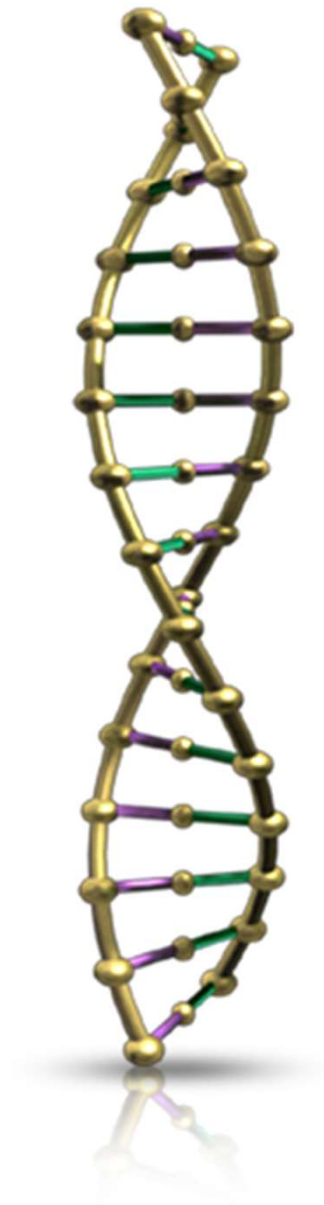


BIOTECNOLOXÍA

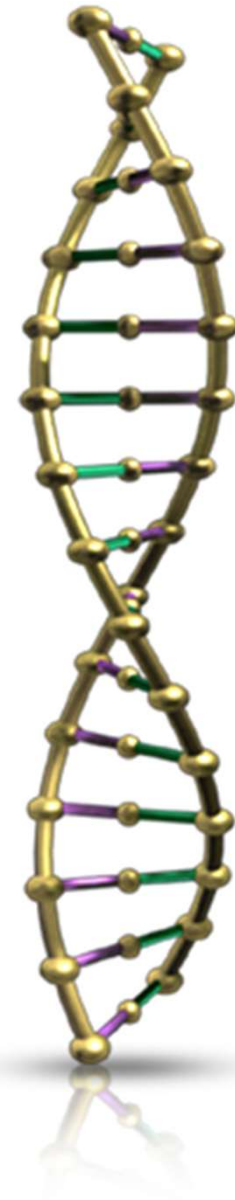
Aplicación de coñecementos científicos e técnicos, nos que se utilizan seres vivos ou derivados deles, mediante os que se obteñen produtos útiles.



INXEÑERÍA XENÉTICA



Conxunto de técnicas que permiten manipular o xenoma dun ser vivo



Conceptos frecuentes en inxeñaría xenética.

ADN recombinante: é unha molécula de DNA formada pola unión artificial de DNA de dous organismos diferentes.

Clon: copia idéntica

- dunha molécula
- dunha célula
- dun organismo

Organismo transxénico: incorporan no seu xenoma de forma estable ADN procedente de outras especies.

GMO: organismo xenéticamente modificado.

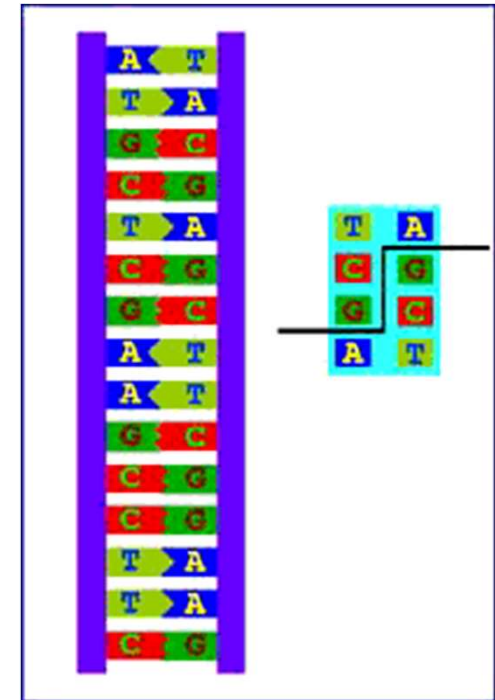
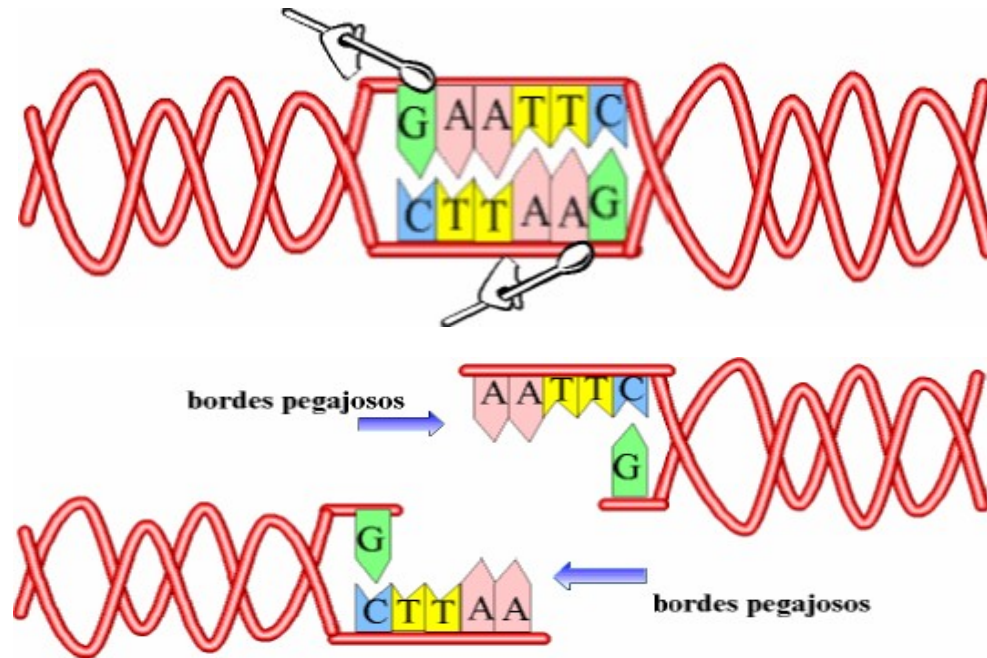
Célula transformada: célula que contén e expresa ADN foráneo.

Vectores: elementos que sirven para introducir xenes extraños en células hospedadoras.

Enzimas de restricción: enzimas endonucleasas que cortan o ADN en puntos concretos (secuencias específicas).

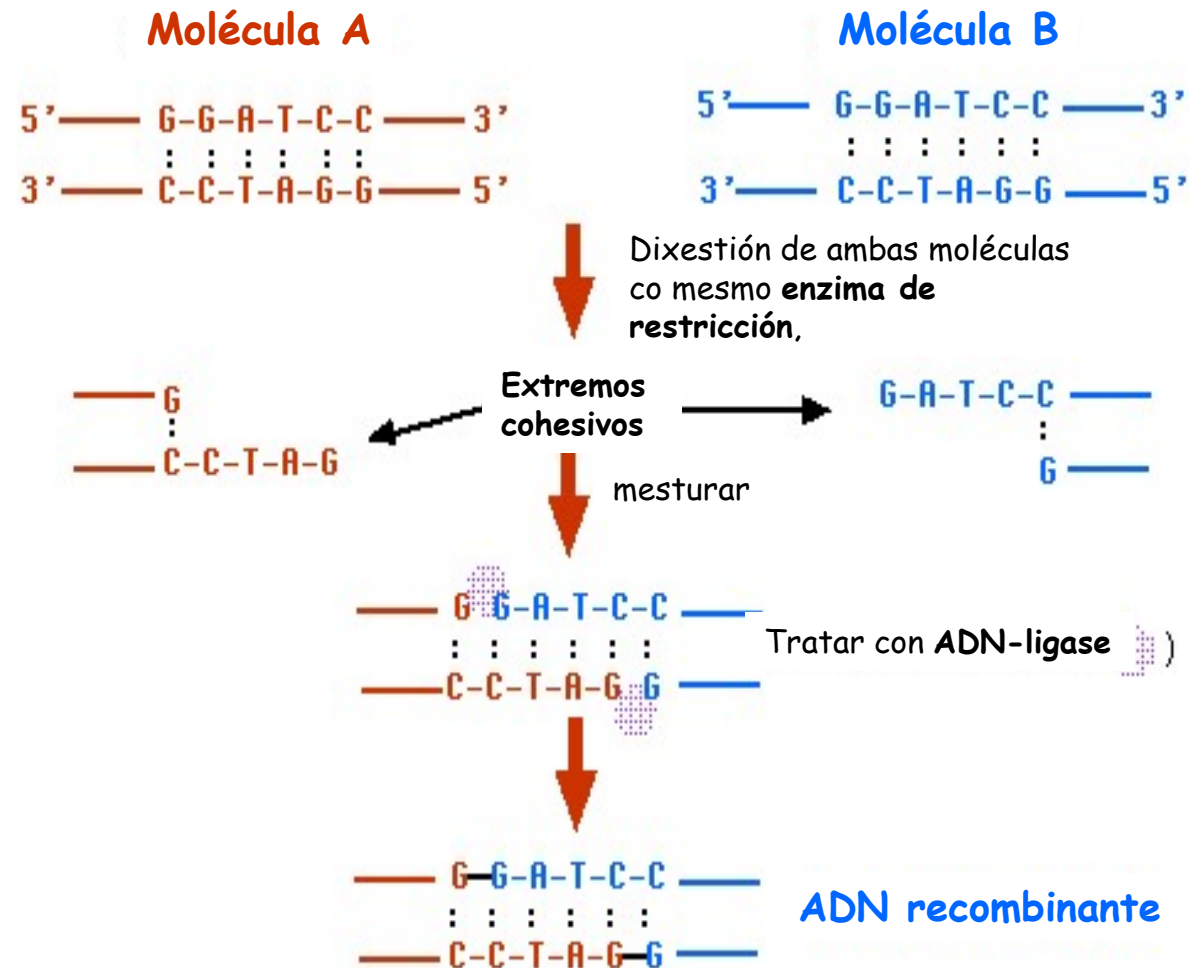


Enzimas de restricción (ER) tesoiras moleculares



Endonucleases. Reconocen secuencias determinadas, en moitos casos, secuencias palindrómicas produciendo bordos **cohesivos**

Enzimas de restricción (ER)



vector de clonación.

Elementos que sirven para introducir xenes extraños en células hospedadoras.

Selección do vector:(tamaño e características do xene e da célula)

1. Plásmidos
2. Bacteriófagos.
3. Virus.
4. Outros: YACs (cromosomas artificiales de lévedos), microinxección....

Xen que queremos clonar + DNAvector = DNA recombinante

CORTADOS COA MESMA E.R.

ENZIMAS: ADN LIGASAS

Modificar a permeabilidade da célula : microinxeccións, electroporación, liposomas...

Plásmido

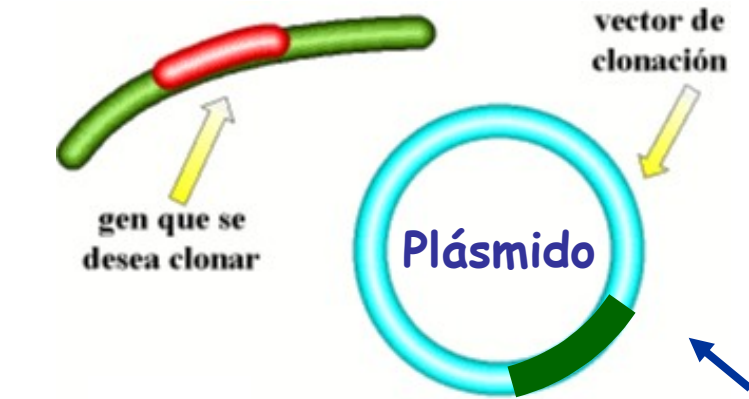


-O seu tamaño é manexable.

- Replícanse independentemente do cromosoma bacteriano, polo que se poden formar ata 10 plásmidos por célula, o que, en varias xeracións supón unha gran cantidade de copias de ADN.

