A ENXEÑARÍA XENÉTICA

INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA

A BIOTECNOLOXÍA.

- **A BIOTECNOLOXÍA** é a utilización dos seres vivos ou dos seus produtos con fines comerciais ou industriais. A biotecnoloxía tradicional ten unha longa historia, representada por exemplo na fabricación de pan, viño ou queixos na que se usan micoorganismos
- A biotecnoloxía , actualmente está moi unida á enxeñaría xenética

- **A enxeñaría xenética** agrupa un conxunto de técnicas que permiten retirar,modificar ou agregar xenes a unha molécula de ADN dun organismo, co fin de cambiar a información que contén.Os xenes incorporados poden proceder dun organismo da mesma especie ou doutra diferente.

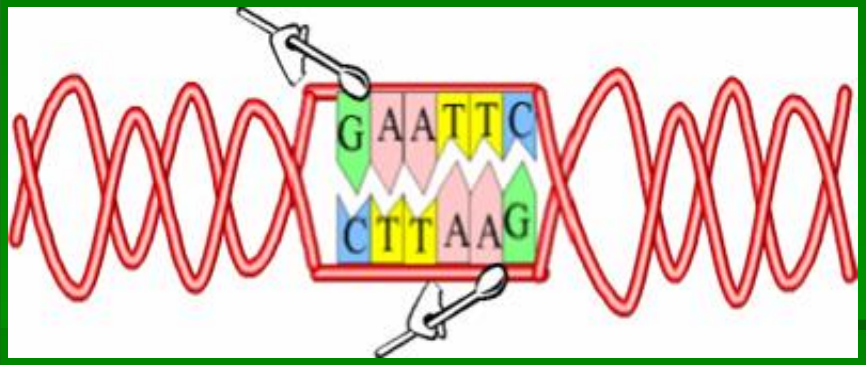
- **A enxeñaría xenética inclúe un un conxunto de técnicas biotecnolóxicas ,entre as que destacan:**
- 1-A tecnoloxía do ADN recombinante,coa que s pode illar e manipular un fragmento de ADN para introducilo noutro.
- 2-A secuenciación do ADN, que permite saber a secuencia de nucleótidos dun xen.
- 3-A reación en cadea da polimerasa(PCR) que permite aumentar o número de copias dun fragmento de ADN, co que cunha mínima mostra de ADN podemos obter cantidades suficientes para un determinado estudo.

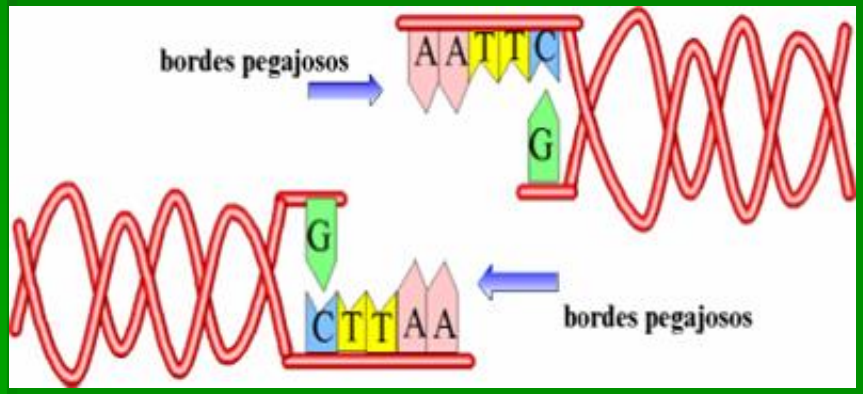
- Ábrese así un mundo de novas posibilidades;dende a obtención de organismos transxénicos,microorganismos ou animais que producen fármacosou outros produtos farmacéuticos, como insulina, hormona do crecemento,obtención de novas vacunas ou a clonación de animais

1-TECNOLOXÍA DO ADN RECOMBINANTE

- Permite obter ADN en cantidades ilimitadas, que ademáis, levará o xen ou xenes que se desexe.Este ADN pode incorporarse ás células doutros organismos (animais, vexetais, bacterias…) , e obligalas asi a expresar a información deses xenes.
- **CLONACIÓN DUN XEN NUHA BACTERIA (caso máis sinxelo)**
  Por exemplo, podemos “cortar” un fragmento de ADN humano,por exemplo o xen da insulina, e “pegarllo” ó ADN dunha bacteria,de tal xeito que esta fabricará insulina.E dicir, o ADN RECOMBINANTE é un ADN que leva un fragmento doutro ADN .

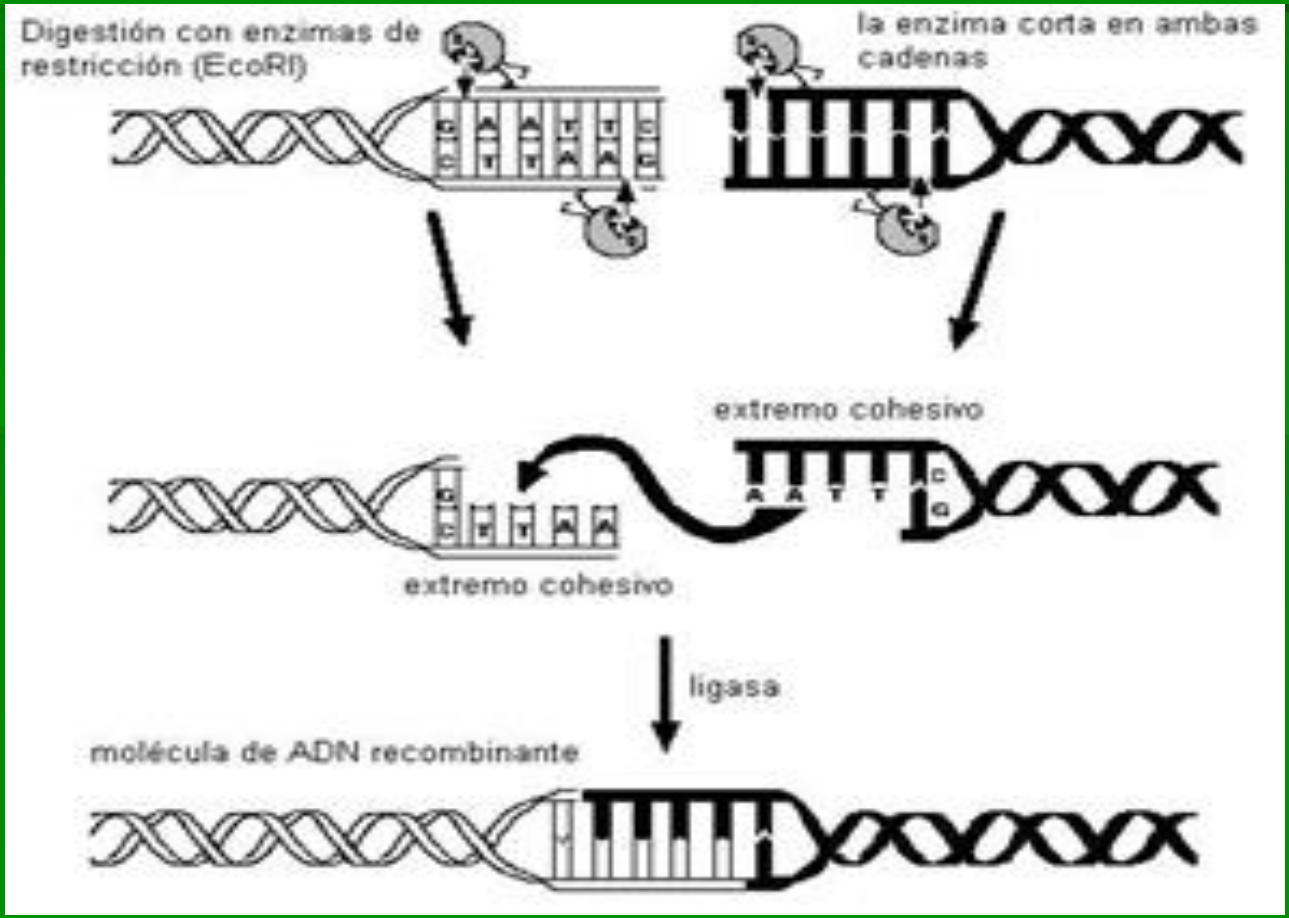
Na tecnoloxía do ADN recombinante diferenciamos varias etapas:





- **1) Localización no ADN** das células dun oraganismo do xen que nos interesa.

