

19

Ingeniería genética



1. ¿QUÉ ES LA BIOTECNOLOGÍA?

La ingeniería genética manipula los genes

2. ¿CÓMO SE TRABAJA EN INGENIERÍA GENÉTICA?

El ADN recombinante reúne ADN de distintos organismos

Por clonación se obtienen múltiples copias de un gen

La PCR clona ADN sin necesidad de células

La secuenciación del ADN indica el orden de los nucleótidos

La tecnología CRISPR/Cas 9 permite editar el ADN

3. LOS COLORES DE LA BIOTECNOLOGÍA

La insulina fue la 1ª proteína humana obtenida por IG

La medicina personalizada permite tratamientos más eficaces

La terapia génica permite eliminar enfermedades genéticas

4. LA GENÓMICA Y PROTEÓMICA APORTAN INFORMACIÓN VALIOSA PARA FUTURAS INICIATIVAS

El Proyecto Genoma Humano secuenció el ADN humano

Un paso más con el Encode

Tras la genómica llega la proteómica

Biotechnología y sus aplicaciones. Ver <http://yosoybiotec.wikidot.com/>

DÓNDE BUSCAR INFORMACIÓN

Bibliografía y páginas web

- BiotechSpain
<https://biotechspain.com/es/temas.cfm>
- Blog Oficial de la Federación Española de Biotecnólogos – FEBiotec
<http://www.biotechblogos.es/los-colores-de-la-biotecnologia/>
- Ciencias ómicas. 2011
<https://cienciasomicas.wordpress.com/proteomica/>
- Domínguez, N. 2016. Agricultura transgénica. El País
http://elpais.com/elpais/2016/05/17/ciencia/1463506219_758061.html
- NIH. 2011. Proyecto Genoma Humano (en castellano)
<https://www.genome.gov/11510905/preguntas-maacutes-frecuentes/#al-5>
- NIH. 2015. Proyecto HapMap
<https://www.genome.gov/27562906/acerca-del-proyecto-internacional-hapmap/>
- Novo F. 2012. Proyecto ENCODE. Universidad Pública de Navarra
<http://www.unav.es/ocw/genetica/tema-1-4.html>
- Peláez, J. 2014 La inminente revolución de la ingeniería genética basada en el sistema CRISPR/Cas. Cuadernos de Cultura Científica
<http://culturacientifica.com/2014/02/14/la-inminente-revolucion-de-la-ingenieria-genetica-basada-en-el-sistema-crisprcas/>

Noticias curiosas

- Algae for Healthy World, busca colocar a España como líder en bioproductos, vender microalgas como alimentos
<https://www.endesa.com/es/proyectos/a201612-microalgas-superalimentos-nacidos-en-una-central-electrica.html>

OBJETIVOS

1. Definir y diferenciar biotecnología e ingeniería genética
2. Conocer las herramientas básicas para la construcción de moléculas de ADN recombinante (enzimas de restricción y ADN ligasas).
3. Comprender en qué consiste la clonación de un gen *in vivo* e *in vitro*, y qué es un organismo transgénico
4. Conocer las distintas aplicaciones de la ingeniería genética
5. Enumerar alguna de las aplicaciones de la ingeniería genética en el ámbito de la medicina
6. Analizar los progresos en el conocimiento del genoma humano y su influencia en una medicina cada vez más personalizada

CONCEPTOS CLAVE

ADN recombinante, 6

alineamiento, 11

bacteriófago, 14

biochip, 23

biofactoría, 17

bioinformática, 16

biomedicina, 15

biorremediación, 22

biotecnología, 5

carcinógeno, 20

célula huésped, 8

célula madre, 23

clonación del ADN, 6

Encode, 30

endonucleasa de restricción, 7

eppendorf, 10

ex vivo, 27

genómica, 27

haplotipo, 31

in vivo, 27

ingeniería genética, 5

insulina, 24

ligasa, 7

marcador, 9

OGM, 7

palíndromo, 8

PCR, 6

PGH, 28

plásmido, 8

polimorfismo de un solo

nucleótido, 30

proteómica, 33

secuenciación, 6

tecnología CRISPR/Cas, 6

terapia génica, 26

termociclador, 10

Thermus aquaticus, 10

totipotente, 19

transformación, 18

transgénico, 7

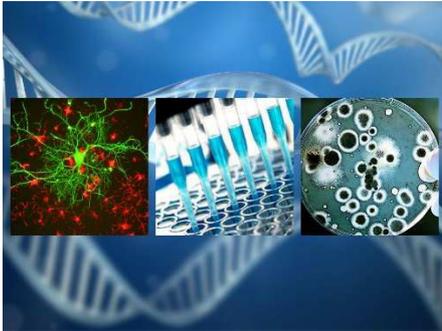


Figura 19.1. La ingeniería genética abre nuevos campos en la biotecnología. Fuente:

<http://blog.meraevents.com/2015/06/08/biotecnology-2015/>



Figura 19.2. Un proyecto de A. T. Estévez, que propone la generación de árboles luminiscentes que iluminen nuestras calles.

Fuente: <https://economiaurbana.wordpress.com/2009/11/23/arquitecturas-geneticas/>

19.1

¿QUÉ ES LA BIOTECNOLOGÍA?

La **Biología** aplica técnicas científicas para manipular células o seres vivos o alguno de sus componentes con fines prácticos, para obtener productos (por ej., yogurt), bienes (ej., eliminar una enfermedad genética) y servicios (ej., depuración del agua) de distinto tipo. La base para comprender los procesos de manipulación del material genético se explicó en los **Temas 7 y 14**. La Biotecnología no es una disciplina actual, ya desde la Antigüedad se conocen procesos de fermentación para la elaboración del pan, bebidas alcohólicas o yogurt (ver **Tema 21**). Pero a partir de los años 50, gracias a los avances de la biología celular y de la genética molecular, se han abierto vías de investigación muy prometedoras, entre las que destaca por su importancia económica y trascendencia la **ingeniería genética** (**Fig. 19.1**).

La ingeniería genética manipula los genes

Como todos los seres vivos almacenan información genética en el ADN, con la misma estructura y el mismo código en todos ellos, teóricamente los genes pueden transferirse de unos a otros y ser aceptados sin problemas. El resultado un organismo transgénico o genéticamente modificados (**OMG**). Cuando el gen transferido se exprese se espera que producirá la misma proteína que en el organismo original, por ejemplo, gracias a la **ingeniería genética** se puede transferir el gen de una medusa a un árbol y hacerlo luminiscente, como una farola (**Fig. 19.2**). La ingeniería genética permite la manipulación y transferencia de genes de unos organismos a otros, esta capacidad de mover genes de unos organismos a otros es una de las mayores revoluciones científicas del s. XX.

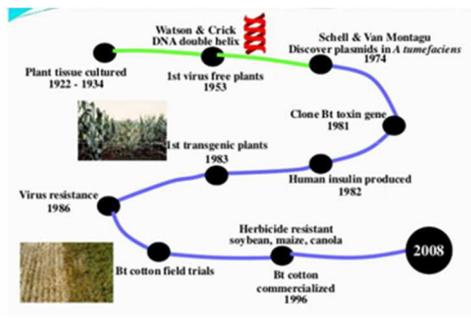


Figura 19.3. Principales hitos en el desarrollo de la ingeniería genética en plantas. Fuente: <http://www.slideshare.net/ojuederiebern/modern-biotechnology-and-biosafety-issues-36368474>

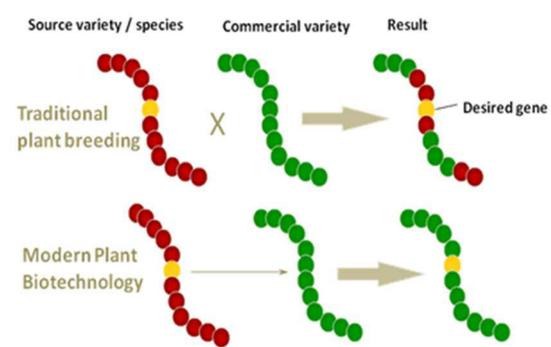


Figura 19.4. Diferencias entre el método de cruces de genética clásica y la manipulación de genes de la ingeniería genética. Fuente: <http://www.monsantoafrica.com/biotechnology/>

Es cierto que agricultores y ganaderos llevan siglos manipulando animales domésticos y plantas, mediante la reproducción selectiva, para mejorar ciertas características en beneficio de una mejor alimentación. Pero la ingeniería genética tiene varias ventajas frente a estas técnicas tradicionales (Fig. 19.3 y 19.4). Se pueden introducir alelos específicos o genes completamente nuevos en plantas y animales lo que reduce el tiempo de espera para lanzar nuevas variedades o razas útiles, además permite combinar genes entre distintas especies lo que abre la posibilidad de evolución horizontal frente a métodos de hibridación clásica. Además en otros ámbitos se abren nuevos campos de aplicación relacionados con la salud, protección del medio ambiente, informática, etc.

19.2 ¿CÓMO SE TRABAJA EN INGENIERÍA GENÉTICA?

Existen varias técnicas de ingeniería genética, entre las que destacan:

- **Obtención de ADN recombinante**, es una de las técnicas de manipulación de ADN más usadas, por eso la ingeniería genética también recibe el nombre de tecnología del ADN recombinante.
- **La clonación del ADN** es una técnica para producir varias copias de un gen específico o de un fragmento de ADN dentro de una célula huésped.
- **La reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** es una técnica *in vitro* que permite obtener de forma muy rápida un elevado número de copias de un fragmento dado de ADN.
- **La secuenciación del ADN** es una técnica para conocer el orden de los nucleótidos que forman parte de un fragmento de ADN, de un gen, o incluso del genoma completo.
- La **tecnología CRISPR/Cas** es la técnica de edición genética más precisa conocida por el momento.