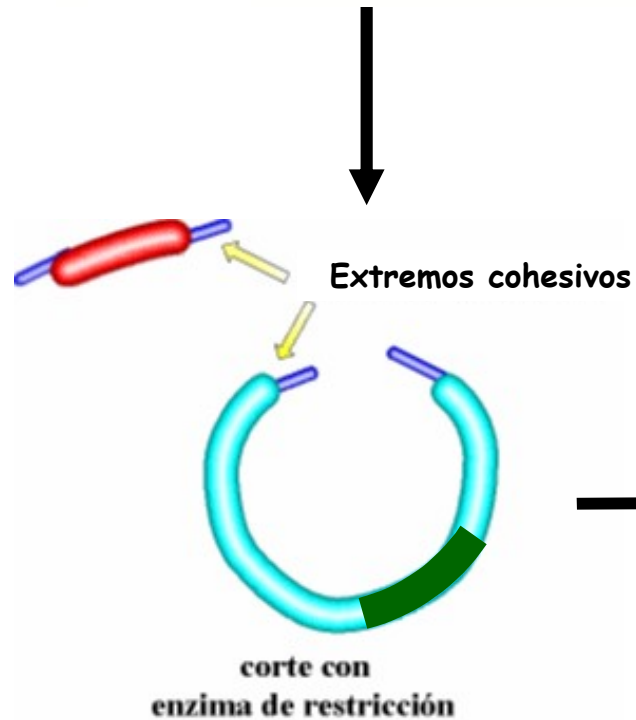
- Posúen xenes de resistencia a antibióticos, esta característica permitirá comprobar se o plásmido penetrou nunha célula ou non.

- Presentan capacidade para penetrar tamén en células eucarióticas como por exemplo lévedos e plantas.



Plásmidos. Pequeño fragmentos de ADN bacteriano que se replican independientemente do cromosoma celular

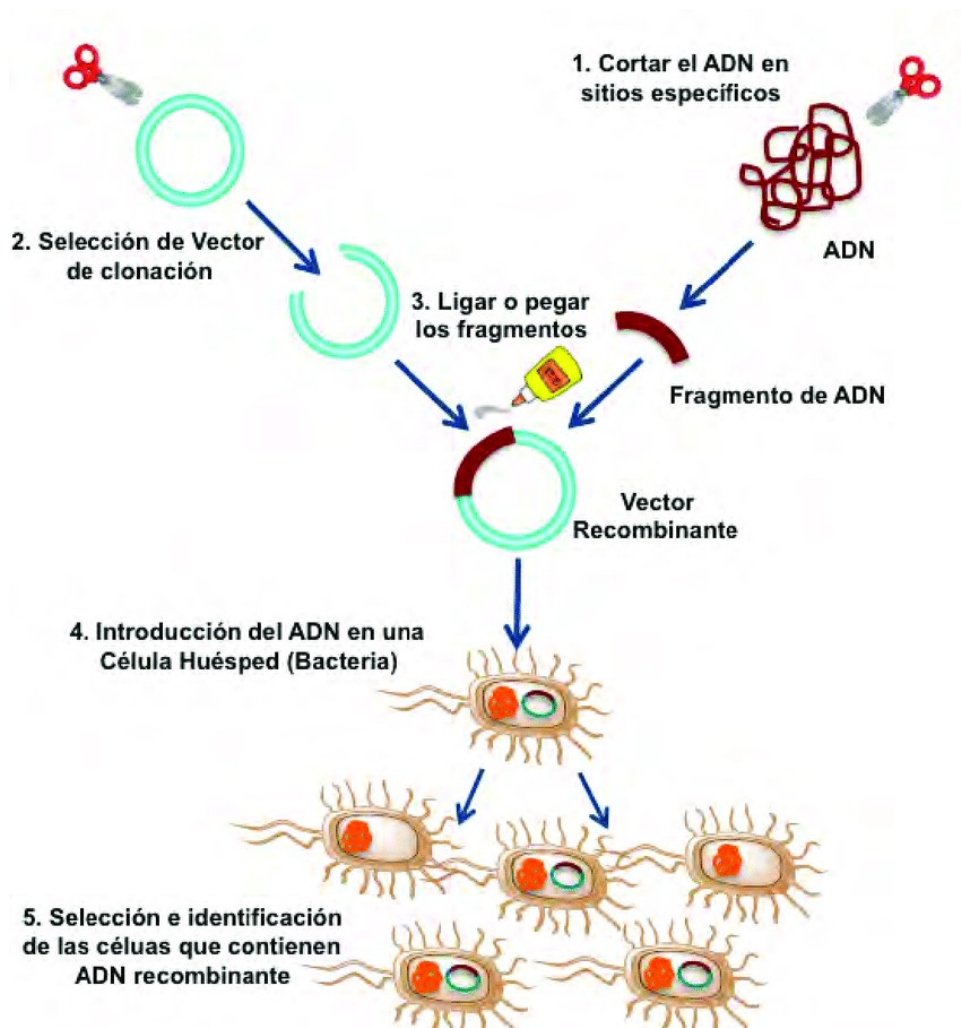
xen de resistencia a la antibióticos



unión con ADN-ligasa

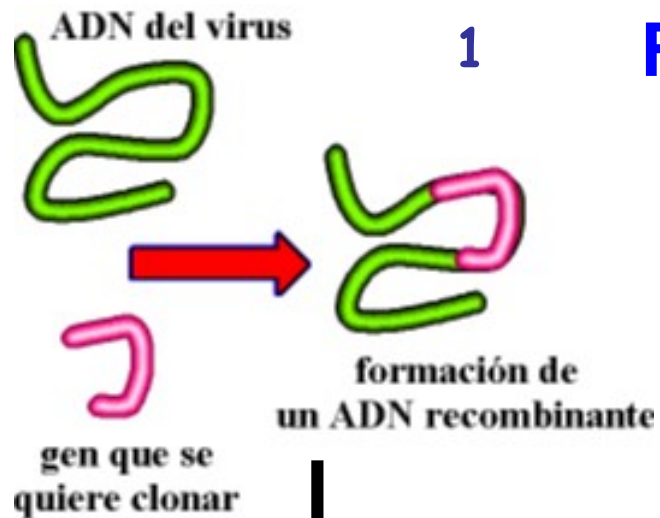
Molécula de ADN recombinante

ADN RECOMBINANTE

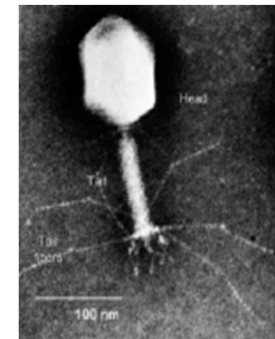
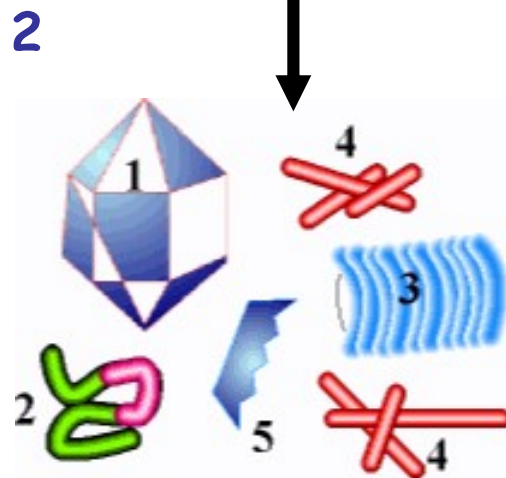


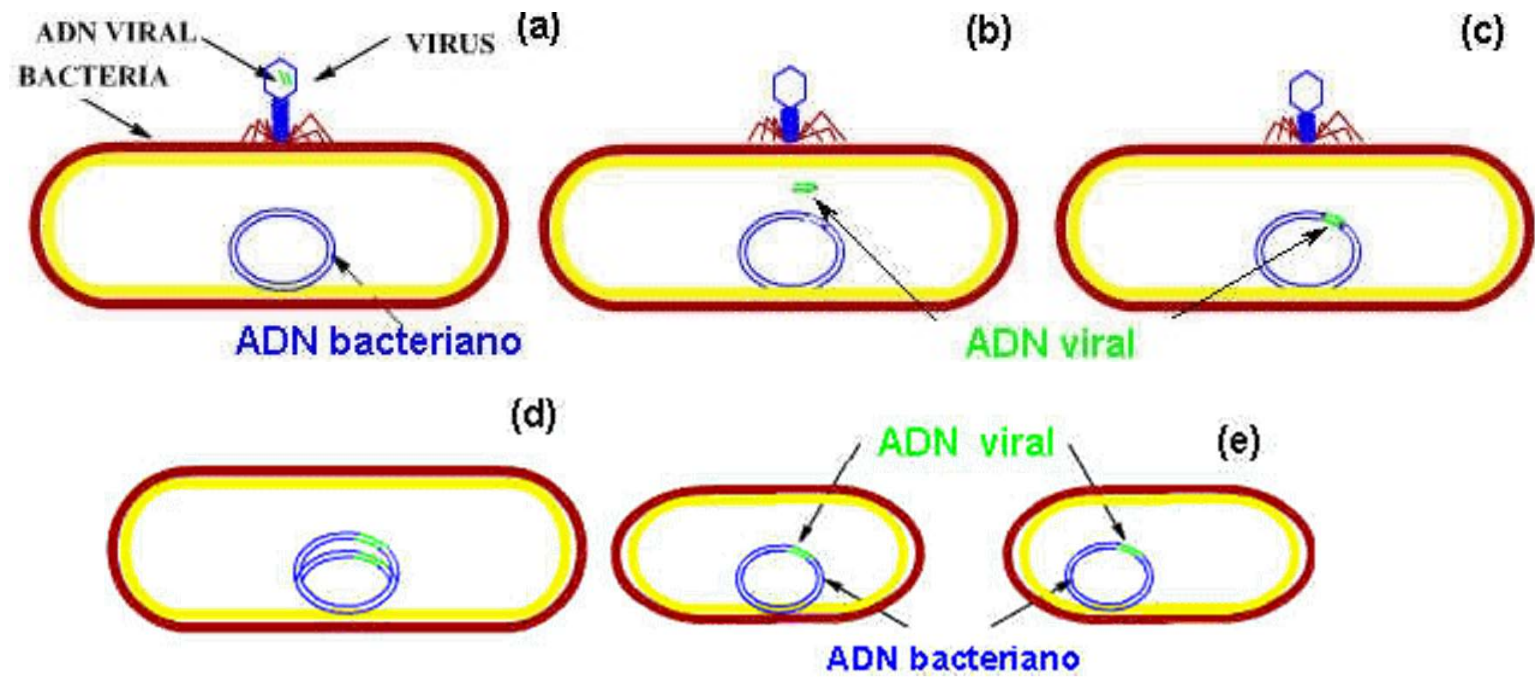
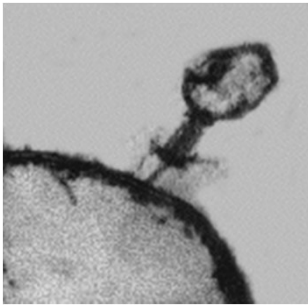
Emprégase para obtenerse na producción de proteínas como **insulina, hormona de crecimiento**, factor de coagulación. También na producción de vacinas, fármacos enzimas. Plantas e animais tranxénicos...

FAGOS /VIRUS



No caso dos **virus** modifícanse ou elimínanse os xenes virais. Ten a desvantaxe de que introducen o xene desexado en zonas indeterminadas, o que pode orixinar trastornos.





Transducción

OBTENCIÓN DE VACINAS RECOMBINANTES

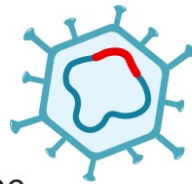
Hepatitis B, meningitis, meningocócica, rabia.

