

Tema 13. Biotecnología

Bloque 5

Índice

1. A TECNOLOXÍA DO ADN RECOMBINANTE
2. CLONACIÓN DO ADN
3. AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE A PCR
4. A SECUENCIACIÓN DO ADN
5. CLONACIÓN EN ORGANISMOS PLURICELULARES. REPROGRAMACIÓN
6. A EDICIÓN XENÉTICA: O SISTEMA CRISPR-Cas
7. APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA
8. IMPLICACIÓNS ÉTICAS DA BIOTECNOLOXÍA

Bloque 5. Biotecnoloxía

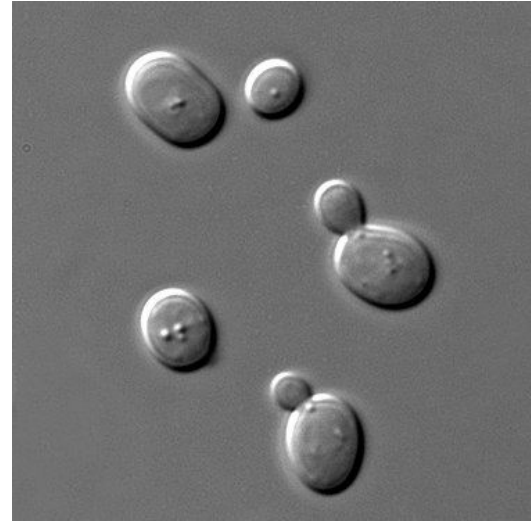
CONTIDOS	ORIENTACIÓNS
Técnicas de enxeñaría xenética. Aplicacións	
PCR, encimas de restrición, clonación molecular, CRISPR-CAS9, etc.	A descrición da técnica da PCR, incluíndo exemplos da súa utilización no campo da biotecnoloxía. A descrición (breve) do proceso de clonación molecular. A descrición dun sistema de edición xenética (preferiblemente CRISPR-Cas9), incluíndo unha análise da súa importancia e as súas implicacións en biotecnoloxía.
Importancia e repercusións da biotecnoloxía en distintos ámbitos (saúde, agricultura, ambiente, novos materiais, industria alimentaria, etc.)	A descrición (incluíndo exemplos) das aplicacións da biotecnoloxía en saúde, industria alimentaria (incluíndo agricultura e produción animal), medio ambiente, e outras aplicacións industriais. O concepto de organismo modificado xeneticamente, os seus principais tipos (animais, vexetais, microorganismos), o proceso de xeración a as súas principais vantaxes e desvantaxes.
O papel dos microorganismos na biotecnoloxía	Papel dos microorganismos en relación coa biotecnoloxía, valorando as súas aplicacións (incluíndo exemplos) na industria alimentaria e farmacéutica e na mellora do medio natural.

BIOTECNOLOXÍA

Conxunto de técnicas mediante as cales os seres humanos obteñen ou melloran produtos empregando para elo outros seres vivos. Exemplos tradicionais son a fabricación de queixos e iogures a partir da actividade de bacterias do xénero *Lactobacillus*, e de bebidas alcohólicas ou pan co uso do lévedo *Sacharomyces cerevisidae*.



Lactobacillus bulgaricus



Sacharomyces cerevisidae

BIOTECNOLOXÍA: ENXEÑARÍA XENÉTICA

A **enxeñaría xenética** é unha rama da biotecnoloxía, que consiste na manipulación dos xenes para controlar a súa expresión. Permite actuar a nivel celular, eliminando ou modificando xenes que poden resultar nocivos, multiplicando fragmentos de ADN de interese ou a creación de moléculas de interese. Neste tema veremos as **diferentes técnicas** que na actualidade son empregadas en enxeñaría xenética.

TÉCNICA DO ADN RECOMBINANTE

CLONACIÓN DE ADN

SECUENCIACIÓN

CLONACIÓN DE PLANTAS E ANIMAIS

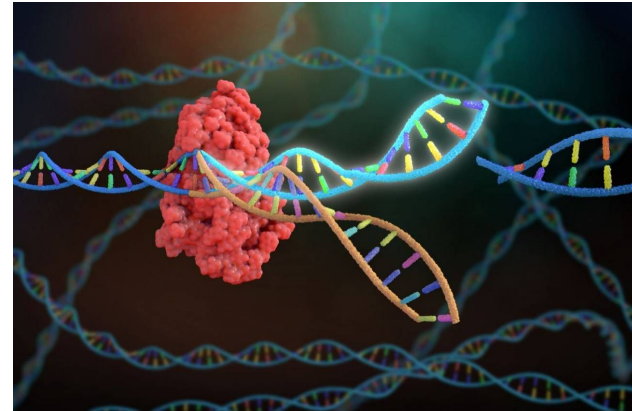
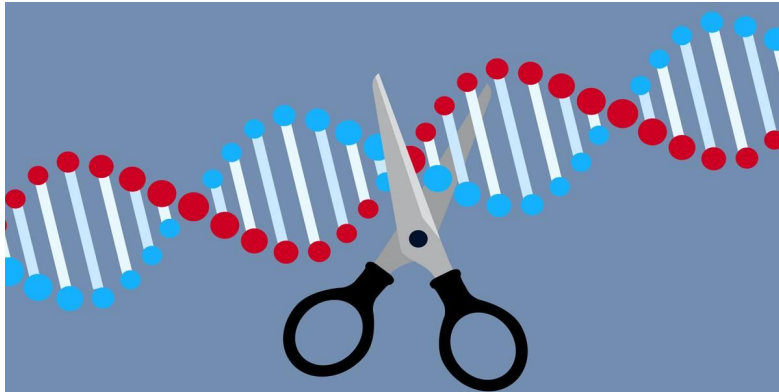
EDICIÓN CRISPR-Cas

Ademais das súas **aplicacións** en campos como saúde, medio ambiente, antropoloxía, medicina forense, etc...

ENXEÑARÍA XENÉTICA: ENZIMAS DE RESTRICIÓN E ADN RECOMBINANTE

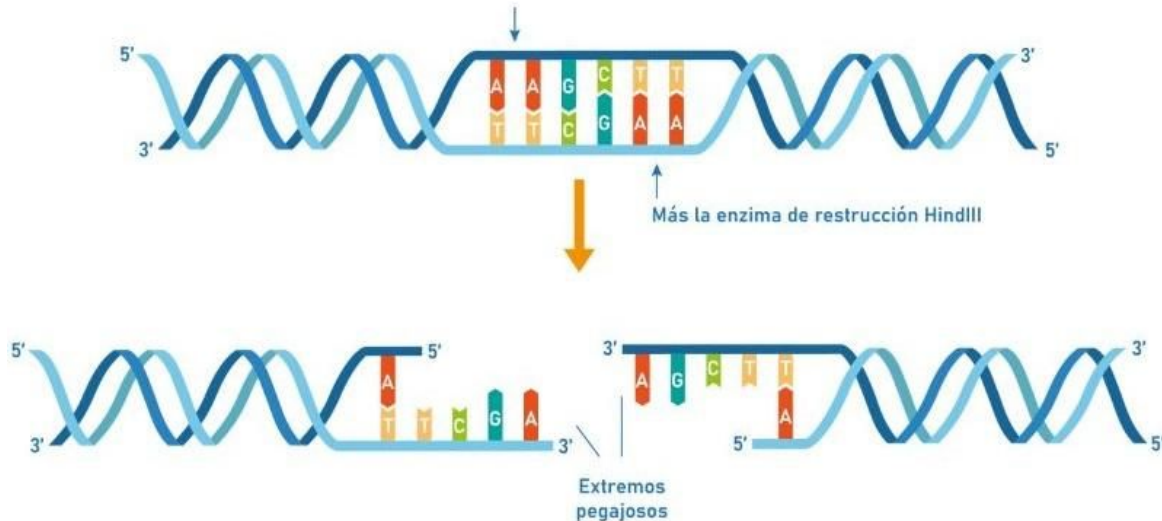
ADN recombinante é un ADN sintetizado de forma artificial que está formado pola unión de ADN de diferentes procedencias (diferentes especies). Como é posible a síntese deste ADN? Coa acción dos enzimas de restrición.

Enzimas de restrición son **enzimas endonucleases**, especializadas en cortar fragmentos de ADN (ruptura dos enlaces fosfodiéster) por localizacións concretas. Son coñecidas por elo como **tesoiras moleculares**.

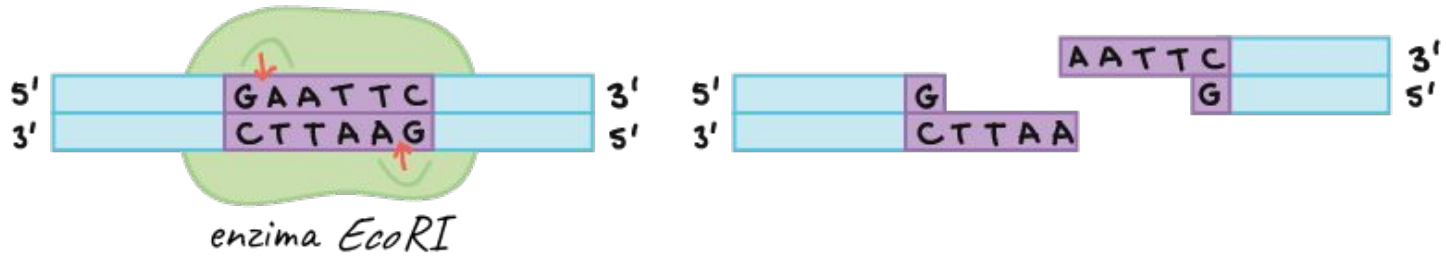


Como actúan os enzimas de restricción?

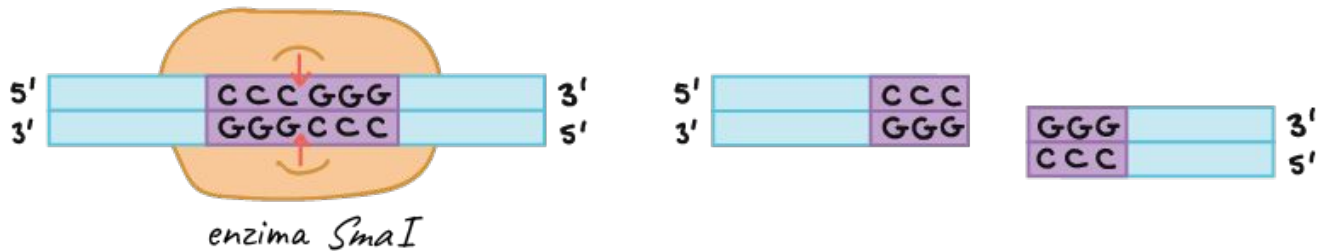
1. Recoñecen secuencias de nucleótidos concretas, todas elas de carácter **palindrómico**. Cada enzima recoñece unha secuencia concreta.
2. Cortan o ADN no sector onde está esa secuencia. Pode deixar un corte limpo ou un corte de **extremos cohesivos**.
3. Se os extremos son limpos, o enzima engadirá nucleótidos para facelos cohesivos (no debuxo sinalados como *pegajosos*, en inglés nomeados como *sticky*).



**CORTE CON
EXTREMOS
COHESIVOS**

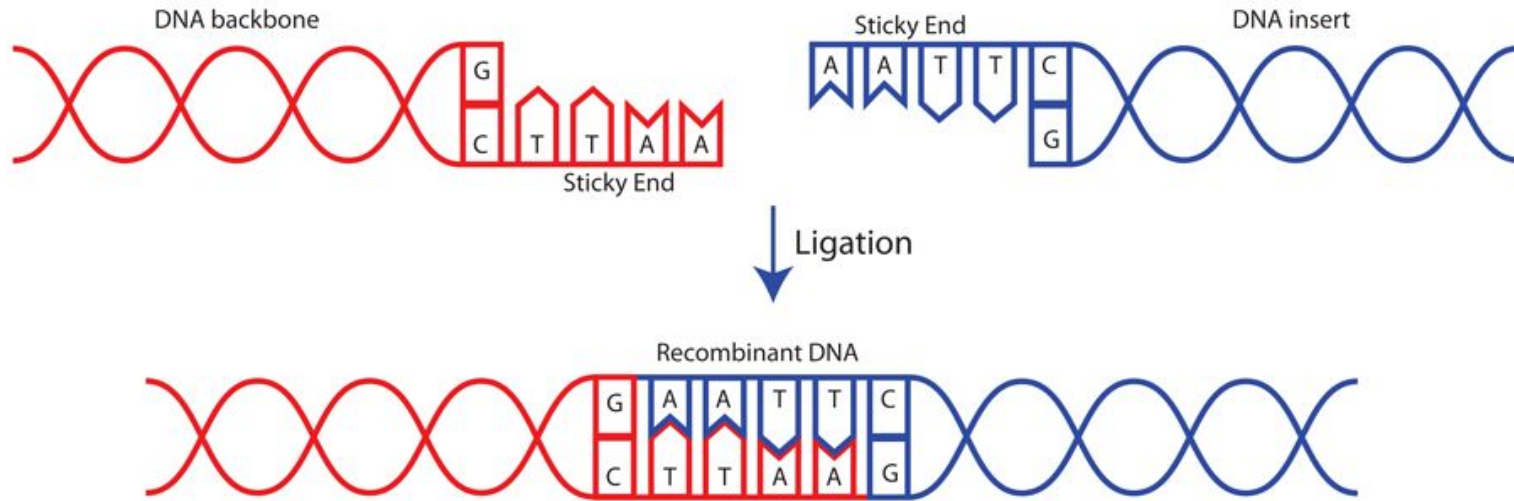


**CORTE CON
EXTREMOS ROMOS
(CORTE LIMPO)**



Como actúan os enzimas de restrición?

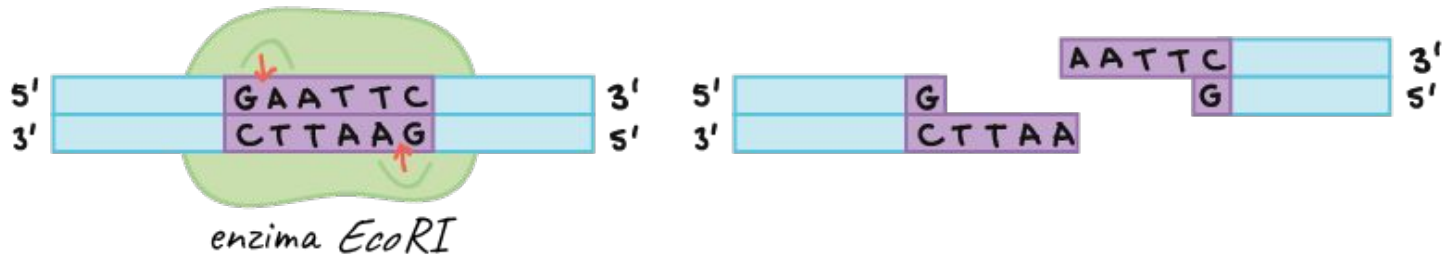
A grande importancia do uso destes enzimas é que moléculas de ADN de procedencia diversa, que foron cortados polo mesma enzima de restrición (pola mesma tesoura) teñen a capacidade de unirse. Esa unión é levada a cabo por **ADN ligases**. O ADN que resulta da unión é coñecido como **ADN recombinante**.



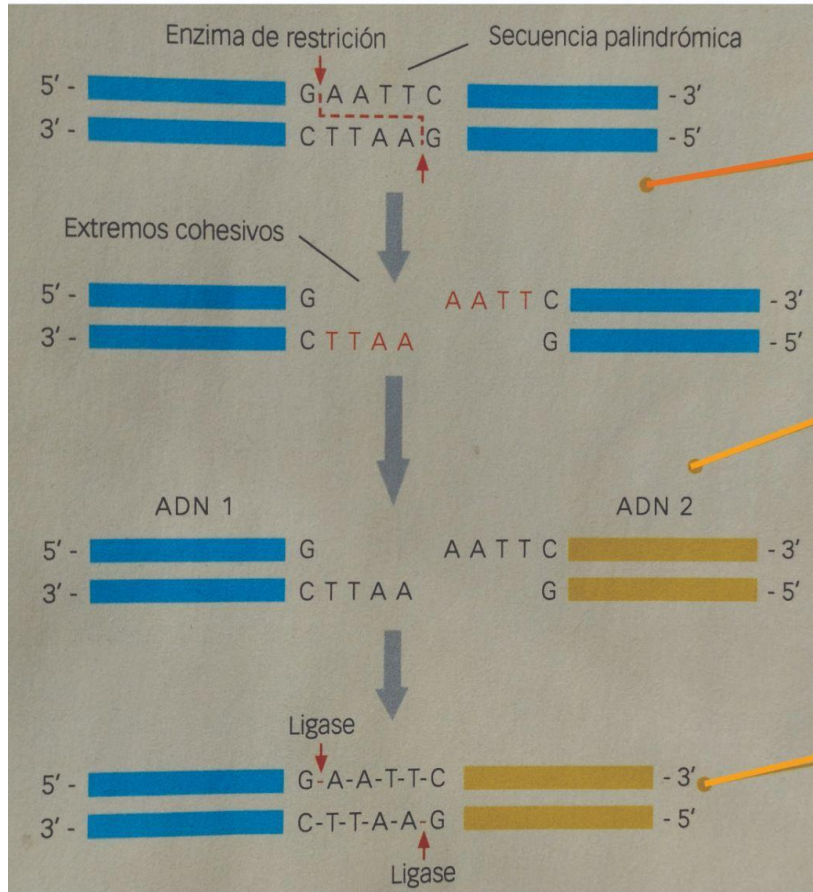
Como se nomean os enzimas de restrición?

NOME DA BACTERIA DA QUE PROCEDEN + NATUREZA (R) + NÚMERO (orde de descubrimento)

Enzima	Organismo produtor	Sitio de restrición
TaqI	<i>Thermus aquaticus</i>	5' T↓CGA 3' 5' AGC T↓5'
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>	5' G↓AATT C 3' 3' CTTAA↑G 5'
EcoRV	<i>Escherichia coli</i>	5' GAT↓ATC 3' 3' CTA↑TAG 5'



Como actúan os enzimas de restricción?



O corte producido por un enzima de restricción nunha molécula de ADN pode deixar extremos cohesivos ou ser limpo. Neste último caso, o enzima engade nucleótidos en ámbalas cadeas ata formar extremos cohesivos.

Unha molécula de ADN cortada por un enzima de restricción pode unirse, por complementariedade de bases, a outra molécula de ADN que fose cortada polo mesmo enzima, ou por outro que recoñeza e corte a mesma secuencia.

Tras quedar seladas pola ADN ligase, fórmase unha nova molécula que contén ADN de dúas orixes distintas á que denominamos ADN recombinante.

ENXEÑARÍA XENÉTICA: ENZIMAS DE RESTRICIÓN E ADN RECOMBINANTE

En bioloxía molecular, un **clon** é unha molécula idéntica a outra da que procede. **A tecnoloxía do ADN recombinante permite clonar fragmentos de ADN** para conseguir un xene ou un xenoma. As aplicacións son moi amplas.

