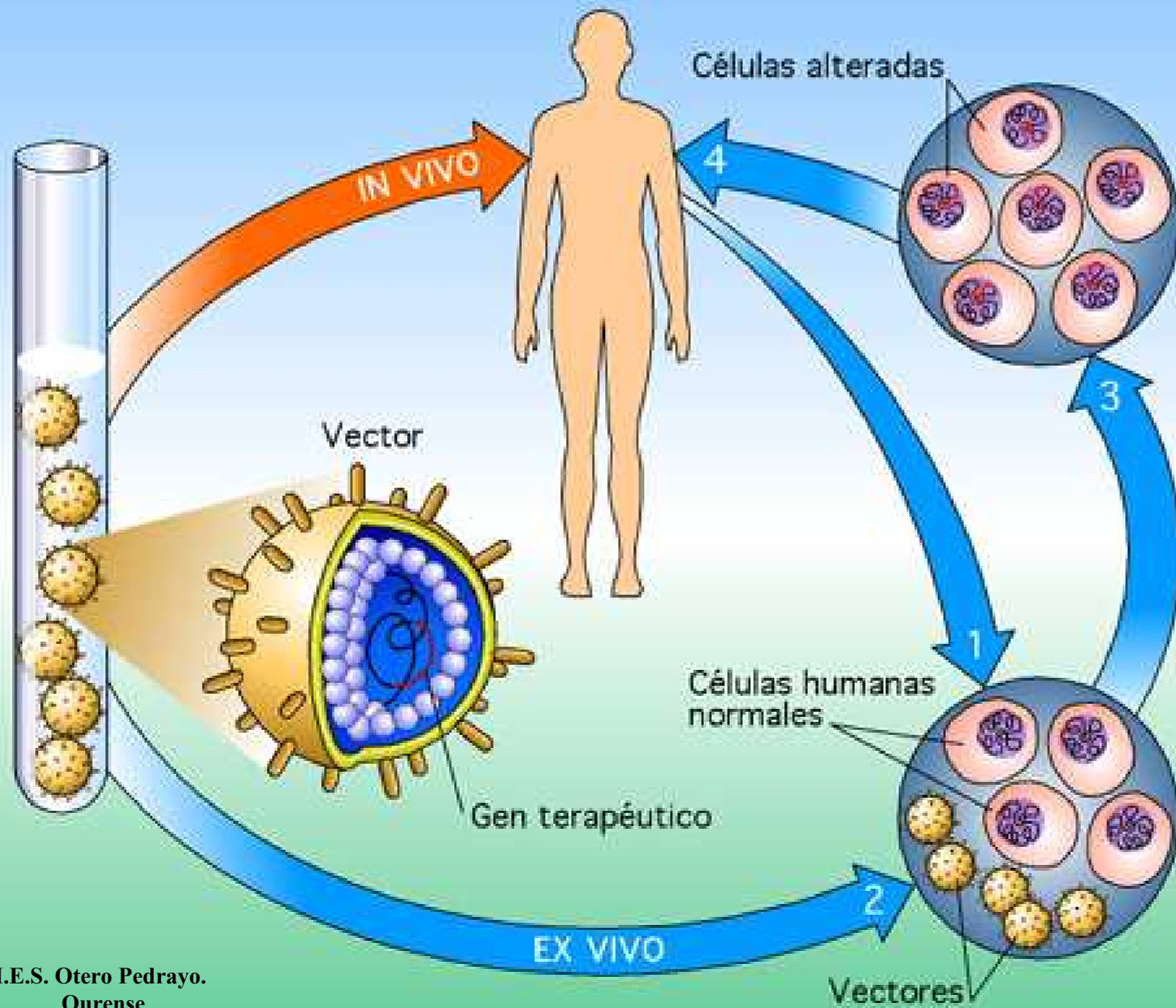
Terapia xénica

A grandes trazos consiste en reemprazar nas células un xene defectuoso, causante dunha enfermidade, por un xene normal.

Unha boa técnica de terapia xénica debe:

- Identificar e secuenciar o xene alterado e o xene 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.