As vacinas contra a COVID (SARS-CoV 2) baséanse todas na proteína spike que se une os receptores celulares

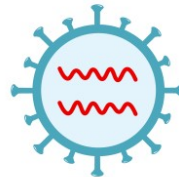
①

Vector viral

Inyecta un virus diferente y menos dañino que contiene los genes de la proteína espiga del coronavirus, para generar una respuesta inmunitaria



Incapacidad de réplica: no se puede propagar



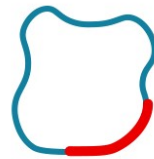
Capacidad de réplica: puede replicarse hasta cierto punto

Vacunas que usan este método: Oxford AstraZeneca, Gamaleya (SputnikV)

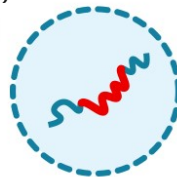
②

ARN/ADN

Inyecta parte del código genético del virus en el cuerpo, para que produzca la proteína espiga del virus, generando así una respuesta inmunitaria



ARNm (con modificaciones) o una codificación de proteínas de espiga por autoduplicación de ARN



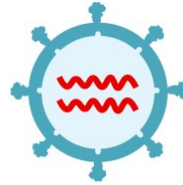
Plásmido de ADN

Vacunas usan este método: Pfizer, Moderna

③

Virus desactivado

Inyecta en el cuerpo una versión debilitada o desactivada del virus, el método tradicional de vacunación



Virus desactivado: no se puede reproducir, pero es capaz de generar una respuesta inmunitaria



Vivo atenuado: el virus sigue viable pero no puede causar enfermedad. Crece y se reproduce

Vacunas que lo usan: Sinovac/Butantan (CoronaVac), SinoPharm, Bharat Biotech (Covaxin)

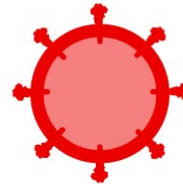
④

En base a proteínas

Inyectan solo los componentes de un virus que estimulen mejor una respuesta inmunitaria



Subunidades de proteína: usan la proteína espiga o el RBD de la célula viral



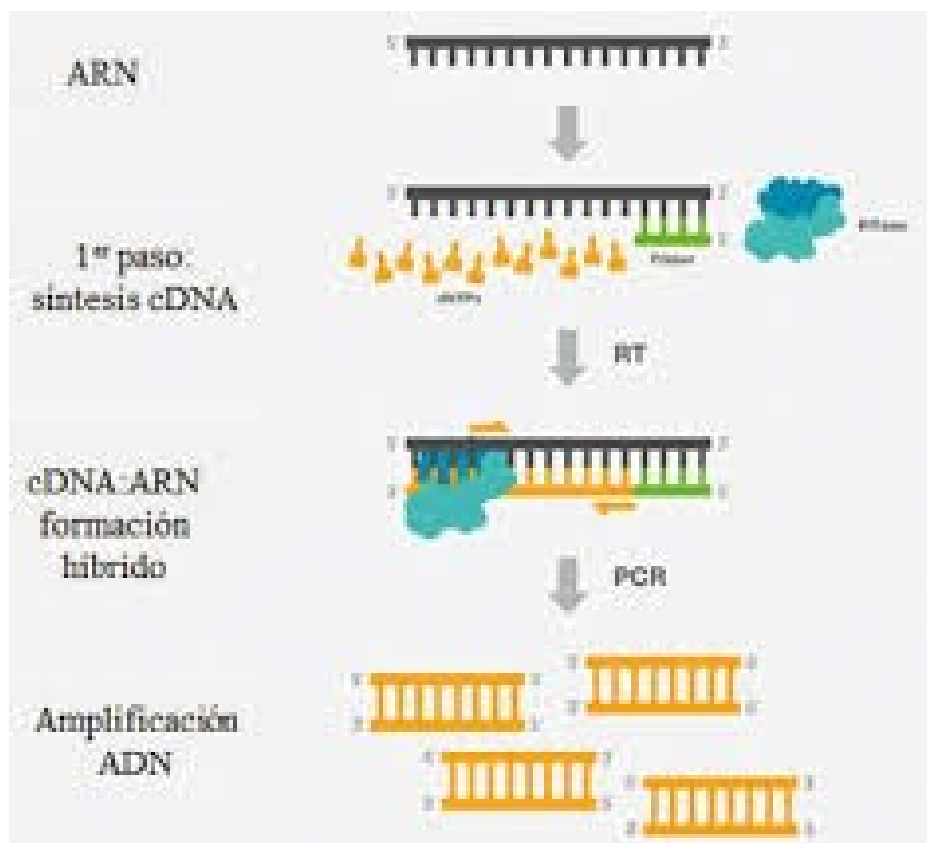
Partículas con forma viral: imitan el virus pero no tienen material genético viral

Vacunas que lo usan: Novavax, Sanofi

El sistema inmunitario del cuerpo reacciona y produce anticuerpos. Si el paciente luego se contagia de coronavirus, los anticuerpos lo combaten.

TECNOLOXÍA DO ADN_c COMPLEMENTARIO

Prodúcese unha molécula de ADN a partir do ARN grazas a **transcriptase inversa o reversotranscriptase**, un enzima presente nos retrovirus.



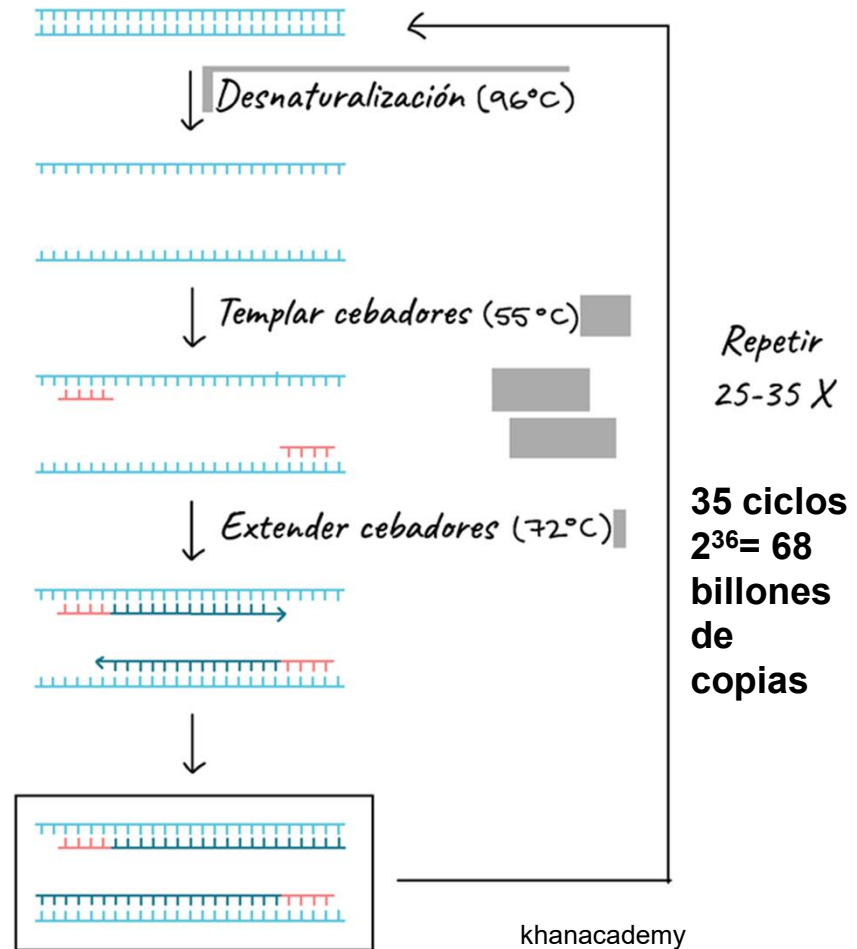
Ten moita importancia en células eucarióticas porque o ADN destas células ten segmentos que non codifican proteínas (intróns) e que se eliminan durante o proceso de maduración do ARNm. Polo tanto a utilización do ARNm para illar un xen presenta a vantaxe de non obter intróns que si están presentes no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

PCR (*reacción en cadea da polimerase*)

Obtéñense múltiples copias dunha molécula de ADN por repetición dun ciclo formado por tres etapas: desnaturalización, temperado e extensión

Depende de una ADN polimerasa termoestable (Taq polimerase) obtida dunha bacteria termófila (*Thermus aquaticus*).

Engádense cebadores complementarios á molécula a copiar.

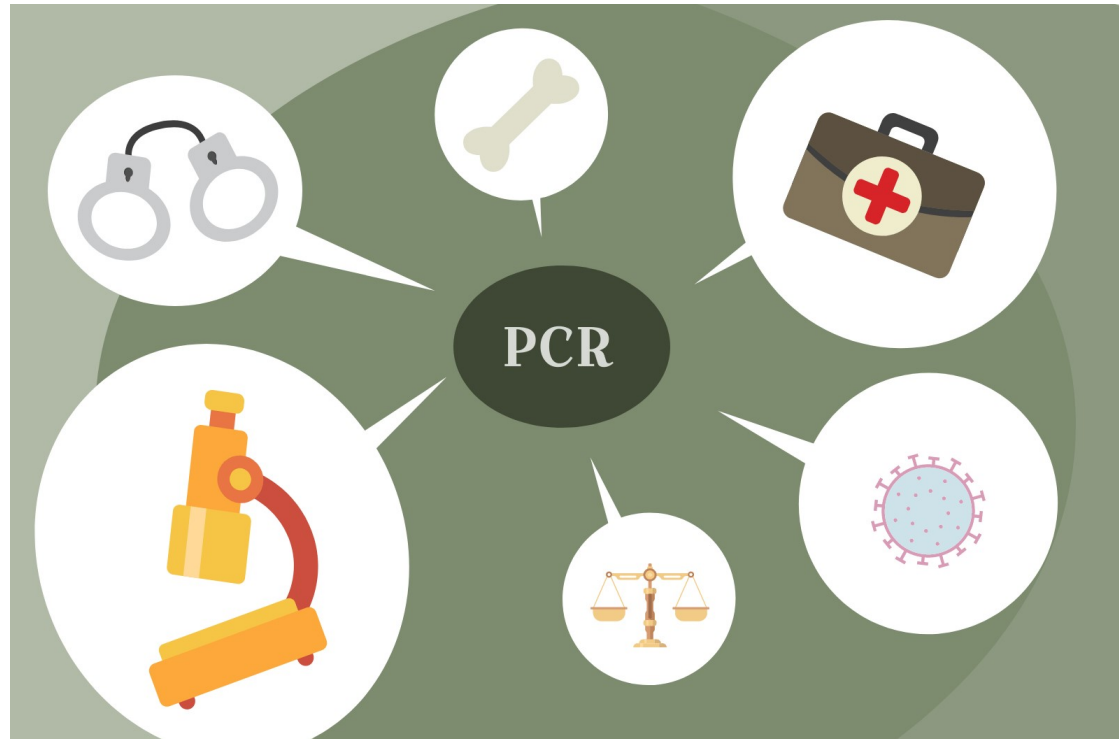


Resultado después de un ciclo
de moléculas de ADN duplicado

PCR aplicacións

Permite obter múltiples copias a partir dunha pequena mostra de ADN:

- Obtención da pegada xenética do ADN en medicina legal, probas de paternidade...
- Amplificacións de ADN para estudos evolutivos ou paleontolóxicos.
- Detección de ADN para probas de diagnóstico, por exemplo, detección de virus en fases iniciais da infección.

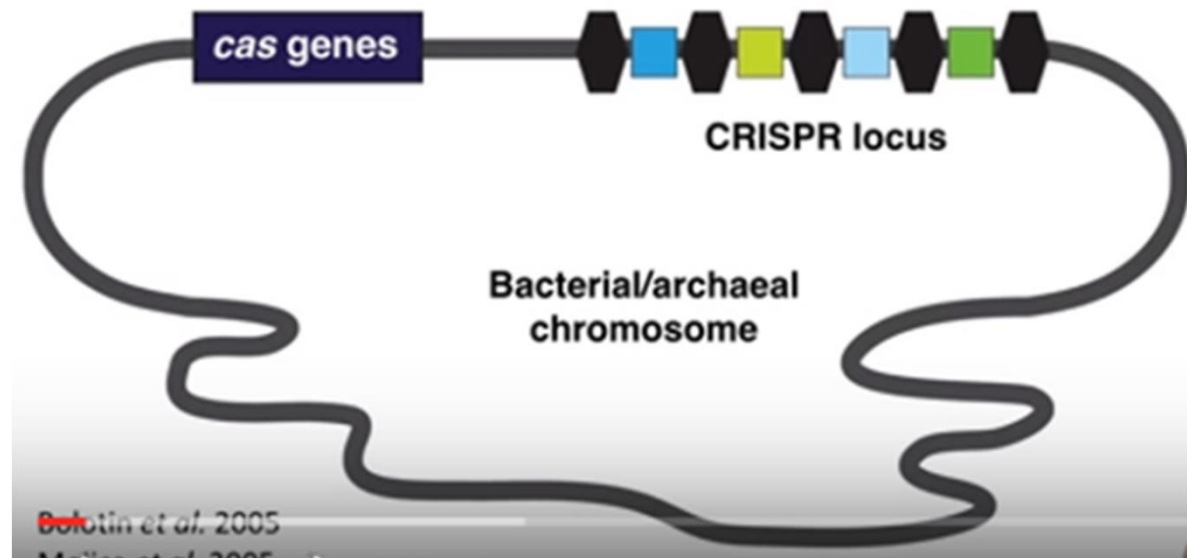


CRISPR/Cas9

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats.
Repeticións palindrómicas curtas agrupadas e regularmente espazadas