QUE SE PRECISA PARA CLONAR ADN ?

ADN a clonar

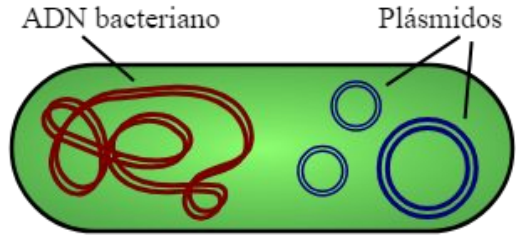
VECTOR
Axente biolóxico
empregado para introducir
o ADN a copiar nunha
célula

ENZIMAS DE
RESTRICIÓN

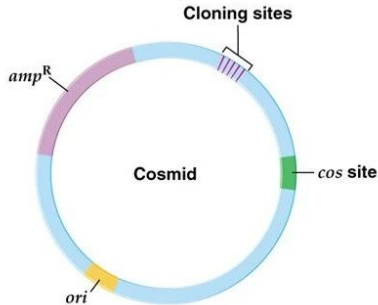
ORGANISMO
RECEPTOR

Tipos de vectores

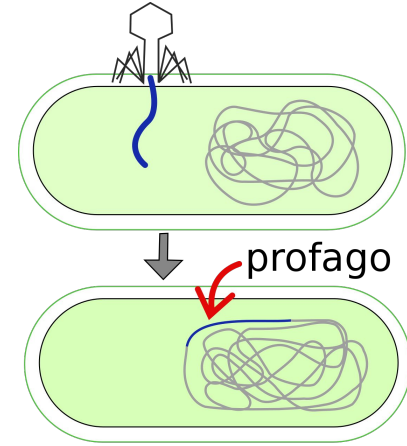
Plásmidos: poden transportar ata 10 kpb.



Cósmidos: moléculas circulares de ADN híbridas de fagos λ e plásmidos. Transportan ata 45 kpb.



Virus bacteriófagos (profagos): infectan bacterias con moita rapidez. Poden transportar ata 15 kpb. Destaca fago λ .

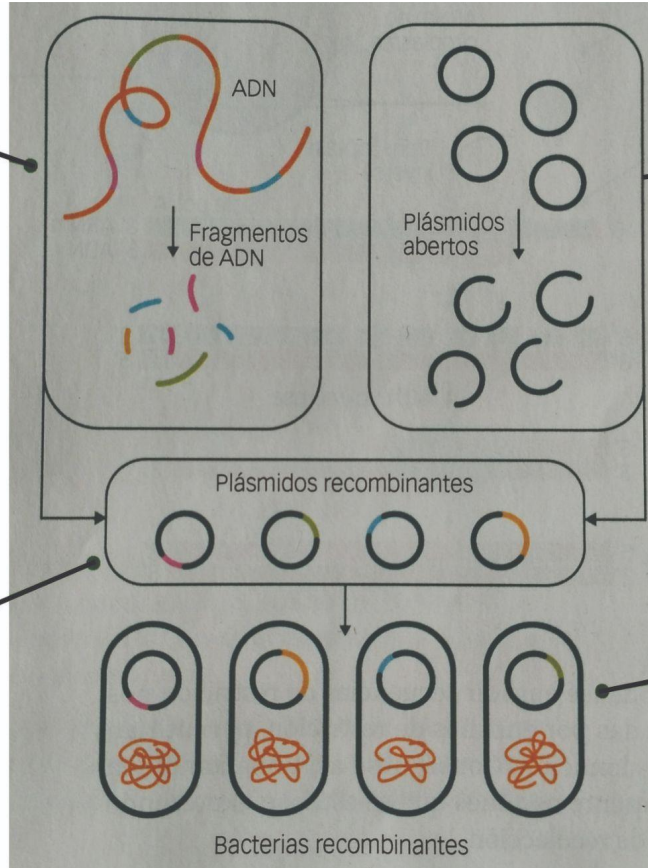


Cromosomas bacterianos artificiais (BAC): ata 500 kpb.

Cromosomas artificiais de lévedos (YAC): empregados en células eucariotas. Transportan ata 1000 kpb.

Como se crean esas moléculas de ADN recombinante? Un exemplo cun plásmido.

Sométese un xenoma ou unha parte del á acción dun enzima de restrición, o que produce numerosos fragmentos de ADN cuxos extremos conteñen segmentos de ADN cohesivos.



Á vez trátanse os plásmidos co mesmo enzima, o que produce unha molécula de ADN aberta cuxos extremos posúen dous extremos cohesivos.

XENOTECA

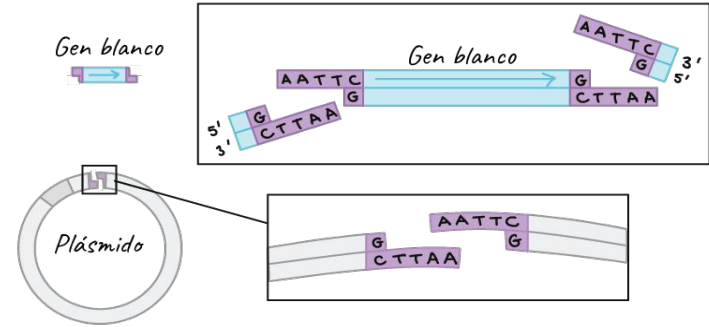
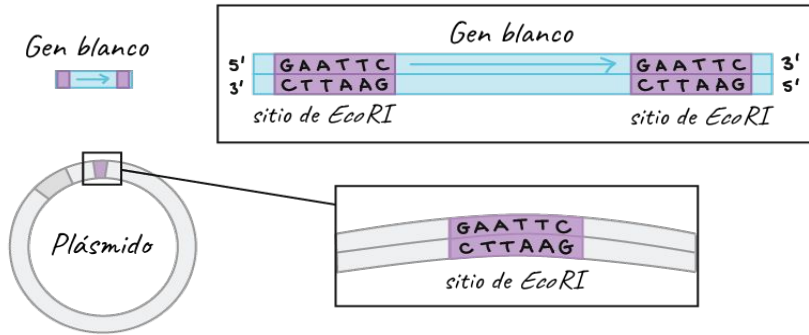
Ao poñer en contacto plásmidos e fragmentos de ADN únense por complementariedade de bases. Unha ligase cerra a unión, quedando así formados os plásmidos recombinantes.

Os plásmidos insírense en bacterias como *E. coli*, formando bacterias recombinantes que se reproducen e crean colonias. Obtense así unha biblioteca xenómica ou xenoteca que contén miles de xenes.

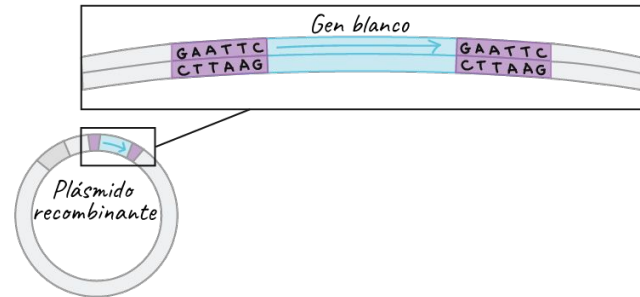
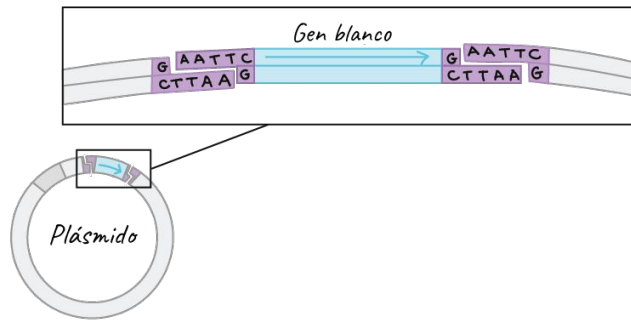
Bacterias recombinantes

1. O xene “blanco” é o que se quere incorporar (para ser clonado). O plásmido é o vector. O enzima de restrición é EcoRI.

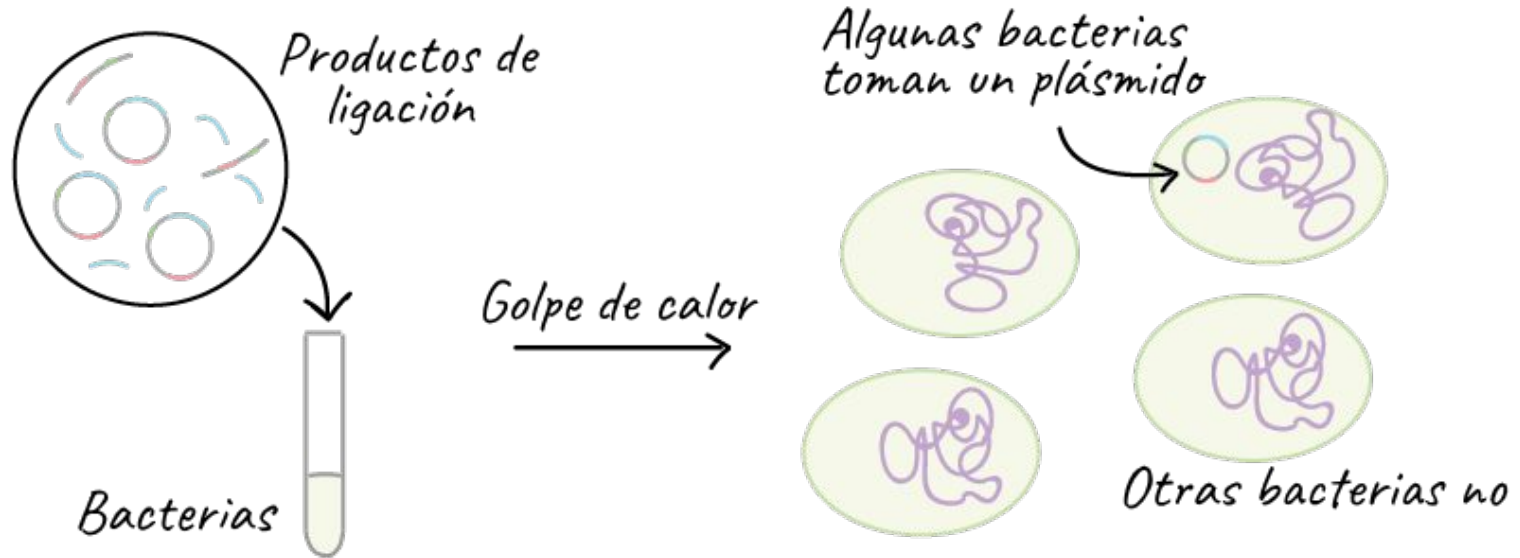
2. O xene e o plásmido son cortados (dixeridos) por EcoRI. Créanse extremos cohesivos.



3. As moléculas de ADN dixeridas xúntanse no mesmo medio. As ADN ligases actúan unindo os bordes cohesivos por complementariedade de bases. O xene inicial queda incluído dentro do plásmido.



Despois da multiplicación (clonación) do xene no interior de bacterias, as moléculas clonadas teñen que ser recuperadas: selección dos xenes clonados dentro da xenoteca.



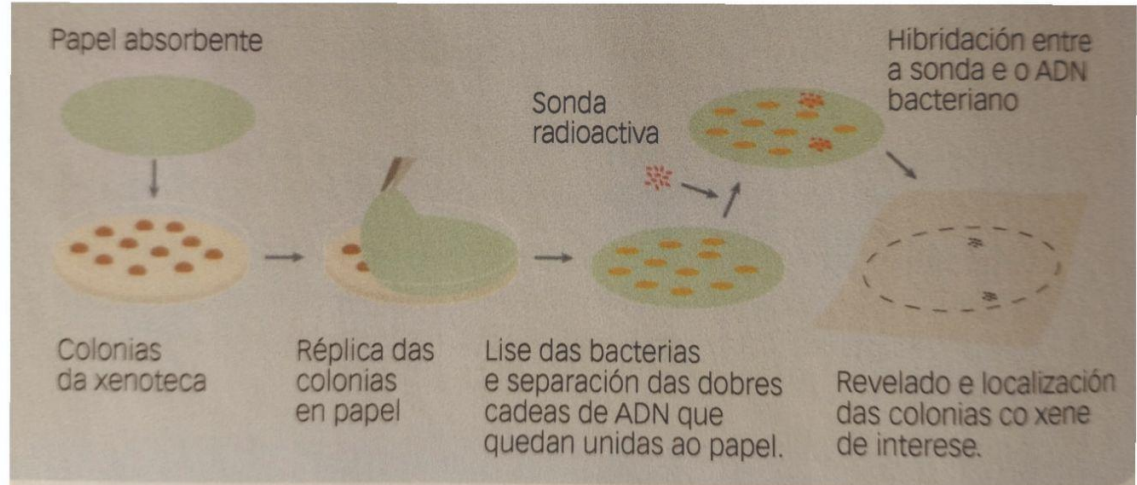
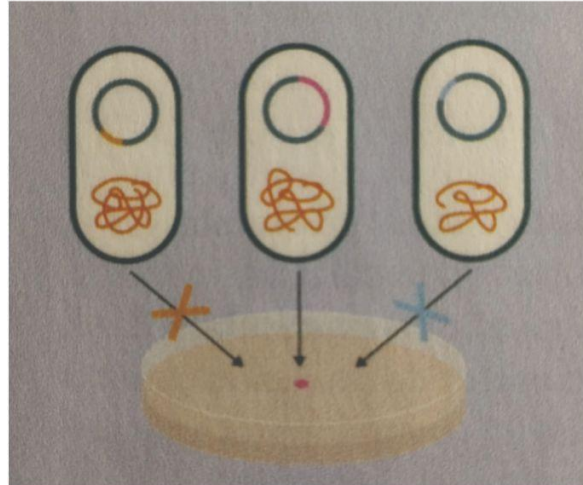
Como se seleccionan as que interesan?

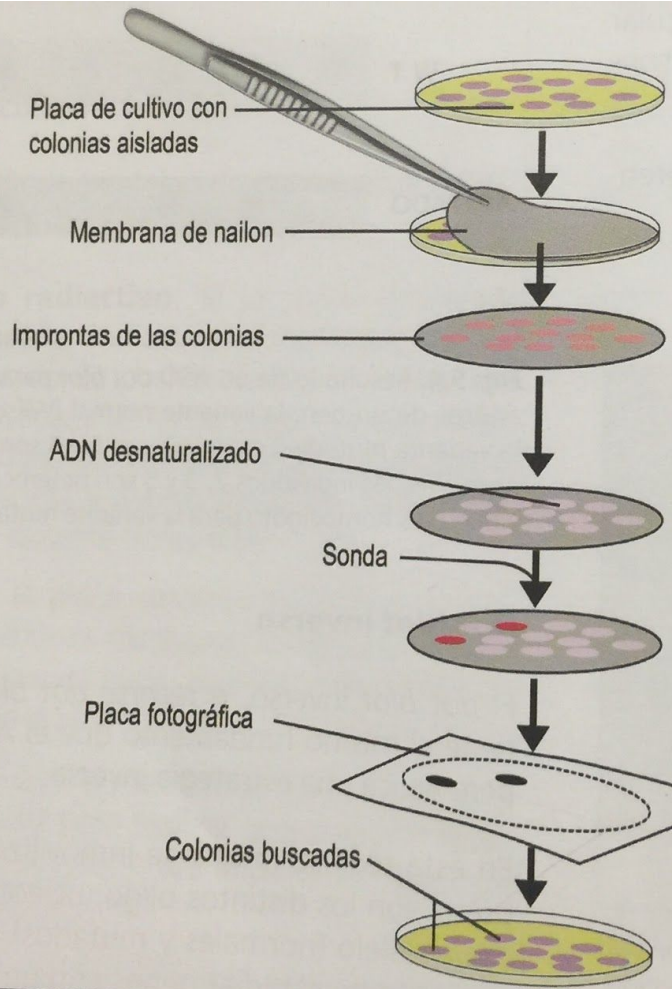
Método directo

Seméntanse as bacterias recombinantes nun medio que permite só o crecemento das que conteñen o xene de interese. Non sempre é posible.

Un fragmento de ADN monocatenario, chamado **sonda**, complementario do ADN do xene e marcado radioactivamente, hibrida con este. A radioactividade marca unha película superposta (autorradiografía) e así indica ás colonias portadoras o xene buscado.

Método indirecto





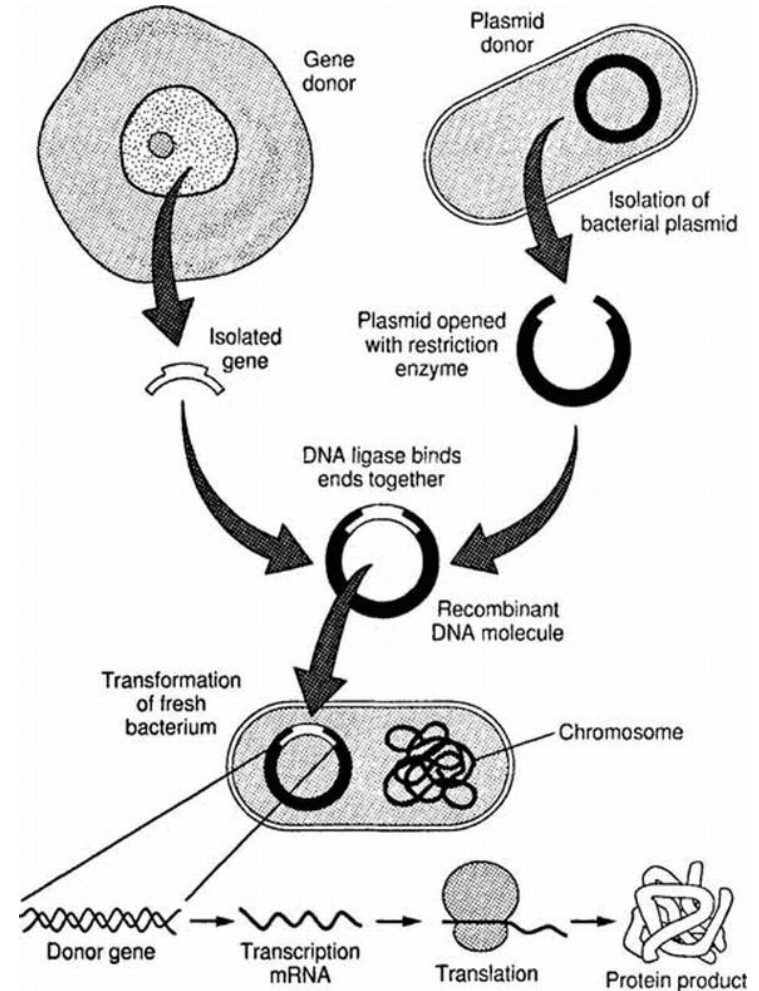
- 1** Obtención de una réplica de las colonias de la placa sobre una membrana de nitrocelulosa o nailon
- 2** - Lisis de las bacterias
- Desnaturalización del ADN
- Fijación del ADN a la membrana
- 3** Hibridación
- 4** Autorradiografía
- 5** Identificación de colonias con la secuencia de interés

Poñamos un exemplo da clonación de ADN empregando enzimas de restrición e ADN recombinante: a síntese de insulina.

