

## Análisis del genoma



**INGENIERÍA  
GENÉTICA**



# APLICACIONES DE LA INGENIERIA GENÉTICA



## ROJA - Aplicaciones médicas

- Obtención de nuevos productos y fármacos por organismos
- Producción de Ac monoclonales
- Desarrollo de terapias génicas y celulares



## VERDE – Aplicaciones agrícolas y ganaderas

- Desarrollo de cereales resistentes a plagas
- Desarrollo de animales resistentes a enfermedades
- Desarrollo de plantas que expresen pesticidas



## AZUL – Aplicaciones acuáticas y marinas

- Uso de plantas y productos marinos para obtener nuevos fármacos
- Restauración y preservación de especies acuáticas
- Uso de genes de organismos acuáticos para obtener resistencias



## BLANCA – Aplicaciones a procesos industriales

- Producción de nuevos compuestos
- Desarrollo de combustibles nuevos
- Uso de bacterias para eliminar vertidos de petróleo

# ORGANISMOS TRANSGÉNICOS

**Organismo transgénico:** es aquél que ha sufrido la alteración de su material hereditario (genoma) por la introducción artificial (manipulación genética) de un gen exógeno, esto es, proveniente de otro organismo completamente diferente.

Aparentemente **no existen barreras** para mezclar los genes (DNA) de dos especies diferentes. Existen bioherramientas moleculares para componer y descomponer al DNA, intercambiando así fragmentos específicos de ADN de distintas especies e incluso transferirlos a bacterias.

Se descubrió posteriormente que esta práctica se venía haciendo en la naturaleza **de forma espontánea** desde hace millones de años en los vegetales a través de la bacteria llamada *Agrobacterium tumefaciens*.

**Las bacterias** producen hoy en día, proteínas humanas por ingeniería genética como el interferón, la insulina y la hormona del crecimiento, de gran importancia en la medicina.



## Microorganismos transgénicos

Producción de alimentos

Eliminación de basuras

Obtención de materias primas para la industria

Descontaminar lo que las industrias han contaminado



## Animales de granja

(cerdos, ovejas, borregos)

"biorreactores" de proteínas terapéuticas humanas en su leche (antitripsina, factor VIII de coagulación...)

## Plantas transgénicas "nueva revolución verde"

Resistentes a sequías, a herbicidas o a plagas de insectos,

Maduración tardía o con características para mantener el color y sabor después de congelación

Ejemplos : algodón, la soja, la papa, el tomate y al maíz



## La Ingeniería Genética

Conjunto de técnicas, nacidas de la Biología molecular, que permiten manipular el genoma de un ser vivo, introduciendo genes en un organismo que carece de ellos

Se realiza por

### Enzimas de restricción

Capaces de cortar el ADN por puntos concretos

Incluye

### Técnicas biotecnológicas

- Recombinación de ADN
- Secuenciación del ADN
- Reacción en cadena de la polimerasa
- Aplicaciones diversas