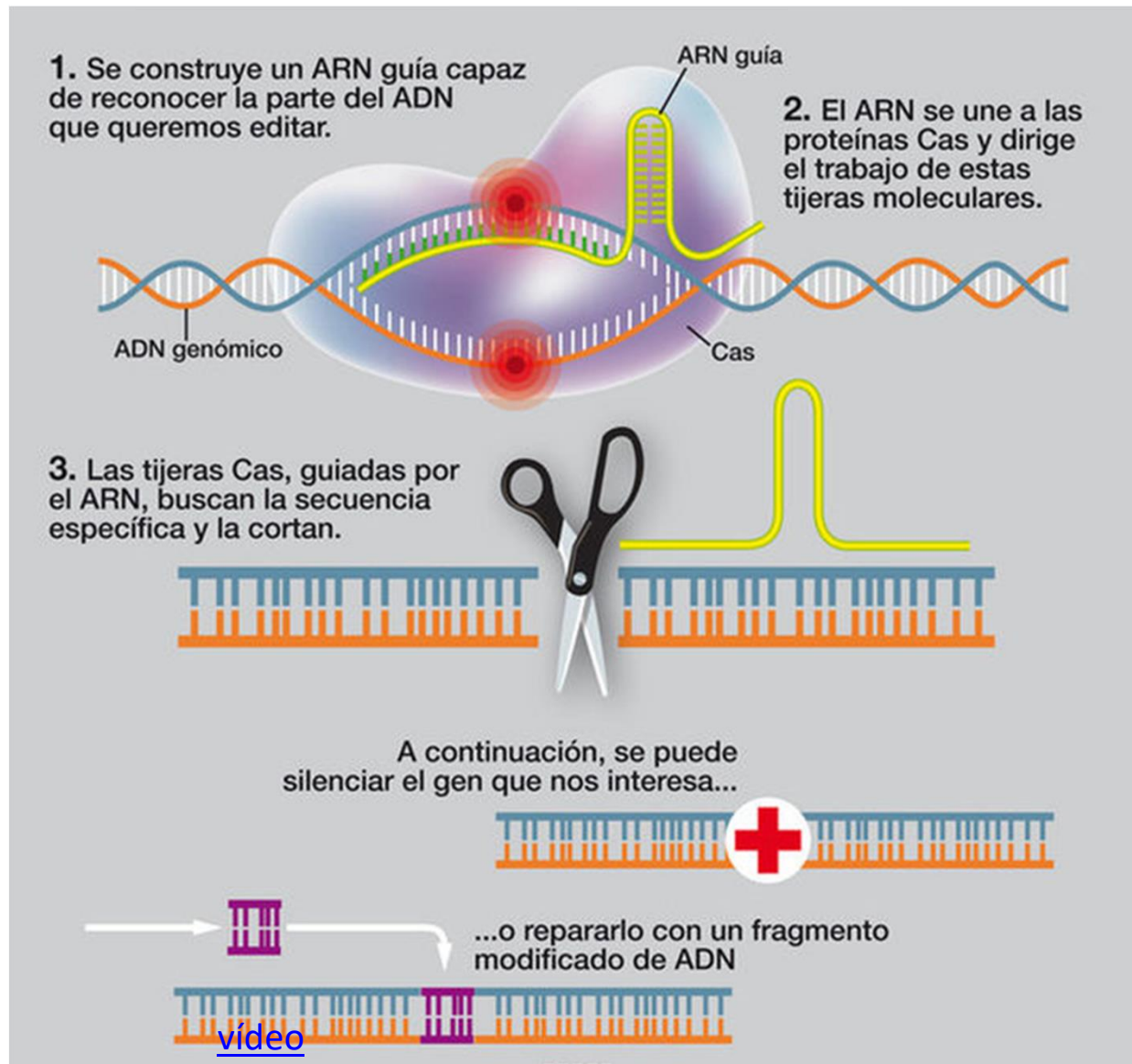
CRISPRs: Hallmarks of acquired immunity in bacteria

Clusters of Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
(CRISPRs)



Atopado en *bacterias* (Francis Mojica) como resistencia contra fagos

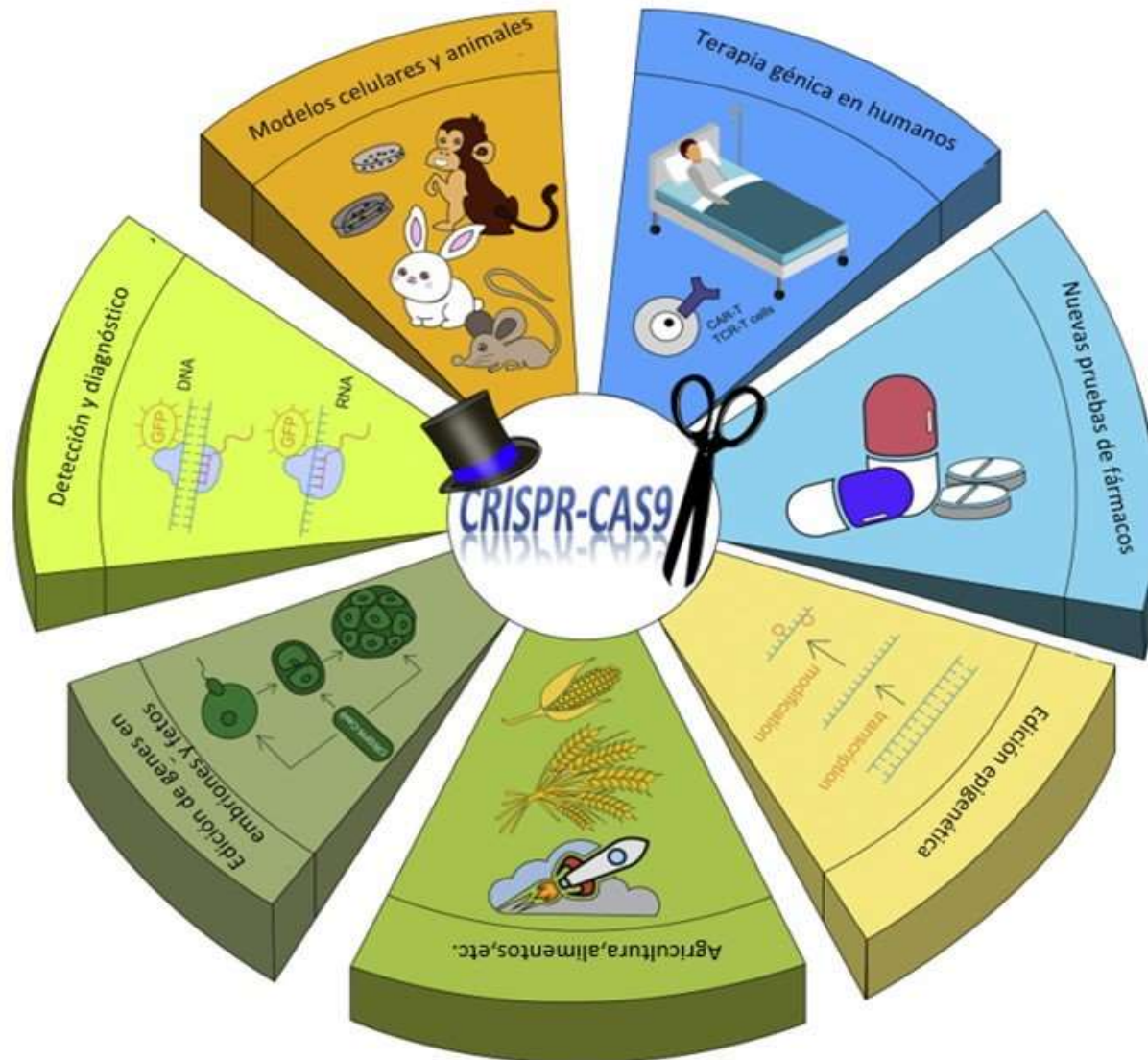
CRISPR/Cas9



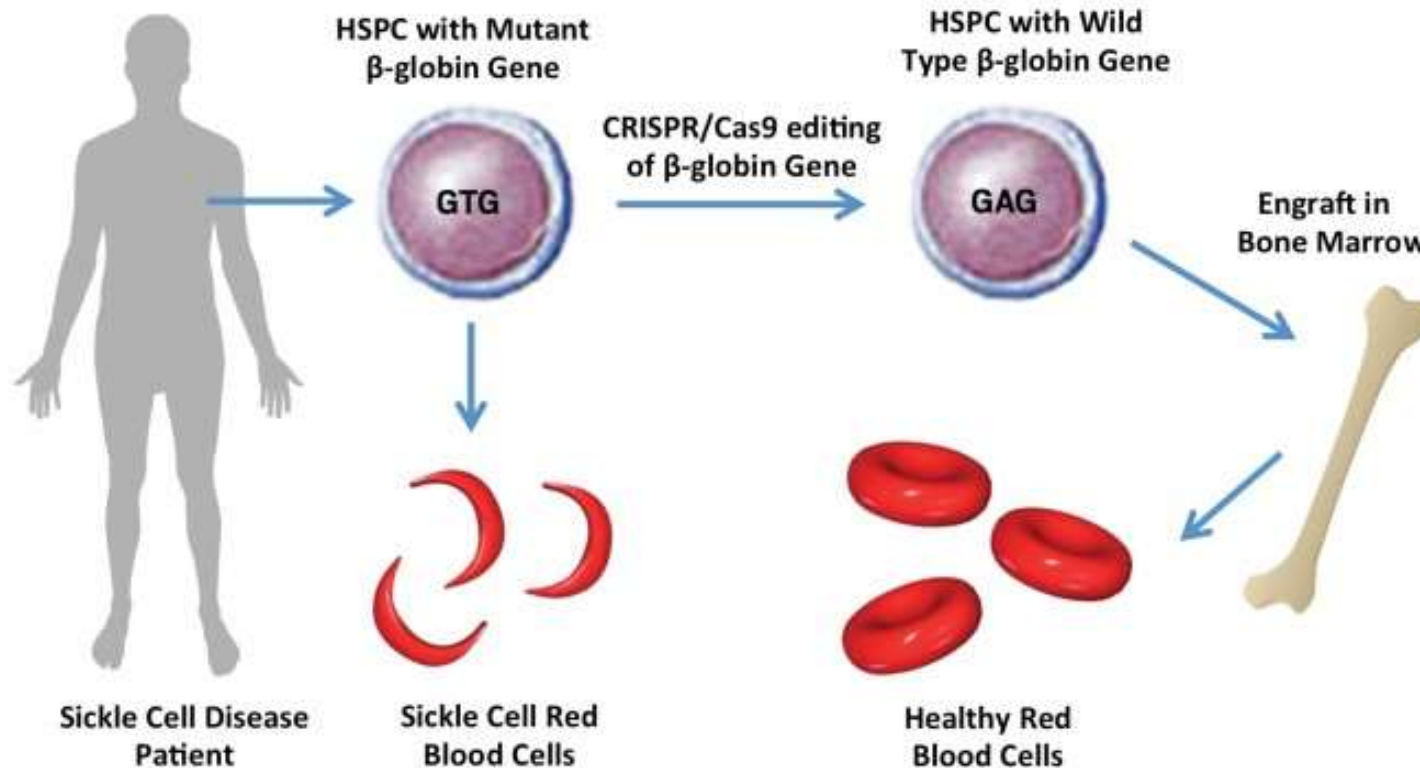
- Permite **editar**, é decir, modificar a secuencia de ADN de calquera célula de xeito rápido e preciso.
- Método simple.
- Coste moderado, accesible a cualquiera laboratorio xenético