A insulina é unha proteína que metaboliza a glicosa. A falta dela ou o seu mal funcionamento provoca a diabete. Os enfermos de diabete necesitan inxectarse insulina, xa que a propia ou ben non funciona ou ben non é sintetizada.

Emprégase *E. coli* ou *Saccaromyces cerevisidae*.

Antes a insulina que se empregaba era extraída do páncreas de gando bovino e porcino, o cal podía provocar unha resposta inmune.



Outros exemplos:

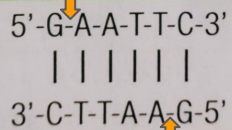
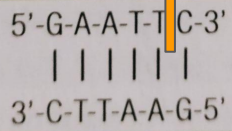
Hormona do crecemento: antes obtíñase da glándula pituitaria de cadáveres. Había casos de enfermidade de Creutzfeldt-Jacob. Dende 1985 emprégase *E. coli* ou células de mamíferos. Substancia de dopaxe en atletas.


Factor coagulación VIII: proteína que permite a coagulación do sangue, non presente ou de mal funcionamento en enfermos de hemofilia. Antes da existencia da técnica do ADN recombinante obtíñase de sangue de doantes; era precisa moita e había risco de transmitir enfermidades.

Vacinas da hepatite B....

una de estas nuevas ciencias.

6. La llamada tecnología del ADN recombinante, desarrollada a partir del descubrimiento de las enzimas de restricción, ha hecho posible los grandes avances en ingeniería genética.
- a) ¿En qué consiste la tecnología del ADN recombinante?
 - b) ¿Qué son las enzimas de restricción? ¿Qué función realizan normalmente en los organismos que las poseen?
 - c) Supón que te encuentras en un laboratorio de genética y que tienes un fragmento de ADN al que se somete a la acción de dos enzimas de restricción distintas, concretamente la *Hae* III y la *Eco* RI. ¿Cuál sería el resultado de la acción de cada una de ellas sobre el fragmento de ADN en cuestión?

ADN	Enzima de restricción	Resultado
	<i>Eco</i> RI	
	<i>Hae</i> III	

	<i>Hae</i> III	
---	----------------	--

APLICO

42 Das seguintes secuencias de ADN hai algunhas que poden ser recoñecidas por enzimas de restrición. Identifícaaas e explica por que.

- A GTGCAT
CACGTA B ATGCAT
TACGTA C GGCATAT
CCGTATA D GCATGC
CGTACG

43 A partir de dous fragmentos distintos de ADN queremos fabricar un ADN recombinante con dous enzimas de restrición. Dispoñemos dos seguintes enzimas:

Enzima	Secuencia de recoñecemento
BamHI	5' G↓GATCC 3'
Pst I	5' C↓TGCAG 3'
Bel II	5' A↓GATCT 3'
Eco I	5' G↓AATTC 3'

- Completa as cadeas de ADN.
- Establece a secuencia de corte.
- Selecciona os dous enzimas axeitados.

ENXEÑARÍA XENÉTICA: XENOTECAS DE ADN COMPLEMENTARIO (ADN_c)

Outra técnica empregada en enxeñaría xenética para obter fragmentos de ADN de interese é a **síntese de ADN complementario**.

Os enzimas de restrición, cando se traballa con eucariotas, permiten obter múltiples copias dun xene, pero ese xene vai levar intróns e exóns, e por tanto é necesario que o ARN transcrito primario madure.

A síntese de ADN_c permite facer o camiño “inverso”: obter un ADN de cadea sinxela a partir dun ARNm maduro, coa axuda da enzima **ADN transcriptase inversa ou retrotranscriptase**. Co ADN_c obtido poderá sintetizarse outro de cadea dobre que non ten intróns e que **pode ser traducido por bacterias**.

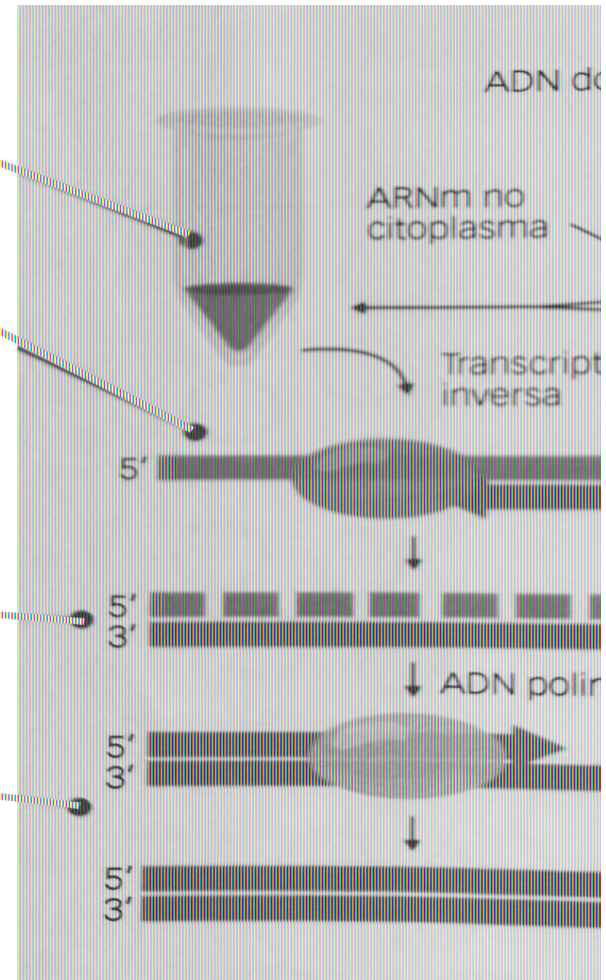
XENOTECAS son bibliotecas de ADN, que poden estar formadas por moléculas completas (exóns e intróns; xenotecas xenómicas) ou por ADN_c.

Extracción do ARNm do citoplasma.

Adición da transcriptase inversa para producir ADN fr cadea sinxela a partir de ARNm.

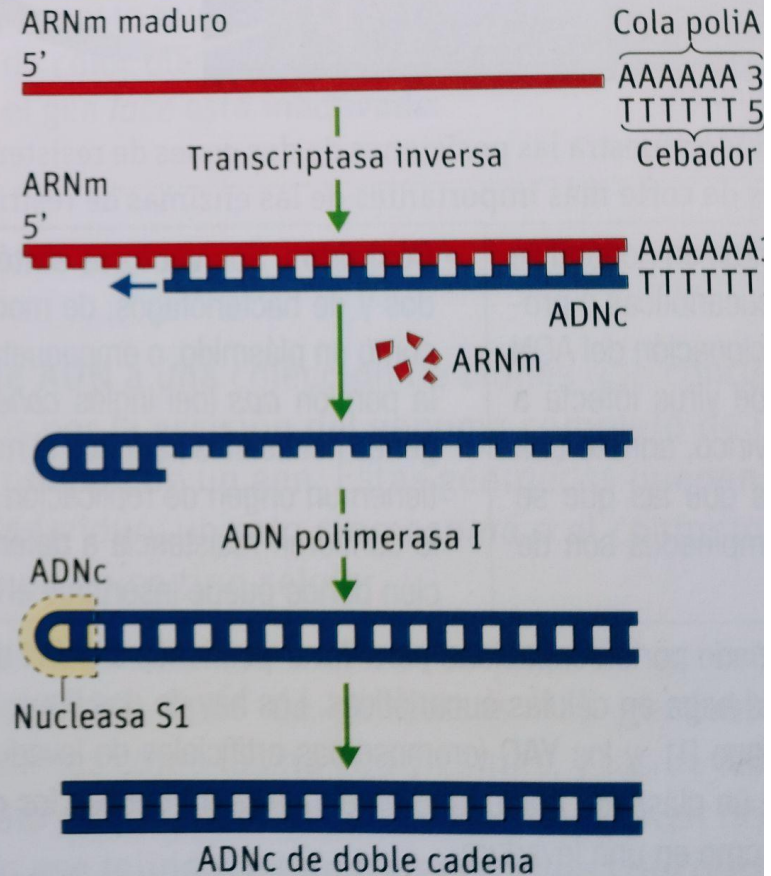
Eliminación enzimática do ARNm.

Adición da ADN polimerase para que sintetice unha dobre cadea complementaria da primeira.



OBTENCIÓN DE UN ADN COMPLEMENTARIO (ADNc)

1. Se aísla y purifica un ARNm maduro, y se añade un oligonucleótido de timina que hibride con la cola poliA y funcione como **cebador** de la transcriptasa inversa. El ARNm actúa como molde para la síntesis de un ADNc de cadena sencilla.
2. Se añade a la disolución NaOH, que hidroliza el ARNm. Se forma en el ADNc sintetizado un lazo en horquilla que se convierte en cebador para que la ADN polimerasa I sintetice la segunda hebra de ADNc.
3. Se elimina la horquilla con una enzima específica (la nucleasa S1) y se obtiene un ADNc de doble cadena.



ENXEÑARÍA XENÉTICA: AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE A PCR

A **reacción en cadea da polimerasa** (*Polymerase Chain Reaction, PCR*) é outra das ferramentas imprescindibles en bioloxía molecular e enxeñaría xenética. Foi desenvolvida polo bioquímico estadounidense Kary Mullis en 1985.

Unha das claves do método está nas augas termais do Parque Yellowstone (USA), onde foi descuberta a bacteria termófila *Thermus aquaticus*, que pode vivir en augas a temperaturas de 80°C. A ADN polimerasa (Taq) que traballa na replicación do seu ADN non se desnaturaliza a esa temperatura.



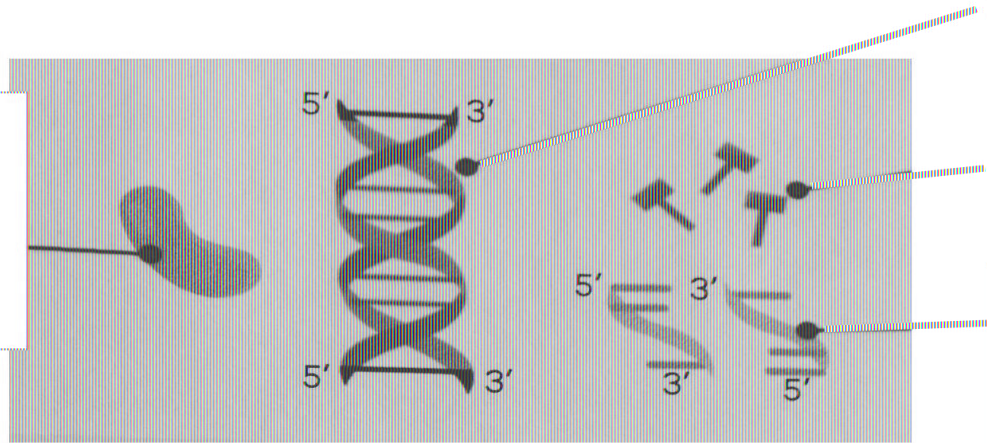
Lower Geyser Basin, no Parque de Yellowstone.

ENXEÑARÍA XENÉTICA: AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE A PCR

A **reacción en cadea da polimerase (PCR Polymerase Chain Reaction)** é unha técnica de **clonación acelular** que permite **amplificar** (obter millóns de copias) dun fragmento de ADN cando a **mostra de partida é moi pequena**.

QUE SE PRECISA PARA AMPLIFICAR O ADN MEDIANTE UNHA PCR?

ADN polimerase resistente á calor. Adóitase usar Taq, extraída da bacteria termófila *Thermus aquaticus* que pode funcionar a 74°C.



ENXEÑARÍA XENÉTICA: AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE A PCR

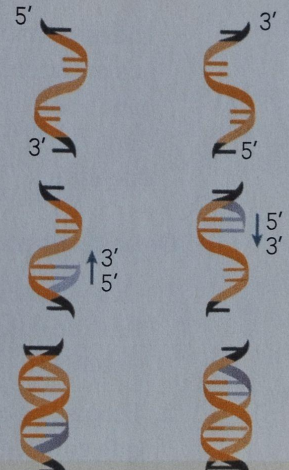
- Desnaturalización
- Hibridación
- Elongación

Primeiro ciclo

Quéntase a 94 °C para que a dobre hélice se desnaturalice e se separen as cadeas sinxelas.

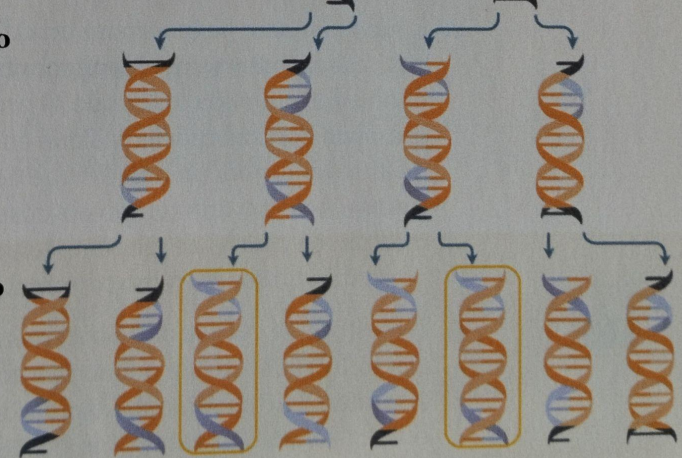
Arrefríase a 55 °C para facilitar que os cebadores se unan aos extremos das cadeas sinxelas.

Quéntase a 74 °C para que a polimerase comece a síntese de ADN a partir dos cebadores.



Segundo ciclo

Terceiro ciclo

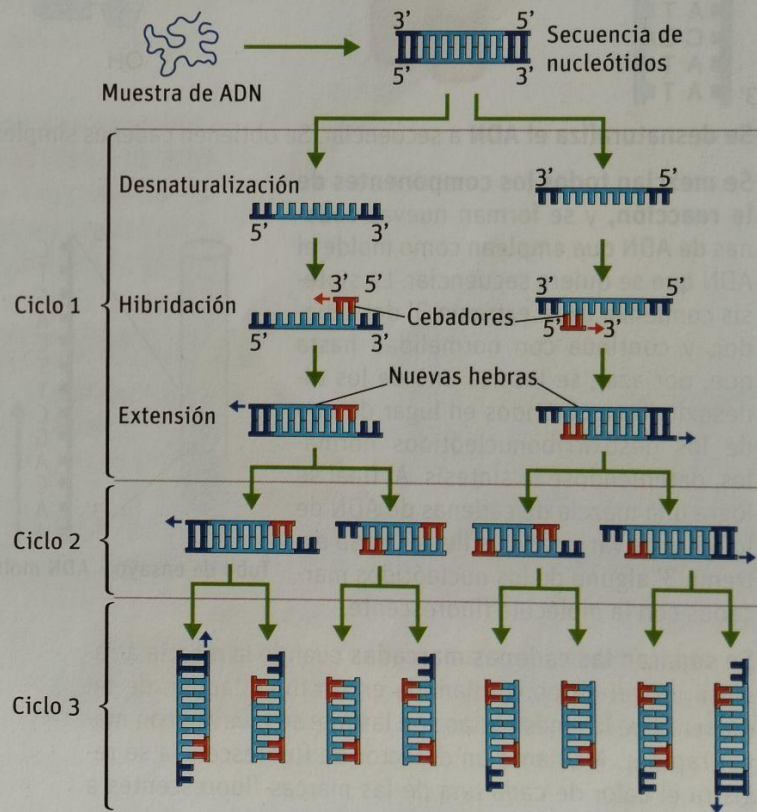


AMPLIFICACIÓN DE ADN MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Los materiales necesarios para llevar a cabo el procedimiento son los siguientes: la **muestra de ADN** que se quiere amplificar, una pequeña **secuencia de nucleótidos** de cadena sencilla que hace las veces de cebador, una **fuerza de calor**, **ADN polimerasa termoestable** (*Taq* polimerasa) y una cantidad adecuada de **nucleótidos** para formar las nuevas hebras de ADN. El proceso se desarrolla por ciclos, cada uno de ellos con tres etapas:

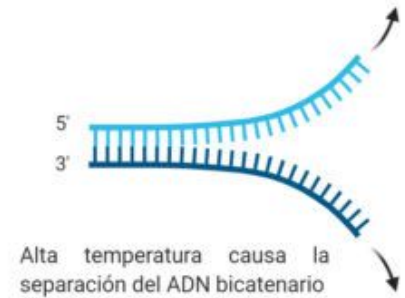
- 1. Desnaturalización.** Se calientan los productos reaccionantes, con lo que se **desnaturaliza** el ADN, y cada una de las cadenas simples sirve de molde para sintetizar una nueva cadena complementaria.
- 2. Hibridación.** Se enfría la mezcla de reacción para posibilitar que los cebadores se unan mediante enlaces de hidrógeno a cada uno de los extremos de las hebras de ADN separadas en la etapa anterior.
- 3. Extensión.** Se forman las nuevas hebras de ADN gracias a la acción de la *Taq* polimerasa, que va agregando nucleótidos en el extremo 3' del cebador.

Al final del primer ciclo, se obtienen dos moléculas de ADN que se someten a un nuevo ciclo para conseguir cuatro moléculas de ADN, que tras el tercer ciclo, se convierten en ocho. Y así, sucesivamente, hasta lograr el número de copias de ADN necesarias. Tras 20 ciclos, con una duración aproximada de cinco minutos, se consiguen más de 1 000 000 de copias de la secuencia de ADN objetivo.