El ADN recombinante reúne ADN de distintos organismos

Como su nombre indica el **ADN recombinante** es el resultado de la unión de fragmentos de ADN sintéticos o procedentes de organismos diferentes. Si este ADN es viable se replicará en una célula viva y se expresará, produciendo proteínas. Aunque el límite entre seres vivos modificados y no modificados cada día es más difuso, se admite que el ser vivo que incorpora genes es un **organismo transgénico (OGM)** o **genéticamente modificado** y el gen foráneo es un **transgen**.

Las herramientas básicas para la manipulación de moléculas de ADN son las enzimas, en este caso para conseguir ADN recombinante se necesitan como mínimo endonucleasas de restricción y ADN ligasas (recordar Tema 14).

Las endonucleasas son enzimas que cortan la cadena de ADN; si se trata de **endonucleasas de restricción** quiere decir que no cortan en cualquier lugar sino que restringen el corte a secuencias **específicas** de ADN que son capaces de reconocer, generalmente palíndromos (que se leen igual al derecho y al revés), pues se acoplan a ellas por su centro activo. Descubiertas en las bacterias, se conocen ahora más de mil enzimas de restricción diferentes, siendo cada una de ellas específica de una secuencia dada. Muchas enzimas de restricción trabajan en zigzag por lo que dejan las cadenas con desigual longitud; se trata de **bordes cohesivos** o complementarios, por lo que solo se unirán a otros extremos de ADN cortados con la misma enzima.

Por su parte, las ADN **ligasas** (ver Tema 14) unen fragmentos de cadenas de ADN con enlaces fosfodiéster, por ej., los extremos cohesivos de fragmentos de ADN generados por las endonucleasas de restricción.

Las enzimas de restricción actúan como las tijeras y las ADN ligasas son el pegamento que une los extremos cohesivos, cortados con las tijeras. Así se pueden cortar y unir fragmentos de ADN de distinto origen y formar ADN recombinante, que luego se introducirá en una célula huésped con un objetivo programado. Observa en la Fig. 19.5 como se obtiene un ADN recombinante:

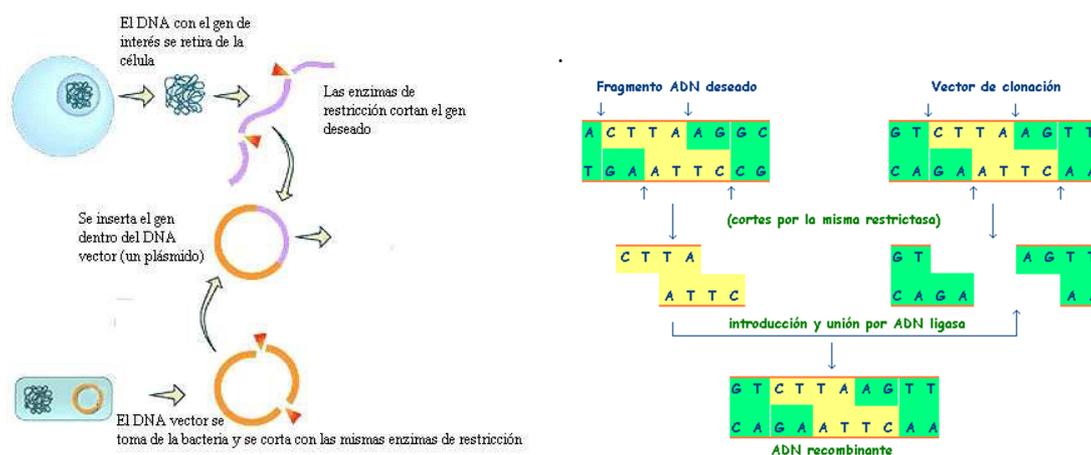


Figura 19.5. Tecnología del ADN recombinante. Fuente: <https://fernandogs97.wordpress.com/2013/01/18/como-modificar-el-adn-de-un-organismo/> y Proyecto Biosfera.

✚ Primero, el ADN de dos organismos diferentes se corta con la misma enzima de restricción (EcoRI por ejemplo). La mayor parte de los sitios de restricción son **palíndromos**, es decir, secuencias que se leen igual de izquierda a derecha en una hebra que de derecha a izquierda en la hebra complementaria. Por ej., EcoRI reconoce la secuencia GAATTC y CTTAAG y corta entre los nucleótidos G y A de cada una de las moléculas de ADN.

✚ Segundo, se obtiene fragmentos de ADN con extremos cohesivos complementarios en cada una de las moléculas. (Fig. 19.5b)

✚ Tercero, se ponen en contacto los fragmentos de ADN obtenidos y se someten a la enzima ADN ligasa, formándose una molécula de ADN recombinante, que contiene ADN de los dos organismos.

Por clonación se obtienen múltiples copias de un gen

Para conseguir copias del gen o secuencia problema *in vivo* se introduce el ADN recombinado que lo porta en una bacteria u otra **célula huésped** y se utiliza la maquinaria de esta célula huésped para replicar el ADN obtenido. Como la bacteria se multiplica rápidamente formando un clon, esta técnica se llama **clonación** del **ADN**.

Para introducirlo el ADN en la célula huésped se necesita un intermediario, es decir un **vector** de **clonación**. El vector es simplemente una pequeña molécula de ADN que sirve para transportar el gen o genes que se quieren clonar hasta la célula huésped. Los vectores más utilizados son los **plásmidos** (ver Tema 20), pequeñas moléculas circulares de ADN que pueden replicarse independientemente del ADN cromosómico bacteriano, y algunos tipos de virus (bacteriófagos, adenovirus,).

Los huéspedes transgénicos más usados son células procariotas: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, etc. o bien células eucariotas como *Saccharomyces cerevisiae*, muy utilizada por su rápida velocidad de crecimiento.

En la Fig. 19.6 se observa el proceso de clonación de un gen en bacterias, que incluye las siguientes etapas:

✚ Obtención del fragmento de ADN problema, que contiene el gen que se quiere clonar, y elección de un plásmido bacteriano.

✚ Formación del plásmido recombinante. Para insertar el gen que se quiere clonar en el plásmido, se usa la misma enzima de restricción que corta el ADN del plásmido original y el ADN problema y se unen ambos fragmentos con la ADN ligasa, obteniéndose un plásmido recombinante. Además del gen del interés que queremos clonar, el plásmido elegido debe incorporar también un **gen** de fácil detección fenotípica llamado **marcador**, que generalmente es un gen de **resistencia** a un antibiótico.

✚ Para incorporar el plásmido recombinante se incuban bacterias capaces de captar ADN del exterior. Este proceso, llamado **transformación**, es un mecanismo de intercambio genético que permite la entrada de ADN exógeno dentro de la bacteria (ver Temas 14 y 20).

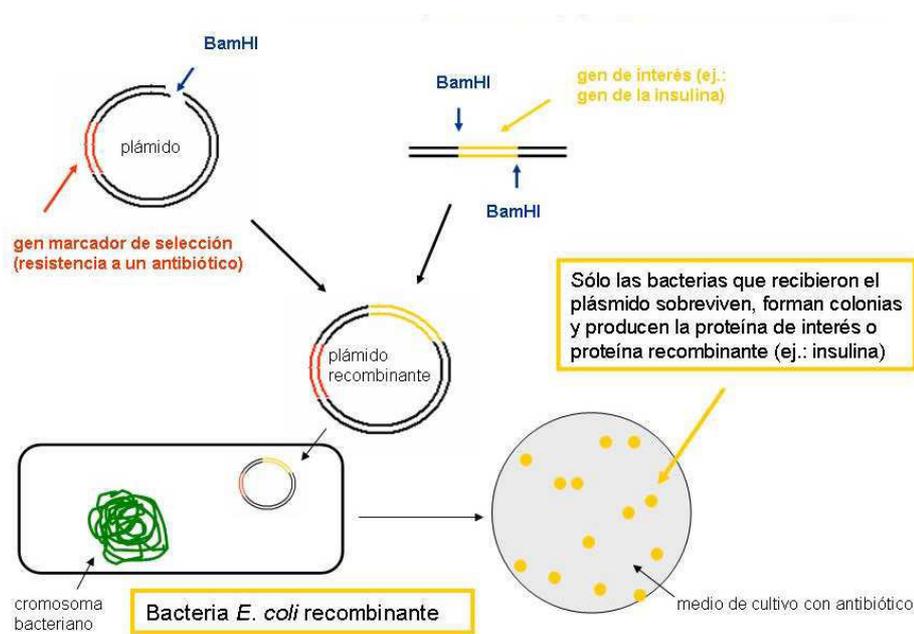


Figura 19.6. Esquema de un proceso de clonación de ADN con *Escherichia coli* como célula huésped. Fuente: <http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=151>

Normalmente no todas las células del cultivo de bacterias incorporan el plásmido recombinante. Para seleccionar las bacterias transformadas se añade al medio de cultivo el antibiótico que coincide con el del marcador. Las bacterias que sobrevivan serán las que han incorporado el plásmido, y por tanto, el gen que queremos clonar. En otros casos el marcador es gen que produce una molécula con luminiscencia.