E. Charpentier (francesa) y J. Doudna (USA). Premio Nobel Química 2020

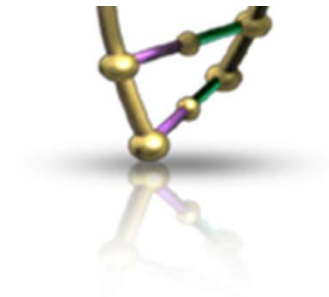
Aplicaciones CRISPR/Cas9



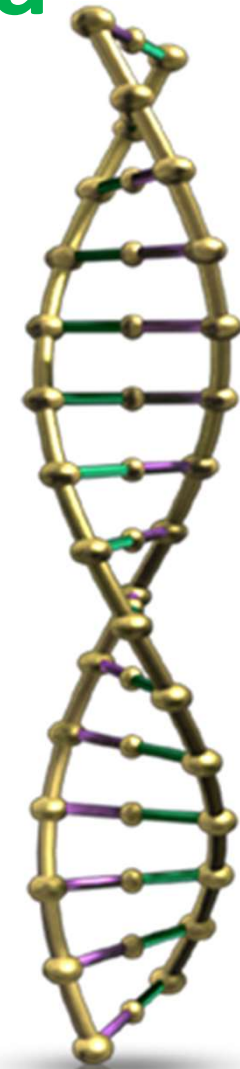
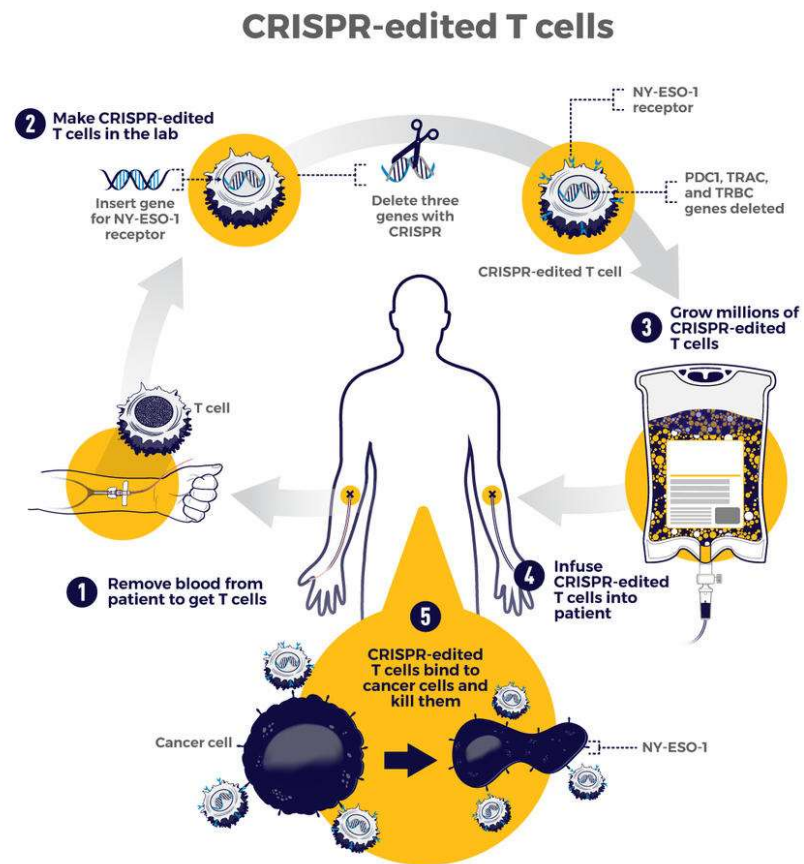
Enfermedades xenéticas



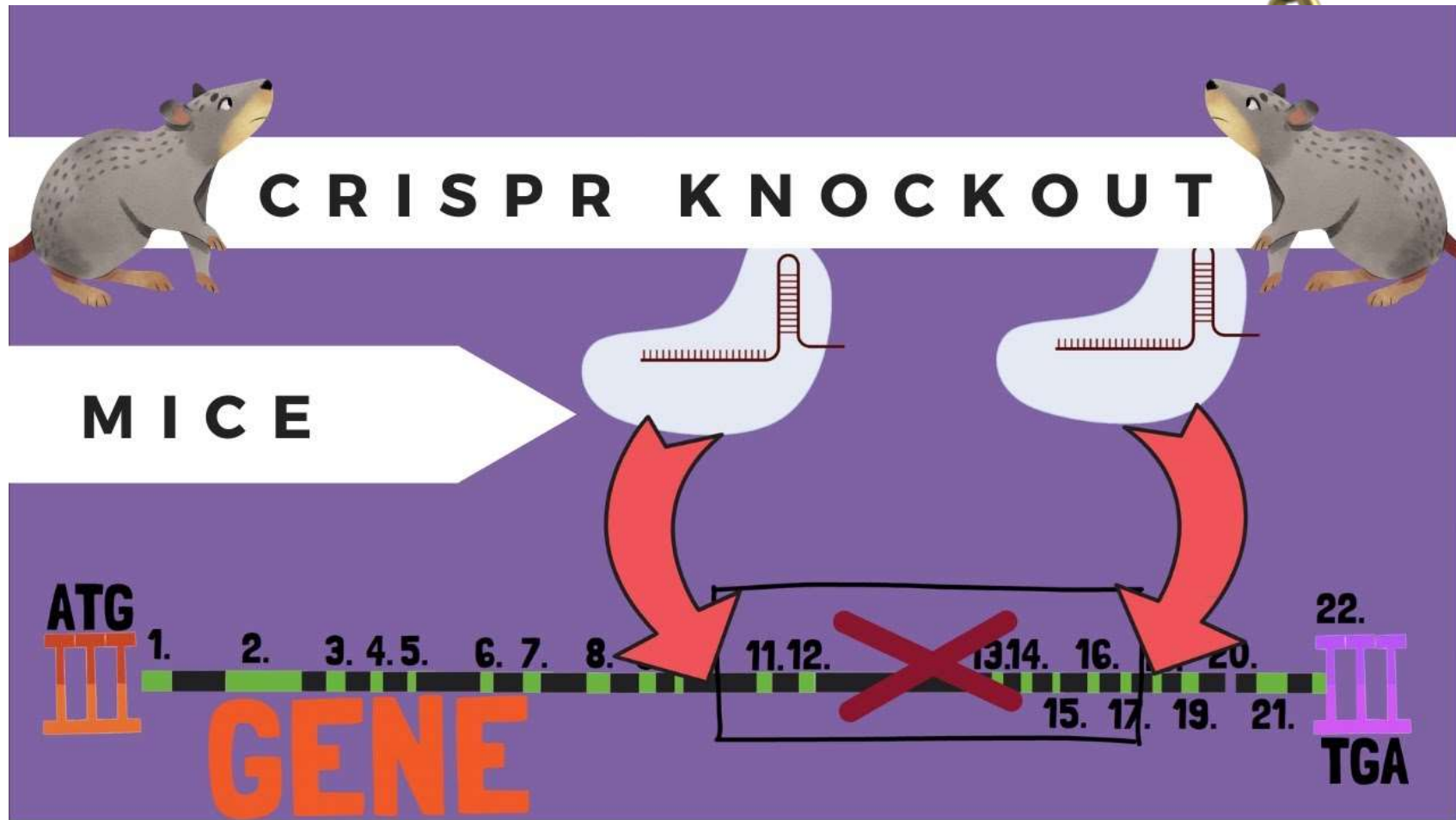
Enfermedades monoxénicas.
Células sanguíneas: **anemia falciforme**



Cancro . Immunoterapia



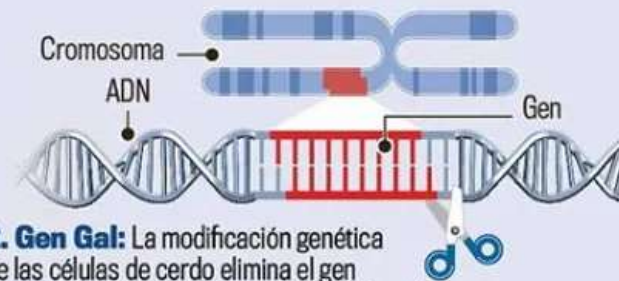
Xerar modelos animais



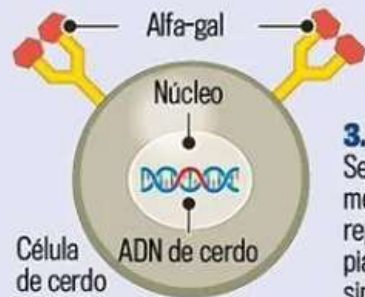
Trasplante de riñón de cerdo a un humano

Por primera vez se ha trasplantado un riñón de un cerdo modificado genéticamente a un humano sin desencadenar rechazo hiperagudo del sistema inmunológico del receptor

1. Células de cerdo: En la superficie de las células se presenta un grupo ramificado de azúcares llamado alfa-gal, que desencadena un rechazo inmediato en el cuerpo humano

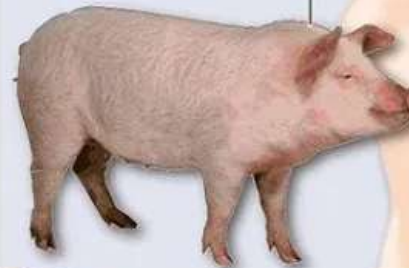


2. Gen Gal: La modificación genética de las células de cerdo elimina el gen que produce la cadena de azúcares alfa-gal



3. Clonación: Se usa ADN modificado para reproducir una copia de cerdo sin el gen Ga

4. Gen humano: Se agrega a las células de cerdo para producir una proteína llamada CD46, que modera la acción del sistema inmunológico del paciente

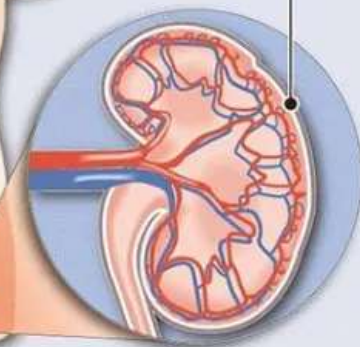


Paciente con signos de insuficiencia renal



5. Trasplante:

El riñón se fija a los vasos sanguíneos en la parte superior de la pierna del paciente, pero se mantiene afuera del cuerpo



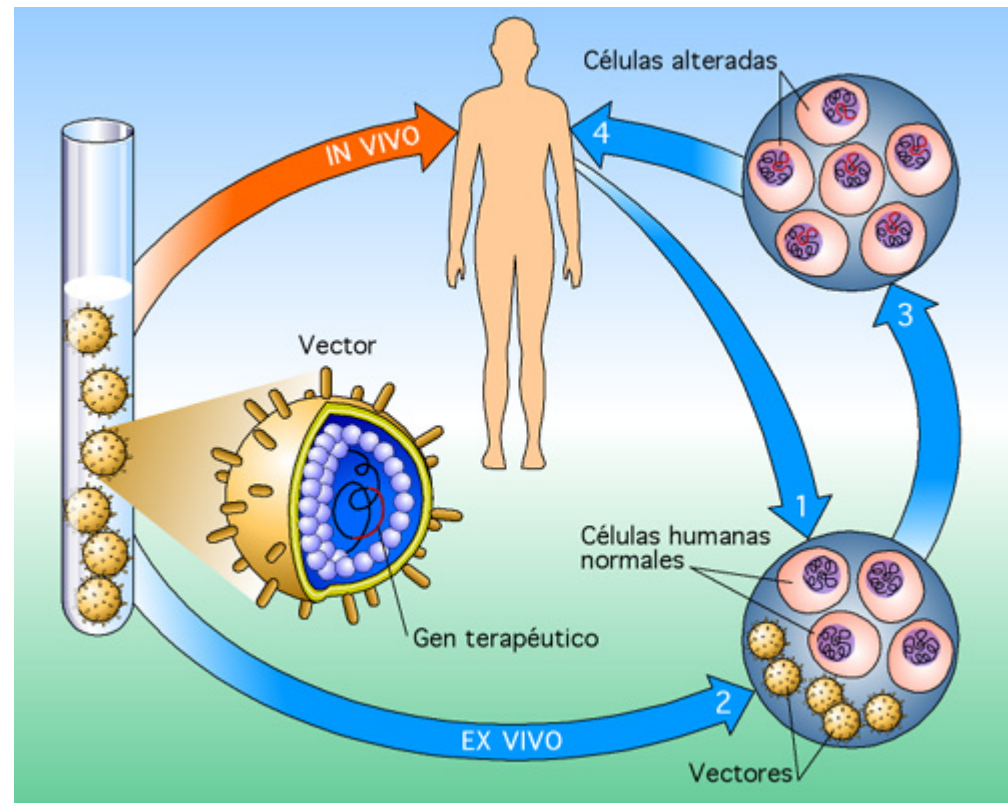
Pruebas diagnósticas
OGM

APLICACIONES DA BIOTECNOLOXÍA



A TERAPIA XÉNICA.

