

# ¿Sabías que...?

Una aproximación a la  
utilidad de la Ciencia

● *¿Sabías que la modificación genética de bacterias puede servir para tratar enfermedades tan graves como el cáncer?*

Elisa Álvarez García

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I  
Universidad Complutense de Madrid



# BIOTECNOLOGÍA

Uso de organismos vivos o de compuestos procedentes de organismos vivos para obtener productos de valor para el hombre.

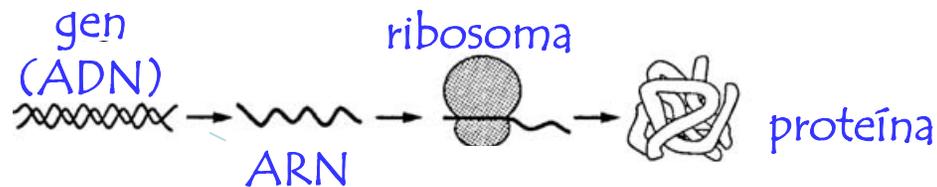
## - BIOTECNOLOGÍA TRADICIONAL.

Existe desde hace miles de años. Ejemplos: fermentación de alimentos, domesticación de animales y plantas, tratamiento de aguas residuales, etc.



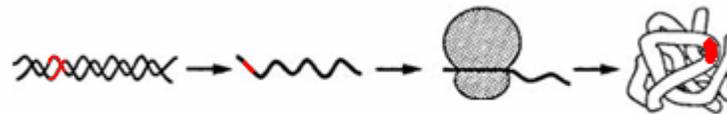
# -BIOTECNOLOGÍA MODERNA.

Implica la manipulación del ADN de los organismos vivos empleados haciendo uso de técnicas derivadas de la investigación en biología molecular y celular.



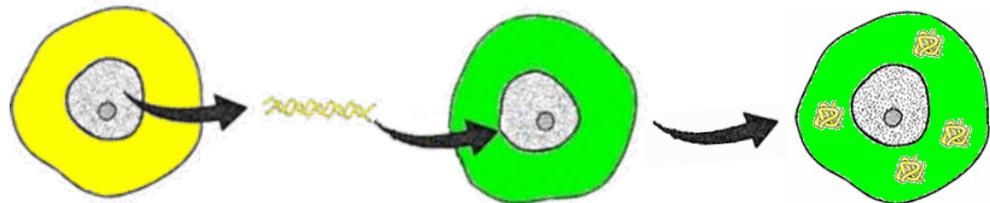
## Manipulación del ADN:

1.- Mutaciones:



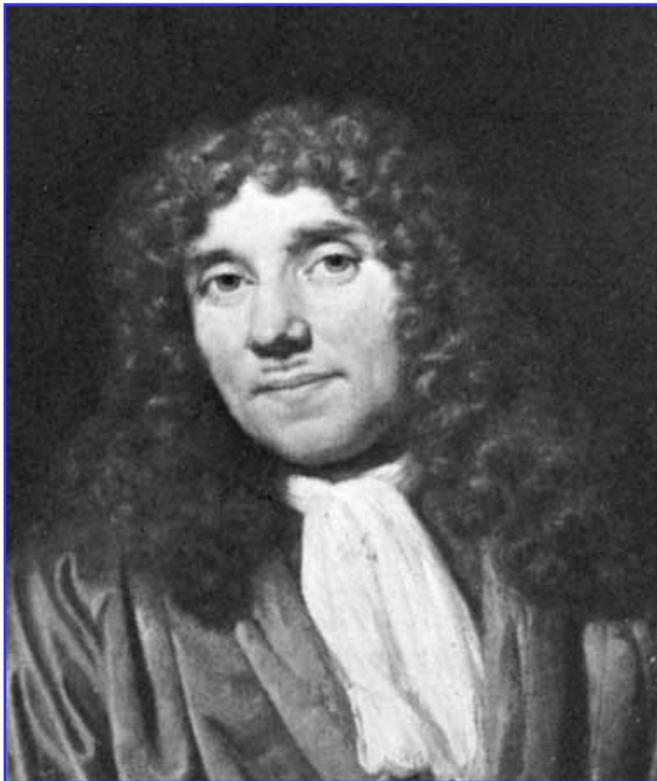
2.- Organismos transgénicos:

Introducción artificial de un gen proveniente de otro organismo diferente.



## Descubrimiento de los microorganismos

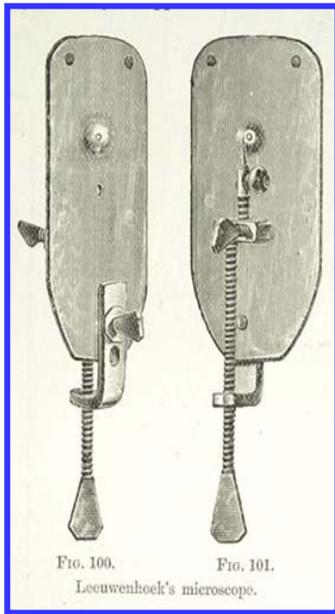
Aunque los microorganismos existen desde hace unos 4.000 millones de años, los primeros se observaron hace 300 años y tuvieron que pasar dos siglos más para que se reconociera su importancia.