- 2) **Corte específico** dese xen con ***enzimas de restricción***, que actúan como " ***tesoiras moleculares***" cortando o ADN en secuencias concretas de nucleótidos, creando ***extremos pegajosos*** que permitirán que este fragmento se una a outros cortados coa mesma enzima.

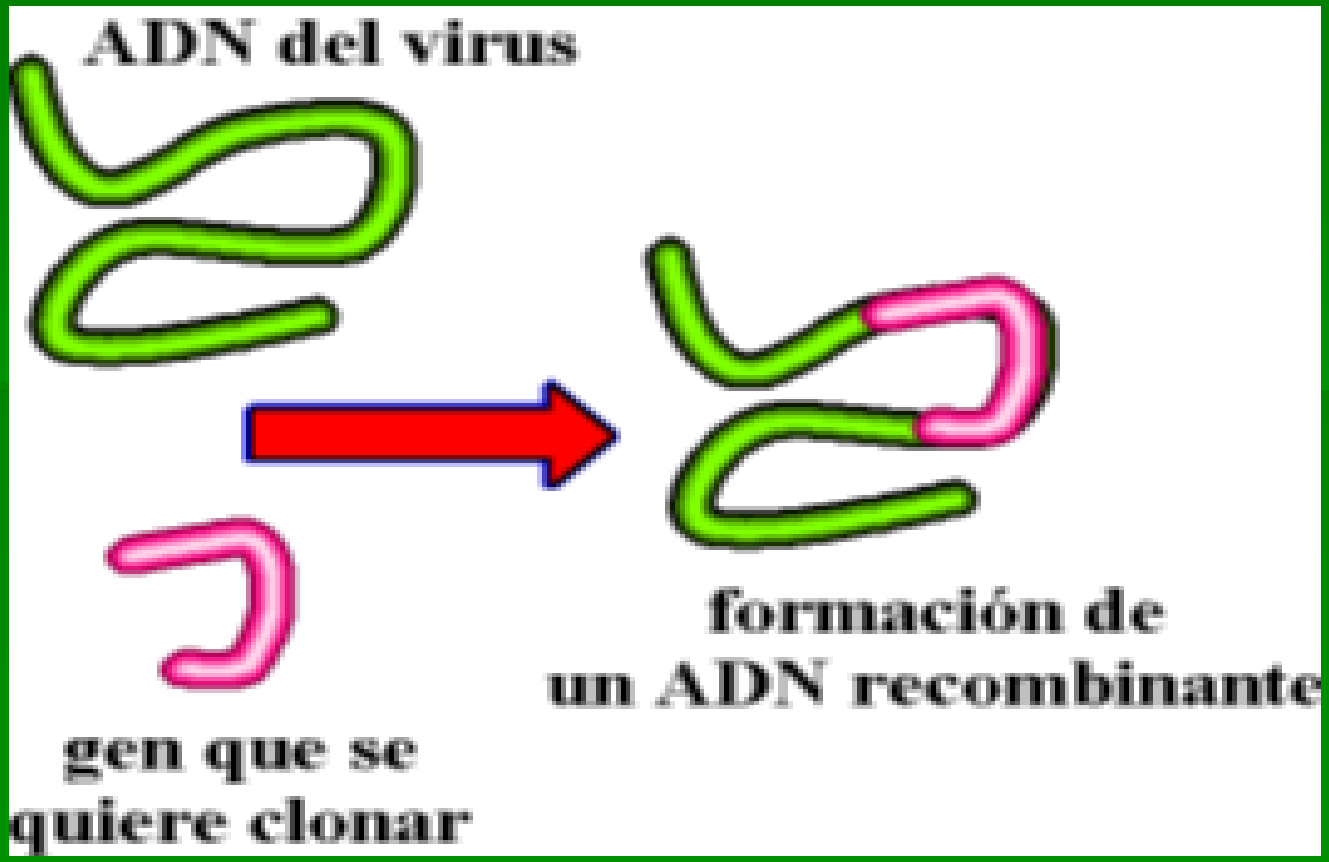

Digestión con enzimas de restricción (EcoRI)
la enzima corta en ambas cadenas
extremo cohesivo
extremo cohesivo
ligasa
molécula de ADN recombinante

3) Inserción do xene noutro segmento de ADN

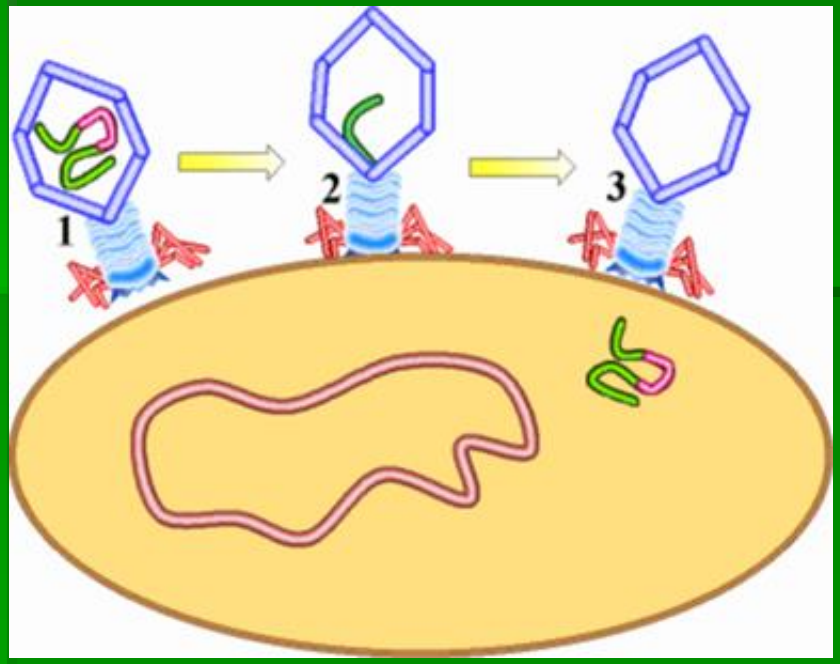
- Realízase mediante ***vectores de clonación:*** son pequenas moléculas de ADN capaces de introducirse nas células hospedadoras e autorreplicarse nelas.
- Úsanse dous tipos: *plásmidos e virus.*
- *Os plásmidos* son moléculas de ADN circular de pequeño tamaño que poden entrar dentro das bacterias e replicarse no seu interior.
- Os virus para reproducirse , tamén infectan outras células, intruducindo nela so seu ADN.