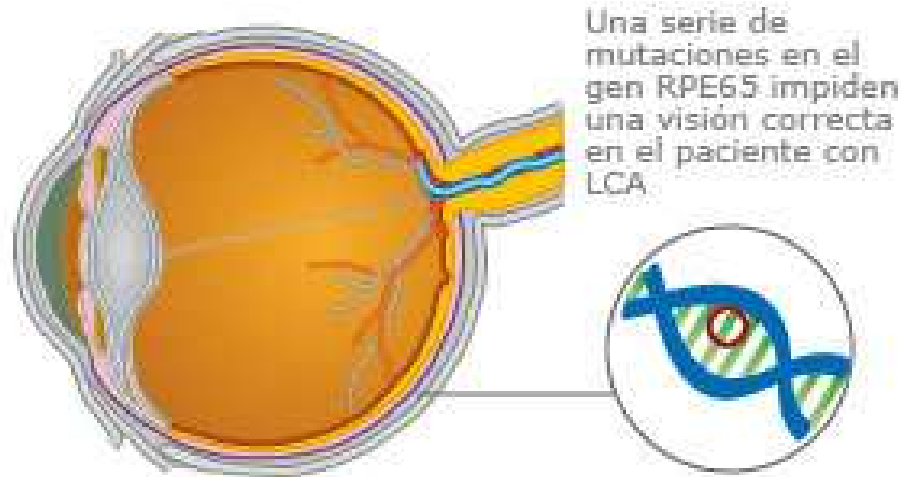
La terapia génica mejora un tipo de ceguera hereditaria

EL PAÍS, martes 29 de abril de 2008

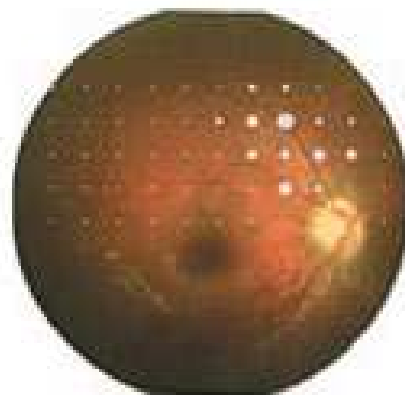
Cuatro pacientes mejoran la visión tras introducir una copia "sana" del gen

ANTES DE LA OPERACIÓN

La amaurosis congénita de Leber (LCA) es una degeneración congénita de la retina, capa de células sensibles a la luz.

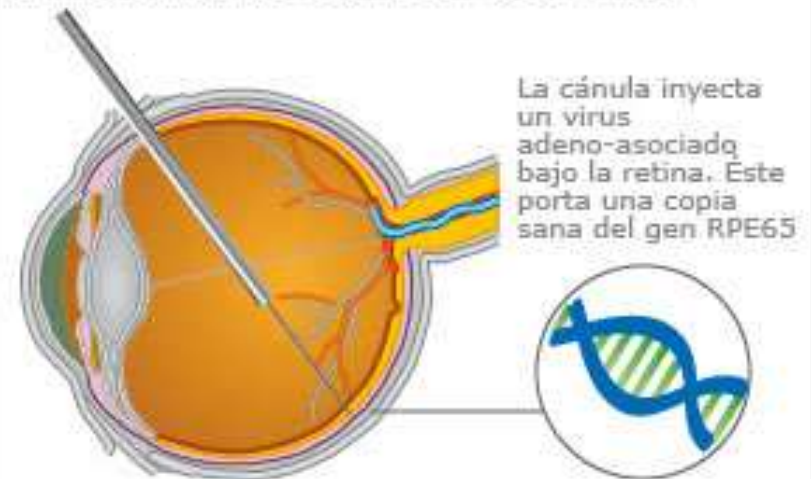


Representación del campo visual del ojo del paciente antes de la operación

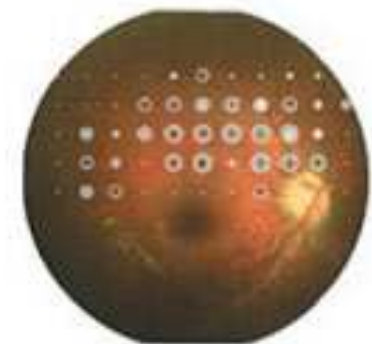


DESPUÉS DE LA OPERACIÓN

Se introduce una cánula que atraviesa la retina en una intervención que requiere anestesia general



Representación del campo visual del ojo del paciente tras seis meses de la operación



I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense

<http://www.elmundo.es/elmundosalud/2008/04/28/biociencia/1209383347.html>

Fuente y fotos: The New England Journal of Medicine;
Atlas de Anatomía Humana Netter;
Información: María Sainz | Gráfico: Gracia Pablos