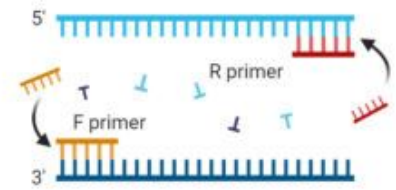




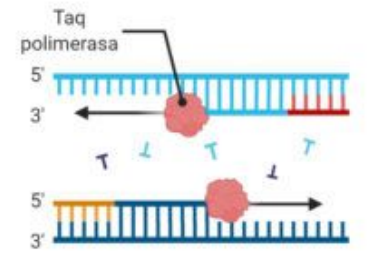
① Desnaturalización

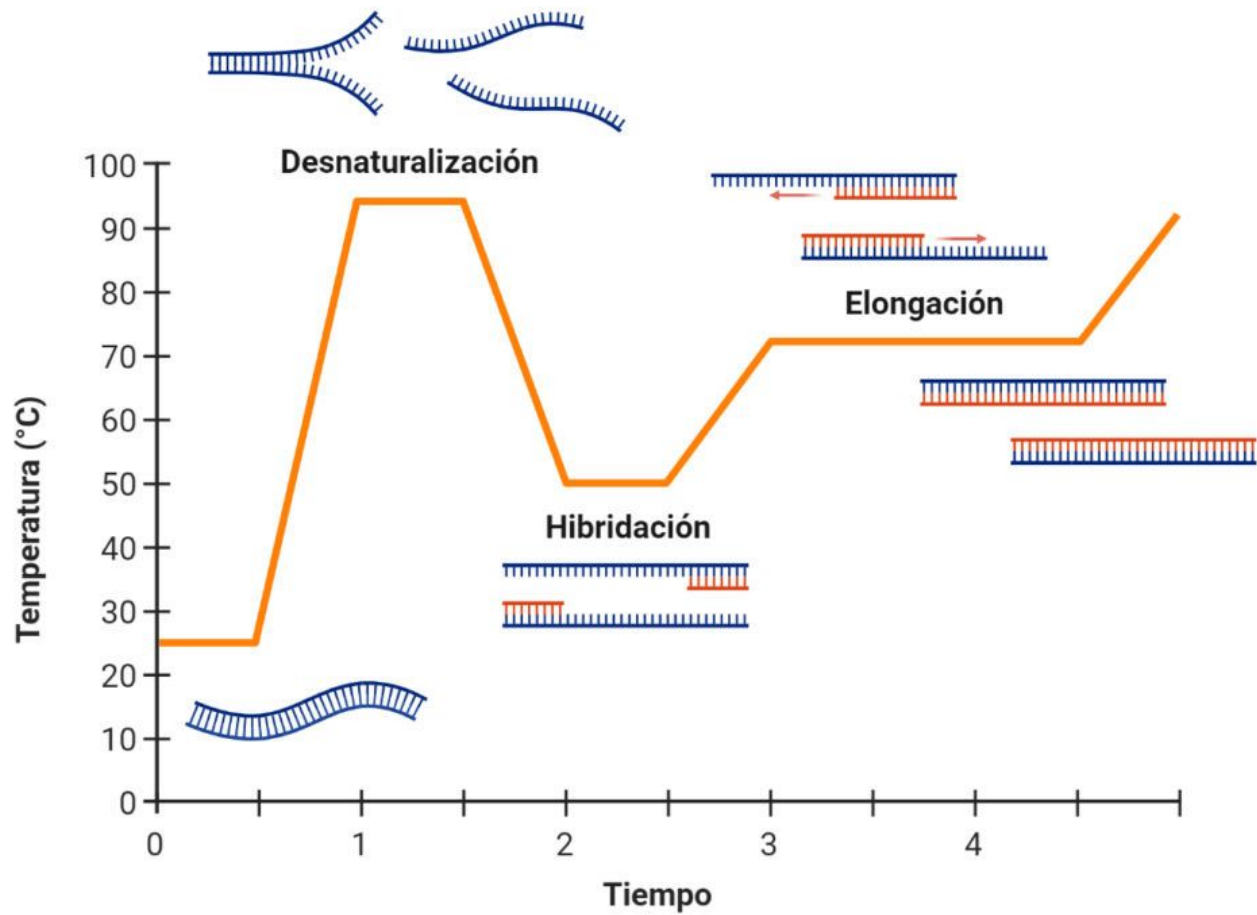


② Alineamiento

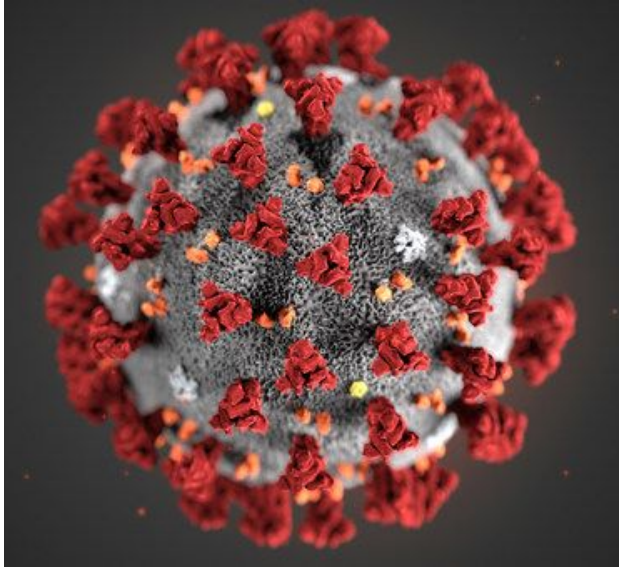


③ Elongación





PCR E CORONAVIRUS: TEMOS CURIOSIDADE SOBRE A APLICACIÓN DA PCR NA DETECCIÓN DO CORONAVIRUS?



Unhas notas sobre os virus:

Os virus son partículas que están formadas unicamente por proteínas e material xenético, que pode ser ADN ou ARN. O seu obxectivo é infectar outras células para, empregando (“usurpando”) a súa maquinaria celular, facer réplicas de si mesmo.

Como? Introduce o seu ADN no ADN da célula infectada e deixa que esta se replique, copiando unha e outra vez o material xenético do virus. Deste xeito a célula infectada acabará sintetizando as proteínas que compoñen o virus. Tendo proteínas e copias do material xenético, múltiples copias do virus pódense ensamblar, continuando co proceso de infección.

SARS-CoV-2 é o virus que provoca a enfermidade **COVID-19**. É un virus da familia dos coronavirus que ten como material xenético **ARN**.

PCR E CORONAVIRUS: RT-PCR EN TEMPO REAL.



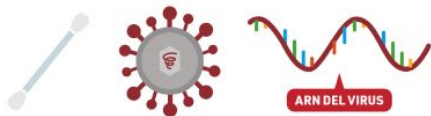
- Extráese unha mostra dunha parte do corpo onde se acumule o virus: nariz ou gorxa.
- Recupérase cun tratamento o **ARN** desa mostra, que será tanto ARN da persoa como do posible virus.
- Lévese a cabo a **transcrición inversa do ARN co enzima transcriptasa inversa**. Obtense **ADN** da persoa e posiblemente do virus.
- O ADN obtido vai ser sometido a un proceso de **amplificación (PCR)** que consiste na sucesión de **ciclos de calor e arrefriamento** para facer copias coa axuda da **polimerase**.
- No proceso de amplificación introdúcense ademais **fragmentos de ADN que son complementarios a partes do ADN do virus**. Algúns destes fragmentos actuarán como cebadores e outros actuarán como marcadores fluorescentes.
- A PCR completa consta de 35 ciclos calor-frío, ó longo dos cales crearanse 35 millóns de copias do ADN. A medida que se van creando copias, os marcadores vanse unindo ao ADN vírico (se é que existe), emitindo fluorescencia. O proceso toma 3 horas.
- A proba é **en tempo real**. Despois de cada ciclo mídese a intensidade da fluorescencia. Se existe infección e está avanzada, serán necesarios poucos ciclos para detectala.



¿CÓMO FUNCIONAN LOS TEST DEL CORONAVIRUS?

¿CÓMO FUNCIONAN LOS TEST ACTUALES?

- 1** Se toma un frotis de la parte interna de la nariz o del fondo de la garganta del paciente. La muestra se lleva a analizar al laboratorio.



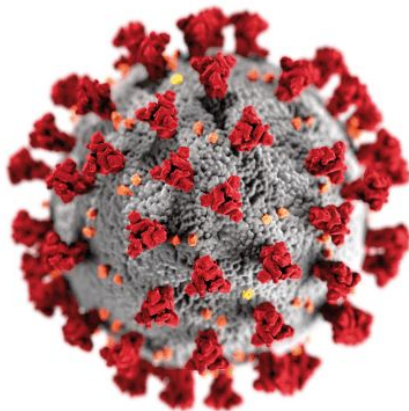
- 2** Se extrae el ARN del virus y se purifica. Una enzima llamada transcriptasa inversa convierte el ARN en ADN.



- 3** El ADN obtenido se mezcla con cebadores, unos fragmentos de ADN diseñados para unirse a zonas características del genoma del virus. Al calentarse y enfriarse repetidamente una mezcla del ADN del virus, los cebadores y una enzima que sintetiza ADN, se producen millones de copias del ADN viral.



- 4** Las moléculas de tinte fluorescente se unen al ADN del virus durante la copia. Al unirse producen más luz, que se usa para confirmar la presencia del virus en la muestra.



TEST POSITIVOS Y NEGATIVOS

Cuanto más copias del ADN del virus se producen, mayor es la fluorescencia. Si la fluorescencia supera un cierto umbral, el test da positivo. Si no hay virus, no hay copias del ADN viral y por lo tanto no se pasa el umbral. Entonces, el test da negativo.



PROBLEMAS CON LOS TEST



ESCAZE DE REACTIVOS

La alta demanda y algunos problemas con los reactivos han retrasado los test en algunos países.



LOS TEST SON LENTOS

Los resultados del test tardan varias horas en llegar, lo que limita el número de test que se realizan.



FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS

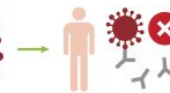
En algunos casos, el deterioro o la contaminación de la muestra pueden alterar los resultados.

FUTUROS TEST

Los test actuales funcionan para detectar la infección, pero no nos dicen si alguien ha pasado la enfermedad y se ha recuperado. Detectar anticuerpos contra el virus podría solucionar este problema.



INFECCIÓN



NEUTRALIZACIÓN

ANTICUERPOS

Los produce el sistema inmunitario. Permanecen en la sangre tiempo después de la infección.

También se están desarrollando test que detectan las proteínas en la superficie de los virus. Son más rápidos, pero menos fiables.



OUTRAS APLICACIÓNS DA PCR:

SAÚDE: O uso da PCR permitiu amplificar unha grande cantidade de xenes asociados a enfermidades xenéticas e dexenerativas, coma a hemofilia e a fibrose quística. Esta técnica combínase coa secuenciación, que permite ler a secuencia de nucleótidos dun xene.

CIENCIA FORENSE: a PCR permite amplificar pequenas mostras de ADN que poden estar presentes en esceas de crimes, en lugares onde houbo accidentes graves que deixaron restos humanos, en recoñecemento de restos humanos de fosas comúns en guerras, estudo de restos históricos (momias, neandertais, ...) ou en probas de paternidade.



The complete sequence of a human genome

SERGEY NURK , SERGEY KOREN , ARANG RHIE , MIKKO RAUTIAINEN , ANDREY V. BZIKADZE , ALLA MIKHEENKO, MITCHELL R. VOLLGER ,

NICOLAS ALTEMOSE , LEV URALSKY , [...], AND ADAM M. PHILLIPPY [+90 authors](#) [Authors Info & Affiliations](#)

SCIENCE - 31 Mar 2022 - of 376, Issue 6588 - pp. 44-53 - DOI: 10.1126/science.abj6987

↓ 513.780 ” 387



Abstract

Since its initial release in 2000, the human reference genome has covered only the euchromatic fraction of the genome, leaving important heterochromatic regions unfinished. Addressing the remaining 8% of the genome, the Telomere-to-Telomere (T2T) Consortium presents **a complete 3.055 billion–base pair sequence** of a human genome, T2T-CHM13, that includes gapless assemblies for all chromosomes except Y, corrects errors in the prior references, and introduces nearly 200 million base pairs of sequence containing 1956 gene predictions, 99 of which are predicted to be protein coding. The completed regions include all centromeric satellite arrays, recent segmental duplications, and the short arms of all five acrocentric chromosomes, unlocking these complex regions of the genome to variational and functional studies.

GENÉTICA >

El primer pangenoma humano revela 120 millones de letras más en el ADN

Un consorcio internacional publica un borrador genético de la humanidad que por primera vez incluye la diversidad de la especie, lo que facilitará el tratamiento de enfermedades como el cáncer



Una multitud de gente en la Rambla de Barcelona el 23 de abril.
ALBERT GARCÍA



MANUEL ANSEDE

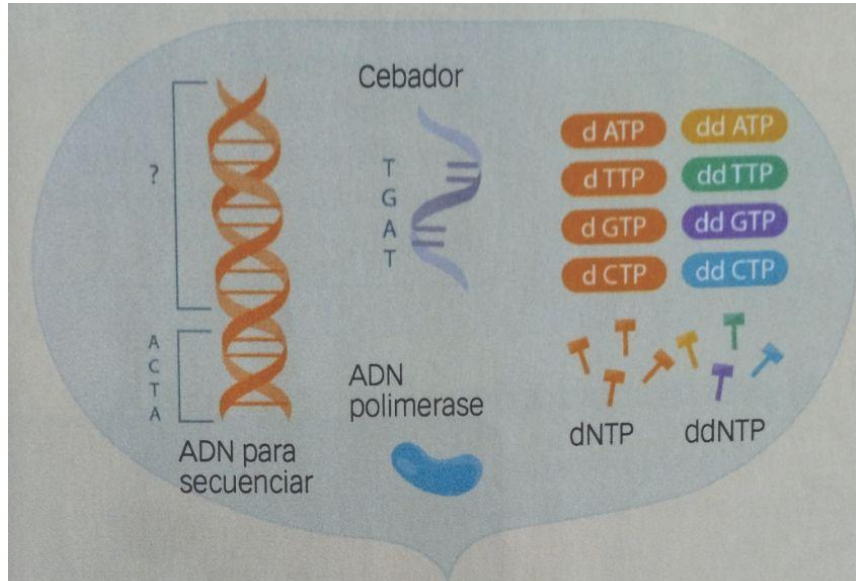
10 MAY 2023 - 17:00CEST



Un hombre abrió un periódico el 23 de marzo de 1997 y cambió el mundo para siempre. En una de las páginas del diario estadounidense *The Buffalo News* había [un anuncio llamativo](#): “Se busca a 20 voluntarios para participar en el Proyecto Genoma Humano. [...] El resultado tendrá una enorme repercusión en el futuro progreso de la medicina”. Aquel lector acudió a la llamada, donó unos mililitros de sangre y se incorporó a un proyecto de 3.000 millones de dólares que desembocó en 2003 en el llamado genoma de referencia humano, compuesto [al 70% por el ADN de aquel hombre](#), con retales de otras dos decenas de personas. Aquella información genética, efectivamente, cambió la historia de la humanidad, pero era insuficiente, al excluir la diversidad de la especie humana. Un consorcio internacional publica este miércoles una alternativa más sofisticada, elaborada con las secuencias genéticas de 47 personas de diferentes regiones del planeta. Es el primer borrador del denominado [pangenoma humano](#).

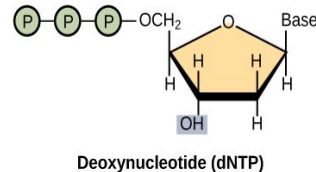
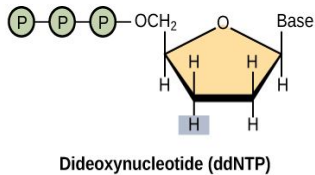
<https://elpais.com/ciencia/2023-05-10/el-primer-pangenoma-humano-revela-120-millones-de-letras-mas-en-el-adn.html>

SECUENCIACIÓN ADN (Sanger, 1974). Lectura ordeada da secuencia de nucleótidos que compoñen un ADN.

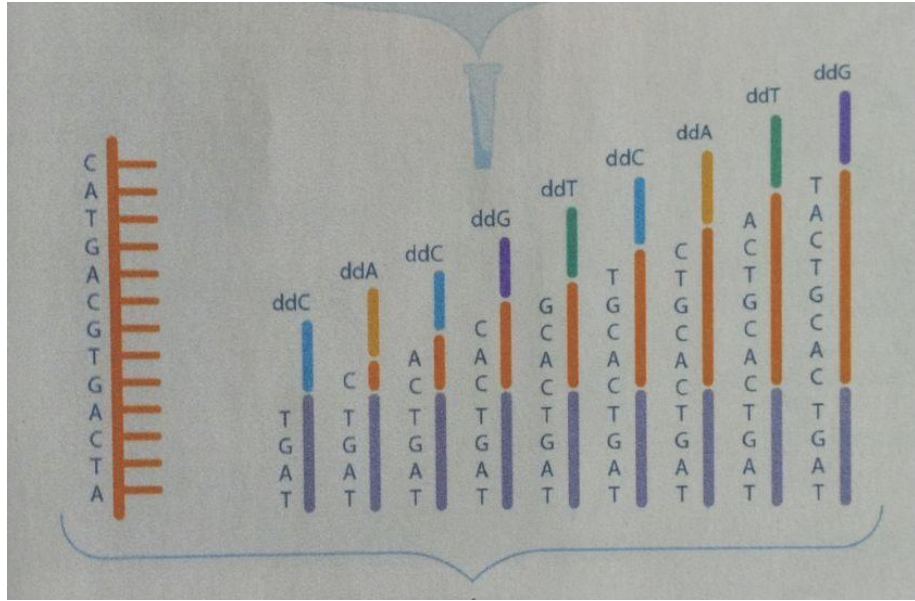


QUE SE PRECISA?

- Múltiples copias do ADN que se quere secuenciar (PCR).
- Fragmentos de ADN cebador.
- Enzimas que se encarguen de ir engadindo os nucleótidos complementarios: ADN polimerasa.
- Nucleótidos (desoxirribonucleótidos): dNTP (dATP, dTTP, dCTP e dGTP), para ir creando unha cadea complementaria.
- Didesoxirribonucleótidos (ddNTP): son nucleótidos que frenarán o crecemento da cadea complementaria. Están marcados con fluorescencia, cada un dunha cor diferente:



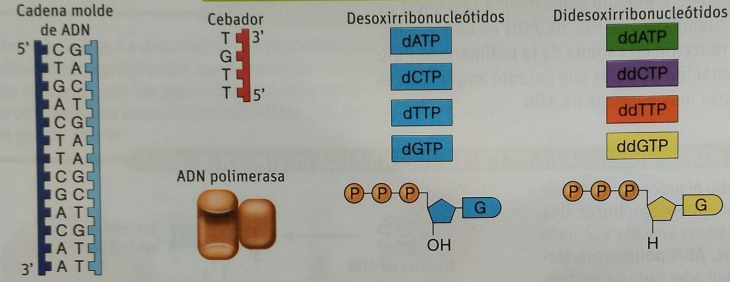
ddATP, **ddTTP**, **ddCTP** e **ddGTP**



COMO FUNCIONA?

- O ADN a secuenciar é desnaturalizado (miles de copias).
- As copias son introducidas nun tubo de ensaio con tódalas moléculas necesarias.
- Os cebadores únense ós diferentes fragmentos e comeza a síntese de cadeas complementarias mediante a unión de dNTP, en cada momento o que corresponda (A, T, C ou G).
- Cando de forma casual se produce a unión dun ddNTP, a síntese da cadea complementaria para. No extremo desas moléculas vai quedar un nucleótido identificable pola súa cor.
- Obtéñense así múltiples fragmentos de ADN de diferentes lonxitudes, sendo as diferencias entre unhas e outras dun único nucleótido.