Se obtiene

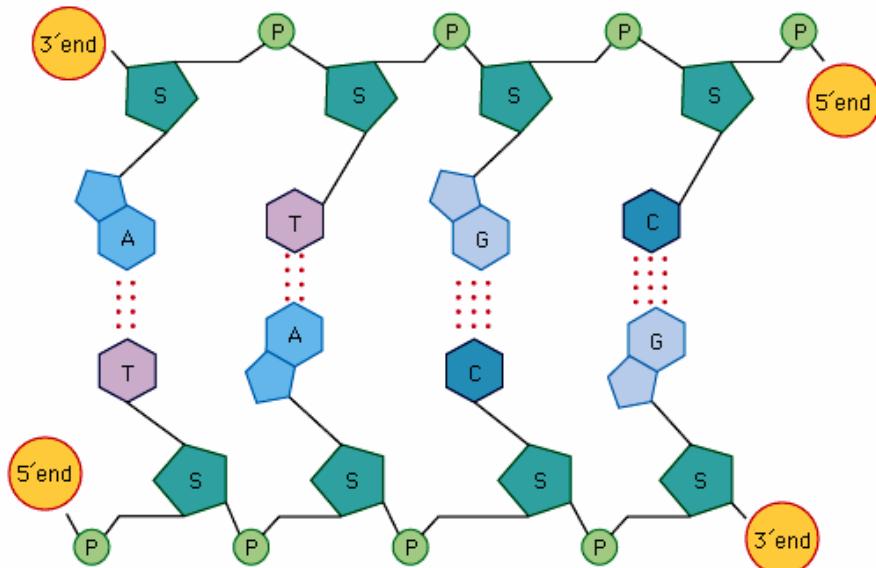
### ADN Recombinante

Segmento de ADN extraño intercalado en un ADN receptor



## Técnicas de ADN recombinante: la manipulación genética

Entre los años 70 y 80 se desarrollaron herramientas de la biología molecular y la ingeniería genética, lo que se conoce como técnicas del **ADN recombinante**



**La técnica se fundamenta en:**

- Doble cadena del ADN
- Complementariedad de bases
- Siempre que se encuentren secuencias complementarias se unen
- Orden de las bases determina información de proteínas
- Código de transcripción universal

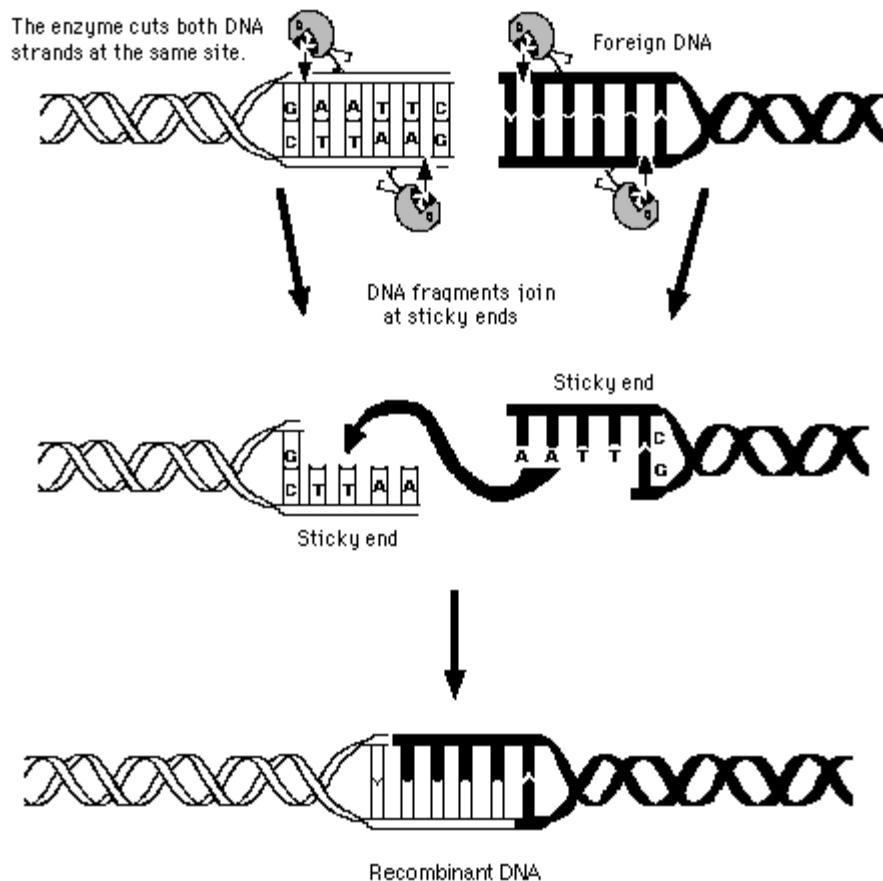
## Técnicas de ADN recombinante: la manipulación genética