Las bacterias transformadas se mantienen en medios de **cultivo** idóneos para su rápido crecimiento. Al mismo tiempo que las bacterias se duplican, se duplica también el número de plásmidos recombinantes y el gen que lleva insertado.

Finalmente, se obtiene una colonia bacteriana en la que habrá millones de copias, se aíslan los plásmidos recombinantes y se obtienen las copias del gen de interés.

Como veremos luego, esta técnica no sólo se utiliza para clonar el ADN sino también para obtener, gracias a la expresión de los genes clonados, los **productos** generados por dicho gen (ej., insulina)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) clona ADN sin necesidad de células

Hay otra técnica que permite obtener copias de ADN llamada **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**, que es más rápida y sencilla porque se trabaja *in vitro*, sin necesidad de recurrir a ni a ADN recombinantes ni a cultivos de células huésped. Básicamente consiste en replicar el ADN problema en tubos de laboratorio; como la cantidad de ADN aumenta rápidamente se denomina también **amplificación del ADN**. Para ello en un tubo de ensayo (ependorf, **Fig. 19.7**) se añaden los siguientes componentes:



Figura 19.7. Los tubos eppendorf son los más utilizados en trabajos de biología molecular y bioquímica. Fuente:

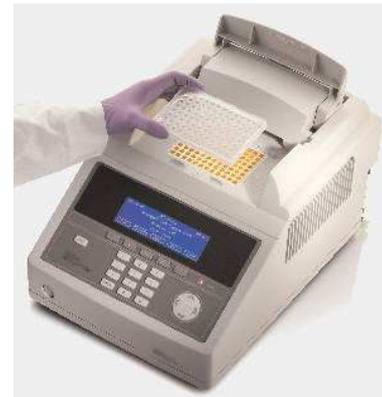


Figura 19.8. El termociclador se encarga de realizar los cambios de Tª que se necesitan en la PCR. Fuente:

- La muestra de ADN a amplificar
- Cebadores: pequeñas cadenas de nucleótidos complementarias a las secuencias de ADN que flanquean al gen que queremos copiar.
- Los cuatro tipos de dNTP desoxirribonucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).
- Una ADN polimerasa resistente al calor, obtenida a partir de la bacteria termófila *Thermus aquaticus* (Taq-polimerasa).

Una vez que los eppendorf están preparados se colocan en el **termociclador** o máquina del PCR, (Fig. 19.8). La PCR sigue un proceso cíclico que comienza calentando la muestra (95°C), lo que provoca la desnaturalización del ADN, y así se consigue separar las dos hebras de nucleótidos (fase de **desnaturalización**, Fig. 19.9a).

A continuación, se enfría (55°C) para permitir que los cebadores se unan con las secuencias complementarias en cada una de las cadenas del ADN separadas (fase de **alineamiento**). Después se sube un poco la Tª, con lo que la Taq-polimerasa empieza a trabajar. Tomando el cebador como punto de partida, va añadiendo nucleótidos y alargando cada una de las nuevas cadenas de nucleótidos (fase de alargamiento o **extensión**).

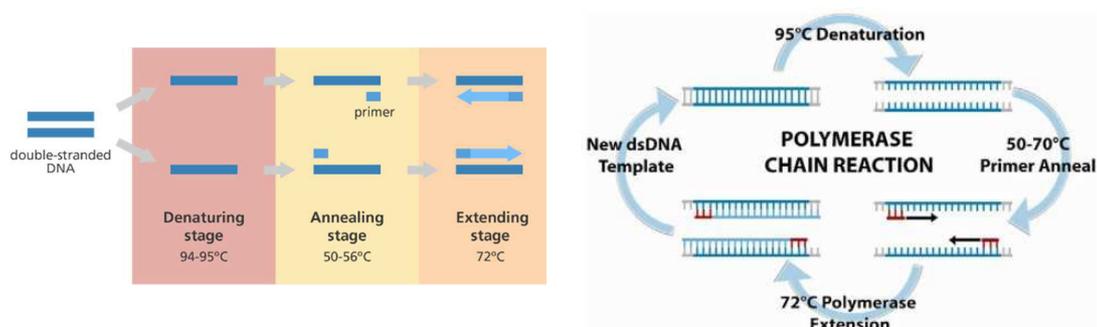


Figura 19.9. A la izqda., las tres fases del proceso de replicación en un ciclo de la PCR; a la drcha., la reacción completa. Fuente: <http://www.yourgenome.org/facts/what-is-pcr-polymerase-chain-reaction>

Por tanto el primer ciclo de calentamiento y enfriamiento produce dos cadenas nuevas por cada una que estaba presente en la muestra original. El calentamiento y enfriamiento se repite en muchas veces; cada ciclo dura 2-3 minutos y duplica la cantidad de ADN existente, de modo que al cabo de unas horas hay millones de copias de ADN (Fig. 19.9b). Las temperaturas y tiempos del termociclador se programan y el proceso se realiza de forma automática.

Las aplicaciones de la PCR son múltiples:

- ✚ Amplificaciones de ADN para todo tipo de estudios evolutivos o, paleontológicos.
- ✚ La obtención de la huella genética de ADN en medicina forense, pruebas de paternidad, etc.
- ✚ Detección de ADN para pruebas de diagnóstico, por ej., detección de virus en etapas tempranas de infección del VIH

La secuenciación del ADN indica el orden de los nucleótidos

La **secuenciación de ADN** es un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos (A, C, G y T) de una muestra de ADN. Las técnicas de secuenciación cambian y se actualizan rápidamente, por lo tanto no vale pena pararse en detalle para conocer cómo funcionan. Uno de los más utilizados en la actualidad es la secuenciación **automática por terminador fluorescente (Fig. 19.10)**, otro método muy prometedor es la secuenciación por **nanoporos** con ayuda de **grafeno**.

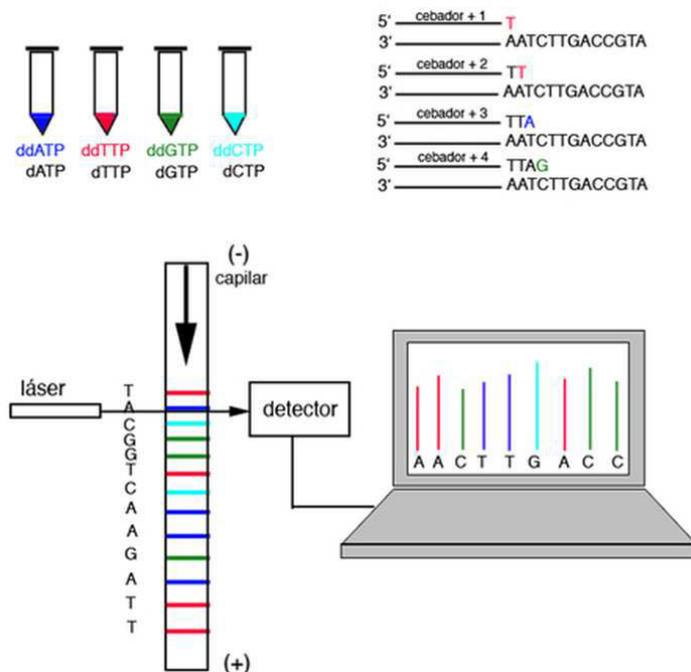


Figura 19.10. Secuenciación automática de ADN por terminador fluorescente. Fuente: <http://ingenieriagen.weebly.com/la-secuenciacion-automatizada-del-adn.html>

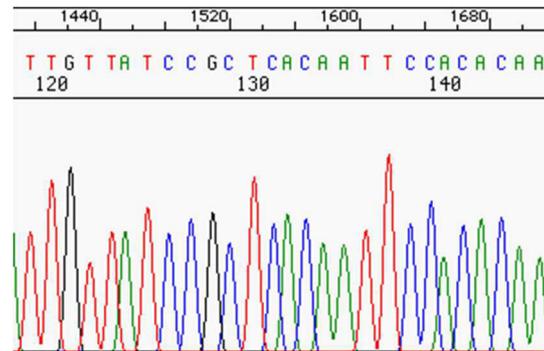


Figura 19.11. Una muestra del resultado de la secuenciación del ADN, cada color corresponde a un nucleótido. Fuente: <http://bio.inf.com>
avupv.es/courses/intro_bio_inf/

La tecnología CRISPR/Cas 9 permite editar el ADN

La tecnología **CRISPR/Cas9** es una herramienta molecular utilizada para **editar** o **corregir** el genoma de cualquier célula. Se trata de unas tijeras moleculares capaces de cortar la molécula de ADN de una manera **precisa** y totalmente controlada; esta precisión es lo que hace del sistema CRISPR/Cas la técnica más idónea para modificar la secuencia de ADN, eliminando o insertando fragmentos de elección.

Las siglas CRISPR provienen de *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, es decir *Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas*. Cas9 es el nombre de una serie de proteínas, principalmente nucleasas llamadas así por ser CRISPR associated system, un *sistema (enzimático) asociado a CRISPR*. El sistema CRISPR se descubrió en **procariotas**, cuando se vio que una zona determinada del genoma estaba llena de repeticiones palindrómicas sin ninguna función aparente. Estas repeticiones estaban separadas entre sí por secuencias o “espaciadores” que procedían de ADN de virus y plásmidos. Cerca de este agrupamiento están situados los genes *Cas* que codifican para un tipo de nucleasas. Cuando se descubrió se vio que era un mecanismo por el cual los procariotas son capaces de detectar la secuencia genética del fago que las ha infectado, cortarla y sustituirla por fragmentos de ADN sanos y operativos, que además quedan en herencia a la siguiente generación. En definitiva, el sistema CRISPR/Cas en procariotas consiste en las **repeticiones** [CRISPR] y los genes asociados a ellas [Cas], que forman un sistema defensivo [CRISPR/Cas] similar a un sistema inmune, que reconoce el ADN vírico y lo inactiva.