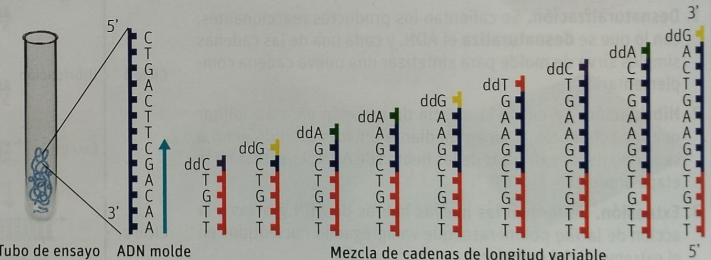
SECUENCIACIÓN DEL ADN SIGUIENDO EL MÉTODO DIDESOXI DE SANGER



El método precisa **múltiples copias idénticas** de la cadena de ADN a secuenciar, **cebadores** formados por un corto número de nucleótidos complementarios a los situados en el extremo 3' de la cadena de ADN, una **ADN polimerasa**, los cuatro **desoxirribonucleótidos** y los cuatro **didesoxirribonucleótidos**; estos últimos marcados con una molécula fluorescente específica para cada uno de ellos.

1. Se desnaturaliza el ADN a secuenciar. Se obtienen cadenas simples que se incuban en un tubo de ensayo con el resto de los materiales.

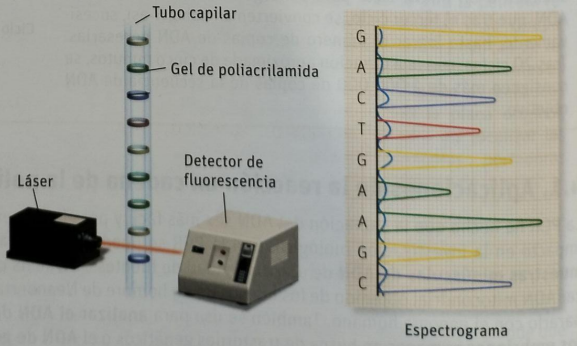
2. Se mezclan todos los componentes de la reacción, y se forman nuevas cadenas de ADN que emplean como molde el ADN que se quiere secuenciar. La síntesis comienza en el extremo 3' del cebador, y continúa con normalidad hasta que, por azar, se inserta uno de los dideoxirribonucleótidos en lugar de uno de los desoxirribonucleótidos normales, deteniéndose la síntesis. Al final se logra una mezcla de cadenas de ADN de longitudes variadas que llevan en su extremo 3' alguno de los nucleótidos marcados con la molécula fluorescente.



3. Se separan las cadenas marcadas cuando la mezcla atraviesa un gel de poliacrilamida en un tubo capilar, de tal manera que las más cortas son las que se mueven con mayor rapidez. Mediante un detector de fluorescencia se registra el color de cada una de las marcas fluorescentes a medida que las cadenas de ADN van pasando por delante. El color de la marca nos indica qué dideoxinucleótido es el que ocupa el extremo 3' terminal del fragmento de ADN

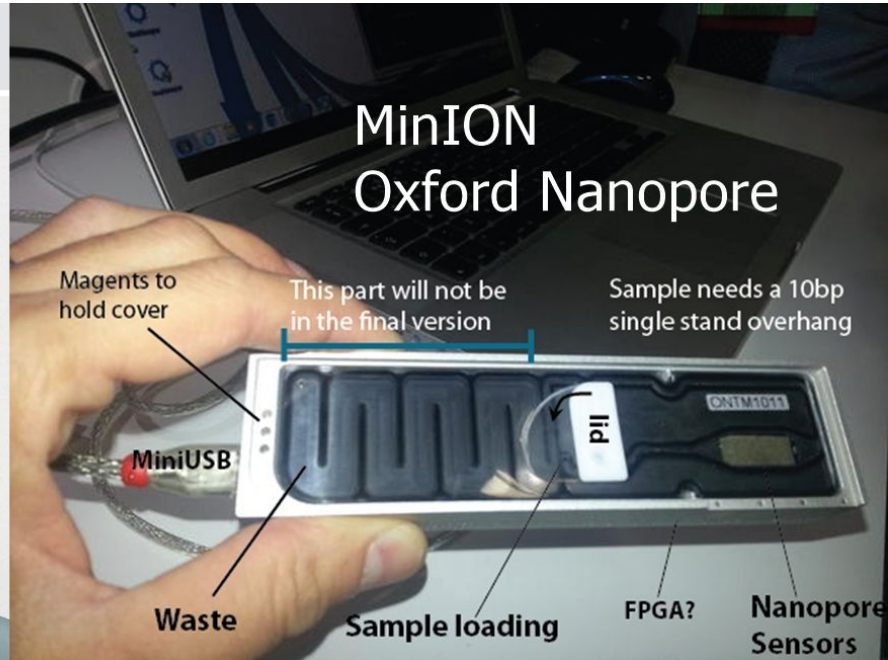
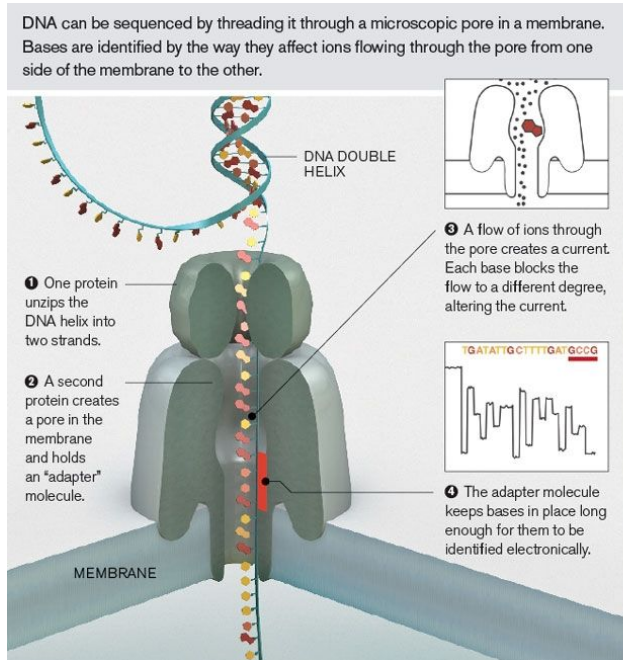
4. Se obtiene un espectrograma que de abajo arriba nos dará la secuencia de bases complementaria de la cadena molde.

Este método automático es útil para secuenciar fragmentos de ADN de hasta 800 pares de bases; es muy rápido y facilita la secuenciación de unas 450 bases en una hora. Para llegar a secuenciar todo el genoma humano ha sido necesario desarrollar tecnologías de secuenciación más rápidas, combinadas con programas informáticos muy sofisticados.



ENXEÑARÍA XENÉTICA: SECUENCIACIÓN ADN

Secuenciadores de terceira xeración: secuenciación dunha única molécula de ADN en tempo real, baseada na fragmentación do ADN e o traballo en paralelo con diferentes fragmentos. Non é necesaria a etapa da PCR, que pode levar á acumulación de erros. Son técnicas moi modernas, en tempo real e moito máis baratas. Entre elas está a tecnoloxía de secuenciación mediante nanoporos



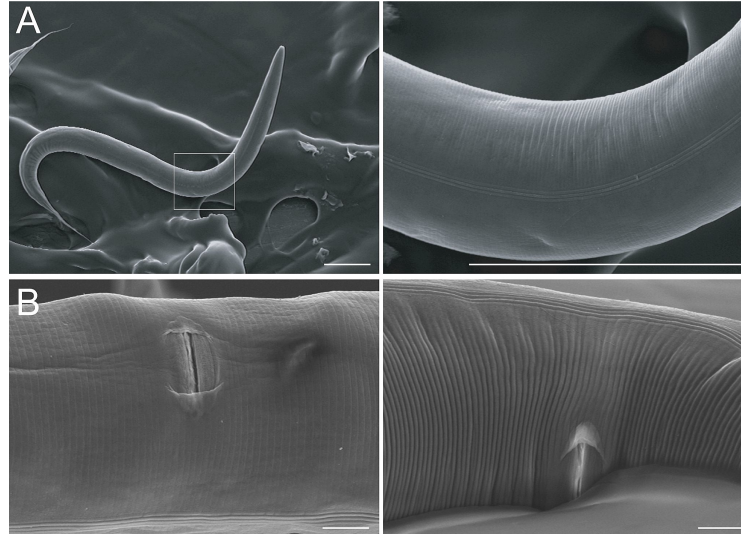
ENXEÑARÍA XENÉTICA: SECUENCIACIÓN ADN

Sanger, 1974

Haemophilus influenzae: cocobacilos (bacteria) que provocan diferentes enfermidades, entre elas meninxite, sinusite, etc.

Foi o primeiro organismo vivo en ser secuenciado (1995); conta con **1.830.121 pares de bases**.

Caenorhabditis elegans: nemátodo (animal) de 1 mm de lonxitude.



C. elegans fue el primer **organismo** multicelular cuyo **genoma** pudo secuenciarse completo. Un primer esbozo avanzado de su secuencia se publicó en 1998, con ciertos vacíos por corregir (fue totalmente corregida en octubre de 2002). Se descubrió que el genoma del *C. elegans* posee **cerca de 97 millones de pares de bases nitrogenadas**, y alrededor de 20 000 **genes**; de los cuales aproximadamente el 40% coinciden con los de humanos (y entre el 60-80% de los genes humanos coinciden con los de *C. elegans*).

GENÉTICA >

El primer pangenoma humano revela 120 millones de letras más en el ADN

Un consorcio internacional publica un borrador genético de la humanidad que por primera vez incluye la diversidad de la especie, lo que facilitará el tratamiento de enfermedades como el cáncer



Una multitud de gente en la Ronda de Barcelona el 23 de abril.
ALBERT GARCÍA



MANUEL ANSEDE

10 MAY 2023 - 17:00CEST



Un hombre abrió un periódico el 23 de marzo de 1997 y cambió el mundo para siempre. En una de las páginas del diario estadounidense *The Buffalo News* había [un anuncio llamativo](#): “Se busca a 20 voluntarios para participar en el Proyecto Genoma Humano. [...] El resultado tendrá una enorme repercusión en el futuro progreso de la medicina”. Aquel lector acudió a la llamada, donó unos mililitros de sangre y se incorporó a un proyecto de 3.000 millones de dólares que desembocó en 2003 en el llamado genoma de referencia humano, compuesto [al 70% por el ADN de aquel hombre](#), con retales de otras dos decenas de personas. Aquella información genética, efectivamente, cambió la historia de la humanidad, pero era insuficiente, al excluir la diversidad de la especie humana. Un consorcio internacional publica este miércoles una alternativa más sofisticada, elaborada con las secuencias genéticas de 47 personas de diferentes regiones del planeta. Es el primer borrador del denominado [pangenoma humano](#).

<https://elpais.com/ciencia/2023-05-10/el-primer-pangenoma-humano-revela-120-millones-de-letras-mas-en-el-adn.html>

ENXEÑARÍA XENÉTICA: IDENTIFICACIÓN DOS XENES QUE SE EXPRESAN

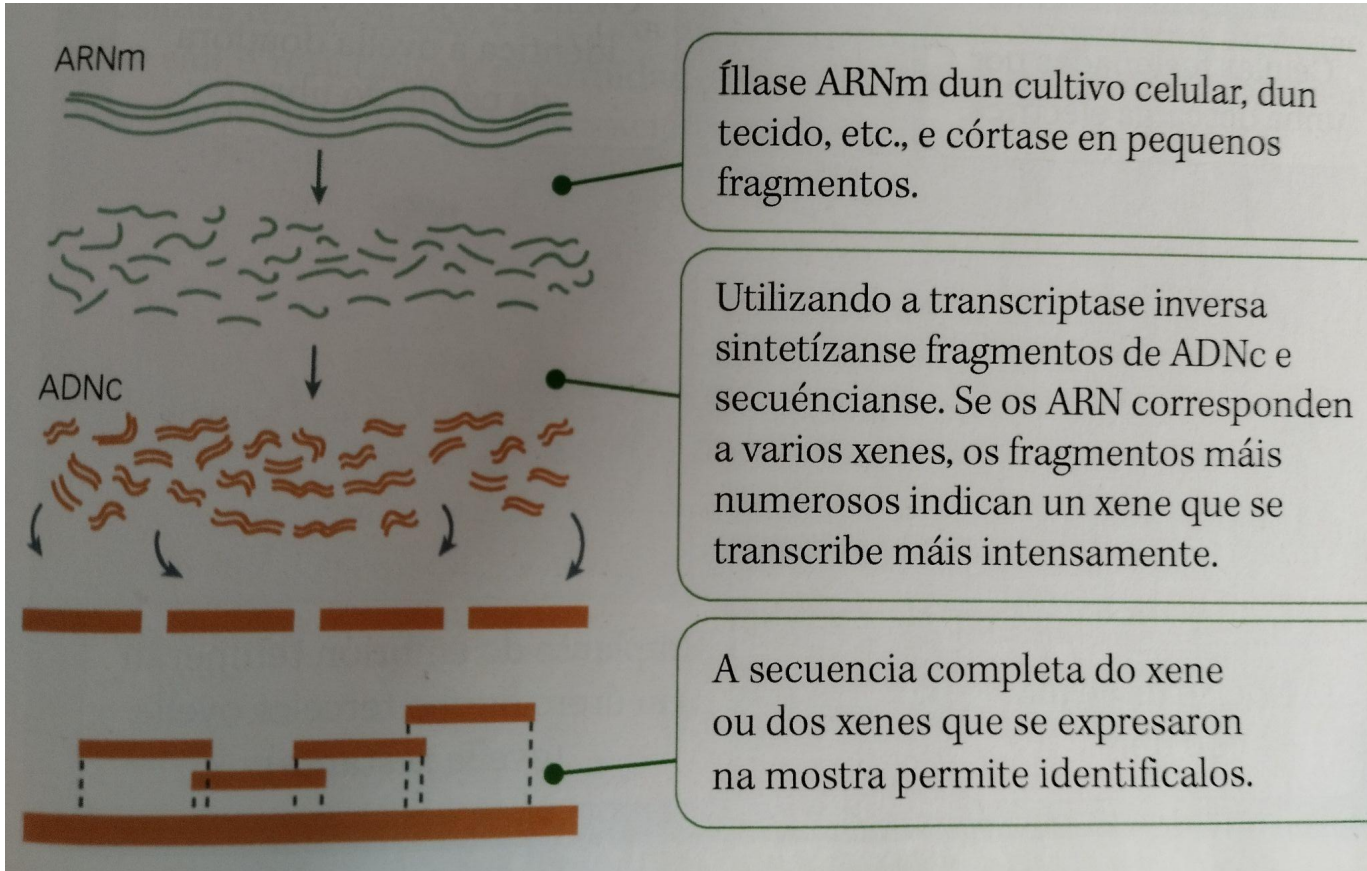
O ADN é moi longo e está formado por unha grande cantidade de xenes pero non todos se expresan. Cales deles si o fan? Que función cumpre a proteína correspondente a cada xene que se expresa? Estas preguntas e outras moitas son respondidas pola **xenómica**, que **é o estudo do xenoma dun organismo no seu conxunto**.

Ten varias ramas:

- Xenómica estrutural: busca coñecer a secuencia dun ADN.
- Xenómica funcional: estuda a función biolóxica dos xenes, a súa regulación e os seus produtos.
- Xenómica comparativa: compara secuencias de xenes e proteínas en diferentes especies para determinar similitudes e diferencias.

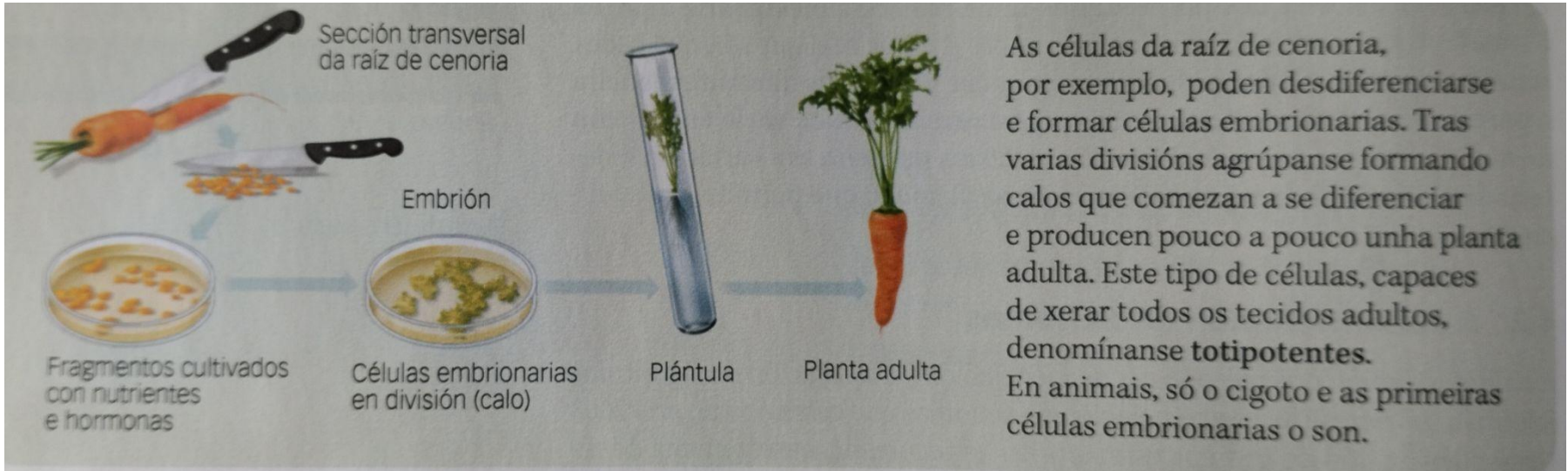
Hai xenes que teñen funcións descoñecidas e para averigualas o que se fai é desactivalos, empregando **ratóns ko** (*knock-out*).