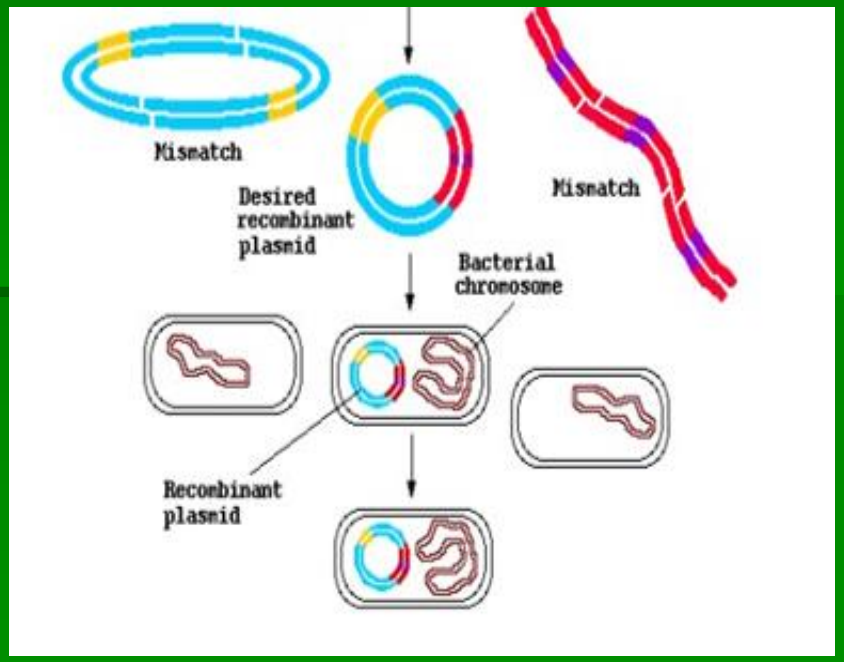
Inserción do xene nun plásmido: o ADN resultante é un ADN recombinante.

Inserción do xene no ADN dun virus (neste caso ,un bacteriófago,virus que infecta bacterias)

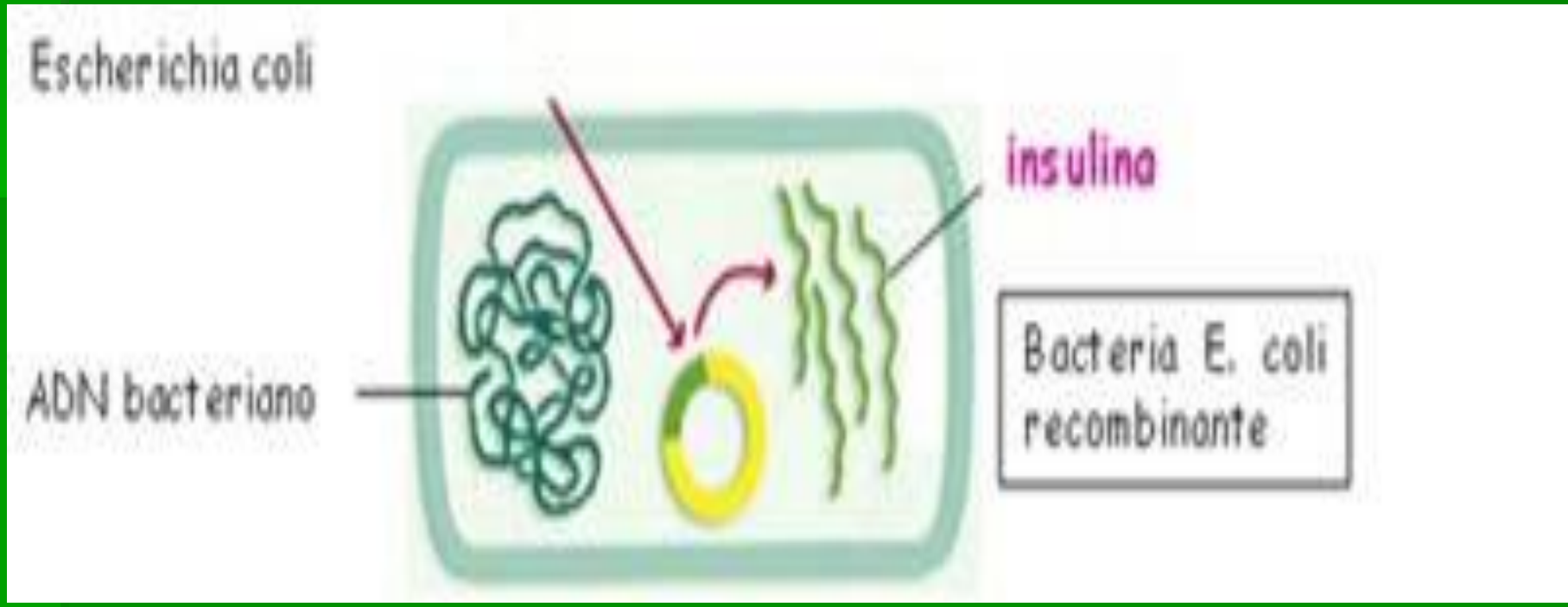


4) <u>Introducir o ADN recombinante na célula receptora</u> (a menudo , unha bacteria).
A esquerda ,usando un bacteriófago, e á dereita un plásmido.