El ADN de las procariotas carece de la protección de la membrana nuclear, se encuentra disperso en la célula, lo que tiene sus ventajas y sus inconvenientes. El problema más importante al que tienen que hacer frente es el ataque por parte de su mayor enemigo, los **bacteriófagos**. Para **defenderse** y poder mantener íntegro su material genético las bacterias poseen una habilidad asombrosa para detectar, y posteriormente recortar y editar el material genético del fago que las ataca. Las **proteínas Cas** son capaces de coger una pequeña parte del ADN viral, modificarlo e integrarlo dentro del conjunto de secuencias CRISPR. De esa forma, si esa bacteria (o su descendencia) se encuentra con ese mismo virus, podrá inactivarlo de forma mucho más eficiente.

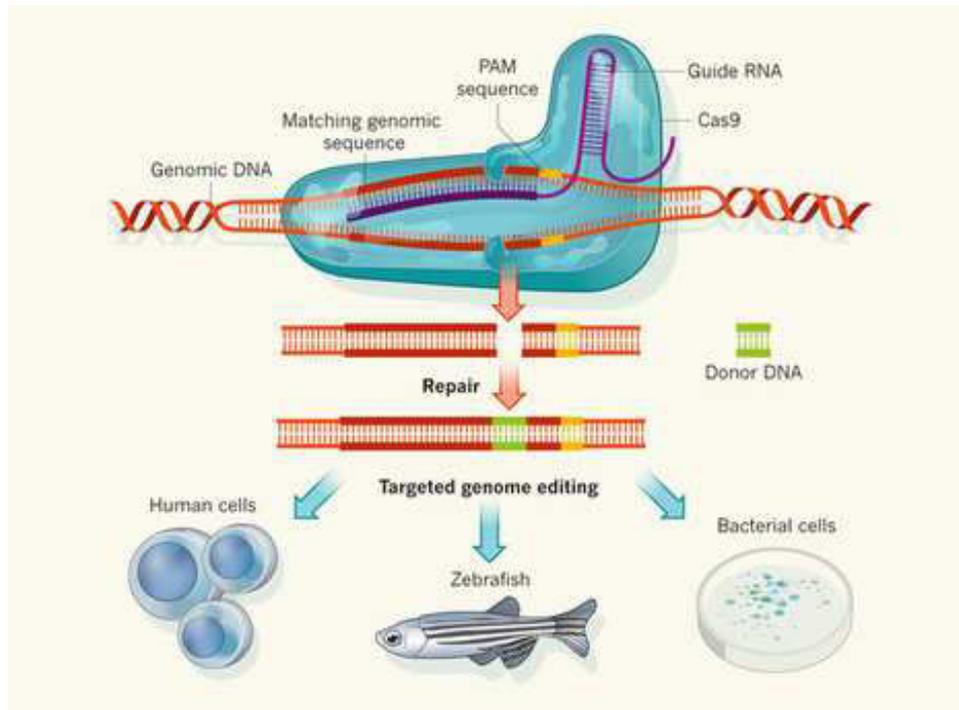


Figura 19.12. Los elementos del sistema CRISPR/Cas9 y sus aplicaciones. Fuente: <http://www.scoop.it/t/crispr-cas-system-for-eukaryotic-genome-engineering/>

Docenas de enfermedades de origen genético consisten en una alteración errónea en esa interminable secuencia de letras que componen nuestro ADN... ¿podríamos, al igual que los procariontes, detectar la secuencia conflictiva, cortarla y sustituirla por una correcta? Por eso, las técnicas genéticas y aplicaciones asociadas a CRISPR/Cas no han tardado en llegar y en 2013 se convirtieron en la estrella de los círculos científicos especializados.

Como se ve en la **Fig. 19.12** el sistema CRISPR/Cas9 consiste básicamente en una **guía de ARN**, que es el transcrito del ADN problema, y una enzima nucleasa (Cas) que una vez encontrada la secuencia, corta la cadena de ADN buscado, permitiendo cambiarlo por otro o eliminarlo

La técnica de CRISPR/Cas es **barata** y sencilla de usar, actualmente está disponible en prácticamente todos los laboratorios de genética del mundo. Con la llegada de esta técnica se está difuminando la línea divisoria entre lo que es un transgénico y lo que no lo es, de forma que las discusiones sobre las implicaciones éticas y sociales de su utilidad potencial no han hecho más que empezar.

Por ejemplo, manipular el ADN de un humano adulto que porte algún defecto causante de enfermedad puede tener ciertas implicaciones éticas, pero más allá de los aspectos técnicos y de seguridad para el paciente, pocos son los que se opondrían a una intervención de ese tipo. Estaríamos ante un refinamiento de estrategias ya ensayadas con anterioridad y que llamamos "terapia génica". Sin embargo, la alteración del genoma en los primeros pasos del desarrollo embrionario implica la generación de un individuo con información genética nueva, diseñada, con el potencial de ser transmitida a sucesivas generaciones (de tener éxito reproductivo) y por

tanto de establecer una nueva estirpe de seres humanos. Los alcances de la tecnología del CRISPR/Cas están siendo sometidos a serios debates.

19.3 LOS COLORES DE LA BIOTECNOLOGÍA

Las técnicas de biotecnología se utilizan en diferentes tipos de industrias y sectores económicos, Para facilitar la clasificación de estas actividades, se recurre a los colores de la biotecnología. ¿Quién no relaciona biomedicina con el color rojo de la sangre? ¿Y quién no relaciona la agricultura con el color verde? Así, la Biotecnología se clasifica en colores, cada uno representando un área distinta (Fig. 19.13). Se habla de cinco áreas principales -roja, verde, blanca, gris y azul- aunque hay muchos más colores.

La biotecnología **roja** es la biotecnología aplicada a la medicina, la llamada **biomedicina**, dedicada al estudio y tratamientos para enfermedades, creación de nuevos fármacos, que vamos a desarrollar con más detalle.

La biotecnología **verde** comprende todo lo relacionado con la **agroalimentación**. Las aproximaciones y usos biotecnológicos verdes incluyen la creación de nuevas variedades de plantas o animales de interés agropecuario, la producción de biofertilizantes y biopesticidas, el cultivo in vitro y la clonación de vegetales.



Figura 19.13. Los diferentes campos de aplicación de la biotecnología se representan por colores. Fuente: <http://revistavolarcolombia.com/estilo-de-vida/tecnologia/colombia-le-apuesta-a-la-biotecnologia/>

Muy relacionada con la biotecnología verde está la biotecnología **gris**, que comprende todas aquellas aplicaciones directas de la biotecnología al **medio ambiente**

La biotecnología **azul** se basa en la explotación de los recursos de los **océanos** para la generar productos y aplicaciones de interés industrial. Si tenemos en cuenta que el mar ofrece la mayor biodiversidad, potencialmente existe una enorme variedad de sectores que se pueden beneficiar de los usos de la biotecnología azul. Muchos de los productos y aplicaciones de la biotecnología azul se encuentran en fase de búsqueda o investigación, aunque ya hay ejemplos de utilización de algunos de ellos de forma cotidiana.

La biotecnología **blanca** engloba a todos aquellos usos relacionados con los procesos industriales. Por esta razón, la biotecnología blanca es conocida como **biotecnología industrial**. Esta rama de la biotecnología presta especial atención al diseño de procesos y productos que consuman menos recursos que los tradicionales, haciéndolos energéticamente más eficientes o menos contaminantes. Existen numerosos ejemplos de biotecnología blanca, como son la utilización de microorganismos para la producción de productos químicos, el diseño y producción de nuevos materiales de uso cotidiano (plásticos, textiles...) y el desarrollo de nuevas fuentes de energía sostenibles, como los biocombustibles.

Hay muchos más colores, por ejemplo se habla de la biotecnología dorada como la dedicada a la **bioinformática**. Con las nuevas tecnologías, se manejan cada vez datos más y se necesitan nuevos programas, nuevos algoritmos, que permitan trabajar con ellos.

La biotecnología roja se relaciona con la medicina

La **biotecnología roja** agrupa todos aquellos usos de la biotecnología relacionados con la **medicina**. La biotecnología roja incluye un amplio abanico de aplicaciones entre las que destacan:

- a. **Obtención** de **productos** farmacéuticos como vacunas, anticuerpos monoclonales, hormonas, antibióticos, antitumorales, proteínas, vitaminas, factores de crecimiento, etc. (ver más adelante).
- b. El desarrollo de **nuevos fármacos**, por ej., de vacunas más seguras (ver [Tema 22](#)).

Figura 19.14. La biotecnología ambiental contribuye a mantener la biodiversidad. Fuente: <https://www.linkedin.com/pulse/biotechnology-better-tomorrow-kevin-brown>



- a. Utilización de **marcadores** o señales **genéticas**, por ej., en investigación policial y medicina forense para la identificación de supuestos implicados, en pruebas de paternidad y en estudios históricos y arqueológicos donde se investiga sobre restos humanos. La comparación de marcadores genéticos entre una muestra conocida y una muestra desconocida permiten determinar si ambas muestras están relacionadas o si son idénticas. También se emplean para el mapeo del genoma y la identificación de genes de interés.
- b. **Técnicas** moleculares de **diagnóstico**, como los **biochips** de ADN para detectar enfermedades genéticas (ver más adelante).
- c. Terapia **regenerativa** celular que se basa en cultivos de **células madre** para regenerar tejidos y órganos
- d. **Terapia génica** para tratar enfermedades genéticas (ver más adelante)
- e. Utilizar **animales transgénicos** (cerdo principalmente) que llevan genes humanos para fabricar órganos que puedan ser trasplantados en humanos con el menor rechazo posible.