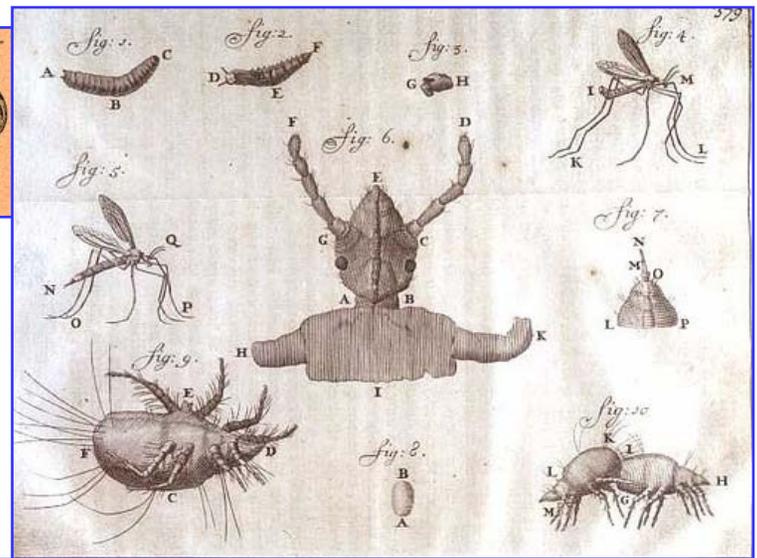
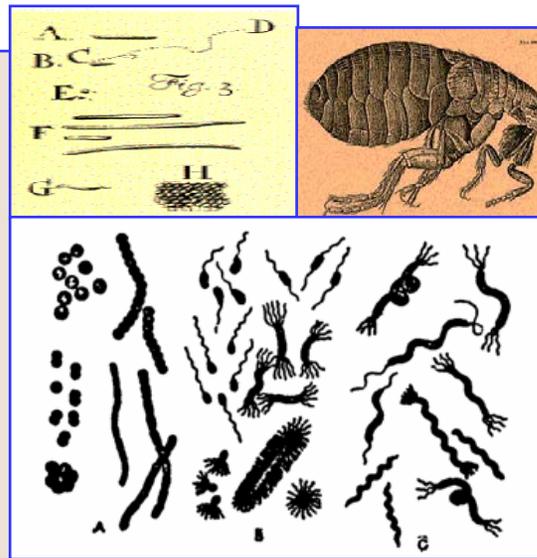
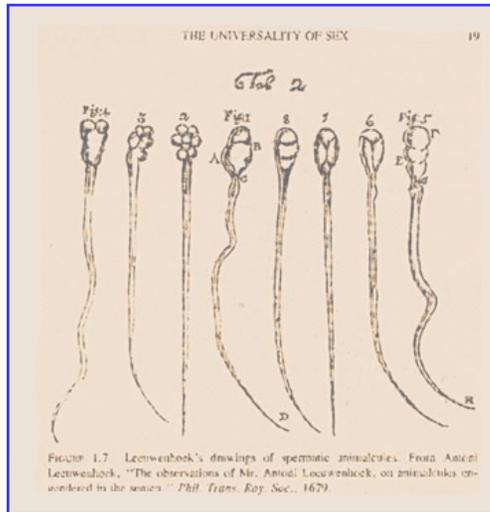
### Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723)

El naturalista holandés Antoni van Leeuwenhoek fue el primero en describir, en 1683, los microorganismos (a los que bautizó como "animáculos"), que observó con la ayuda de un microscopio construido por él mismo.

# El microscopio de Leeuwenhoek

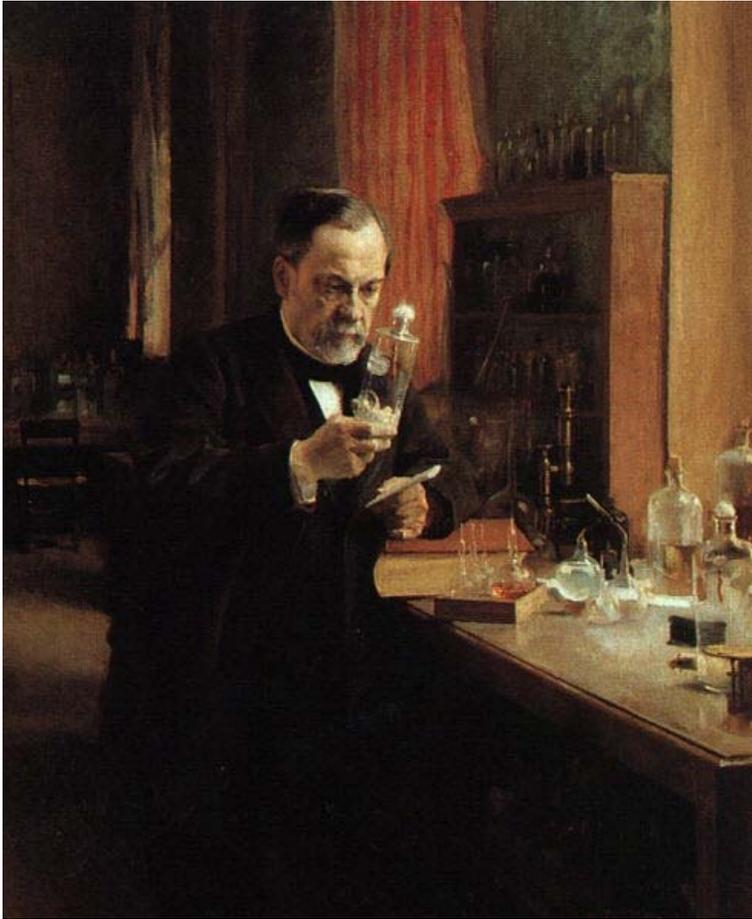


Leeuwenhoek examinó el agua de lluvia, de mar, de río, saliva y otras materias. Sin embargo, estas observaciones no condujeron a ninguna investigación acerca de las posibles actividades de los microorganismos, ni como agentes de fermentaciones ni de enfermedades infecciosas.