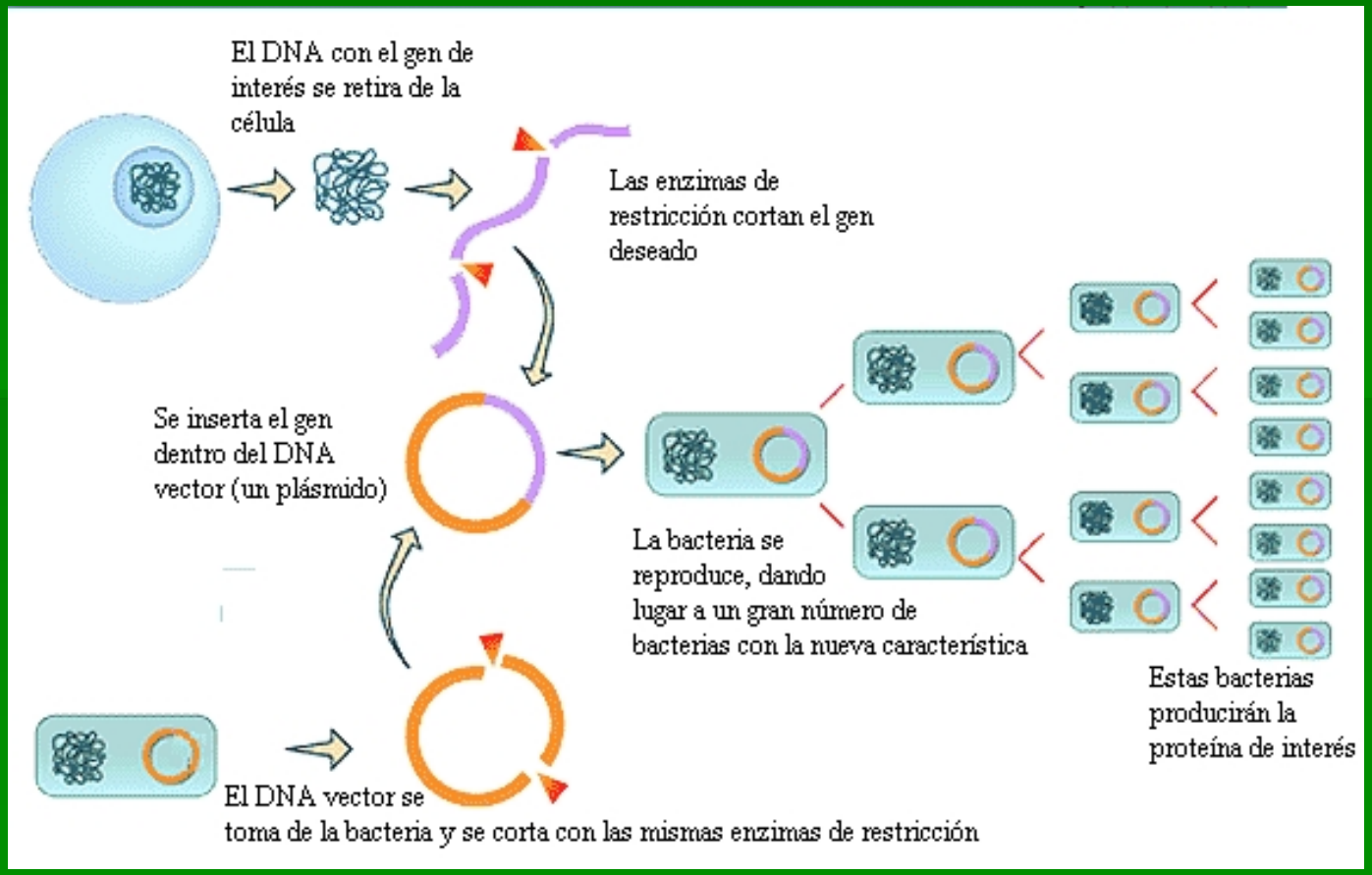




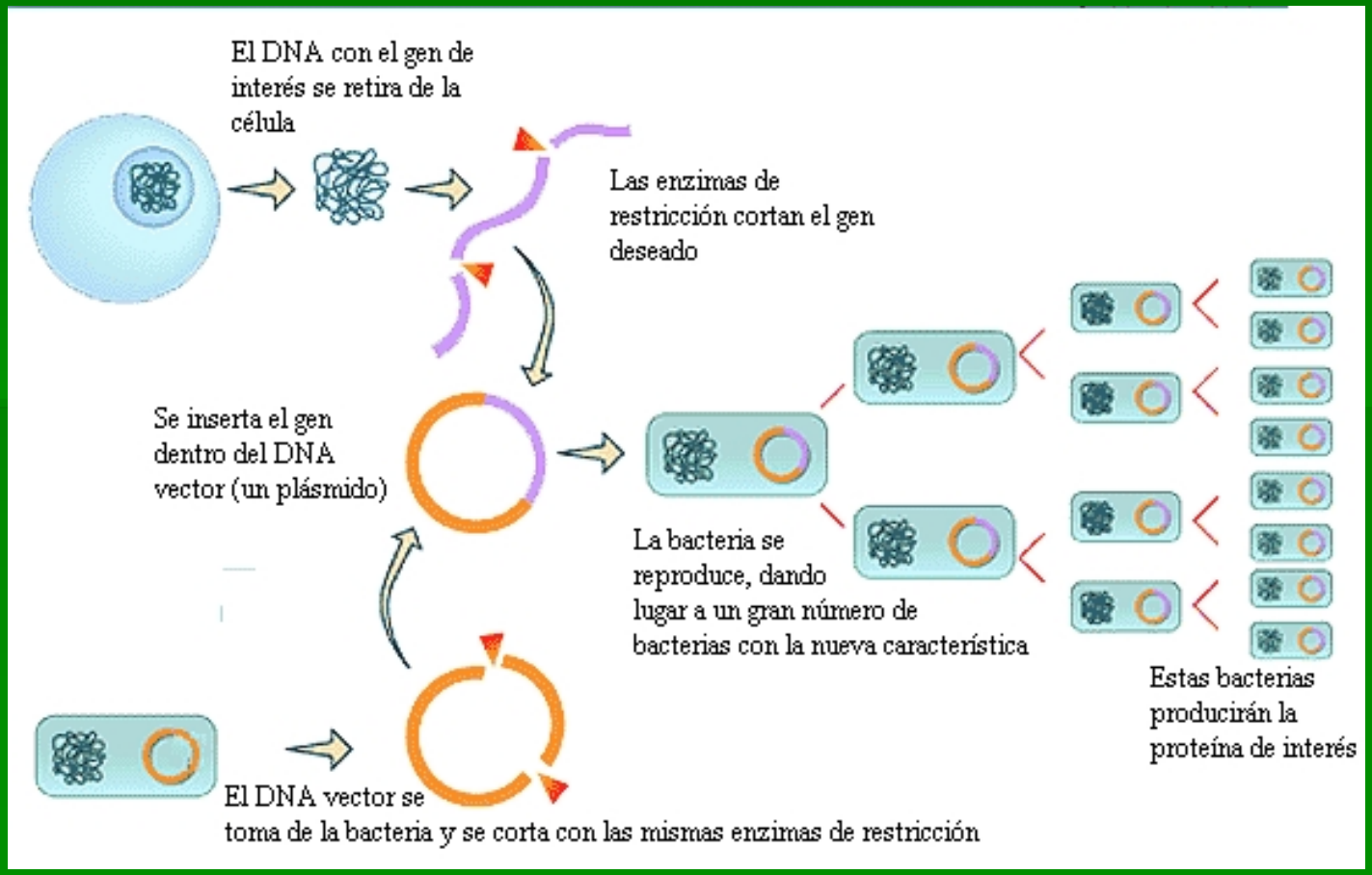
5) Comprobamos que a célula receptora é capaz de fabricar a proteína correspondente (Se o xen que introducimos foi o da insulina ,esta será a proteína que se produza)



6) CLONACIÓN DO XENE: ó multiplicarse as bacterias , obtéñense clónase o xen e podemos obter gran cantidade da proteína correspondente.



VISIÓN XERAL DO PROCESO



2.SECUENCIACIÓN DO ADN

- Consiste en determinar a secuencia de nucleótidos dun fragmento de ADN.
- Permite identificar mutacións e diagnosticar enfermedades asociadas a esa mutaciónantes de que se manifeste.É o que se denomina diagnóstico molecular.
- Úsase no diagnóstico prenatal, no consello xenético,e na selección de embrións para evitar enfermedades hereditarias.

3- PCR: REACCIÓN EN CADEA DA POLIMERASA.