La insulina fue la primera proteína humana obtenida por IG

La **insulina**, el interferón, la hormona del crecimiento o el factor VIII de la coagulación son ejemplos de péptidos y proteínas que se producían en cantidades muy pequeñas mediante procesos muy costosos y que, en la actualidad, se fabrican mediante la ingeniería genética. Los genes necesarios para fabricar estas proteínas se introducen en microorganismos, generalmente en **bacterias**, que las fabricarán en grandes cantidades a bajo precio y exentas de riesgo. También se puede introducir genes en bacterias para que fabriquen otros medicamentos como antibióticos, vacunas...



Figura 19.15. La biomedicina se ha desarrollado extraordinariamente en los últimos años. Fuente: <https://admissions.carleton.ca/careers/biomedicine/>

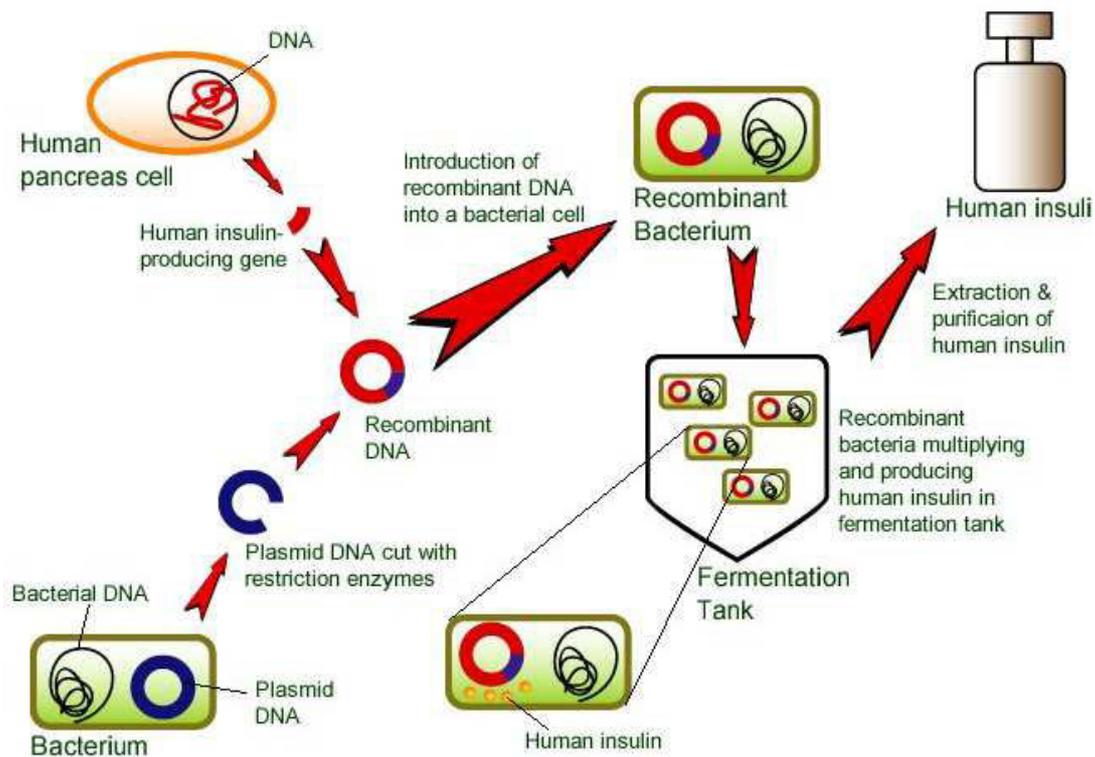


Figura 19.16. Pasos para la producción industrial de insulina humana por IG. Fuente:

https://www.ied.edu.hk/biotech/eng/classrm/class_health5.html

Uno de los logros más importantes de la biotecnología fue la producción de hormonas con técnicas de ingeniería genética. Hasta 1982, los diabéticos tenían que inyectarse insulina de vaca o cerdo, pero la insulina del cerdo difiere de la humana en un aminoácido, y al no ser idénticas, su uso producía efectos secundarios. La solución fue la producción de insulina humana por *Escherichia coli* a las que se les inserta, mediante ingeniería genética, el gen humano que produce la insulina.

La medicina personalizada permite tratamientos más eficaces

La medicina moderna intenta comprender la **base molecular** de la **enfermedad**, para ello se vale de herramientas precisas de diagnóstico y trata de desarrollar fármacos específicos dirigidos a dianas muy determinadas. El objetivo de la medicina siempre ha sido, por supuesto, ajustar los tratamientos a los pacientes, pero ahora el **diagnóstico molecular** permite una aplicación precisa de cada fármaco en cada paciente. Si se utilizan pruebas diagnósticas específicas y se realiza un diagnóstico completo, el médico podría determinar mejor qué fármaco escoger, cuál es la dosis adecuada y cuánto tiempo debería durar el tratamiento.

La medicina personalizada utiliza test moleculares (**biochips** de ADN) para dividir a los pacientes según su respuesta a un tratamiento y mejora la eficacia del tratamiento seleccionando a los individuos que responden bien o excluyendo a los que van a tener un efecto adverso.

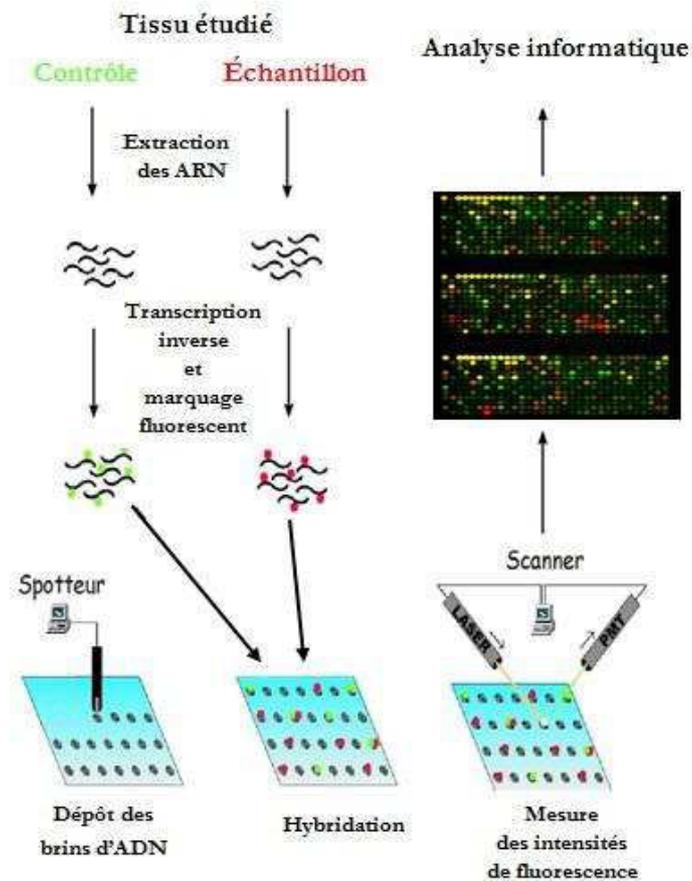


Figura 19.17. Esquema de un análisis con biochip de ADN. Fuente: <http://www.cirad.fr/>

Los biochips permiten analizar grandes cantidades de ADN. Son pequeñas placas que contienen cientos de secuencias de ADN colocados en diminutas casillas (Fig. 19.23), sobre las que se colocan gotas de sangre o saliva que llevan el ADN problema y que permiten detectar de forma rápida el grado de expresión de un gen causante de una enfermedad genética.

Como ejemplo de medicina personalizada cabe mencionar los nuevos tratamientos para el **cáncer**, dado que actualmente se pueden conocer las características del tumor que sufre cada paciente y ya existen productos específicos para variantes moleculares diferentes de cánceres de mama, pulmón, colon, piel, y sangre.

En este sentido la medicina personalizada es más **eficiente**, al identificar grupos de pacientes que se pueden beneficiar de medicamentos mejor diseñados, evitando algunos de los efectos secundarios asociados con la quimioterapia, y ahorrando un tiempo valioso con el tratamiento adecuado en una fase temprana. Por ejemplo, el **cáncer de mama** es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales. En España se diagnostican alrededor de 25.000 nuevos cánceres de mama al año, se calcula que 1 de cada 8 mujeres tendrá cáncer de mama a lo largo de su vida, pero el cáncer de mama no es una, sino muchas enfermedades diferentes. Por tanto los biochips de ADN para conocer si son portadoras del gen que desencadena un tipo de cáncer determinado son de gran utilidad.