Tamén é necesario comprender en que circunstancias un xene se expresa, xa que a frecuencia de expresión pode variar segundo o medio ambiente e segundo o tipo de tecido. Para elo se emprega a seguinte técnica:



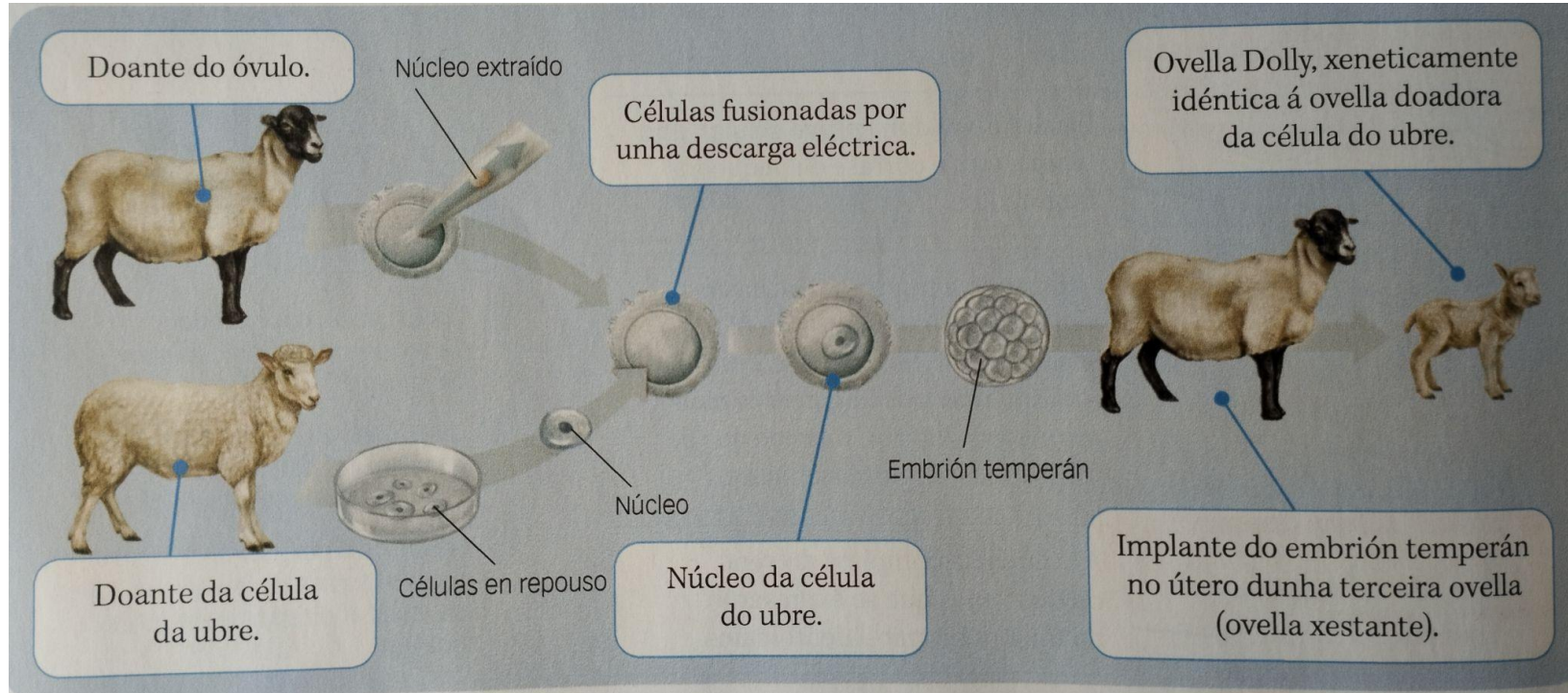
ENXEÑARÍA XENÉTICA: CLONACIÓN EN ORGANISMOS PLURICELULARES

Un **clon** é un organismo xeneticamente idéntico a outro do cal procede. Organismo **unicelulares** e **plantas** clónanse de forma natural, xa que se poden reproducir asexualmente. E os mamíferos? Podemos clonar mamíferos? Si.



CLONACIÓN EN ORGANISMOS PLURICELULARES: MAMÍFEROS. CLONACIÓN REPRODUCTIVA.

A primeira foi a ovella Dolly (1997).



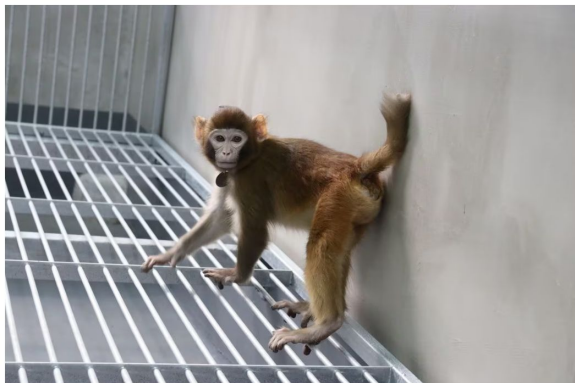
QUE ANIMALES SE CLONARON ATA AGORA?

Año	Animal								
1952	Ranas	2000	Ternero	Takaharu Yoshiya et al.	Primer mamífero grande reclinado, en este caso a partir de un toro clonado.	1			
			Cerdos (Millie, Christa, Alexis, Carrel y Dotcom)	Investigadores de PPL Therapeutics	Primeros cerdos clonados a partir de células adultas.	2			
1970	Ranas		Cabra (Yuanyuan)	Investigadores de la Universidad de Agricultura del Noroeste de China	Primera cabra clonada a partir de células adultas.	2			
			Muflón	Investigadores de la Teramo, Italia	Primer muflón clonado a partir de células adultas.	2			
1984	Corderos		2001	Conejos	Investigadores del National Institute for Agricultural Research de Francia	Primeros conejos clonados a partir de células adultas.	2		
				Toro Gaur (Noah)		Primer clon de un animal amenazado.	2		
1994	Terneros		2001-2002	Gato doméstico (CC)	Operation CopyCat, proyecto de la empresa Genetic Savings & Clone	Primera clonación con fines comerciales para compra de mascotas.	1,2		
1995	Ovejas (Megan y Morag)		2002	Vaca Jersey (Pampa)	Empresa argentina Biosidus	A partir de una célula fetal. Argentina se convierte en el noveno país en clonar vacunos.	1,2		
1996	Oveja Dolly		2003	Banteng	Investigadores de Trans Ova Genetics and Advanced Cell Technologies	Primer banteng (animal en peligro de extinción) clonado a partir de células adultas.	2		
1997	Vaca (Gene)			Mula (Idaho Gem)	Investigadores de la Universidad de Idaho	Primera mula clonada a partir de feto de mula.	2		
	Oveja Polly	Caballo (Prometea)		Investigadores del Italy's Consortium for Zootechnical Im	Primer caballo clonado a partir de células adultas.	2			
	Ratón (Cumulina)	2005		Ciervo (Dewey)	Investigadores de ViaGen Inc.	Investigadores de la Universidad Nacional de Seúl en Corea del Sur	2		
1998	Cabra (Mira)		Ratas	Investigadores de Agricultural Res	Corporación Brasileña de Investigación Agrícola, Embrapa, asociada con el Ministerio de agricultura brasileño, la Ganadería y el Suministro	2			
	Ratones (50)	Gato montés africano (Ditteaux)	Investigadores de Research of En						
1999	mono Rhesus hembra (Tetra)	2004	Gato doméstico (Little Nicky)	Compañía Gen	2006	Caballo	Compañía de clonación ViaGen, Austin, Texas.	Clonado a partir del Mejor Caballo Campeón de Carreras de Barriles, Scamper, de la jineta Charmayne James.	2
			Toros		2010	Toro de lidia (Got)	Científicos de la Fundación Valenciana de Investigación Veterinaria (VIVE).	Primer Toro de lidia clonado en España.	3
			Becerro (PAMPERO)				linaje transgénico de la Farmacéutica Lactea de Bio Sidus.		

CLONACIÓN >

Nace 'Retro', un mono clonado que acerca la posibilidad de hacer copias de los seres humanos

Un grupo de investigadores chinos ha perfeccionado la técnica para producir macacos idénticos, pero asegura que clonar personas sería “completamente inaceptable”



El mono 'Retro', fotografiado cuando tenía 7 meses. ZENKONG LIANG



MANUEL ANSELE

Madrid · 19 ENE 2024 · 10:56CET



Un equipo de científicos chinos ha anunciado este martes el nacimiento de *Retro*, un macaco clonado con una nueva estrategia para conseguir monos idénticos. El líder de la investigación, [Qiang Sun](#), explica a EL PAÍS que la clonación de seres humanos sería “completamente inaceptable” y asegura que no está en sus planes. “Ni siquiera pensaremos en ello”, sostiene.

La clonación de la oveja *Dolly* en 1996 provocó una alerta mundial ante la posibilidad de que algún laboratorio intentara hacer copias exactas de seres humanos. La técnica parecía sencilla. El grupo del embriólogo británico [Ian Wilmut](#) vació un óvulo de una oveja e introdujo un núcleo con ADN de una célula adulta extraída de la ubre de otra hembra. *Dolly* era una réplica de esta última. En 1998 se lograron así los primeros [terneros](#) y [ratones](#) clonados. En 1999, [cabras](#). En 2000, [cerdos](#). En 2002, [conejos](#). En 2005, [perros](#). Y en 2007 la Universidad de Naciones Unidas publicó [un informe](#) en el que planteaba que la clonación de seres humanos era, quizá, inevitable.

[El País: mono clonado.](#)

Quiero a mi perro de vuelta: el auge de la clonación de mascotas, un negocio entre “el amor eterno” y la “explotación inaceptable”

De Tom Brady a Javier Milei, cada vez más personas pagan decenas de miles de euros por clonar a sus animales. Pero, ¿qué compran realmente? El auge de este negocio, 20 años después de la clonación del perro ‘Snuppy’, divide a empresas, científicos y bioéticos



Tom Brady con su perro 'Lui' en 2015. STICKMAN/BAUER-GRIFFIN/GETTY IMAGES

La tecnología que utiliza Viagen es, a grandes rasgos, la que se usó para clonar a la oveja *Dolly*; de hecho, la compañía tiene licencias de las patentes del [Instituto Roslin](#), el centro escocés que *creó* a la famosa oveja. Sin embargo, casi 30 años después, la tecnología ha avanzado considerablemente. La técnica es relativamente simple: los laboratorios clonadores extraen una biopsia de piel del animal —vivo o recién fallecido—, se cultivan las células y se congelan. Cuando el cliente decide activar la clonación, el núcleo de una de esas células se transfiere a un óvulo de una perra donante al que se le ha extraído su propio material genético. El embrión se implanta en una madre sustituta. Y unos meses después, si todo sale bien, nace un cachorro con el 99,9% del ADN idéntico al original. El 0,1% restante es ADN mitocondrial de la donante.

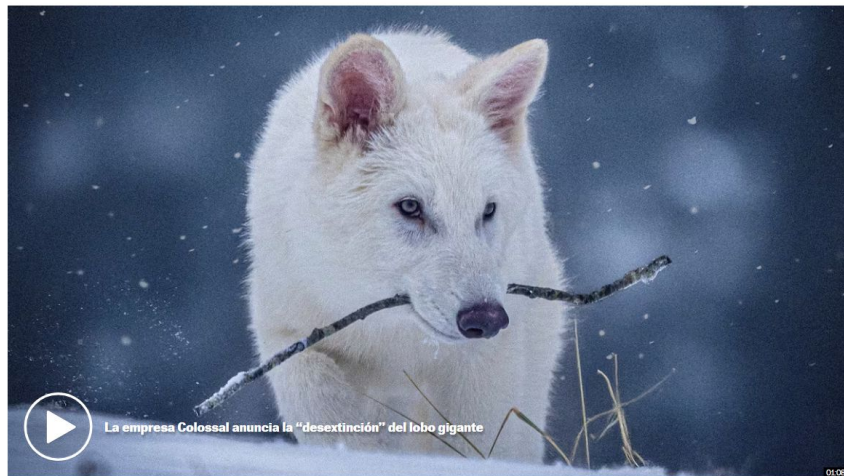
[Quero ó meu can de volta](#)

GENÉTICA >

Ni han resucitado a los lobos gigantes, ni son la primera especie desextinguida, pero es así como volveremos a ver dodos y tilacinos

Los debates éticos detrás de los logros de Colossal, la empresa que creó ratones lanudos, no opacan sus éxitos científicos que amplían los límites de lo posible, pero con demasiado marketing

[Resucitar lobos xigantes](#)



“Lo que han conseguido es muy arriesgado y lo han hecho de forma muy exitosa: me quito el sombrero, porque han resuelto problemas muy complejos”, reconoce el genetista del CSIC Lluís Montoliu, que en su faceta de experto en bioética se plantea: “Lo que hace Colossal ya es entre sorprendente y preocupante: cuál es la razón de ser de crear estos animales, ¿tener un zoológico de criaturas imposibles?”.

ENXEÑARÍA XENÉTICA: CLONACIÓN DE CÉLULAS NAI

Fecundación:
óvulo + espermatozoide = cigoto



Cigoto
(célula totipotente)



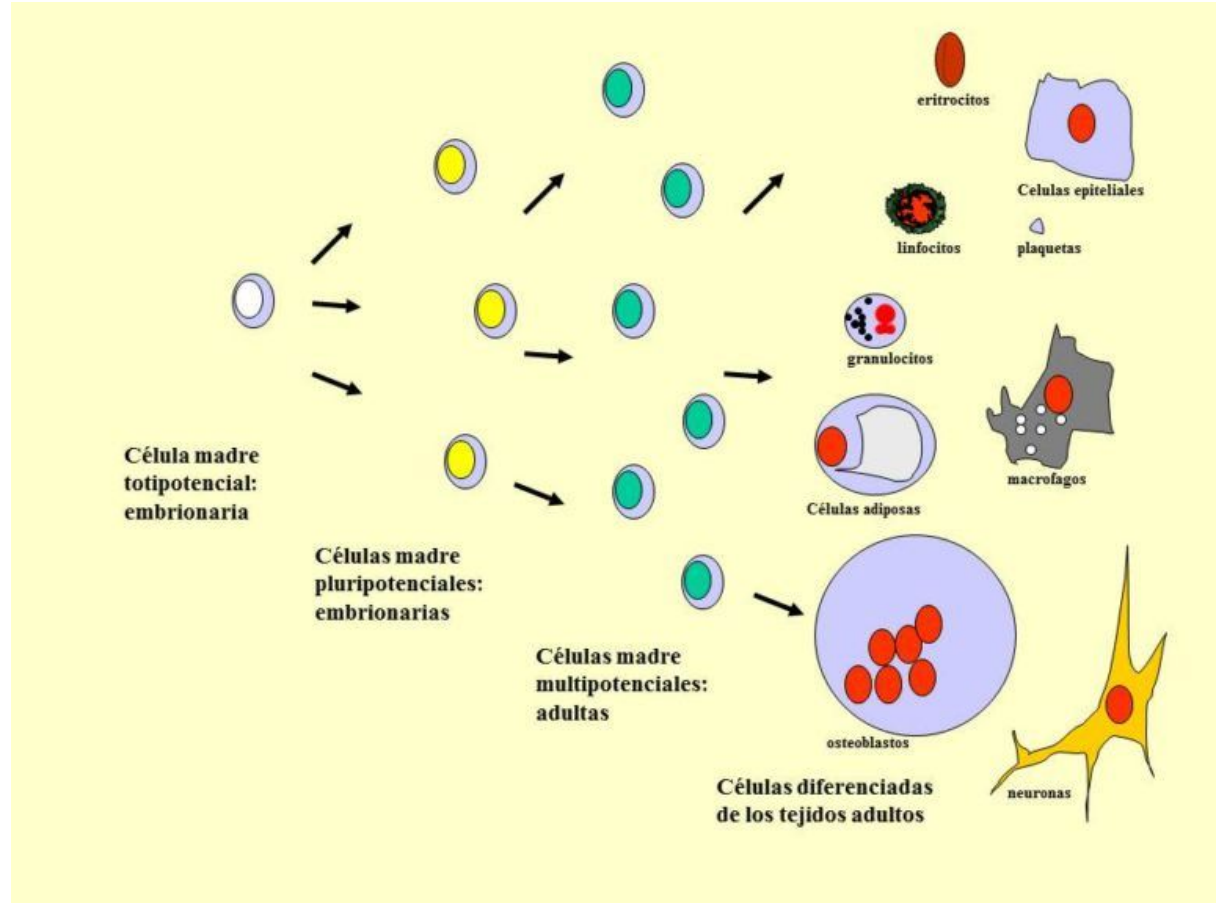
División



4 ou 5 días estará formado por
150 células **pluripotentes**



Diferenciación celular: organismo
complejo con células
diferenciadas, algunhas delas
multipotentes.



ENXEÑARÍA XENÉTICA: **CLONACIÓN DE CÉLULAS NAI**

A enxeñaría xenética permite clonar células nai (pluripotentes e multipotentes) dun organismo, para sintetizar tecidos con obxectivos terapéuticos.

COMO?

Traballos con embrións humanos de 5-6 días fecundados en laboratorio (blastocitos). As células nai pluripotentes dese embrión son enucleadas e nelas é introducido o núcleo dunha célula somática. Creáanse células **pluripotentes**, capaces de crear tecidos que poden ser empregados para substituir os tecidos danados sen ocasionar rexeitamento. **Clonación terapéutica**.

Traballos con células nai **multipotentes** adultas permiten obter determinados tipos de células. Por exemplo as células nai da médula ósea son empregadas para crear en laboratorio células sanguíneas que tampouco serán rexeitadas polo doente (leucemia).

PROBLEMAS? Éticos no caso dos embrións humanos.

ENXEÑARÍA XENÉTICA: CLONACIÓN DE CÉLULAS NAI. **Reprogramación.**

Os traballos de Yamanaka e o seu equipo viñeron a revolucionar o mundo da clonación de células nai en 2006. Desenvolveron unha técnica que permite obter células nai a partir da **reprogramación** de células adultas especializadas. Creáronse así as **células pluripotentes inducidas IPS**.

2006: obtención das primeiras IPS a partir de fibroblastos da pel de rato (células do tecido conectivo).

2008: mesmo logro pero con células humanas.

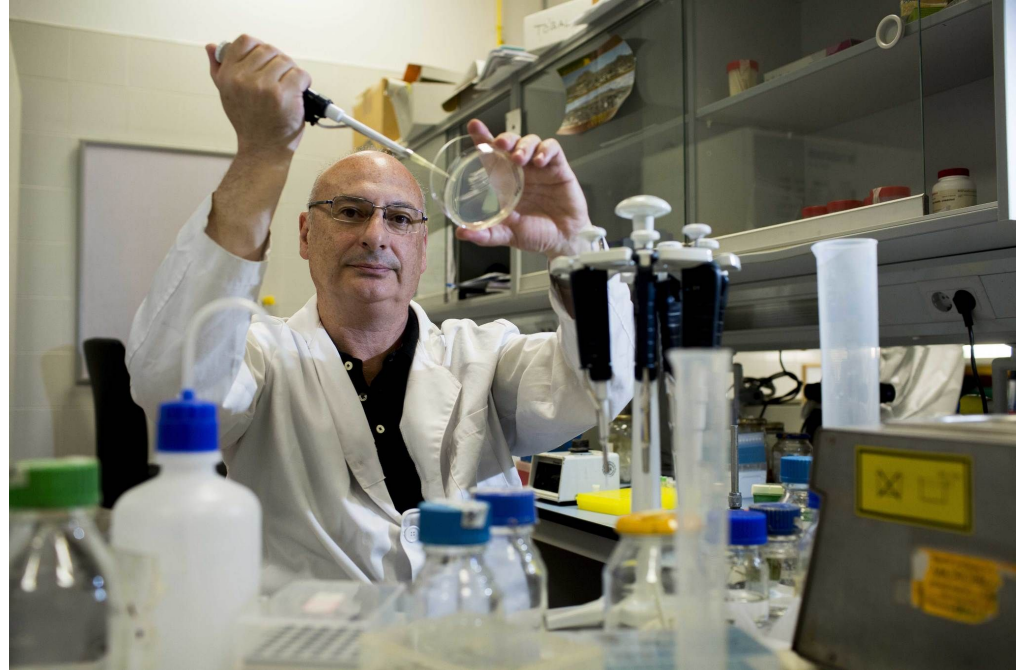
2012: Nobel de Medicina para Yamanaka.