# Louis Pasteur

(1822-1895) Químico y biólogo francés

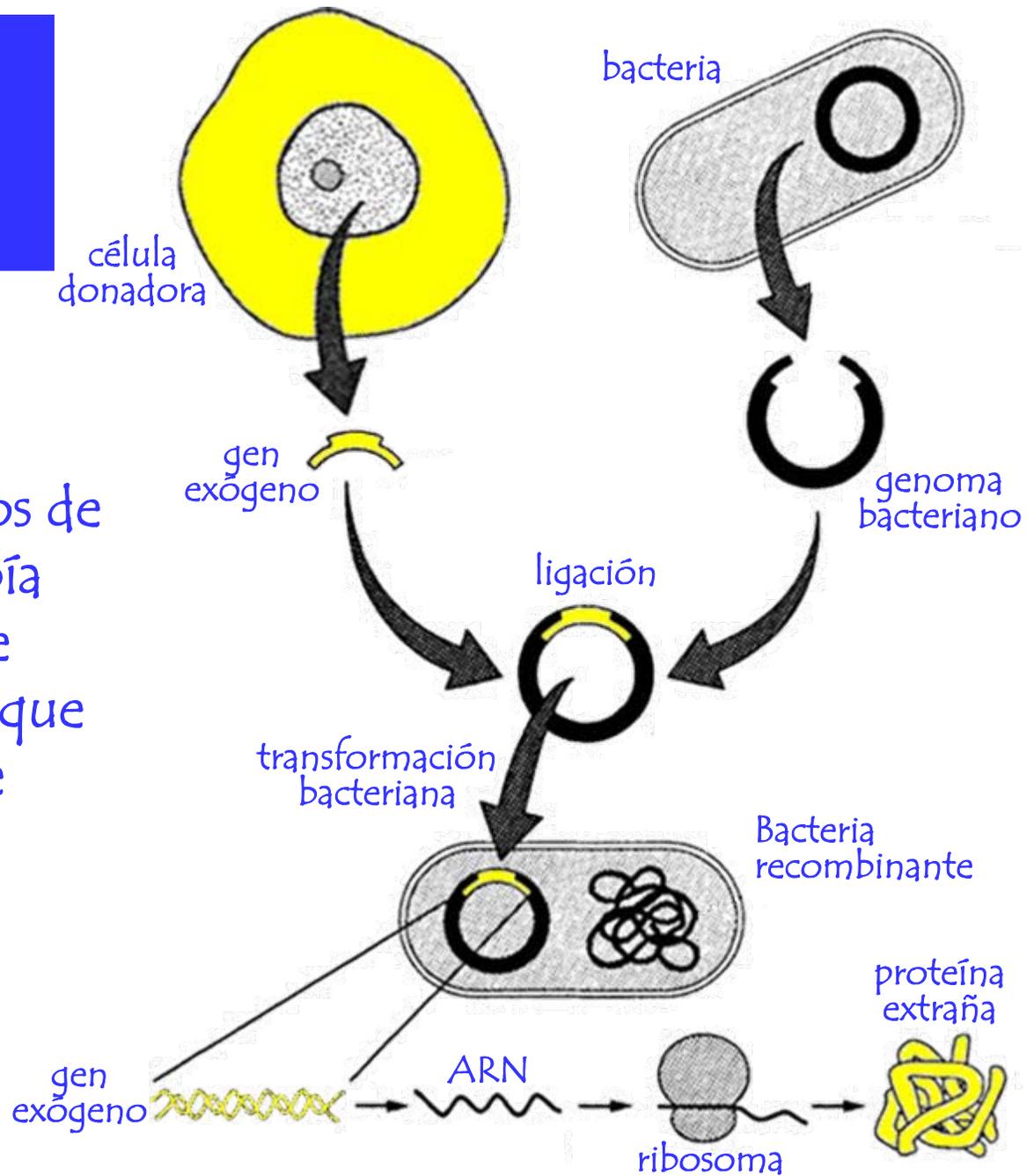


-Refutó la teoría de la generación espontánea.

-Estudió el papel de los microorganismos en las fermentaciones y como causa de enfermedades.

# ¿Cómo se consigue una bacteria transgénica?

Al cabo de unos 100 años desde los estudios de Pasteur, la ciencia había avanzado lo suficiente como para conseguir que una bacteria expresase proteínas de otros organismos.



## Aislamiento del ADN (1869)



Johan F. Miescher  
(1844-1895)

Miescher, en 1869, aisló varias moléculas ricas en fosfatos a partir del núcleo de glóbulos blancos, a las que llamó nucleínas. Sin saberlo, estaba descubriendo los ácidos nucleicos.