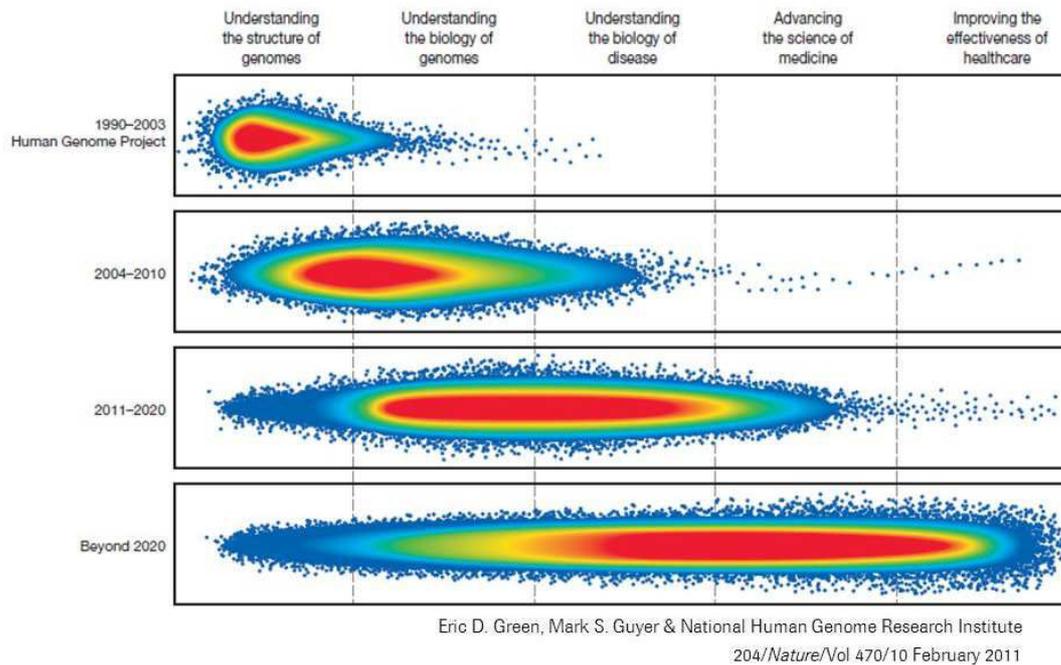


Figura 19.18. Desarrollo de la medicina personalizada. Fuente: [Nature, 2011](#)

La terapia génica permite eliminar enfermedades genéticas

Entre las 6000 enfermedades genéticas conocidas, ya se conoce el gen causante de más de 2000. Por tanto, actualmente (2016) existen más de 2000 tipos de test genéticos distintos, que permiten analizar en el laboratorio si está presente en el genoma del paciente el gen causante de estas 2000 enfermedades hereditarias. Pero la lista de test genéticos disponibles crece constantemente gracias a los avances de la investigación genética.

En humanos la **terapia génica** consiste en insertar un gen funcional en las células del paciente, bien para corregir un defecto genético o bien para dotar a las células de una nueva función. Hasta hace poco los éxitos en terapia genética eran muy reducidos porque no se sabía cómo llegar hasta el gen deseado, actualmente gracias a la técnica de CRISPR/Cas se puede solucionar este problema.

Aparte del sistema CRISPR/Cas, hasta hace poco se conocían dos formas de actuación:

In vivo: se modifican las células del paciente directamente, en el órgano afectado. Por ej., en casos de cáncer se suprime el tumor porque se induce un suicidio celular. También se pueden emplear virus no patógenos que hayan sido modificados genéticamente y que porten el gen sano, estos vectores se inoculan en la sangre del paciente o mediante aerosoles y son reconocidos por células diana específicas.

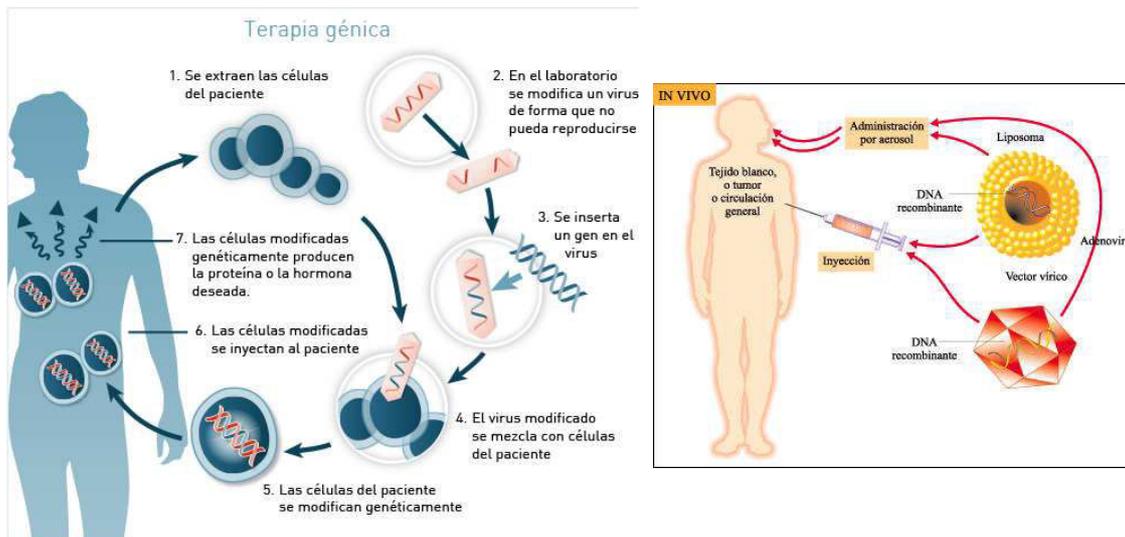


Figura 19.19. Fases para tratamiento con terapia génica ex vivo y in vivo. Fuente:

<http://www.fundacionmencia.org/es/enfermedades-geneticas/terapia-genica/> y http://cmc-2012-so.blogspot.com.es/2012_03_01_archive.html

✚ **Ex vivo:** En este caso se realiza en el laboratorio, se extraen células afectadas del paciente, se cultivan, se modifican y se reintroducen. Así se trata la inmunodeficiencia congénita de los niños burbuja (ver Tema 22).

19.6

LA GENÓMICA Y PROTEÓMICA APORTAN INFORMACIÓN VALIOSA PARA FUTURAS INICIATIVAS

El **genoma** comprende el conjunto de **genes** de un ser vivo, el juego completo de instrucciones hereditarias para la construcción y mantenimiento de las células en determinadas condiciones medioambientales. La **genómica** estudia genomas completos, o grandes regiones del mismo, en contraste a otros estudios genéticos más tradicionales centrados en un gen o un pequeño grupo de genes. A mediados de los años ochenta se disponía de la secuencia completa de algunos virus y del genoma mitocondrial humano y se comenzó a proyectar la secuenciación de organismos con miras más amplias y extensas. Los investigadores trabajando en grandes consorcios internacionales y multidisciplinarios consiguieron avanzar en las técnicas de secuenciación y análisis informático para ir abordando secuenciaciones de ADN de organismos modelo cada vez más complejos, como se ve en el **Anexo 2**. Los organismos modelo han sido ampliamente utilizados en la investigación biológica, de forma que han permitido obtener una ingente cantidad de información y en la actualidad son piezas clave de la investigación biomédica.

El conocimiento de estas secuencias es el primer paso de lo que se ha dado en llamar **genómica funcional**, que trata de caracterizar la función de los genes descubiertos en estos organismos mediante diferentes estrategias, como el análisis de los perfiles de expresión génica, análisis fenotípicos de mutantes o el análisis de interacciones proteicas.

Anexo 1: Genómica

En 1972 se crea la primera molécula de ADN recombinante

En 1977 comienzan las primeras técnicas de secuenciación del ADN

En 1985 se inventa el secuenciador automático de ADN

En 1995 se completa el genoma de las primeras bacterias, ej., *Haemophilus influenzae* y *Mycoplasma genitalium*.

En 1996 se dio a conocer el genoma de un eucariota unicelular, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

En 1998 se finalizó la secuenciación de un organismo eucariota pluricelular, el nematodo *Caenorhabditis elegans*.

En 2000 se publica la secuencia completa de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y la planta modelo *Arabidopsis thaliana*

En 2001 primer bosquejo del genoma humano

En 2002 se secuencian el genoma del arroz (*Oryza sativa*)

En 2003 se publicó la secuencia completa del genoma humano (ver epígrafe)

El Proyecto Genoma Humano secuenció el ADN humano

El **Proyecto Genoma Humano (PGH)** fue uno de los mayores hitos científicos del s. XX, un proyecto dedicado a determinar la **secuencia** de nucleótidos (o bases) que componen el ADN celular humano y cartografiar los aproximadamente 20.000 a 25.000 genes que contiene. Los resultados del PGH, abierto al **público** en el **NCBI** (National Center for Biotechnology Information del gobierno de USA) y en otras bases de datos en Internet, permiten identificar cada gen humano, localizar su posición en el cromosoma y determinar su secuencia de nucleótidos.

En el PGH liderado por USA y desarrollado entre 1990 y 2003, participaron más de 20 Universidades e Institutos científicos de diferentes países, siendo el mayor proyecto de **colaboración** biomédica de la historia. Se creó por un lado un consorcio público y por otro participaron empresas privadas, entre ellas **Celera Genomics** (con Craig **Venter**), que utilizó una técnica distinta que le permitió secuenciar el ADN humano más rápidamente. En 2001 se publicó el primer borrador en *Nature* y *Science* (**Fig. 19.26a**) y en 2003 se publicó el genoma completo.