O método consiste en introducir xenes de células nai pluripotentes en células somáticas especializadas, empregando para elo retrovirus como vectores.



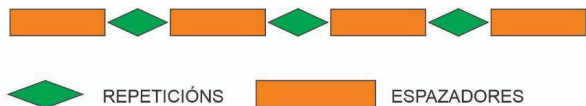
ENXEÑARÍA XENÉTICA: EDICIÓN XENÉTICA

A edición xenética comprende tódolos procedementos precisos para a **inactivación ou modificación dun xene**. Actualmente o sistema máis preciso é o sistema **CRISPR-Cas**, descuberto polo microbiólogo español Francisco Juan Martínez Mojica, da Universidade de Alicante.



A EDICIÓN XENÉTICA: O SISTEMA CRISPR-Cas

1993. Francis Mojica traballa con arqueas na Universidade de Alicante. Descubre que no seu ADN hai repeticións palindrómicas, de 30 nucleótidos, distribuídas regularmente e separadas por uns fragmentos de denominados espazadores.



1995. O avance nas técnicas de secuenciación permiten coñecer o ADN de bacterias e arqueas. O equipo de Mojica empeza a buscar novas repeticións deste tipo. Colabora cun equipo holandés; chaman a esas repeticións **CRISPR** (repeticións palindrómicas curtas agrupadas e regularmente espazadas) e ademais nomean os xenes que están adxacentes e as correspondentes proteínas como **Cas**. O conxunto recibe o nome de **CRISPR-Cas**.



Fan grandes descubrimentos:

- 1. As secuencias dos espazadores son iguais que as secuencias de determinados virus profagos.**
- 2. As bacterias que teñen integrados eses espazadores no seu ADN son inmunes ó ataque dos profagos, mentres que as bacterias que non os teñen son infectadas polos devanditos virus.**

O EQUIPO DE MOJICA DESCUBRIRA QUE OS ESPAZADORES CONSTITUÍAN UN SISTEMA INMUNITARIO DE DEFENSA DE BACTERIAS E ARQUEAS FRONTE O ATAQUE DOS VIRUS.

2005. Tratan de demostrar empiricamente a súa hipótese con *E. coli* pero non conseguen resultados.

2007. A demostración empírica chegou da man do equipo técnico dunha marca de alimentación que traballaba con lácteos. As bacterias que producían os seus iogures eran atacadas por un virus. Cando resistían o ataque facíanse inmunes, cando se lles quitaba do ADN o espazador as bacterias resistentes volvían a ser infectadas.

COMO FUNCIONA O SISTEMA CRISPR-Cas?

Cando a bacteria ou arquea é infectada polo virus, integra fragmentos do ADN vírico no seu propio ADN (espazadores). Esta acción é realizada por unha proteína Cas.

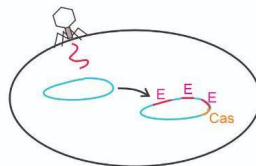
As bacterias que inclúen no seu ADN os espazadores, é dicir, o ADN vírico, crean o ARN correspondente. Transcriben repeticións e espazadores.

Se o virus as infecta de novo, o ARN transcrito a partir dos espazadores vai recoñecer o ADN vírico, xa que as súas bases son complementarias.

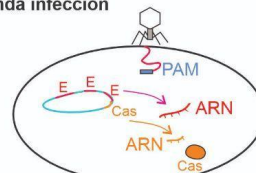
ARN do espazador e proteína Cas únense formando o complexo CRISPR-Cas; únense ó ADN vírico. Cas ademais se comporta como endonucleasa e corta o ADN vírico por un lugar concreto, deixándoo inactivo e anulando a infección.

Como pode o ARN diferenciar o ADN propio (espazador) do que provén do virus? O ADN do virus ten unhas secuencias curtas, adxacentes ós fragmentos que forman os espazadores, que non chegan a pasar ó ADN

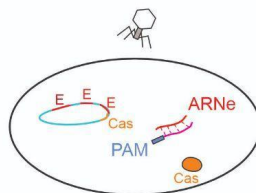
Primeira infección



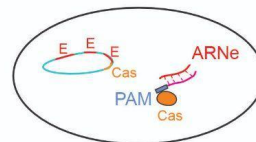
Segunda infección



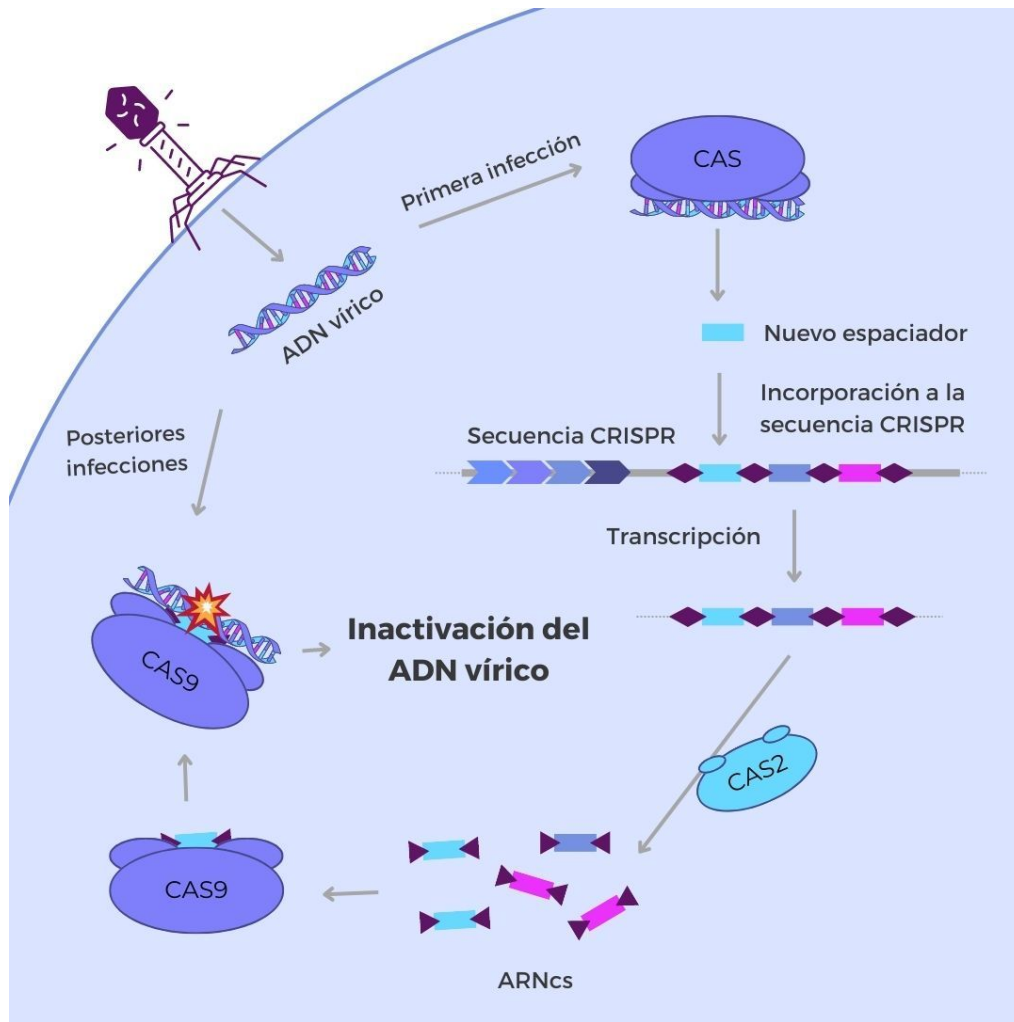
- 1** Entra o ADN vírico co seu PAM. Está sintetizado o ARN do espazador e maillo ARN de Cas e a súa proteína.

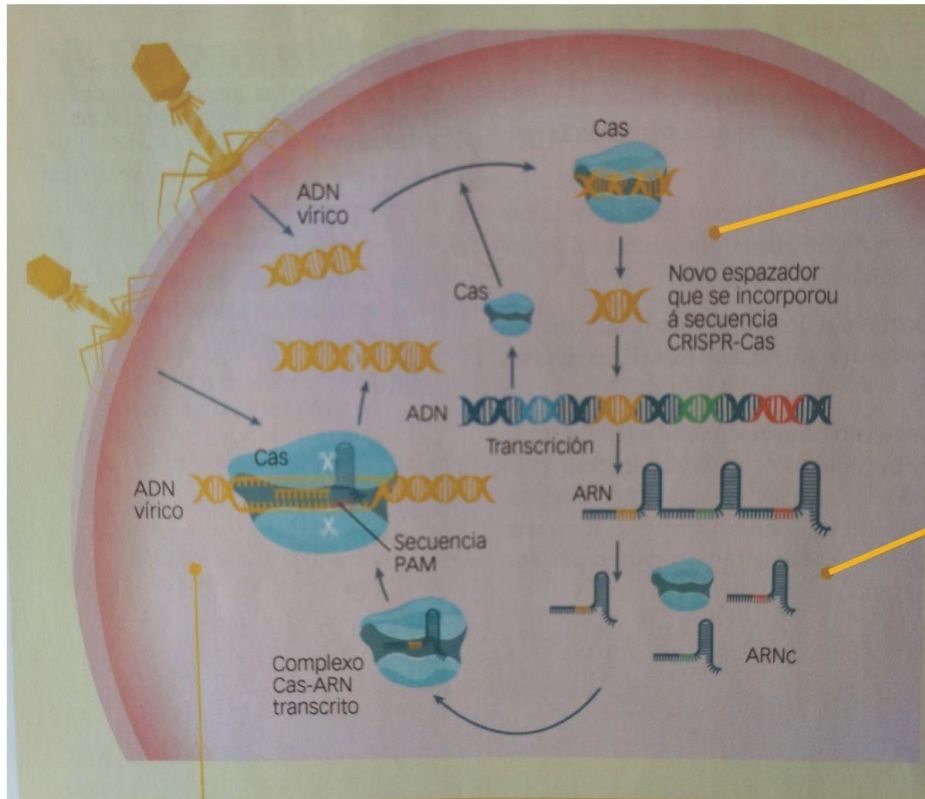


- 2** ARN do espazador únese a Cas; despois ao ADN do virus, xa que teñen bases complementarias. O ADN vírico porta secuencia PAM.



- 3** Cas detecta o PAM. Cas corta o ADN vírico nun punto concreto. A infección é abortada.





A primeira vez que unha bacteria é infectada por un virus, as súas endonucleasas Cas cortan un fragmento do ADN vírico, xerando un espazador que se incorporará á secuencia CRISPR.

Nunha segunda infección do virus, a bacteria sintetiza múltiples cadeas de ARN da rexión CRISPR; as proteínas Cas sepáranse en pequenos fragmentos de ARN que levan a información dos espazadores, entre eles o do virus que infectou a bacteria novamente.

O complexo formado por Cas e ARN transcrito previamente do espazador correspondente dirixese cara o ADN vírico. Este complexo recoñece un sinal chamado PAM do ADN do virus, formado por uns poucos nucleótidos, e dirixese a unha rexión complementaria, adxacente ao PAM, con que se une.

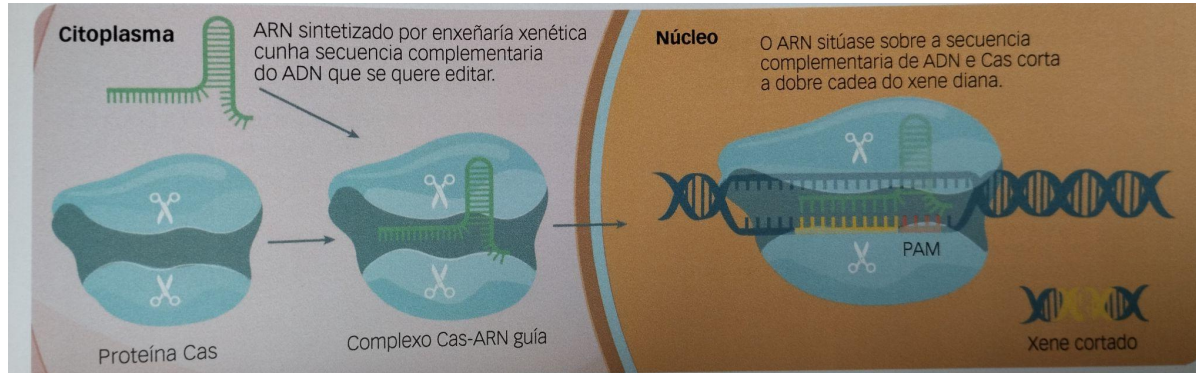
Cas corta aquela ambas as cadeas do ADN vírico nun punto situado a unha distancia exacta do PAM, abortando a infección.

COMO SE APLICA O SISTEMA CRISPR-Cas Á EDICIÓN XENÉTICA

Unha vez coñecida a capacidade das proteínas Cas para unirse a xenes por puntos moi concretos e cortalas, as Cas empezaron a usarse como ferramentas de edición. Esta proposta serviu ás bioquímicas Charpentier (Francia) e Doudna (USA) para gañar o premio Nobel de Química no 2020.

Para editar un xene, é dicir, para inactivar ou cambiar algunha das súas letras:

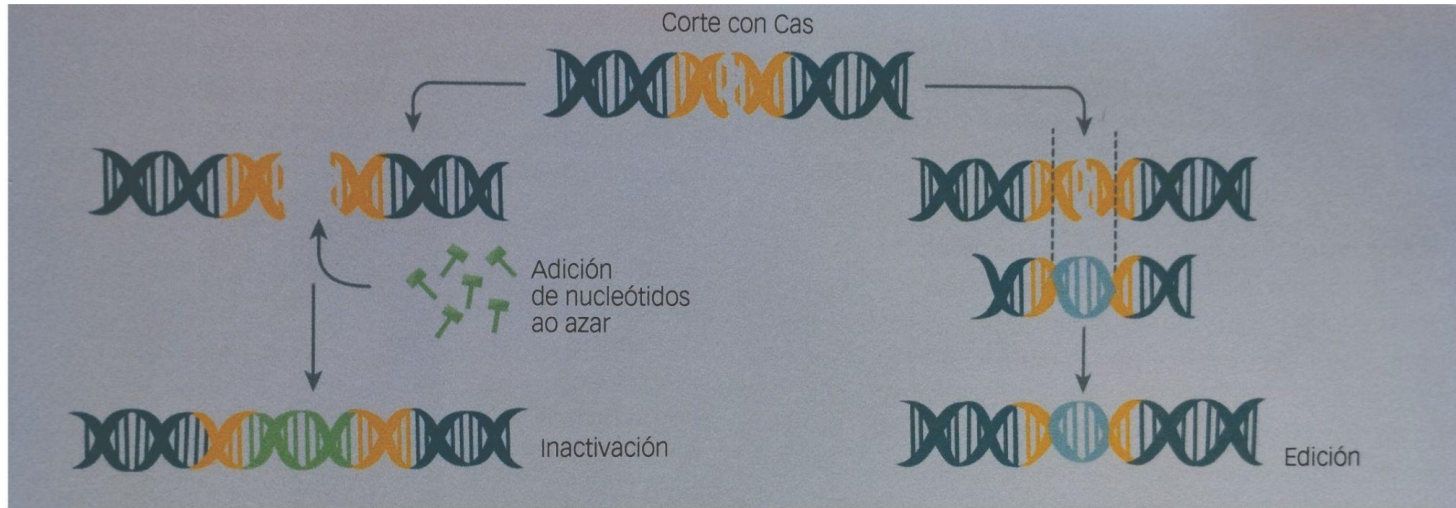
1. Introdúcese na célula na que está o xene que se quere editar un **ARN** que porta a información para sintetizar unha **Cas** concreta.
2. Tamén se introduce o **ARN complementario** ó xenes que se quere editar.
3. O ARN vaíse traducir, sintetizando a Cas.
4. Cas e ARN complementario vanse unir. Entran no núcleo.
5. Únense ao ADN pola parte de interese (xene a editar).
6. A proteína Cas vai cortar o ADN polo punto exacto que se pretendía.
7. A célula vai tratar de arreglar a falla, engadindo nucleótidos



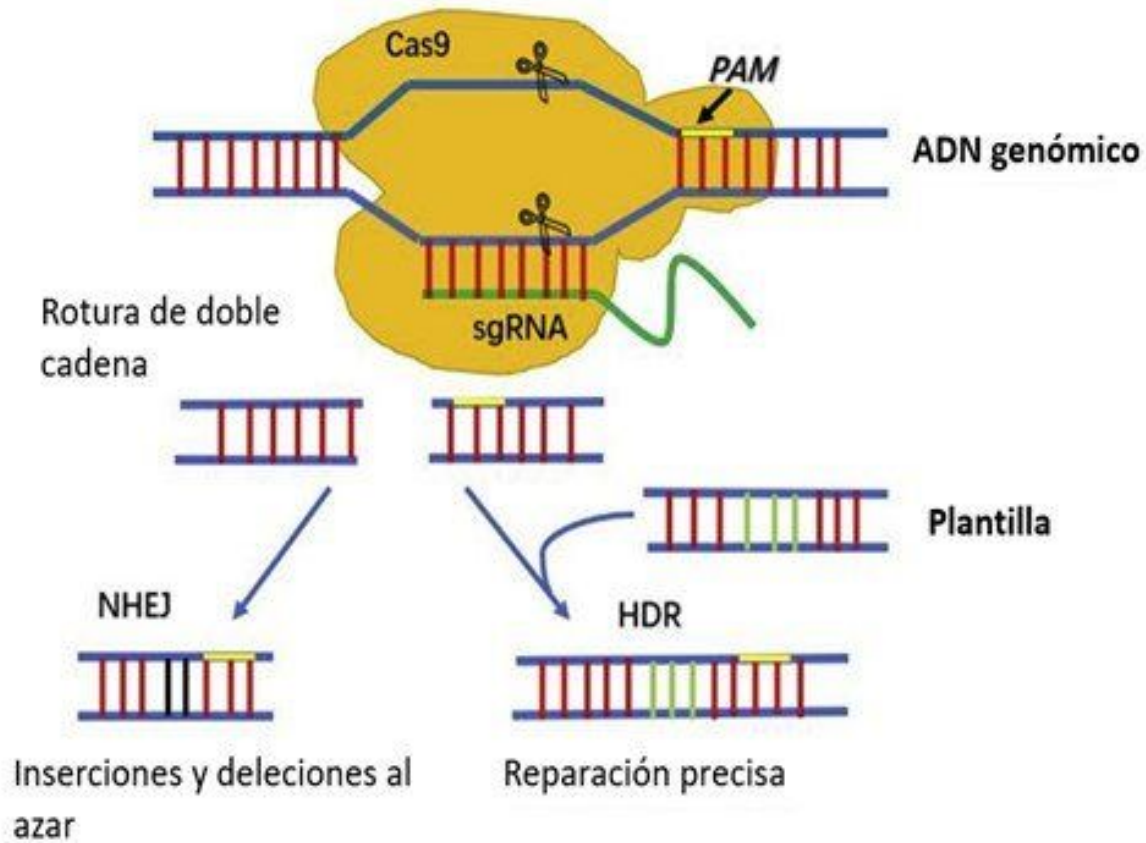
COMO SE APLICA O SISTEMA CRISPR-Cas Á EDICIÓN XENÉTICA

Cando se pon en marcha o sistema de reparación poden suceder dúas situacións:

1. **Reparación ao azar:** os enzimas engaden novos nucleótidos ao azar. O cromosoma recupera a estabilidade pero perde a información do xene. Ese **xene queda anulado**.
2. **Reparación dirixida:** engádese un fragmento de ADN moi similar ó orixinal, que varíe unicamente naqueles nucleótidos que interesa cambiar. Ese fragmento vai ser empregado como molde na reparación, de forma que os cambios van quedar integrados no ADN.