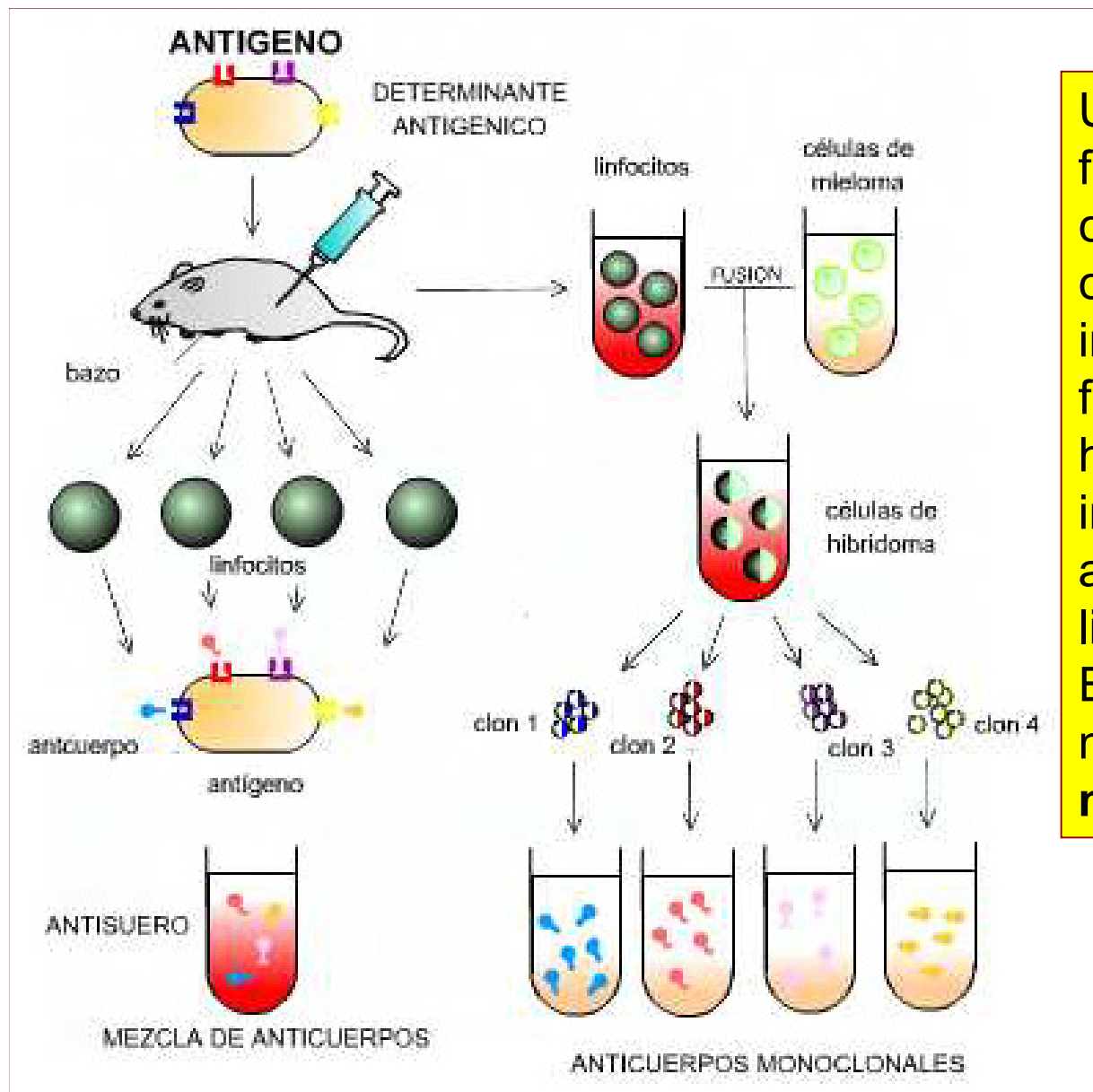
Tratamento médico que consiste en manipular a información xenética de células enfermas para correxir un defecto xenético ou para outras alteracións como o cancro



OBTENCIÓN DE ANTICORPOS MONOCLONAIS

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

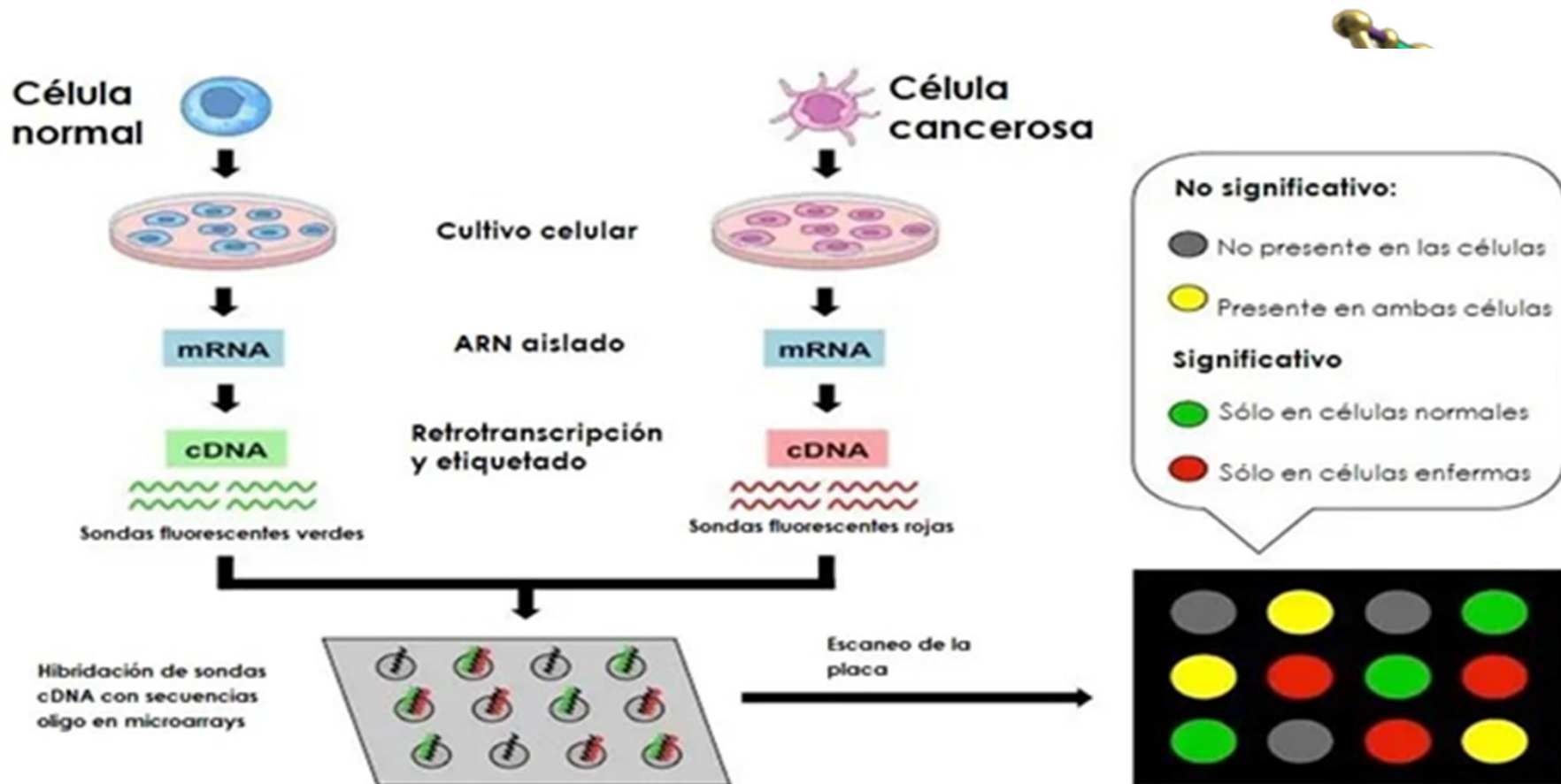
A técnica dos anticorpos monoclonais permite obter gran cantidade e consiste en inmortalizar as células responsables da súa fabricación, as células plasmáticas. A forma de conseguilo é **hibridando células plasmáticas e células tumorais** con capacidade para multiplicarse indefinidamente (células de mielomas), o resultado son células híbridas chamadas **hibridomas** que se poden clonar. Cada clon, procedente dun só hibridoma, producirá un [anticorpo monoclonal](#).



Un **hibridoma** resulta da fusión dun linfocito cunha célula tumoral que pode crecer e dividirse indefinidamente e que é fácil de cultivar. Os hibridomas conservan a información para fabricar os anticorpos que tiñan os linfocitos de partida. Estes anticorpos reciben o nome de **anticorpos monoclonais**

Os anticorpos monoclonais utilízanse terapéuticamente en casos de cancro e outras enfermidades e con fins diagnósticos para detectar hepatitis, enfermidades de transmisión sexual, etc.

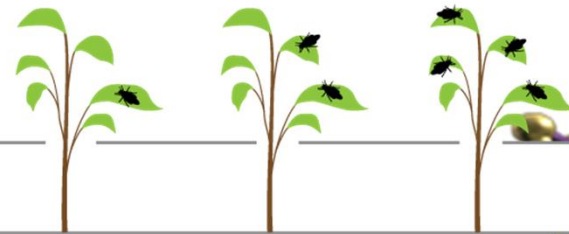
Biochips de ADN



Diagnóstico. Medicina personalizada.
Probos forenses

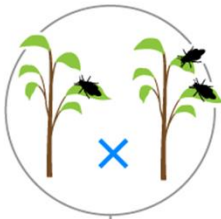
Goal: Make pest-resistant plants

Researchers start with a variety of 'wild-type' plants with various levels of pest resistance.

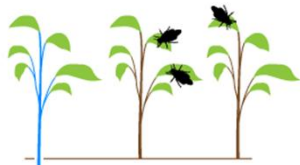


Four possible techniques

1 Selective breeding



Propagation of naturally occurring variants

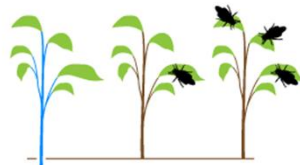


...A—TGCTATC...

2 Mutagenesis

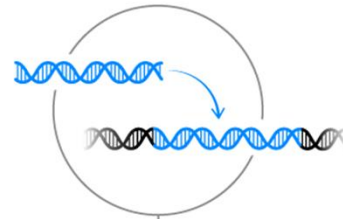


Random changes to DNA

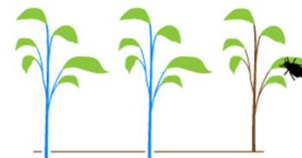


...ATTGCTATG...

3 Transgenic technologies

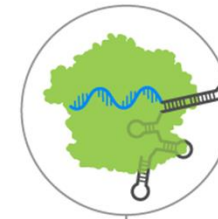


Insertion of large, foreign sequence at a random location in the genome

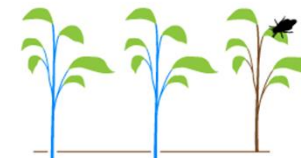


...CAATTGTAA...

4 CRISPR genome editing



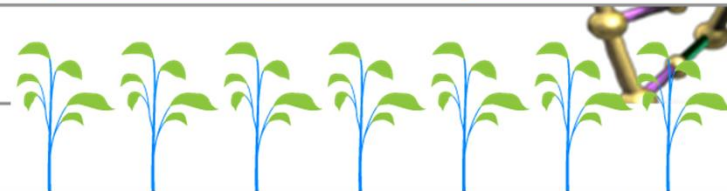
Precise changes to DNA at specific locations in the genome

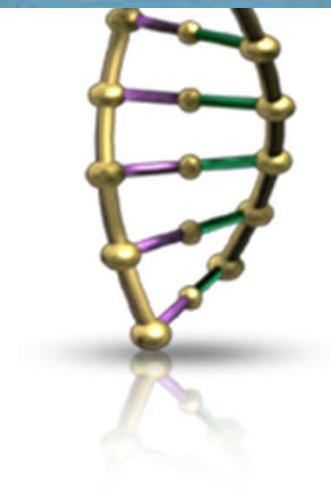


...ATTGCTATC...