La **tecnología** empleada para secuenciar el ADN humano, aunque distinta en cada grupo de investigación, consistió básicamente en fragmentar muestras de ADN humano procedente de donantes voluntarios de distintas etnias, introducirlas en bacterias (en el caso del consorcio público), obtener copias de ADN humano y secuenciarlas de forma automática. Una vez secuenciados los miles de fragmentos se ordenaron para recomponer el genoma humano. Durante el proyecto tuvo gran importancia el desarrollo de la tecnología para el tratamiento de las bases de datos (**bioinformática**). El avance producido permitió acabarlo dos años antes de lo previsto.



Figura 19.20. A la izqda., las portadas de Science (16-2-2001) y Nature (15-2-2001) que publicaron los primeros resultados de los dos grupos de trabajo (consorcio y empresas privadas) del PGH; a la drcha., un ejemplo de haplotipos. Fuente: <http://gonitsora.com/diligimus-cognition-we-love-knowledge-6/> y <https://www.genome.gov/27562906/acerca-del-proyecto-internacional-hapmap/>

La secuenciación por el genoma no sólo produjo notorios avances tecnológicos en materia de análisis computacionales y bioinformáticos, condujo también a un serio **debate ético** y social, del que nació la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos, redactada por la UNESCO (1997) *“El genoma humano es la base de la unidad fundamental de todos los miembros de la familia humana y del reconocimiento de su dignidad intrínseca y su diversidad. En sentido simbólico, el genoma humano es el patrimonio de la humanidad.”*

Pero aunque fue declarado patrimonio de la humanidad, la **información** de algunos genes de interés fue **reservada**, y una vez solicitada y obtenida la patente de los mismos, las empresas interesadas obtuvieron sus derechos de comercialización. Aún están en discusión los problemas sociales y jurídicos relacionados con la polémica sobre las **patentes** de genes humanos. En 2013 la Corte Suprema de USA dictaminó en contra la compañía *Myriad Genetics*, una compañía que desarrolla test para los genes supresores de tumores relacionados con el cáncer de mama (BRCA1 y BRCA2), y que cobraba unos 2500 euros por la prueba. La sentencia indica que no se puede patentar una secuencia de ADN encontrada de forma natural, aunque sí puede patentarse el ADN producido sintéticamente.

Gracias a este desarrollo tecnológico el precio de secuenciar ha bajado sustancialmente. No está muy claro cuál es el coste real de secuenciar un genoma. Lo que se sabe es que las grandes operaciones de secuenciación bajo pago en Estados Unidos y Asia actualmente cobran entre 1.600 dólares (unos 1.434 euros) y 1.800 dólares (unos 1.613 euros) para decodificar el genoma de un individuo, aunque hay empresas que han bajado ya la barrera de los 1000 dólares. Quedan muy lejos los 2.700 millones de dólares que costó el Proyecto Genoma Humano o, incluso, los 100.000 dólares que S. Jobs pagó por el suyo. Los precios bajan porque las compañías desean hacerse con bases de datos extensas, además están convencidas de que, de una manera u otra, toda la información del genoma de las personas acabará alojándose en algún rincón de la nube y la gente accederá a los datos mediante **software** móvil que les ayude a rastrear los riesgos de salud, elegir qué comer, qué fármacos evitar, y todo tipo de recomendaciones personalizadas en relación a sus genes.

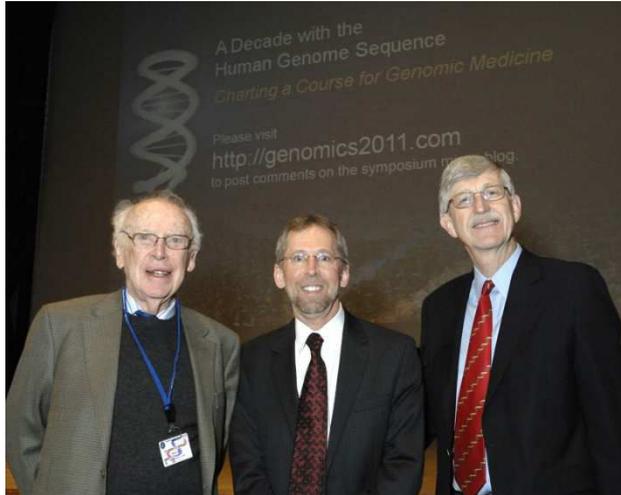


Figura 19.21. J. Watson (descubridor de la estructura del ADN y primer director del PGH), E. D. Green (director of the National Human Genome Research Institute, USA) y Francis Collins (director del PGH tras Watson y actual director del National Institutes of Health, USA) conmemorando el décimo aniversario del PGH. Fuente: http://symbiotica.febiotecdivulga.es/?pa_ge_id=558

Conclusiones del PGH

El genoma humano consta de 25-30.000 genes (3.200 millones de pares de bases), frente a los 100.000 calculados, de modo que el **número de genes** es relativamente **bajo**; por ej., es x4 el de una bacteria y solo x2 el de la mosca del vinagre, y es menor que el ratón o una planta de arroz.

El 99,9% del genoma es **idéntico** en todas las personas y un 98% idéntico al del chimpancé. Las diferencias con otras especies fueron menores de lo esperado.

Más del 90% del ADN humano no tiene una función conocida. Solo una pequeña fracción del ADN humano codifica para proteínas o ARN.

Las **diferencias** genéticas entre personas ocurren en un solo nucleótido cada 1000 a 1.300 nucleótidos de promedio. De modo que, si hay aproximadamente 3.200 millones de nucleótidos, hay 3,2 millones de posibles diferencias. Estas diferencias se llaman **SNP (polimorfismos de un solo nucleótido, Fig. 19.26b)**

Anexo 2: Otros proyectos tras el PGH

El PGH fue el primer gran proyecto internacional que abrió la puerta a toda una secuela de investigaciones sobre distintos aspectos del genoma humano: **HapMap, Encode, 1000 genomas**, etc. La mayor parte de la información producida por estos proyectos está ahora disponible gratuitamente en bases de datos públicas del NCBI para los investigadores de todo el mundo.

El proyecto HapMap (2002-2005) estudio las regiones cromosómicas que presentan similitudes y diferencias genéticas entre los individuos. Hap Map significa mapa de haplotipos del genoma humano, un **haplotipo** es un conjunto de polimorfismos de un solo nucleótido (**SNPs**) en un cromosoma particular que están estadísticamente asociados. El HapMap creó un catálogo de haplotipos que permite entender mejor la relación entre el genoma y la salud humana, proporciona un recurso muy valioso a los investigadores para encontrar genes que afectan a la salud, la enfermedad y así como las respuestas de diferentes individuos a los medicamentos y los factores ambientales.

Proyecto Mil Genomas o 1KGP, desarrollado entre 2008-2015 gracias a las nuevas técnicas de secuenciación de ADN de alto rendimiento, ha significado un esfuerzo colosal. El 1KGP ha secuenciado a 2504 personas de 5 continentes y 26 poblaciones distintas, desde chinos inmigrantes en Denver, Colorado, hasta miembros de la tribu Luhya en Kenia. La **variación genética** natural en los humanos es clave para descubrir la variación genética asociada a enfermedades y para ayudar a desarrollar tratamientos efectivos. Más aún, ya está en marcha un proyecto UK10K que secuenciará el genoma de unos diez mil británicos.

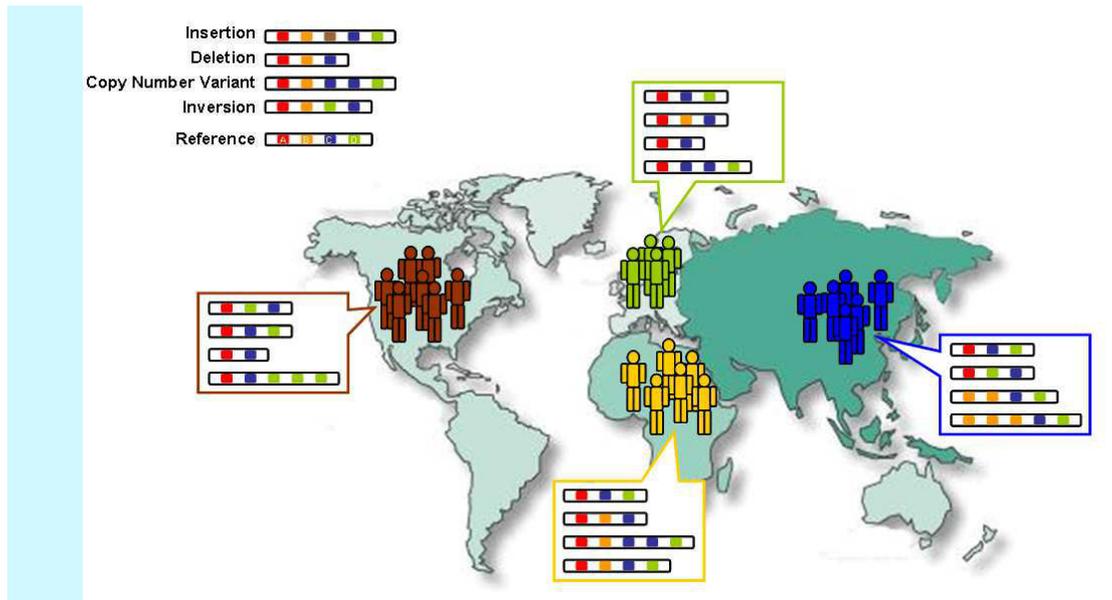


Figura 19.22. El proyecto 1KGP estudio los cambios en el número y orden de genes que crean variación entre poblaciones de diferentes continentes. Fuente: https://en.wikipedia.org/wiki/1000Genomes_Project

Un paso más con el Encode

Encode (2003-) responde al acrónimo de **ENCyclopedia Of DNA Elements**, es un proyecto de análisis exhaustivo del genoma humano, actualmente en la 4ª fase, para averiguar si el ADN no codificante tiene alguna función específica. ENCODE ha producido más de treinta artículos que se han publicado en diversas revistas científicas, incluida Nature.