- Permite obter grandes cantidades de ADN a partir dunha mostra pequeña.
- Ten moitas aplicacións, destacan:
  - - Detección temprana de patóxenos:por exemplo, averiguar si un paciente está infectado polo virus SARS- Cov-2, xa que permite detéctalo aínda que sexa en individuos asintomáticos ou con escasa carga viral.
  - - Determinación da pegada xenética para facer estudos comparativos:probas de paternidade, investigación policiais, medicina forense…

Video PCR: Enlace por si non funciona o video https://youtu.be/TalHTjA5gKU

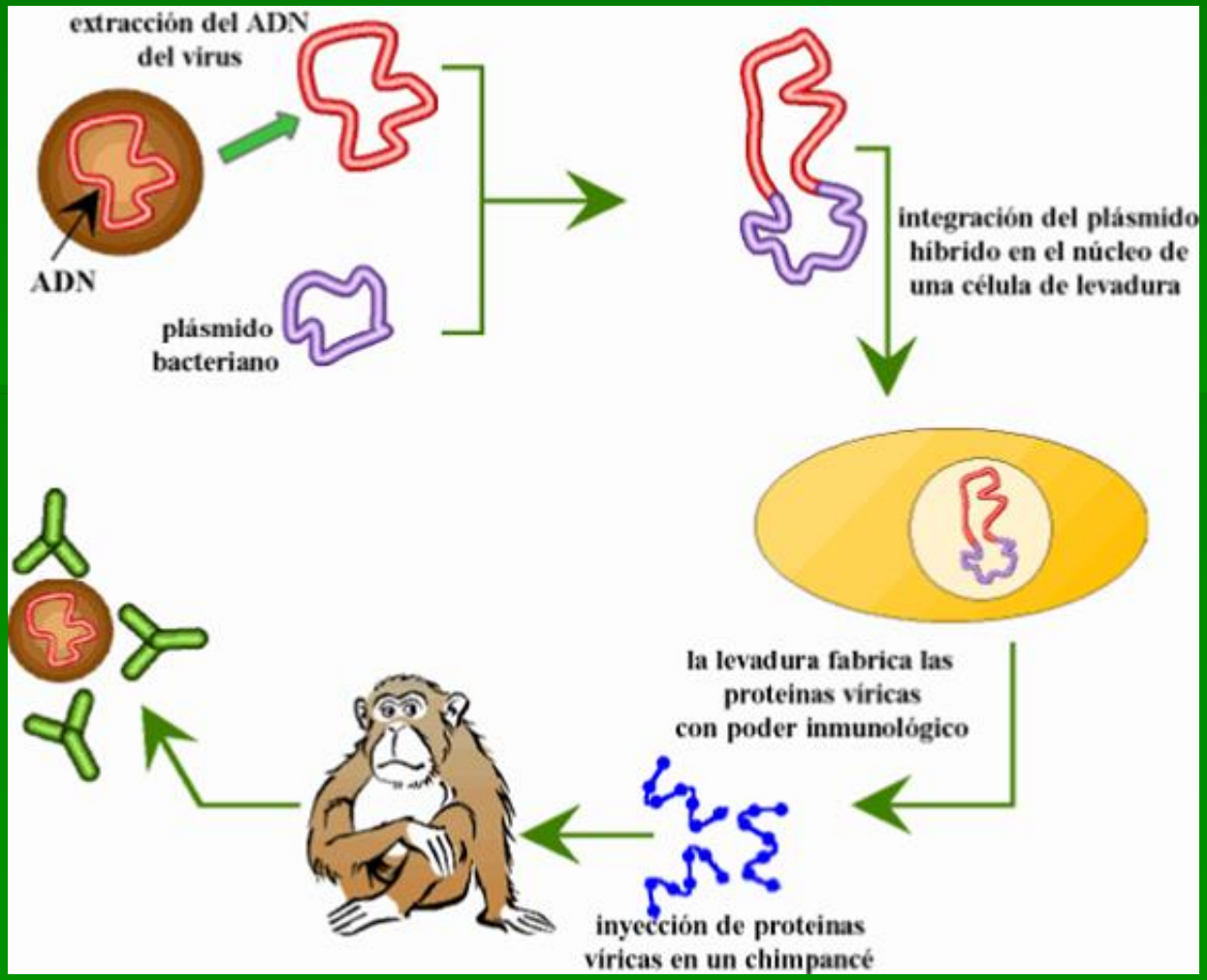
APLICACIÓNS DA ENXEÑARÍA XENÉTICA

- APLICACIÓNS EN MEDICINA.
- OBTENCIÓN DE PLANTAS TRANS-XÉNICAS
- OBTENCIÓN DE ANIMAIS TRANS-XÉNICOS

APLICACIÓNS EN MEDICINA.

- 1) **Obtención de proteínas de mamíferos**: insulina, hormona do crecemento, factores de coagulación sanguíneos…revisten unha gran importancia médica e comercial.
- Antes había que obter estas proteínas dun donante ou doutro mamífero.
- Actualmente , gracias a tecnoloxía do ADN recombinante, clónanse o xen da proteína que se quere obter en microorganismos axeitados para a súa fabricación comercial.O exemplo máis típico é a clónación do xen da insulina na levadura *Sacharomyces cerivisiae*

2) OBTENCIÓN DE VACUNAS RECOMBINANTES



3) DIAGNÓSTICO DE ENFERMIDADES XENÉTICAS.DIAGNÓSTICO PREIMPLANTACIONAL

DIANÓSTICO PREIMPLANTACIONAL

- Consiste en realizar un estudio genético del embrión (estadio de 8 células) y seleccionar el embrión que no sea portador de los genes que determinan una enfermedad.

- La Comisión de Reproducción Humana Asistida debe autorizar estas actuaciones caso por caso.

- En algunos casos se utiliza esta técnica para seleccionar embriones sanos que puedan servir como donantes para tratar enfermedades en hermanos enfermos que no han encontrado donantes compatibles.

http://www.elpais.com/articulo/ultima/toco/loteria/octubre/elpepiult/20090723elpepiult_1/Tes

4) Obtención de órganos para transplantes

- Obtéñense de animais transxénicos.Non presentan problemas de rexeitamento.

5-Terapia xénica

- Consiste en introducir xenes sanos en células que presentan xenes defectuosos para corrixir algunha anomalía ou enfermidade.
- É unha gran esperanza para corrixir enfermiddaes xenéticas, cancros…
- Presenta aínda algún problemas pero xa logrou algún éxitos

ALGÚNS LOGROS DA TERAPIA XÉNICA

- Na fibrose quística ,na hipercolesterolemia, algúns tipos de cancro ,na inmunodeficiencia combinada severa (os nenos burbulla).
- Nesta última enfermidade, en Francia somenteuse a terapia xénica a 9 nenos con esta enfermidade e 9 anos despois 8 seguían vivos e gozaban de boa saúde.

  Sin embargo, case a metade desenvolveron leucemia aguda trala terapia; un deles morreu.

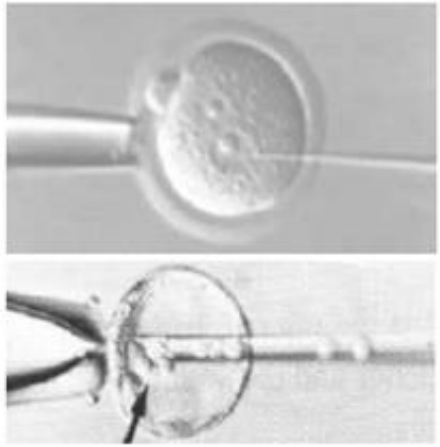
ORGANISMOS TRANSXÉNICOS:INTRODUCIÓN

- Os organismos cuxo xenoma foi modificado por técnicas de enxeñaría xenética denomínase ***organismo xenéticamente modificado(OXM).***
- Os organismos transxénicos son aqueles OXM ós que se lles incorporou algún xen de outra especie.Por exemplo ,podemos facer que o salmón común medre máis rápidamente introducíndolle o xen da hormona do crecemento do salmón real.Ou conseguir que o millo sexa resistente a unha praga das larvas da bolboreta do trade, introducíndolle un xen bacteriano que fabrica un veleno para estas larvas. (Ver exemplos do libro).