COMO SE APLICA O SISTEMA CRISPR-Cas Á EDICIÓN XENÉTICA



COMO SE APLICA O SISTEMA CRISPR-Cas Á EDICIÓN XENÉTICA

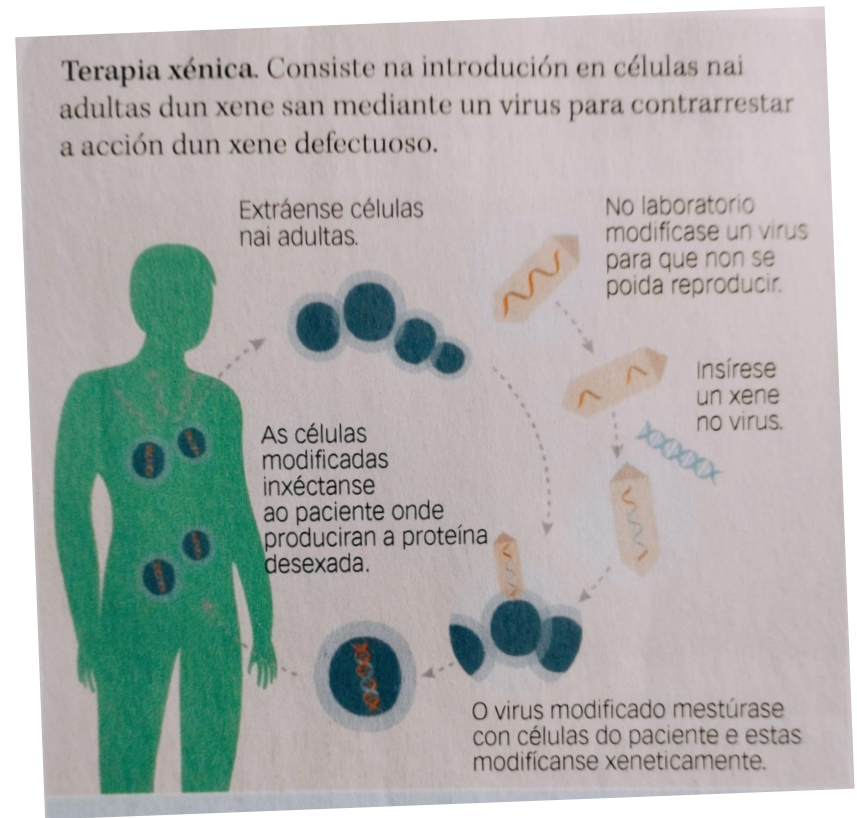
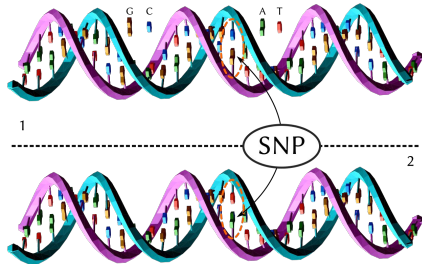
[cOMO SE EDITAN XENES. EL PAIS.](#)

[Creados ratones lanudos El País](#)

APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA: SAÚDE

Terapia xénica: introdución en células nai adultas de xenes sans para contrarrestar a acción dalgún que non estea a funcionar correctamente. Tratamentos persoalizados. Emprégase no tratamento de enfermidades hereditarias que non se solucionan mediante a introdución de novas proteínas; tamén está empezando a ensaiarse na loita contra o cancro (p.ex. inserción de xenes suicidas en células tumorais).

Estudo dos SNP: os SNP son secuencias comúns en diferentes persoas que difiren nun único nucleótido. A súa localización e análise permite comparar estes SNP e relacionalos coa presenza dalgunha enfermidade. Permite facer diagnósticos precoces.



APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA: SAÚDE

Edición xenética mediante CRISPR-Cas: permite correxir erros no ADN a nivel nucleótido, sendo empregado para reparar xenes que non están funcionando e que producen enfermidades. Xa se está a empregar no tratamento de enfermidades raras. Exemplos: anemia falciforme (tratamento aprobado en USA), beta talasemia e anxioedema hereditario.

[CRISPR Cas e anemia falciforme](#)

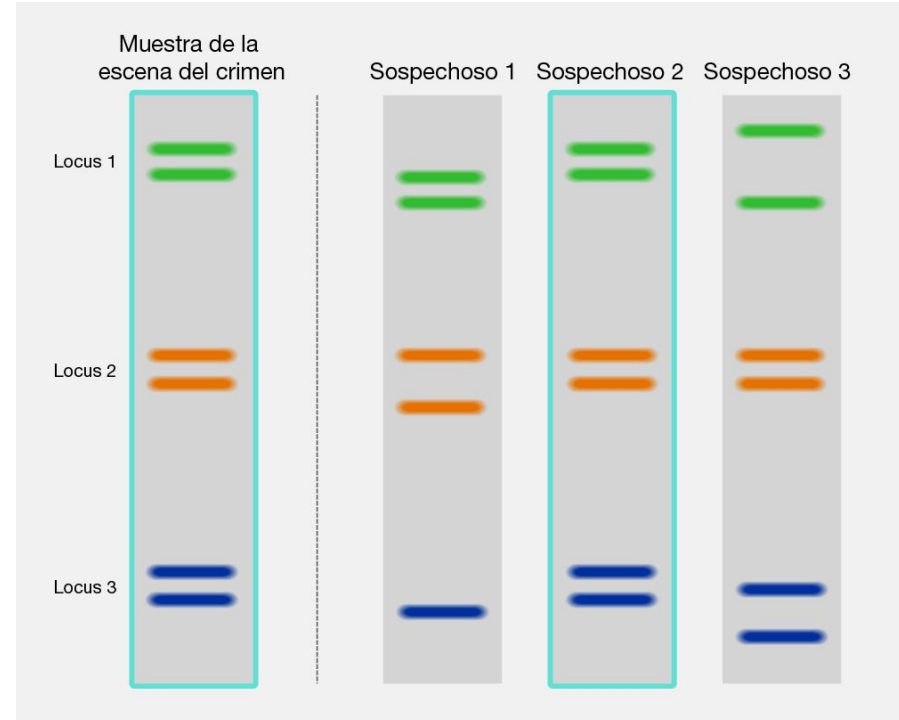
Aplicacións da PCR: o grande aporte da PCR é que permite facer millóns de copias de xenes relacionados con enfermidades, grazas ao cal puideron ser secuenciados, facilitando a diagnose e os tratamentos. Tamén é útil na localización de virus, coma o SARS-Cov.

Produción de fármacos: a clonación de xenes humanos en bacterias permitiu obter importantes fármacos, coma a insulina, a hormona do crecemento. Tamén se introducen xenes humanos de interese en animais de granxa para que sinteticen as proteínas correspondentes no seu leite (animais transxénicos). Tamén na síntese de vacinas.

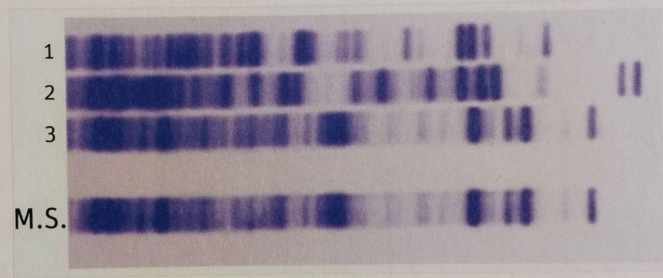
APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA. CIENCIA FORENSE

Amplificación de pequenas mostras de ADN (**PCR**) e comparación co ADN doutras persoas para resolver crimes, violacións, probas de paternidade, recoñecemento de restos humanos despois de accidentes ou guerras, identificación de familiares nas fosas da guerra civil...

A técnica concreta é a da **pegada xenética individual**. Os seres humanos compartimos un 99.9% do material xenético e diferimos no 0.1% restante, localizado en rexións concretas e coñecidas do ADN. Eses son os fragmentos que se aillan e se comparan.



- 22.** En el escenario de un crimen, el LIC (Laboratorio de Investigación Criminal) ha encontrado sobre el cadáver de una persona restos de sangre que no se corresponden con la suya. Tras numerosas pesquisas, la policía centra sus sospechas en tres individuos a los que el juez ordena someterse a una prueba de ADN. La imagen muestra las huellas genéticas de los tres sospechosos, señalados con números, y la obtenida a partir de la sangre hallada sobre el cadáver.



- a)** ¿Cuál de los tres sospechosos puede ser el asesino? Razona la respuesta.
- b)** Si somos todos de la misma especie, ¿por qué las huellas genéticas son distintas?
- c)** ¿Existe algún caso en el que dos personas tengan la misma huella genética? Justifica la respuesta.
- d)** ¿Qué tipo de marcadores genéticos se utilizan para elaborar estas huellas genéticas?

APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA. MEDIO AMBIENTE

Biorremediación: absorción de contaminantes (metais pesados, hidrocarburos, etc) por parte de seres vivos, comunmente microorganismos e plantas. **Pódese acelerar o crecemento de bacterias** mediante a manipulación dos seus xenos.

- Descontaminación de solos.
- Descontaminación de augas residuais.
- Descontaminación de vertidos de hidrocarburos.
- Descontaminación de metais pesados



EL PAÍS

Ciencia / Materia

ASTROFÍSICA · MEDIO AMBIENTE · INVESTIGACIÓN MÉDICA · MATEMÁTICAS · PALEONTOLOGÍA · ÚLTIMAS NOTICIAS

MAR MENOR >

La ostra que podría ayudar a recuperar el mar Menor

Un proyecto del Instituto Español de Oceanografía promueve la restauración de este bivalvo en la zona porque consume las microalgas que provocan la eutrofización

APLICACIONES DA BIOTECNOLOXÍA. ANTROPOLOXÍA.

A comparación do ADN permite establecer relacións de parentesco entre diferentes especies do xénero *Homo*, por exemplo *H. neanderthalensis* e *H. sapiens* e tamén se houbo mestura entre elas.



Reconstrucción de un esqueleto de neandertal (derecha) y otro de un hombre moderno, de una exhibición sobre Atapuerca en el Museo de Historia Natural de Nueva York.

Las científicas responden

¿Cómo sabemos que los humanos actuales tenemos genes neandertales?

Cuando se secuenció el genoma completo de la especie ya extinguida se vio que, entre las poblaciones actuales no africanas, entre el 1% y el 4% del genoma nuclear proviene de los neandertales

APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA. AGRICULTURA E GANDARÍA

OMX (organismos modificados xeneticamente) son organismos cuxo ADN foi modificado mediante técnicas de biotecnoloxía.

Organismos transxénicos son organismos que teñen incorporados fragmentos de ADN doutro ser vivo.

Que exemplos temos na **agricultura**?

- Plantas transxénicas resistentes a pragas.
- Plantas resistentes ás secas.
- Plantas transxénicas de crecemento rápido e froito máis abundante.

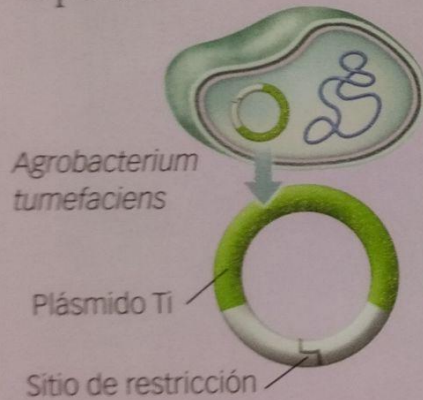
Un vector amplamente empregado é a bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, que ten gran facilidade para infectar células vexetais, transferíndolle o seu ADN e causando enfermidades en plantas (crecemento de agallas). É empregada en enxeñaría xenética para transferir xenes alleos en plantas. PLANTAS TRANSXÉNICAS.



A. tumefaciens adheríndose a células de cenoura.

APLICACIONES DA BIOTECNOLOXÍA. AGRICULTURA E GANDARÍA

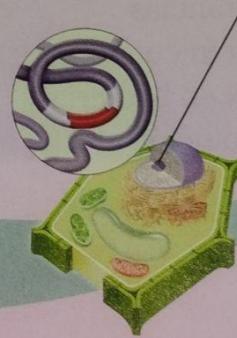
Certains vegetables, *Agrobacterium tumefaciens* se pueden transferir genes de otras especies, que son amplificadas al desarrollarse la planta.



El gen de interés se inserta en el plásmido Ti



A. tumefaciens transmite el plásmido con el transgén a las células vegetales al cultivarlas juntas en un medio selectivo.



Tras dejar crecer el cultivo se formarán callos que darán lugar a las nuevas plantas transgénicas.

APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA. GANDARÍA E ACUICULTURA

Obxectivos:

- Mellora do valor nutricional do leite e da carne.
- Mellora na cantidade de leite e carne.
- Resistencia a enfermidades.
- Velocidade de crecemento.

Técnicas empregadas:

Inseminación artificial, ovulación múltiple e transplante de embrións, aceleran a velocidade do melloramento xenético e aumentan o número de animais.

Manipulación de xogos de cromosomas e reversión sexual en peixes: é posible tratar os ovos para seleccionar o sexo dos peixes que van resultar deles. Pode interesar un ou outro sexo pola maior talla, mellor sabor, rapidez no crecemento...

Enxeñaría xenética en gando e peixes: introdución de xenes alleos ou variación dos existentes. É posible que derive cara a creación de animais transxénicos en gando. En peixes trabállase sobre todo coa introdución da hormona do crecemento e coa introdución de xenes que aumentan a tolerancia ó frío.



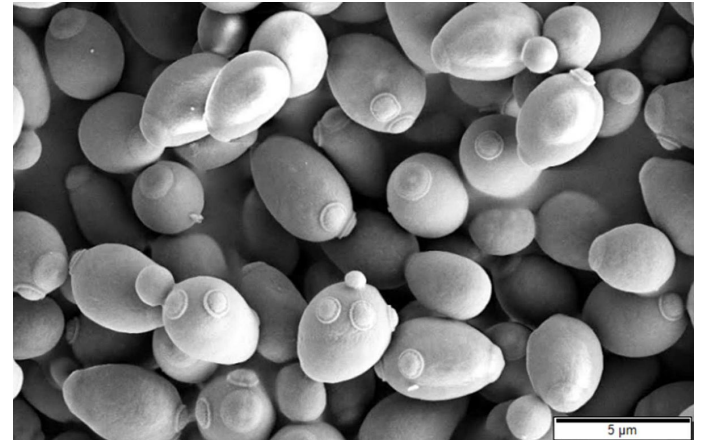
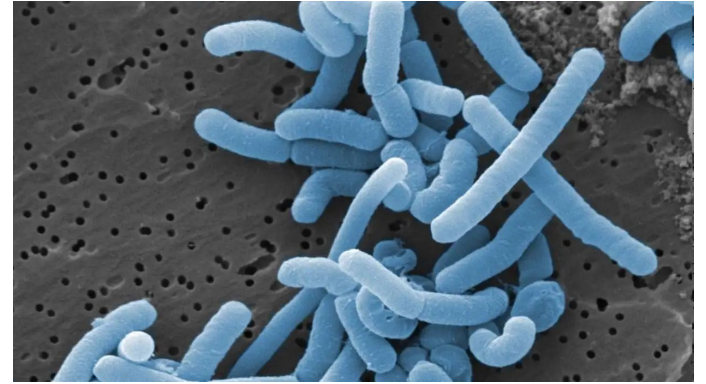
APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA. ALIMENTACIÓN E PROCESOS INDUSTRIAIS

Non podemos esquecer que hai técnicas en biotecnoloxía que se levan empregando milleiros de anos e que actualmente se desenvolven a nivel industrial, aparte das pequenas manufacturas que seguen existindo:

FABRICACIÓN DE LÁCTEOS; iogures, queixos, requeixón, etc. Baseado na **fermentación láctica** do leite levada a cabo por bacterias do xénero *Lactobacillus*.

FABRICACIÓN DE CERVEXA e outras bebidas alcohólicas, baseada na fermentación alcohólica da cebada levada a cabo por lévedos da especie *Saccharomyces cerevisidae*.

ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE PAN: tamén a partir da fermentación alcohólica, neste caso de fariñas de cereal, polo mesmo lévedo.



ÉTICA E BIOTECNOLOXÍA.

Cultivo dos OMX e ecoloxismo.

- Poden as plantas transxénicas hibridarse con outras cultivadas ou silvestres, transferíndolles á súa vez xenes exóxenos que afecten aos cultivos e ecosistemas?
- Como poderán competir os pequenos agricultores cos propietarios de plantas OMX protexidas por patentes legais?
- Poden estas plantas afectar á saúde humana?



EL PAÍS



EL PAÍS

Economía

ACTUALIDAD EN MÉXICO · PESO MEXICANO · BOLSA MEXICANA · BANCO DE MÉXICO · ULTIMAS NOTICIAS

MAÍZ TRANSGÉNICO >

México prohíbe el cultivo de maíz transgénico

La Cámara de Diputados aprueba la reforma constitucional que veta la siembra del grano genéticamente modificado y reconoce al maíz nativo como un "elemento de identidad nacional"



Una familia de agricultores en el estado de Oaxaca, México. 14 de marzo de 2023. [FOTO: MARIO MALDONADO](#)

Opinión

EDITORIALES · TRIBUNAS · COLUMNAS · CARTAS A LA DIRECTORA · LAS FIRMAS DE EL PAÍS · DEFENSORA DEL LECTOR

T-MEC > OPINIÓN

Frente al maíz transgénico, soberanía alimentaria y biodiversidad

Es nuestro derecho tomar decisiones soberanas en materia de alimentación y agricultura



Carlos Elias, productor de maíz en la comunidad de Coapan, en Nayarit (México). En marzo de 2023. [NAYELI CRUZ](#)

ÉTICA E BIOTECNOLOXÍA.

Aplicacións en humanos:

- Quen ten dereito a coñecer o xenoma dunha persoa?
- Como exercer o dereito á intimidade xenómica?
- Pode usarse ese xenoma en programas de saúde pública?
- Hai risco de que o coñecemento de xenomas transcenda ao campo das relacións laborais?

COMITÉS ETICOS EN INVESTIGACIÓN