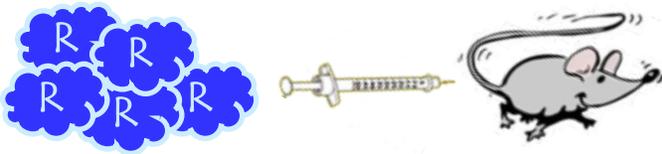
# Descubrimiento de la transformación bacteriana (1928)



Frederick Griffith (1881-1941)

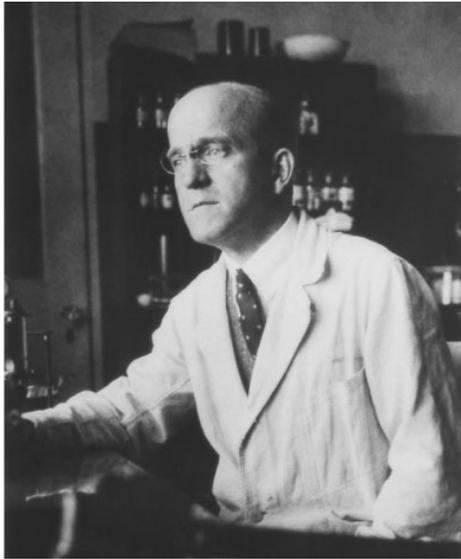
Microbiólogo británico

Murió mientras trabajaba, durante el bombardeo a Londres en la segunda guerra mundial.

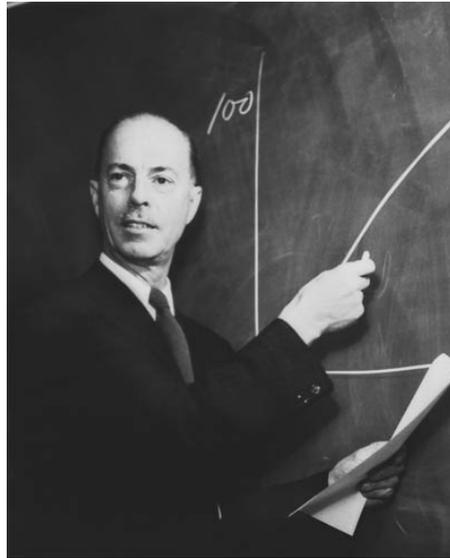


"Hay un principio transformante en las bacterias de *Streptococcus pneumoniae* que las hace virulentas y que se transfiere de unas a otras."

Descubrimiento de que el ADN y no las proteínas contiene la información genética (1944)



Oswald Avery



Colin MacLeod



Maclyn McCarty

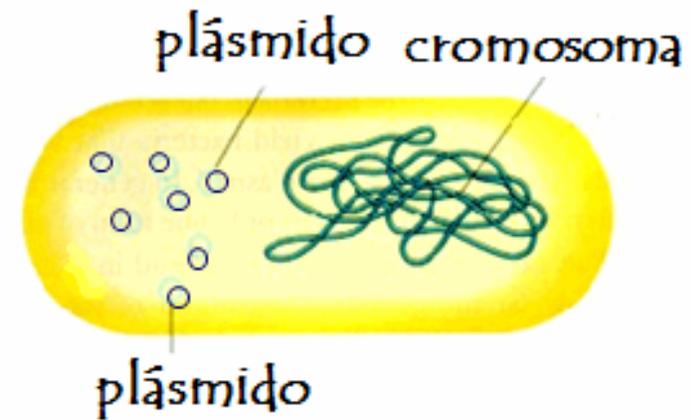
Todas las células contienen ADN, con la función de guardar información. El ADN contiene las instrucciones que determinan las características de un ser vivo. Además, a través del ADN se transmiten esas características a los descendientes.

# No todo el ADN de las bacterias está en su cromosoma (1952)

Premio Nobel de Medicina en 1958

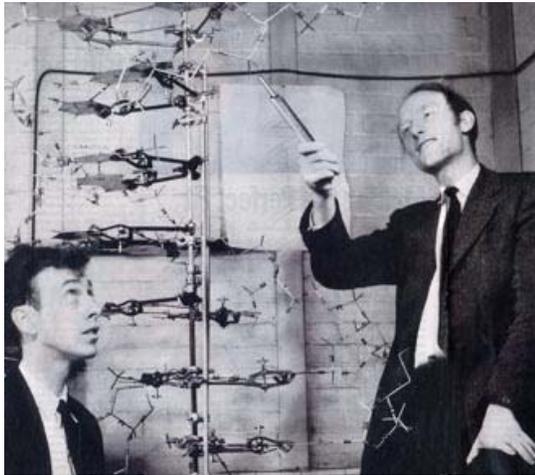


Lederberg introdujo el término plásmido en 1952 para explicar la herencia extracromosómica.



Joshua Lederberg (1925- )

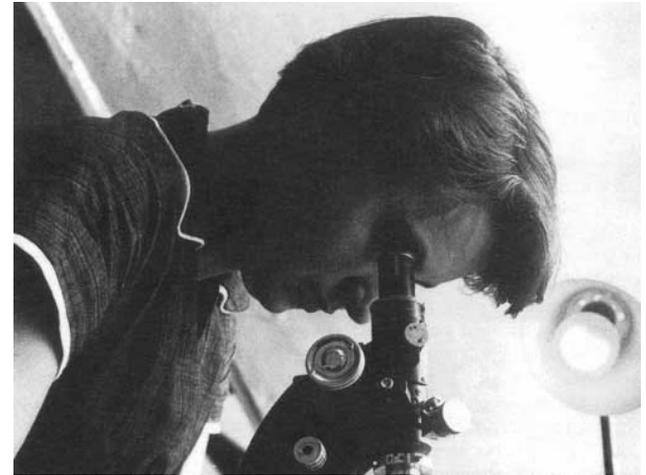
# Descubrimiento de la estructura en doble hélice del ADN (1953)



James Watson

Francis Crick

Rosalind Franklin



La estructura en doble hélice del ADN dio respuestas a muchas preguntas existentes sobre la herencia. Predijo la autorreplicación del material genético y la idea de que la información genética está contenida en la secuencia de bases que conforman el ADN.