A produción de organismos transxénicos suele darse en dúas etapas:

1ª) Introdúcese o xene desexado no xenoma dunha célula do organismo que se desexa modificar.Por exemplo o xene da hormona do crecemento do salmón real no cigoto do salmón común.

Faise por microinxeccción do xen no óvulo fecundado.



Microinyección del ADN
en el pronúcleo del ovocito fecundado.

Microinyección del ADN
en células embrionarias.

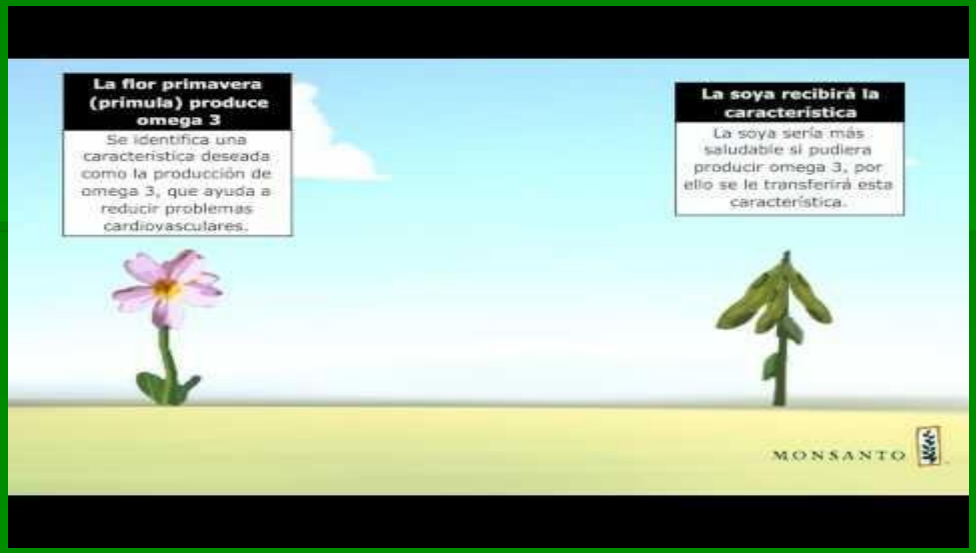
Microinyección del ADN

2ª ETAPA: Obter unha planta ou animal a partir desa célula que foi modificada.

- Hai que introducir o embrión co xen incorporado nunha femia da especie (se é un mamífero) ou conseguir que de lugar a unha nova planta.

VIDEO SOBRE OS TRANSXÉNICOS.ENLACE: https://youtu.be/UCcmHOTwtpU

Video sobre os transxénicos .Enlace por si non funciona o video https://youtu.be/63ywev-sy8Q



AS PLANTAS TRANSXÉNICAS

As primeiras plantas transxénicas foron uns tomates que tardaban máis en madurar.

Posteriormente obtiveronse moitas outras plantas transxénicas .Algúns exemplos son os seguintes.

- **Outros exemplos**:
- Patacas con maior contido en amidón.
- Tomates ou leitugas con sabor máis doce.
- Fresas resistentes ás xeadas.

PARA QUE SERVEN AS PLANTAS TRANSXÉNICAS?

- Para obter cultivos resistentes a pragas,ou á acción dos herbicidas,as condicións ambientais…mellorando así o rendemento da colleita.
- Mellorar algunha cualidade dun produto vexetal : o sabor, o contido en nutrientes..

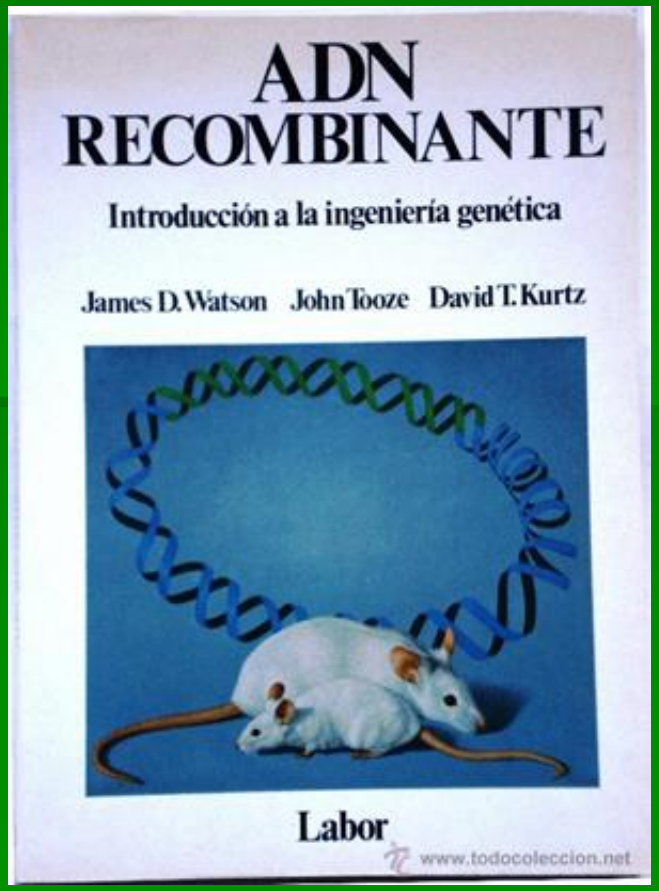
- IDENTIFICA ALGUNHAS DAS CARACTERÍSTICAS DOS CULTIVOS TRANSXÉNICOS NOS EXEMPLOS ANTERIORES

CULTIVOS TRANSXÉNICOS: SÓ VENTAXAS?

- INVESTIGA POLA TÚA CONTA OS POSIBLES RISCOS OU INCONVENIENTES DOS CULTIVOS TRANSXÉNICOS.
- FAREMOS UNHA POSTA EN COMÚN SOBRE ESTE TEMA NA CLASE.

ANIMAIS TRANSXÉNICOS.