La terapia génica mejora un tipo de ceguera hereditaria

EL PAÍS, martes 29 de abril de 2008

Cuatro pacientes mejoran la visión tras introducir una copia "sana" del gen

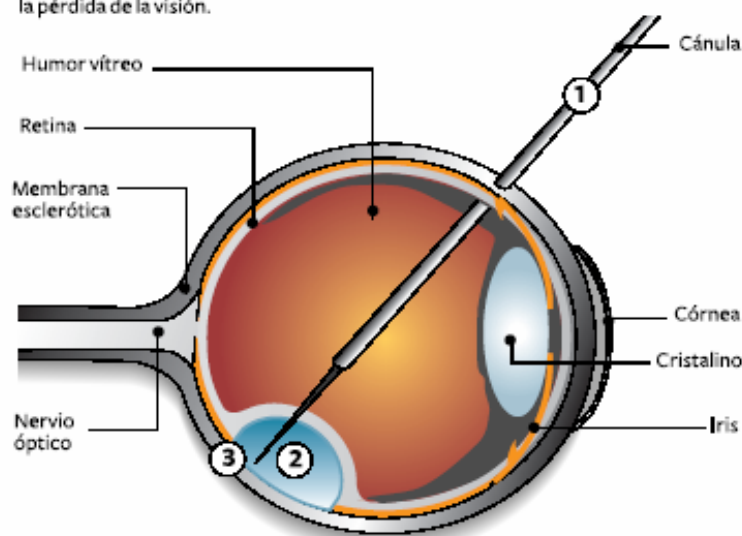
M. L. FERRADO
Barcelona

Por primera vez, investigadores americanos y británicos han aplicado con éxito la terapia génica en el ojo humano. Utilizando como transporte un virus, han implantado una copia sana de un gen clave en el desarrollo de un tipo de ceguera hereditaria que no tiene cura, la amaurosis congénita de Leber. Son los resultados de dos ensayos clínicos, liderados por un equipo norteamericano de la Universidad de Pensilvania, y otro británico del University College of London, que se publican en *New England Journal of Medicine*.

Los mejores resultados se han obtenido en un chico de 17 años que conservaba parte de su visión diurna aunque por la noche, en la penumbra, no podía manejarse solo porque sólo podía distinguir objetos muy luminosos. Ahora, el joven ve mejor tanto de día como de noche. En el resto de pacientes, cuatro, los investigadores reconocen que los resultados son muy modestos, pero han servido para demostrar que la terapia es eficaz y segura. "El siguiente paso será incrementar la dosis del gen y

Terapia génica para tratar la ceguera congénita

● La **amaurosis congénita de Leber** daña las células fotosensibles del ojo (conos y bastones) que se encuentran en la retina y ocasiona la pérdida de la visión.



1. Una cánula atraviesa el ojo hasta alcanzar su parte posterior, tras la retina.
2. Se inyecta un fluido que contiene el virus (vector) que transporta una copia sana del gen RPE65.
3. Las células fotosensibles absorben el fluido. El virus infecta las células y el gen RPE65 "sano" se incorpora a su material genético.
4. El gen ordena a las células que produzcan la sustancia necesaria para evitar que la visión se degenere.

una sustancia necesaria para el buen funcionamiento de estas células. Los investigadores se han centrado en un solo gen, el RPE65, aunque creen que pueden estar implicados otros siete.

En una delicada intervención que duró más de dos horas, los investigadores inyectaron en uno de los ojos de los pacientes, justo bajo la retina, un líquido con un virus cuya función, como vector, era transportar una copia sana del gen RPE65. No se inyectó en el otro ojo para poder comparar el resultado. El virus logró infectar las células fotorreceptoras con lo que introdujo en ellas el gen sano, que pasó a incorporarse a su material genético. De este modo, se corrigió el defecto de la célula y se reiniciaron las órdenes necesarias para evitar la degeneración de las células fotorreceptoras.

Los investigadores hicieron estos ensayos hace 12 y 5 meses, por lo que todavía no se puede saber si los efectos son permanentes o si el proceso degenerativo puede reinstaurarse. En ensayos realizados con modelos animales, en concreto en perros, los investigadores lograron que los efectos de la terapia persistieran durante más de

I.E.S. Otero Pedrayo.
Ourense



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