# Descubrimiento de las enzimas de restricción (1962)

Premio Nobel de Medicina en 1978

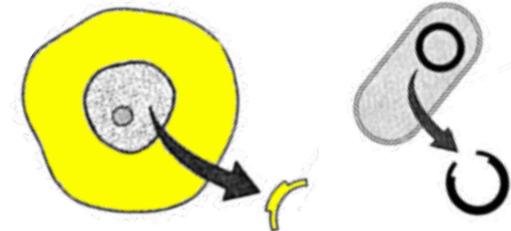


Werner Arber

Hamilton Smith

Daniel Nathans

Las enzimas de restricción son las tijeras moleculares que cortan el ADN. Pero no lo hacen en cualquier sitio, sino en posiciones específicas. Es decir, reconocen secuencias concretas del ADN.



# Dilucidación del código genético (1966)

M. W. Nirenberg

H. G. Khorana



Severo Ochoa

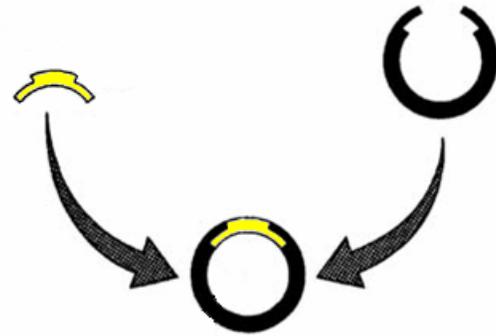
ADN → proteína

Primeira base ↓	2a. base				Tercera base ↓
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

## Descubrimiento de la enzima ligasa (1972)



I. Robert Lehman



En la universidad de Stanford, en 1972, se descubrió la otra herramienta indispensable: la enzima ligasa, que pega el fragmento de ADN aislado dentro del ADN del nuevo organismo.

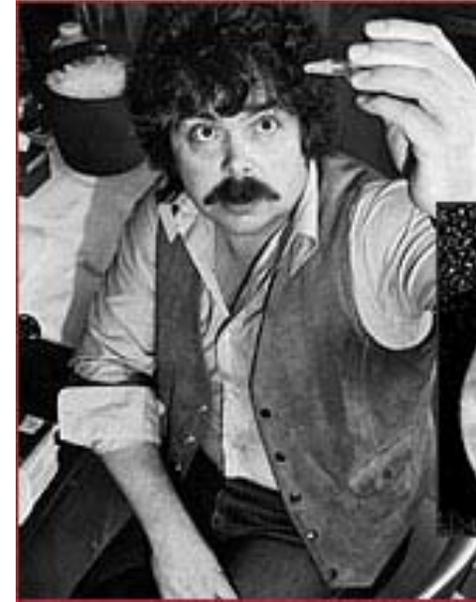
## Establecimiento de las técnicas de clonación (1973)



Stanley Cohen



Paul Berg



Herbert Boyer

En 1973, se creó el primer organismo genéticamente modificado, insertando un gen del sapo africano *Xenopus* en el genoma de *Escherichia coli*.

## Identificación de las bacterias recombinantes



### Resistencia a antibióticos

El plásmido que contiene el gen de nuestra proteína de interés también contiene un gen de resistencia a antibiótico.

### Bacterias "coloreadas"

El gen de nuestra proteína se inserta en el plásmido interrumpiendo al gen de una enzima que produce color azul.

# ¿Para qué sirven los microorganismos transgénicos?

1. Usamos a los microorganismos como "fábricas en miniatura" para producir compuestos biológicos con fines muy diferentes:

- Fármacos
- Nuevos materiales plásticos
- Enzimas digestivas para detergentes

2. Biorremediación:

Se usan los microorganismos para degradar compuestos contaminantes presentes en el suelo, el mar, aguas residuales, etc.

## Producción de proteínas humanas con fines farmacéuticos

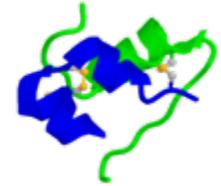
- Ventajas:
- Conseguimos compuestos imposibles de sintetizar químicamente.
  - Obtenemos grandes cantidades, por la mayor velocidad de crecimiento de los microorganismos con respecto a otros seres vivos.
  - Las proteínas producidas son idénticas a las humanas, por lo que desaparecen los problemas de rechazo inmunológico.

- Ejemplos:
- Hormonas
  - Vacunas
  - Reactivos para el diagnóstico de enfermedades.

Producto	Sistema de producción	Indicación terapéutica
<u>Anticoagulantes:</u>		
Activador del plasminógeno tisular	<i>Escherichia coli</i>	Infarto de miocardio
Hirudina	Levaduras	Prevención de trombosis
<u>Hormonas:</u>		
Insulina	<i>E. coli</i> / Levaduras	Diabetes mellitus
Hormona de crecimiento	<i>E. coli</i>	Retraso en el crecimiento, síndrome de Turner
Hormona paratiroidea	<i>E. coli</i>	Osteoporosis
Calcitonina	<i>E. coli</i>	Enfermedad de Paget
Glucagón	Levaduras	Hipoglucemia
<u>Factores hematopoyéticos:</u>		
Interferón alfa	<i>E. coli</i>	Hepatitis B y C, distintos tipos de cáncer
Interleuquina 2	<i>E. coli</i>	Cáncer de riñón
<u>Vacunas:</u>		
Anti hepatitis A y B	Levaduras	Prevención de hepatitis A y B

# Producción de insulina en la bacteria *Escherichia coli*

La insulina fue la primera proteína producida por ingeniería genética aprobada para su uso en humanos, en 1982.