La tecnología del **ADN recombinante** incluye diferentes técnicas de las que destacan:

- La rotura específica del ADN mediante endonucleasas de restricción, que facilita el aislamiento y la manipulación de los genes individuales.
- La secuenciación rápida de todos los nucleótidos de un fragmento purificado de ADN, que posibilita determinar los límites de un gen y la secuencia de aminoácidos que codifica.
- La hibridación de los ácidos nucléicos que hace posible localizar secuencias determinadas de ADN o ARN, utilizando la capacidad que tienen estas moléculas de unirse a secuencias complementarias de otros ácidos nucleicos marcadas denominadas SONDAS.
- La clonación del ADN, mediante la cual se puede conseguir que un fragmento de ADN se integre en un elemento génico autorreplicante (plásmido o virus) que habita en una bacteria, de tal manera que una molécula simple de ADN puede ser producida generando muchos miles de millones de copias idénticas.
- La ingeniería genética mediante la cual se pueden alterar secuencias de ADN produciendo versiones modificadas de los genes, los cuales se pueden insertar a células u organismos.

## Enzimas: Endonucleasas de restricción

### Restriction Enzyme Action of EcoRI



### Endonucleasas de Restricción:

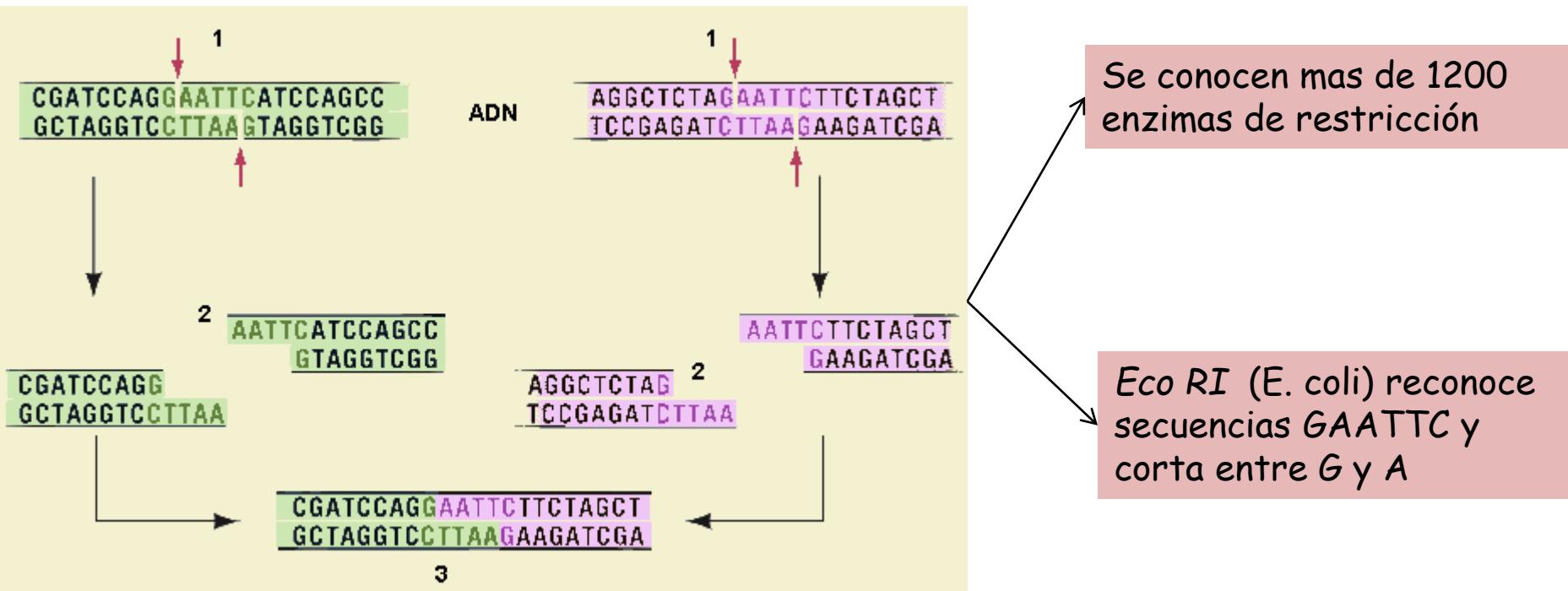
Enzimas que pueden cortar el ADN y lo hacen en secuencias concretas