Continue growing only the resistant plants

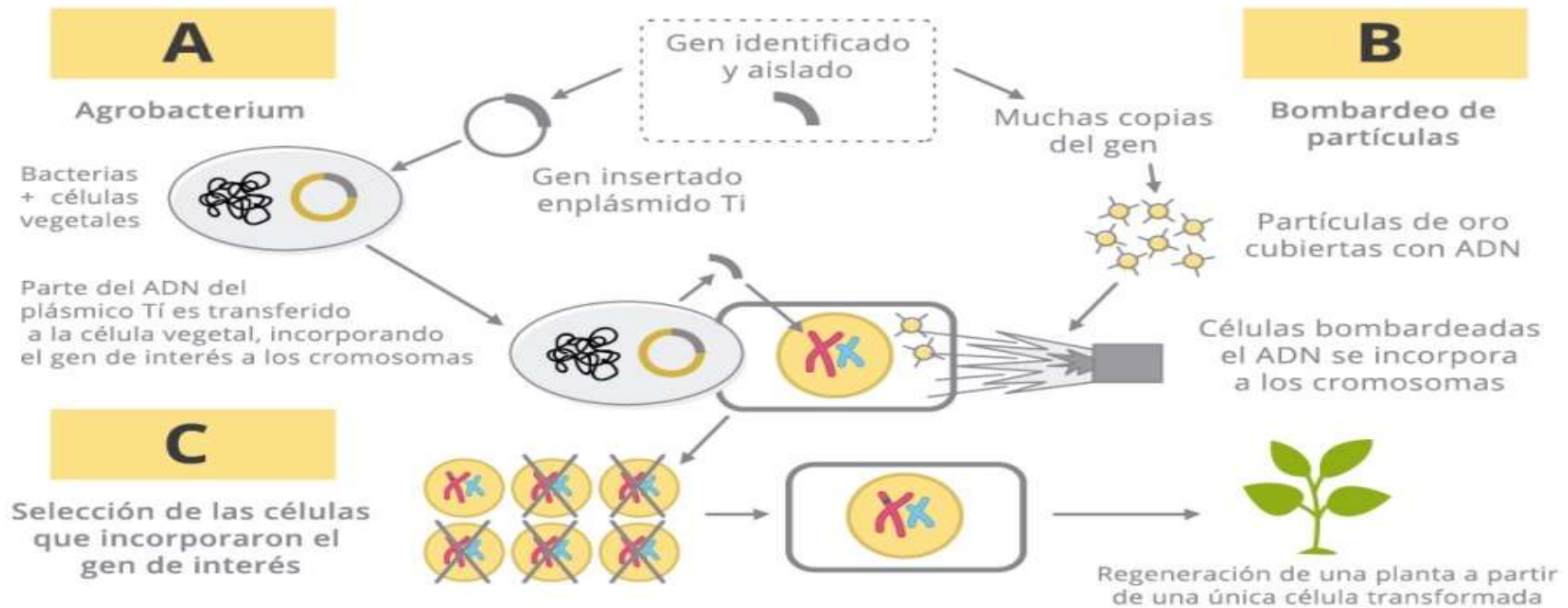
Ultimately, all techniques result in a plant that is resistant to pests, but genome editing gets there quicker, using fewer plants.





PLANTAS TRANSXÉNICAS

Obtención de una planta transgénica



- **vector** .*Agrobacterium tumefaciens*, biobalística
- xenes de interese
- **marcadores de selección**
- células vexetais **totipotentes**,



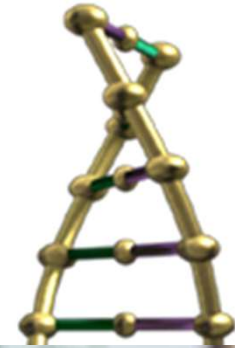
APLICACIÓNS DAS PLANTAS TRANSXÉNICAS

- Resistencia a herbicidas, a insectos e a enfermidades microbianas.
- Mellora na calidade dos produtos agrícolas O arroz dourado incorpora carotenos precursores da vitamina A . A vitamina A é indispensable durante o embarazo para previr a morbilidad, a mortalidad e a ceguera nocturna.
- Síntese de produtos de interese comercial Existen xa plantas transgénicas que producen anticorpos animais, interferón, e ata elementos dun poliéster destinado á fabricación de plásticos biodegradables.



BIOTECNOLOGÍA GANDEIRA

- Inseminación artificial, transferencia de embríons, fecundación in vitro, antibióticos, vacinas...
Eliminación peste bovina



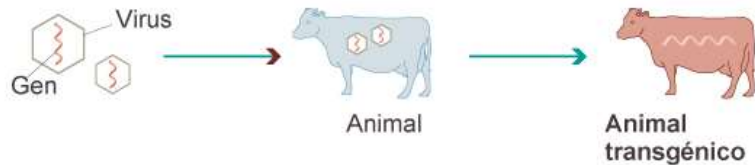
APLICACIONES DOS ANIMAIS TRANSXÉNICOS

ANIMALES TRANSXÉNICOS

► CÓMO SE CREAN

Se inyecta un virus con el gen que se quiere incorporar al animal

El virus introduce el gen en las células del animal



► PARA QUÉ SIRVEN

Animales de mayor tamaño

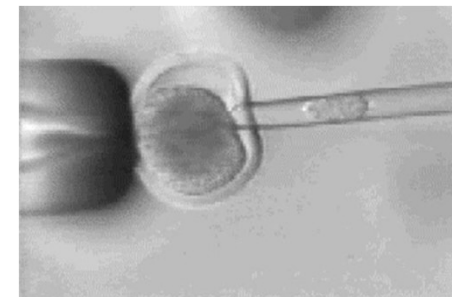
Animales más protegidos frente a enfermedades

Producción de leche con productos beneficiosos



- Animais para o estudo de enfermidades en laboratorio. Para estudar as vacinas para a COVID empregáronse ratos con receptores celulares humanos para o virus
- Obtención de proteínas humanas: proteína anticoagulante.
- Órganos animais modificados para xenotransplantes

- Mellora na produción animal.: Salmóns transxénicos. Resisten millor as temperaturas moi baixas. introduceuse un xene dunha especie de platixa do ártico



TRANSXÉNICOS

VANTAGES

Aumento da produção. Redução da **fome** no mundo.

Meioambiente. reduzir uso de pesticidas, herbicidas.

Saúde dos consumidores. maior quantidade de micronutrientes.

DESADVANTAGES

Saúde humana. alergias ou toxicidade ou cambios xenéticos inesperados .

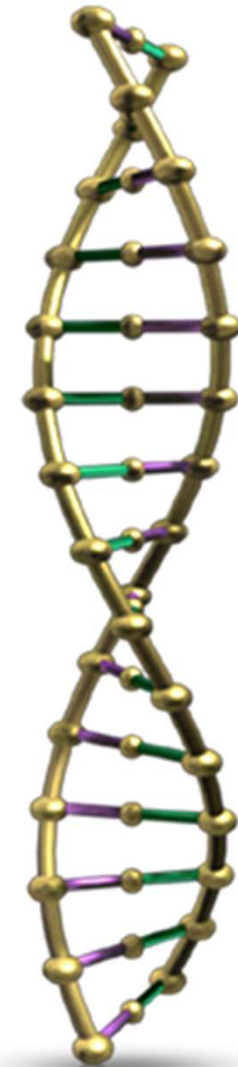
carencias nutritivas

Meio ambiente: transferencia de xenes a especies silvestres.

perda de biodiversidade

resistencia as pragas.

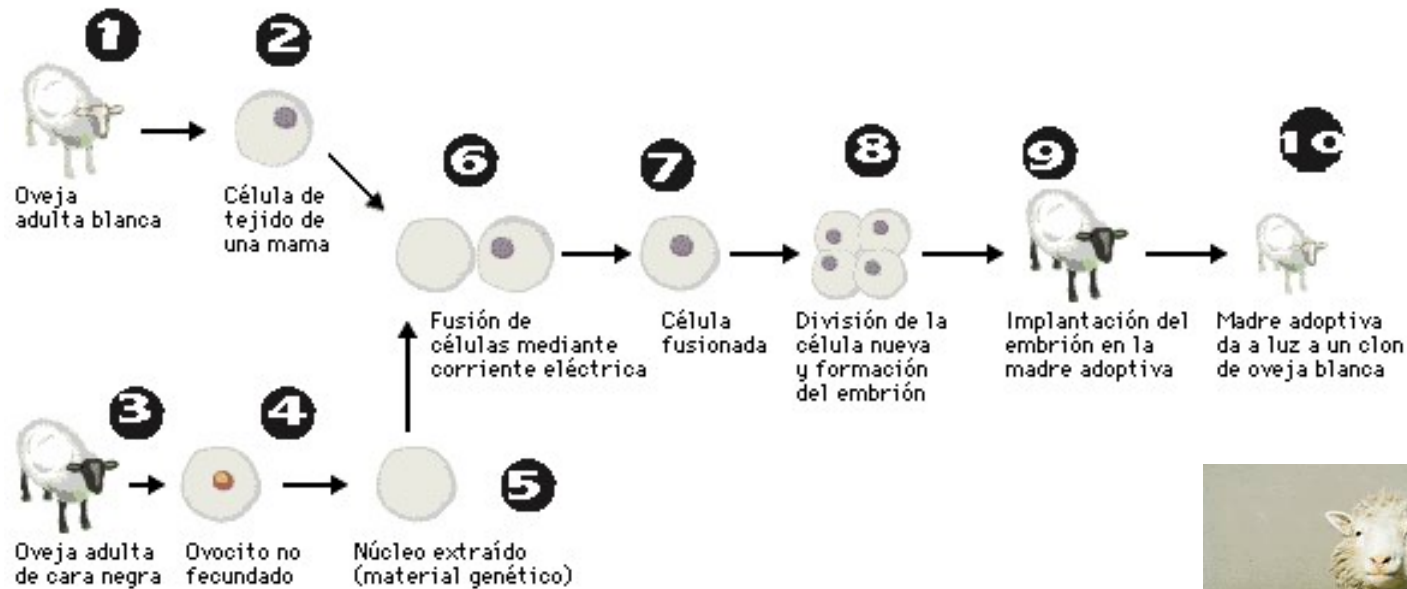
Control corporativo:



CLONACIÓN DE ANIMAIS

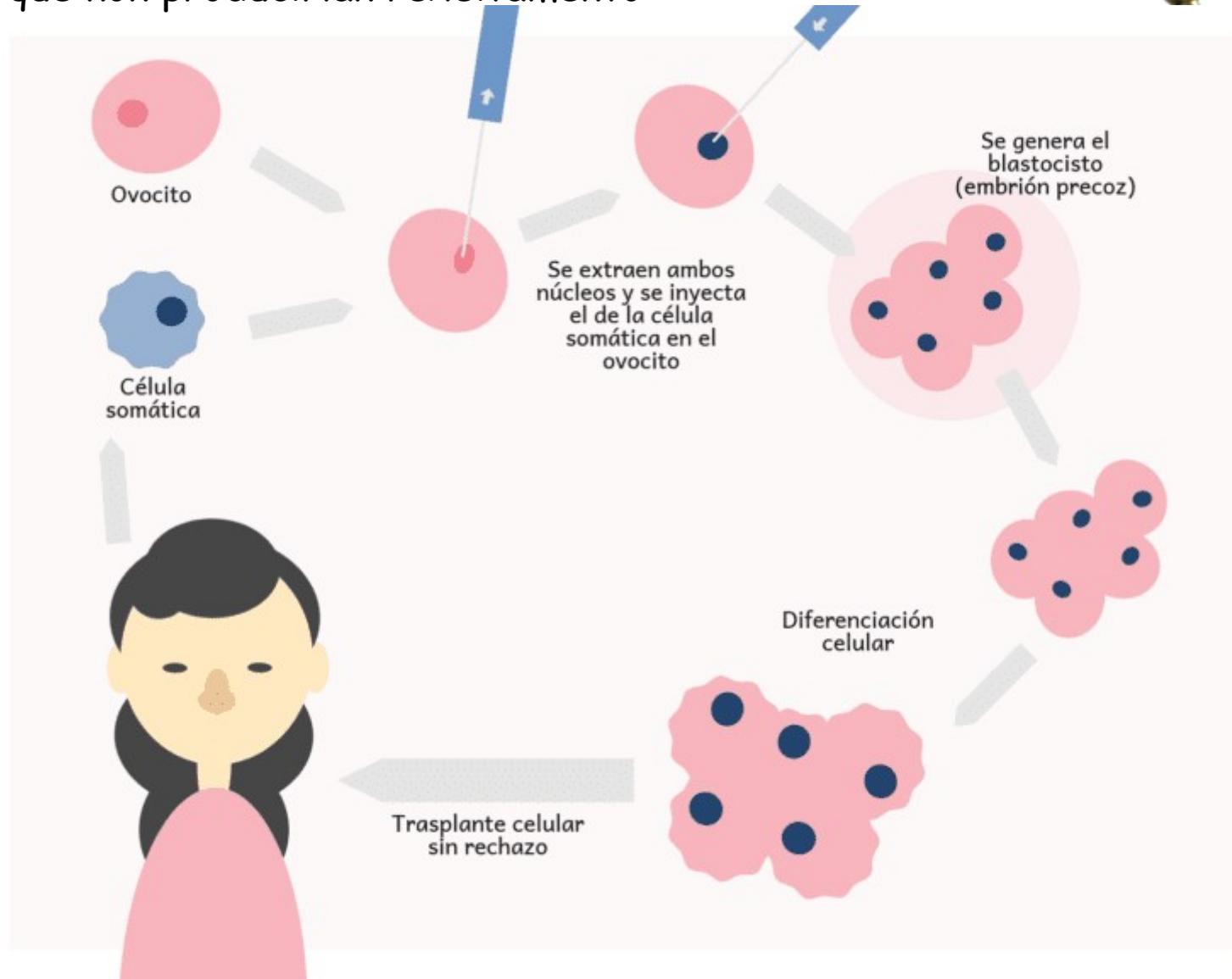
Clonación reproductiva

Pódense clonar animais previamente modificados xeneticamente para obter fármacos, investigación, xenotransplantes...