La insulina es una hormona producida por el páncreas. Su función es regular la concentración de glucosa en la sangre.

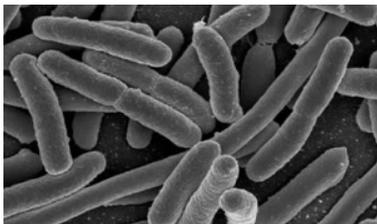


Extracción y purificación

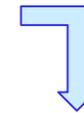


Insulina de cerdo o vaca

Tolerancia!

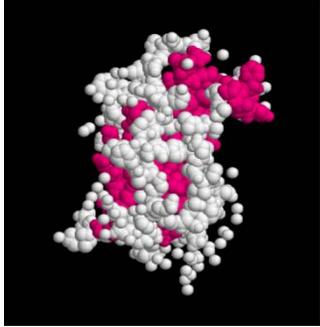


*E. coli*  
recombinante



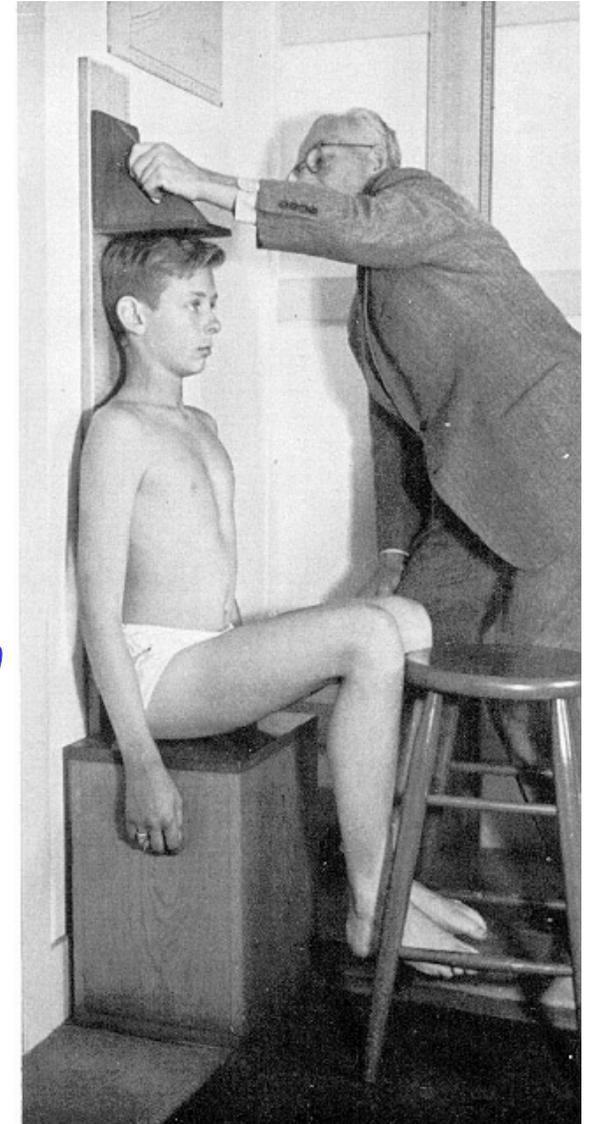
Insulina humana

# Producción de la hormona de crecimiento en *E. coli*

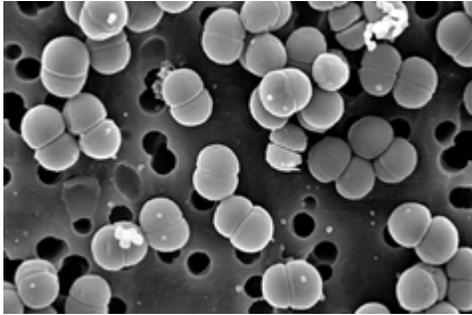


Hormona de crecimiento humana.

- Las hormonas de otros animales difieren demasiado de la humana.
- En 1958, Maurice Raben, fue capaz de purificar suficiente hormona desde la glándula pituitaria de un cadáver para tratar la deficiencia en un joven de 17 años.
- Años después, pacientes tratados con hormona procedente de cadáveres enfermaban del mal de Creutzfeld-Jakob.



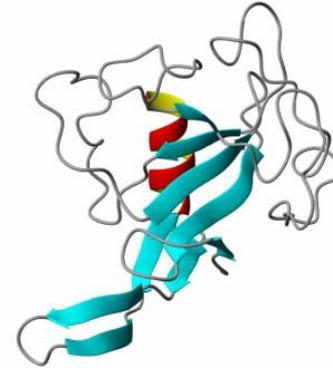
## *Lactococcus lactis*



Las bacterias del género *Lactococcus* se emplean en la industria láctea en la producción de fermentados como los quesos o yogures.

Introduciendo el gen de la  $\alpha$ -sarcina en el genoma de *L. lactis* podremos obtener un yogur con el que haremos llegar la toxina hasta los tumores de colon.