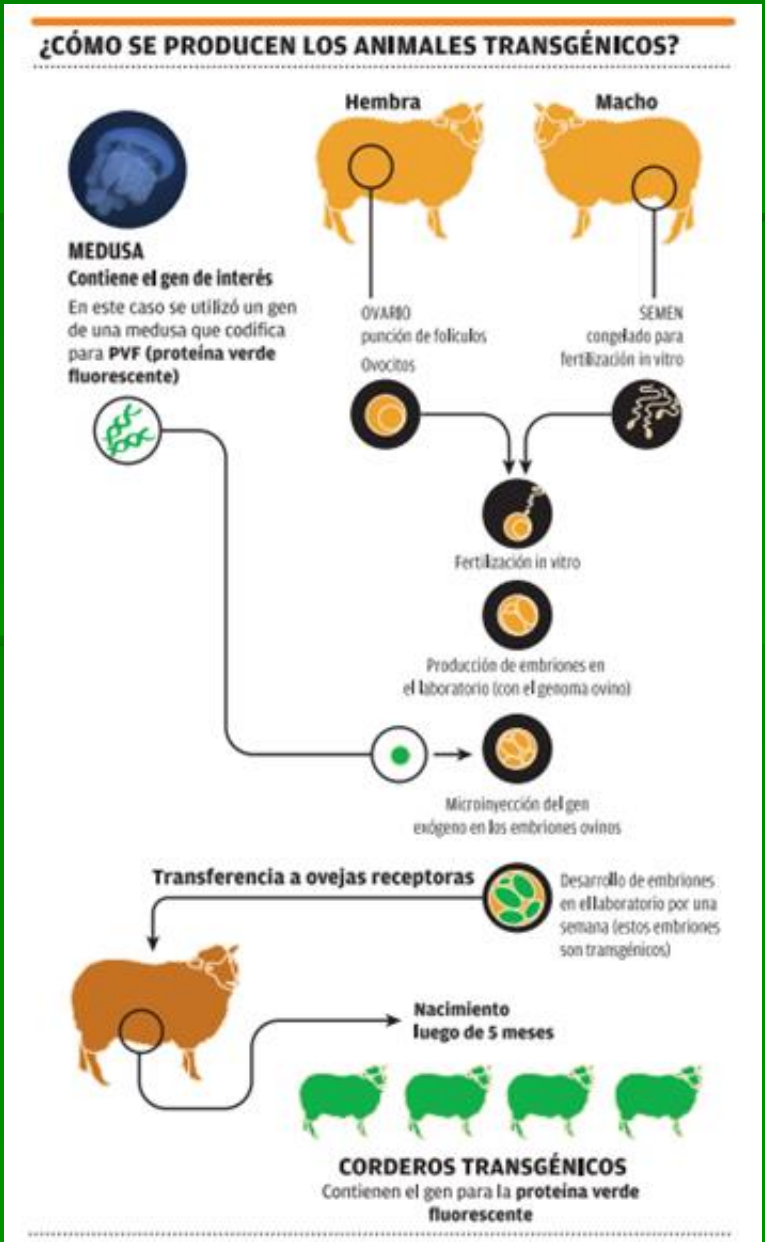
- En 1982 Palmiter e col. obtíveron o primeiro animal transxénico .Foi un rato ó que se lle logrou introducir o xen da hormona de crecemento da rata , adquirindo así un tamaño considerablemente maoir que os seus conxéneres.
- Ó ano seguinte, os mesmos investigadores lograron introducir no óvulo fecundado do rato o xen da hormona de crecemento humana, que tamén facía que os ratos tiveran un maior tamaño.


ADN
RECOMBINANTE
Introducción a la ingeniería genética
James D. Watson John Tooze David T. Kurtz
Labor
www.todocoleccion.net

OBTENCIÓN DE ANIMAIS TRANSXÉNICOS

- Actualmente existen xa moitos outros animais transxénicos:rata, ovella, cabra ,porco, coello, vaca.
- Nos últimos anos foi posible crear porcos que dan carnes con menos contido en graxas prexudiciais para o corazón e máis contido en graxas saudables.
- Tamén se logrou crear porcos que poden producir tecidos e no futuro órganos para transplantes.
- Podedes ver este video sobre impresionantes vacas transxénicas. http://www.youtube.com/watch?v=YNiqg8qpb9g

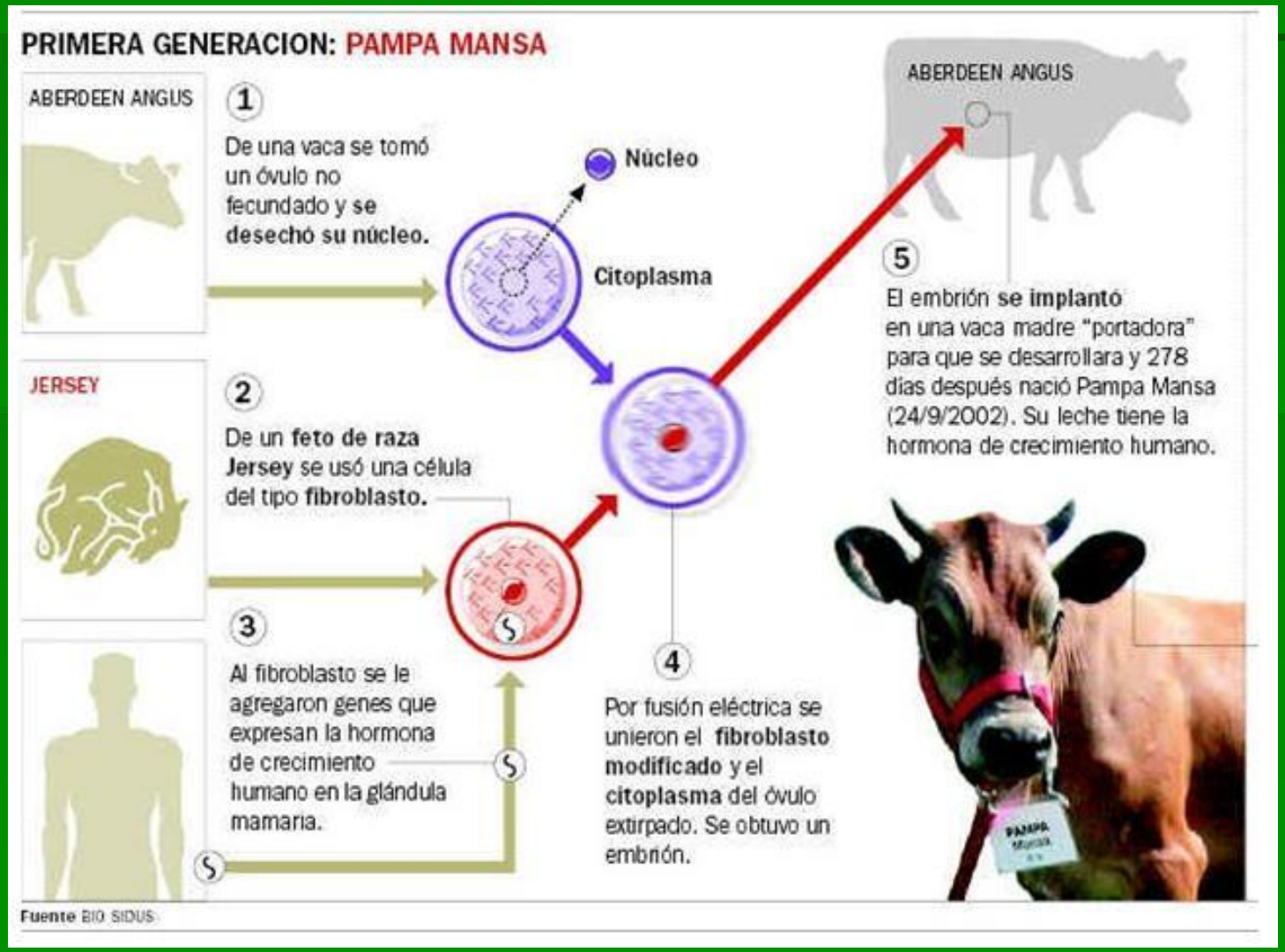
Salmón transxénico xunto a outro da súa idade.