Clonación Terapéutica

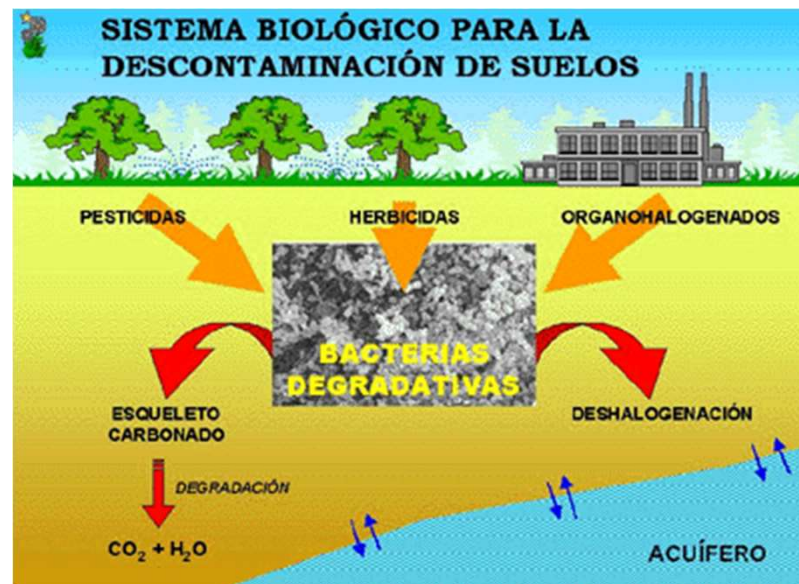
O obxectivo é obter células nai, tecidos ou órganos para transplantes que non producirían rexeitamento



OUTRAS APLICACIONES

biorremediación consiste en recuperar el medio ambiente contaminado mediante la Biotecnología

Hai bacterias diseñadas para tratar las aguas residuales, captar metales pesados, disminuir la contaminación de las mareas negras



CONCEPTO DE XENÓMICA E PROTEÓMICA.

O **xenoma** é o conxunto de material xenético dun organismo ou unha especie. A **xenómica** é o estudo deste material xenético: secuenciar o ADN, determinar os xenes, establecer as súas funcións

O **proteoma** é o conxunto de proteínas expressadas nunha célula, organismo ou especie. Varia segundo el momento (tempo) e estado da células. A **proteómica** é o estudo do proteoma, estrutura, función, comportamento, interaccións. Actualmente está acadando un gran desenvolvemento grazas a o avance dos sistemas bioinformáticos.



PROXECTO XENOMA HUMANO

O Proxecto Xenoma Humano foi un proxecto internacional que comezou en 1990 nos Estados Unidos co propósito de descodificar un xenoma humano completo.

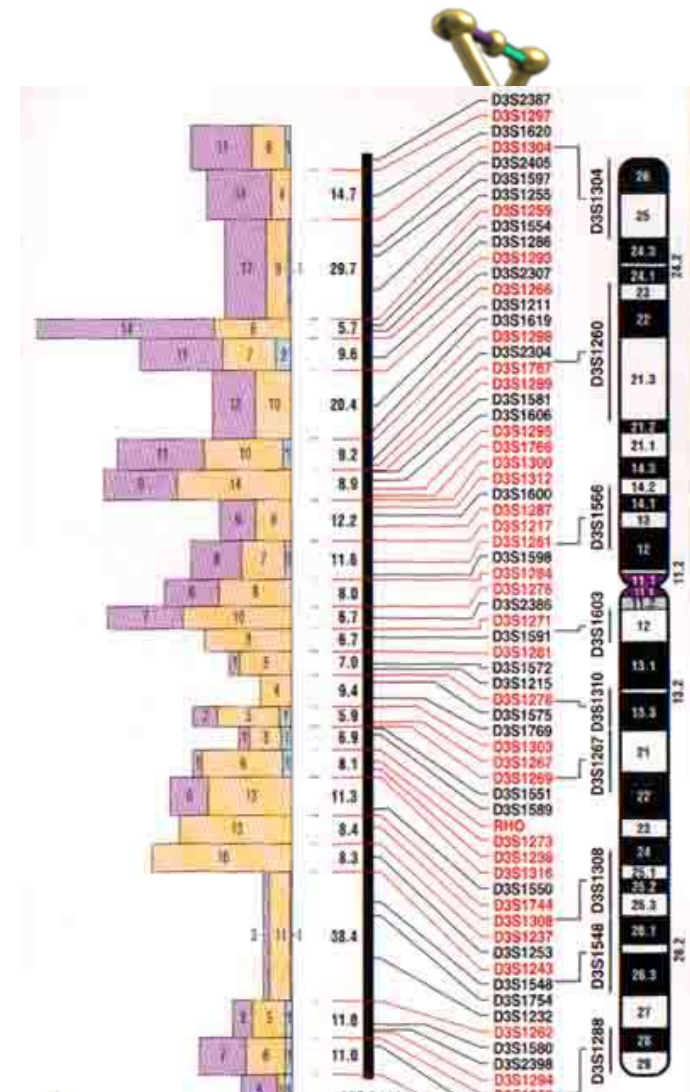
Participaron organismos públicos e privados (Celera Genomics)

Publicado en Febreiro de 2001: o Xenoma humano foi descifrado nos seus partes esenciais aínda que o secuenciación completa realizouse en 2003

Co Proxecto Xenoma chegouse a un acordo internacional para compartir os descubrimentos rápida e gratuitamente con toda a comunidade científica



- O Xenoma humano consta de **25-30.000 xenes** (3.200 millóns de pares de bases), fronte aos 100.000 calculados, o número de xenes é relativamente baixo.
- O 99,9% son iguais en todas as persoas, e nun 98% idéntico ao de chimpancés. As **diferenzas** con outras especies son menos do esperado.
- O 90% do xenoma non ten **función** coñecida
Só unha pequena parte codifica proteínas ou ARN
- Cada **xene** pode codificar unhas 5 **proteínas** diferentes, grazas o procesamiento alternativo del ARNm (exóns-intróns)



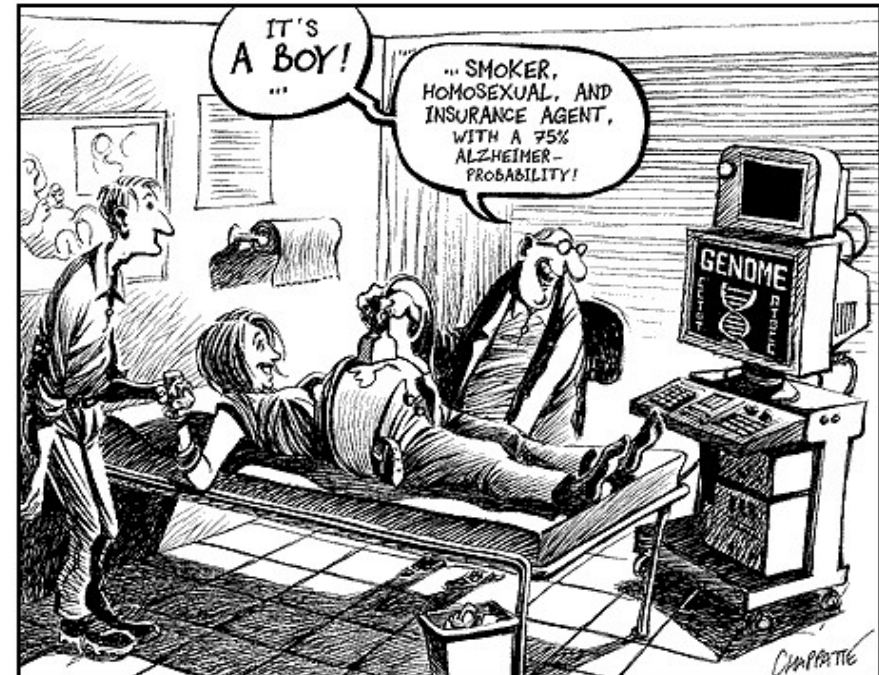
3

Cromosoma nº3

INXEÑERÍA XENÉTICA E BIOÉTICA

Os avances no coñecemento e a manipulación de xenes plantea múltiples cuestións éticas:

- É seguro alterar os xenes das persoas?; Podemos crear fillos a carta?; Pódese empregar a nosa información xenética?
- Co Proxecto Xenoma creouse un debate da posibilidade de patentar xenes, actualmente o Xenoma Humano está declarado Patrimonio da Humanidade.



- Non se poden patentar xenes, pero si os xenes modificados

Riscos Biosanitarios:

Os transxénicos poderían ser perxudiciais para a saúde.
Poderíanse crear novas epidemias.

Riscos ecolóxicos. Os novos organismos poderían introducirse no medio natural e modificalo

109 nobeles acusan a Greenpeace de “crimen contra la humanidad” por los transgénicos

Los laureados arremeten contra la organización ecologista por su rechazo a "los organismos modificados genéticamente en general y el arroz dorado en particular". El País. Julio-2016

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

Que nos ensina a historia?

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

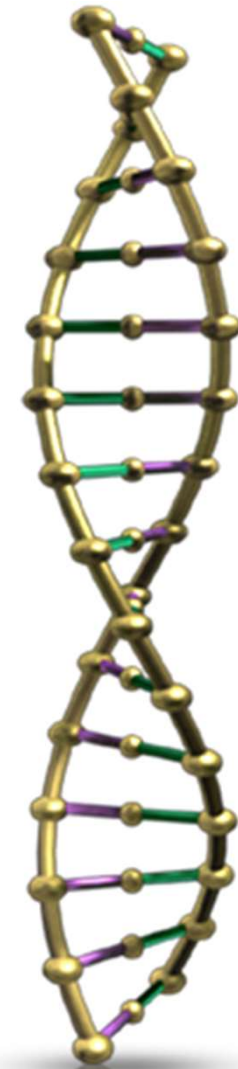
A isto deu resposta o **Comité Internacional de Bioética da Unesco** fixando os seguintes obxectivos:

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

EL PAÍS. (15-12-2023)

La agencia europea recomienda autorizar el primer tratamiento de edición genética con CRISPR

La revolucionaria terapia Casgevy es eficaz contra dos enfermedades potencialmente letales: la anemia de células falciformes y la beta talasemia

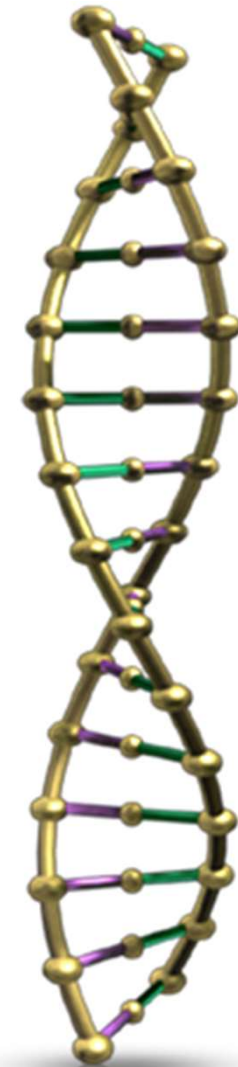


EL PAÍS (11-3-23)

La mujer curada con edición genética: “Mis supercélulas me han cambiado la vida”

El caso de la estadounidense Victoria Gray muestra la esperanza de las nuevas terapias con CRISPR, pero también los problemas: costarán unos 2,8 millones de euros

Hace más de cuatro años, la estadounidense Victoria Gray recibió una llamada telefónica que le cambió la vida. Era su hematólogo, que le ofrecía entrar en un ensayo clínico con un medicamento experimental. Gray, de 37 años, tiene anemia de células falciformes, la enfermedad genética más frecuente del mundo.



Trasplantan por primera vez un riñón de cerdo a una persona viva

La Voz de Galicia 21 mar 2024

«Es una forma de brindar esperanza a las miles de personas que necesitan un trasplante para sobrevivir», asegura el paciente, un estadounidense de 62 años con una enfermedad terminal

El trasplante de órganos de cerdos a humanos está un poco más cerca de convertirse en una práctica clínica rutinaria. Si el pasado año dos personas en fase terminal recibieron un corazón porcino, aunque fallecieron poco después dada la gravedad de su situación, el estadounidense Richard Slayman, de 62 años, se ha convertido ahora en la **primera persona del mundo en ser trasplantado con un riñón de cerdo modificado genéticamente**. La operación, de 4 horas de duración, se llevó a cabo en el Hospital General de Massachusetts, en Estados Unidos.



Equipo del Hospital General de Massachusetts que realizó la operación