## $\alpha$ -sarcina

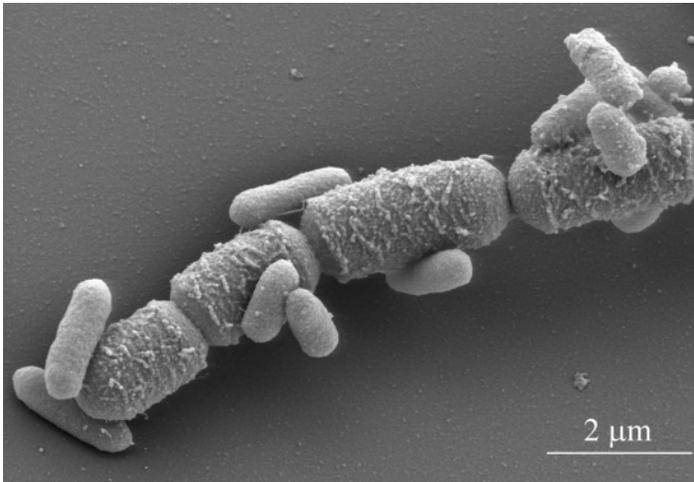


La  $\alpha$ -sarcina es una proteína tóxica producida por un hongo con una cierta especificidad por las células tumorales.



# Bioplásticos

Bioplástico: "Plástico de origen natural producido por un organismo vivo y con carácter biodegradable, sintetizado a partir de fuentes de energía renovables"



*Bacillus megaterium*



Producción de  
poliéster PHB

Descubrimiento de los bioplásticos:  
Maurice Lemoigne. Instituto Pasteur, 1925



# Etiqueta de bioplástico para envases comerciales

Envases hechos en  
bioplástico PLA  
(Ácido poliláctico)

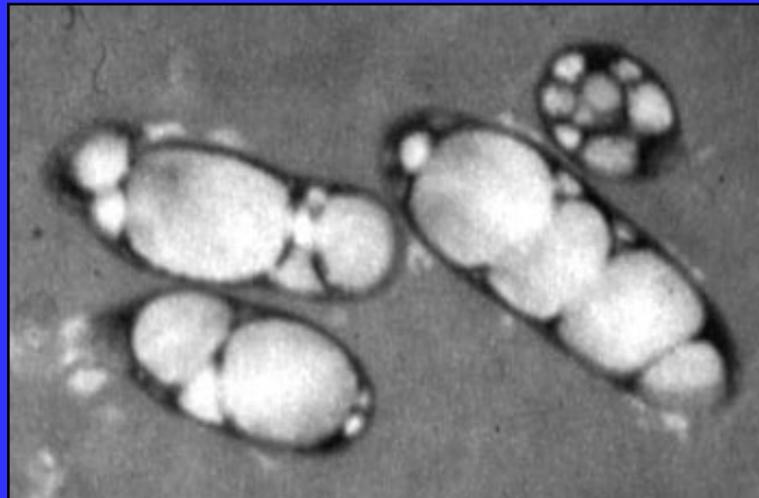


# Bioplástico PHA (polihidroxicanoatos)



*Azotobacter sp, Pseudomonas sp,  
Bacillus sp*  
Situación de estrés

Melaza de caña  
de azúcar,  
lactosuero, etc



*E. coli* recombinante



PHA

# Producción de enzimas digestivas para detergentes



Otto Rohm  
(1913)

Páncreas de  
animales



Enzima  
digestiva:  
proteasa



Primer jabón  
enzimático  
pre-lavado

Proteasas Amilasas Lipasas Celulasas

# Biorremediación

## Biorremediación

### Degradación enzimática

Enzimas producidas por bacterias transgénicas: lipasas, celulasas, proteasas, amilasas, peroxidasa.

### Remediación bacteriana

Las bacterias se "alimentan" de contaminantes.

### Fitorremediación

Uso de plantas en la eliminación de contaminantes

## Cultivos transgénicos

- Rendimiento superior
- Reducción de pesticidas
- Mejora en la nutrición
- Desarrollo de nuevos componentes para materiales.

### Ejemplos :

Algodón: Algodón resistente al gorgojo con la introducción de la toxina botulínica en su configuración genética.



Maíz: La planta produce su propio plaguicida, letal para un acárido llamado barrenillo del maíz.



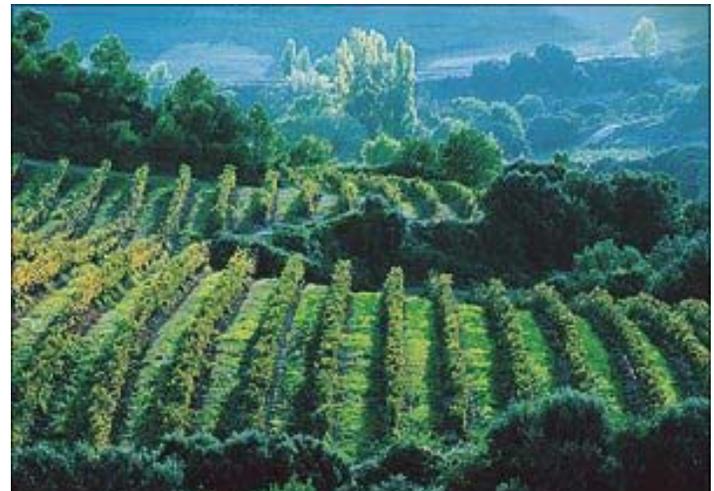
Manzanas: Resistentes a los insectos.



Café: Con mejor sabor, resistente a las plagas, con menos cafeína.



Uva: Variedad sin pepitas.





Frambuesas:  
Resistentes a las heladas.