¿CÓMO SE PRODUCEN LOS ANIMALES TRANSGÉNICOS?
Hembra
Macho
MEDUSA
Contiene el gen de interés
En este caso se utilizó un gen de una medusa que codifica para PVF (proteína verde fluorescente)
OVARIO
punción de folículos
Ovocitos
SEMEN
congelado para fertilización in vitro
Fertilización in vitro
Producción de embriones en el laboratorio (con el genoma ovino)
Microinyección del gen exógeno en los embriones ovinos
Transferencia a ovejas receptoras
Desarrollo de embriones en el laboratorio por una semana (estos embriones son transgénicos)
Nacimiento
luego de 5 meses
CORDEROS TRANSGÉNICOS
Contienen el gen para la proteína verde fluorescente

Aplicacións dos animais transxénicos:

- Obter animais de mayor tamaño, que den leite de mellor calidade ou en maior cantidade ou calquera outra característica de interese.
- Obter animais que produzan co seu leite algunha proteína humana: factor VIII de coagulación (para hemofílicos), insulina, etc.
- Conseguir tecidos e órganos para transplantes con proteínas humanas , para evitar o rexeitamento.

EXEMPLO DE OBTENCIÓN DUNHA PROTEÍNA HUMANA EN LEITE DE VACA



OUTRAS APLICACIÓNS DA ENXEÑARÍA XENETICA.

- **A) BIORREMEDIACIÓN**

Biodegradación de residuos: mediante clonación de xenes bacterianos produtores de enzimas que degradan sustancias tóxicas ou contaminantes, por exemplo petróleo nas mareas negras, ou tratamento de augas residuais (bacterias que dixiren a materia orgánica).

- **B) FABRICACIÓN DE COMPOSTOS BIODEGRADABLES:**

Por exemplo producción de plásticos biodegradables a patir de cepas de bacterias cos xenes de biosíntese destas sustancias, e xa hai empresas que fabrican estes plásticos biodegradables para usos especiais, como dispositivos médicos ,xa que de momento é moi caro producilos.

É posible que nun futuro se poidan ir sustituindo os plásticos sintéticos, contaminantes e gastadores de combustibles fósiles, polos bioplásticos, biodegradables .

O PROXECTO XENOMA HUMANO

- O xenoma dun organismo é o conxunto de xenes que posúe.O seu estudo persigue localizar e identificar cada un dos seus xenes.

- O proxecto xenoma humano comezou no ano 1990 en EEUU baixo a dirección de James Watson,cun presuposto de 375.000 millóns de pesetas e un plazo de 15 anos .

- **O 26 de xuño de 2000** é xa unha data histórica para a humanidade.Despois de máis de 10 anos de investigación,o xenoma humano.o verdadeiro libro da vida, ía ser descifrado.Para isto foi necesaria a colaboración dun proxecto público no que participaban EEUU, Reino Unido, Japón, Francia, Alemania, China e outros países e o proxecto privado da empresa norteamericana PE Celera Genomics,que permitíu rematar co proceso antes do esperado.

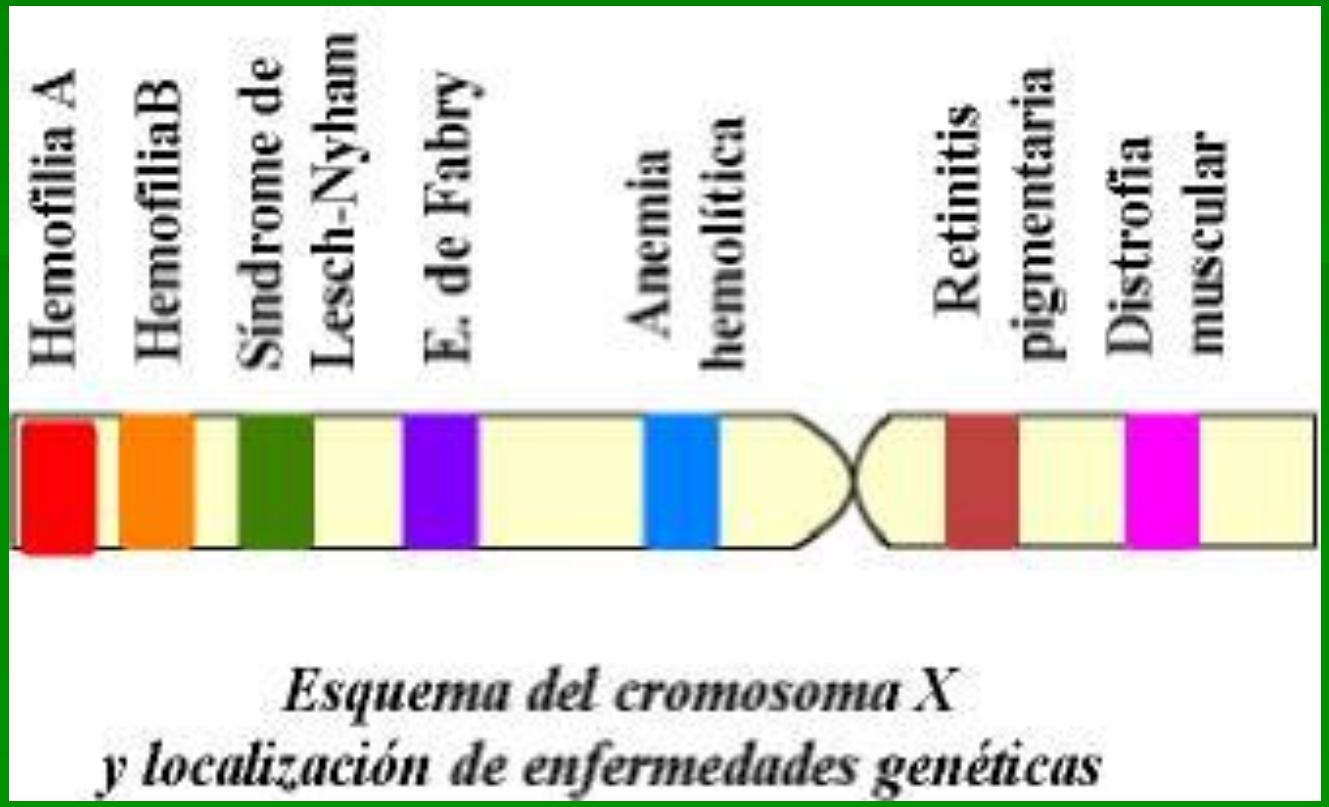
PRESENTACIÓN DO PROXECTO XENOMA HUMANO NA CASA BLANCA.

(A dereita Collins representante do proxecto público , e á esquerda Venter , da empresa Celera Genomics)

OBXECTIVOS DO PXH

1)ELABORAR MAPAS XENÉTICOS.

Consistíu en identificar os xenes existentes e determinar en que cromosoma e en que lugar dese cromosoma se localiza cada un deles.



Esquema del cromosoma X y localización de enfermedades genéticas

2)DETERMINAR A SECUENCIA EXACTA DE NUCLEÓTIDOS de cada xen (é dicir dos 23 cromosomas) ,para coñecer a proteína que codifica e as súas posibles alteracións.

- En abril de 2003 completouse a secuenciación do ADN humano.Na actualidade xa se conseguíu secuenciar moitos xenomas doutros organismos.

ALGUNHAS REVELACIÓNS DO XENOMA HUMANO.

- Contén uns 3200 millóns de pares de bases.
- Só o 3% do noso xenoma contén información para fabricar proteínas.
- Contén uns 25.000 xenes, o dobre ca unha miñoca ou unha moscas.Descoñecese a función de case a metade deles.
- É case o mesmo para todas as persoas,só o 0,1% nos diferencia a unhas persoas dotras.

- VIDEO RECOMENDADO:

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

- TODAS AS IMAXES FORON SACADAS DE INTERNET EXCLUSIVAMENTE PARA USO DIDÁCTICO NA CLASE.