El hallazgo más notable de este estudio es que el **80%** de todo el **ADN** contiene elementos vinculados a **funciones bioquímicas**, es decir, tiene *actividad bioquímica específica*, desterrando la idea de que gran parte del ADN es simplemente “basura” evolutiva. Por tanto, la secuencia del ADN, al menos en alguno de los tipos de células investigadas, está desplegada y expuesta, o muestra indicios de que está siendo transcrita (produciéndose ARN), o bien que hay proteínas que están adhiriéndose específicamente a dicha secuencia.

Gran parte del ADN no codificante, que no se expresa en proteínas, tiene **funciones de regulación**, por lo que pueden estar relacionados con enfermedades y pueden ser dianas terapéuticas. Estas funciones de regulación son complejas y operan a varios niveles, su papel es importante porque se mantienen en el curso de la evolución.

Los resultados de ENCODE indican que los **genes** son más **complejos** de lo que se pensaba hasta ahora. En vez de la visión tradicional, según la cual un gen da lugar a uno o varios transcritos alternativos que codifican una proteína, parece claro que una región genómica puede codificar distintos productos proteicos y además dar lugar a otros transcritos (no necesariamente codificantes de proteínas) en ambas cadenas. Todo esto ha llevado a replantear el concepto de gen, que en la era post-ENCODE se definiría como *la unión de las secuencias genómicas que codifican un conjunto coherente de productos funcionales, potencialmente solapantes*.

Los resultados del proyecto ENCODE son apasionantes y enriquecen enormemente nuestra visión del genoma humano, su regulación y funcionamiento, lo cual abrirá horizontes insospechados en la investigación genómica y tendrá fuertes implicaciones biomédicas en un futuro cercano.

Aplicaciones de los proyectos genómicos

Las principales aplicaciones de estos proyectos entran en el campo de la biotecnología roja, y se dirigen hacia una **medicina** cada vez más **personalizada** como se comentó antes. Permitirán la identificación de genes responsables de enfermedades genéticas o de predisposición genética, lo que abre la puerta a elaborar métodos de diagnóstico de dichas enfermedades mediante el empleo de biochips, avances en terapia génica, estudiar la respuesta a determinados fármacos, diseñar fármacos específicos para tratar las causas y no solo los síntomas de las enfermedades.

También permiten ahondar en la **historia** de la **humanidad** y conocer las rutas de **migraciones** de poblaciones humanas a lo largo de la historia

Tras la genómica llega la proteómica

Tras el estudio del genoma se inició el estudio global de las proteínas celulares. El término **proteómica** viene de la fusión de proteína y genoma. La proteómica estudia a gran escala las **proteínas**, en particular de su **estructura** y **función**. Las proteínas son partes vitales de los

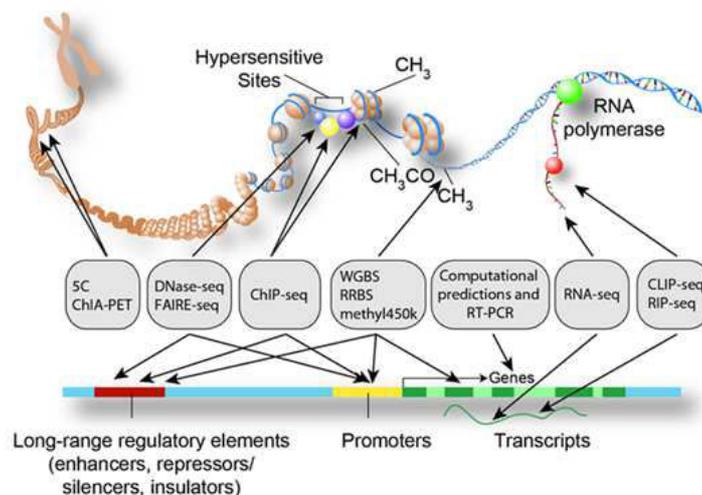


Figura 19.23. Esquema de los distintos elementos del ADN en una porción del cromosoma según ENCODE. Fuente: <https://www.encodeproject.org/>

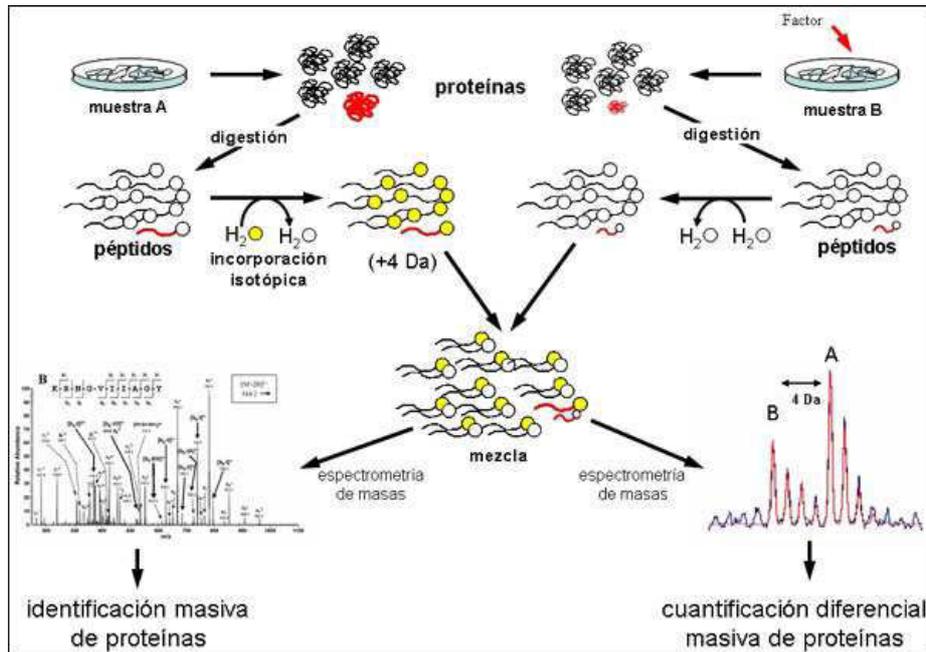


Figura 19.24. Métodos de estudio de la proteómica. Fuente: <https://cienciasomicas.wordpress.com/proteomica/>

organismos vivos, ya que son los componentes principales de las rutas metabólicas de las células. Hubo dos factores decisivos para el desarrollo de la proteómica, por un lado la secuenciación de los genomas a gran escala (se conoce la secuencia de los genes pero no su función), y por otro, el desarrollo de **técnicas** de separación y análisis de proteínas, como electroforesis bidimensional y espectrometría de masas.

La secuenciación del genoma humano ha permitido conocer el número de genes que poseemos y que dicho número no es muy diferente del de otros organismos. La complejidad de los organismos parece radicar en las proteínas ya que un gen puede dar lugar a diferentes formas proteicas. Sabemos que las proteínas sufren diferentes **modificaciones post-traduccionales** antes de llegar a la configuración definitiva con la que realizan su función. Además las proteínas **interaccionan** con otras proteínas formando complejos proteicos. La proteómica proporciona un conjunto de herramientas muy poderosas para el estudio a gran escala de la función de los genes a nivel de proteína. La aplicación de la proteómica tiene un enorme potencial en el área de la **biomedicina** para el desarrollo de fármacos (anticancerígenos, para el sistema nervioso, aparato cardiovascular, antimicrobianos, etc.) métodos de diagnóstico, desarrollo de vacunas, etc.

CUESTIONES Y EJERCICIOS

1. Señala si son V o F las siguientes afirmaciones
 - o Las nucleasas de restricción reconocen secuencias de ADN que están necesariamente entre genes
 - o Las secuencias de restricción se sitúan al azar en el genoma
 - o En la PCR se emplea una ADN polimerasa resistente al calor
 - o Los plásmidos recombinantes, que tienen fragmentos de ADN exógeno llevan siempre un gen que proporciona resistencia a ampicilina.
2. En relación a las técnicas de ingeniería genética, indica:
 - a. ¿Qué es un ADN recombinante?
 - b. ¿Cuáles son las herramientas moleculares básicas para la construcción de un ADN recombinante?
 - c. ¿Cómo funciona cada una de estas herramientas?
3. Ordena la secuencia del proceso de producción de la planta transgénica del tabaco que contiene el gen de la enzima luciferasa.

IDENTIFICACIÓN: Las nuevas plantas fueron regadas con una solución que contenía luciferina y al cabo de un tiempo las plantas resplandecían.

INSERCIÓN: El cromosoma viral modificado se insertó luego en plásmidos Ti.

INCUBACIÓN: Las bacterias se incubaron con células foliares del tabaco.

TRANSFORMACIÓN: Los plásmidos fueron transferidos a las bacterias *E coli*.

RECOMBINACIÓN: El gen de la luciferasa se empalmó en el cromosoma de un virus vegetal, lo cual le suministró una secuencia regulatoria.

PROPAGACIÓN: Las células formaron una masa de tejido, conocido como callo, a partir del cual se obtuvieron nuevas plantas en medio de crecimiento adecuado.

AISLAMIENTO y AMPLIFICACIÓN: Conocida la estructura de la enzima luciferasa, el gen de la luciferasa se aisló y posteriormente se amplificó mediante PCR.