Melón:  
Más duradero.



Girasol: Con mejor  
composición de ácidos grasos .

Patata: Se está desarrollando un tipo de patata con alto grado de almidón, que absorbe menos grasa. McDonalds se ha mostrado sumamente interesado.



También se está desarrollando un tipo de patata que contiene una proteína del virus de la Hepatitis B, que funciona como una nueva vacuna contra esta enfermedad.

Arroz dorado: Se trata de un arroz transgénico con alto contenido en vitamina A.



Maní con alto contenido de  $\beta$ -carotenos:

Se está tratando de obtener maní transgénico con altos niveles de beta-carotenos (precursor de la vitamina A).



Sorgo más nutritivo: Se están desarrollando en Sudáfrica semillas de sorgo con mayores niveles de vitamina A y E, hierro, zinc y aminoácidos esenciales.



Alfalfa: Están desarrollando una vacuna para la fiebre aftosa mediante la utilización de plantas de alfalfa transgénica para transformarlas en “vacunas comestibles para ganado”.

## Tomates:

Los científicos desarrollan vacunas contra el SIDA y la hepatitis B en tomates.

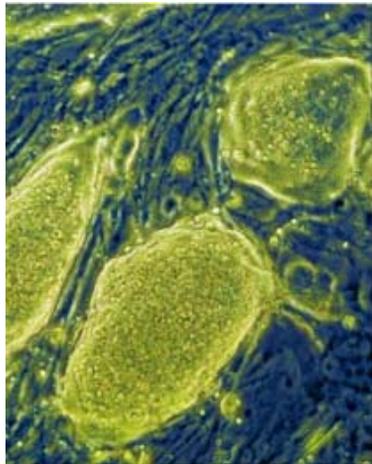


Plátanos: En Estados Unidos se están desarrollando plátanos que vacunan contra la hepatitis B.



## Cultivo de células animales

Como en el caso de los microorganismos, las células animales, principalmente las de mamífero, se utilizan como medio para fabricar proteínas complejas.



Producto	Indicación terapéutica
Factores de coagulación	Hemofilia
Hormona folículo estimulante	Infertilidad, anovulación
Hormona tirotrófina	Tratamiento/detección de cáncer de tiroides
Eritropoyetina	Anemia
Anticuerpos monoclonales	Asma, artritis reumatoide

## Animales transgénicos

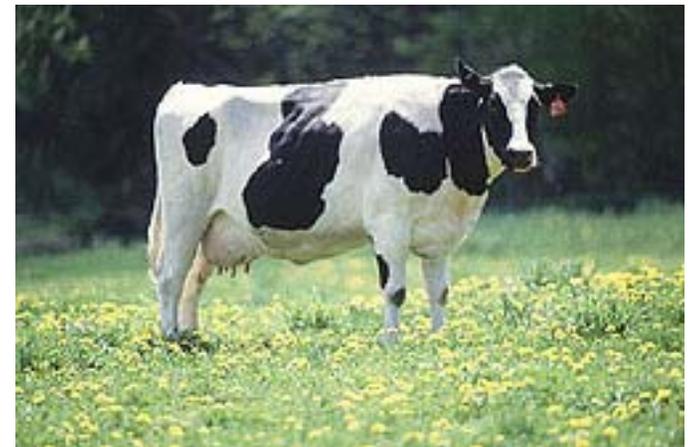
- Los animales transgénicos se obtienen con los siguientes fines:
- Ayudar a los investigadores a identificar, aislar y caracterizar los genes y así entender cómo funcionan.
  - Como modelos de enfermedades que afectan al hombre y así poder desarrollar nuevas drogas y nuevas estrategias de tratamiento.
  - Como fuente de tejidos y órganos para transplantes en humanos.
  - Para mejora de ganado y otros animales de importancia económica.
  - Para producir leche con mayor valor nutricional o que contenga proteínas de importancia farmacéutica.

El primer animal transgénico fue un ratón "gigante" que expresaba la hormona de crecimiento de rata.



Vacas que producen más leche, ovejas que producen más lana, peces con mayor tasa de crecimiento...

En Argentina se han obtenido vacas transgénicas que producen en su leche la hormona de crecimiento humana.



Gusanos de seda que segregan colágeno o fibras de colores novedosos y cualidades únicas.

Orugas portadoras de espidroína, la proteína responsable del ultrarresistente hilo de las arañas.



Mosquito de la malaria que expresa una proteína fluorescente en los testículos.

Y además...

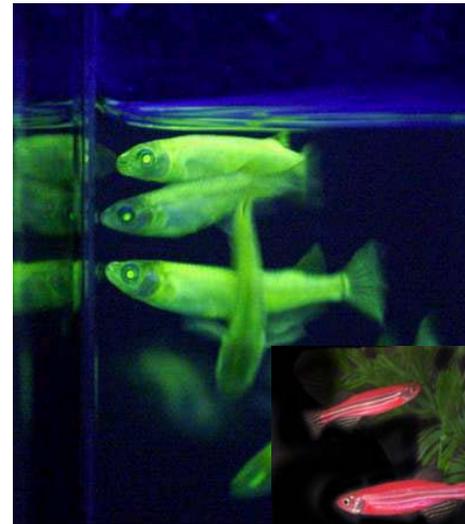


Conejo transgénico con la GFP  
(Green Fluorescent Protein)  
insertada en su genoma.

Cerdos transgénicos con YFP  
(yellow fluorescent protein)



Ratón con GFP



Mascotas  
fluorescentes