Enzimas que las bacterias usan para destruir ADN que ingresa a ellas, por ejemplo ADN de virus bacteriófagos

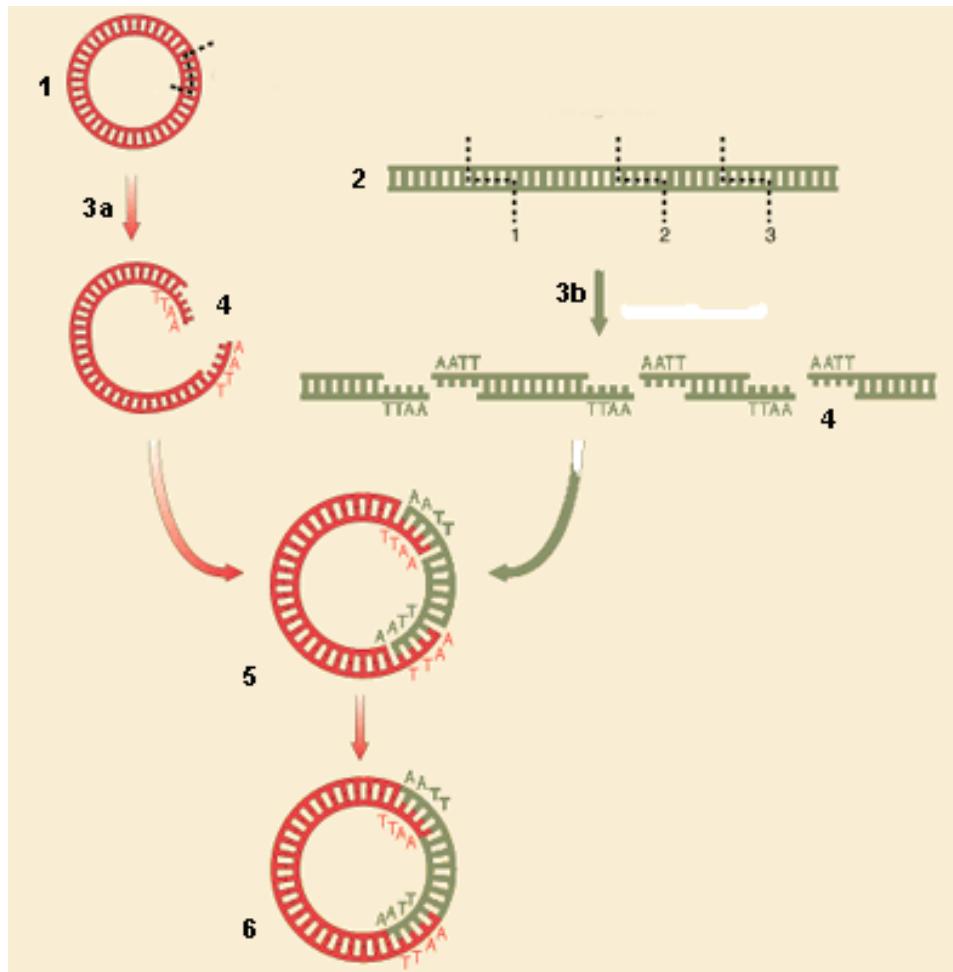


## Enzimas: Endonucleasas de restricción

- Los enzimas de restricción sólo reconocen y cortan secuencias específicas.
- Generan extremos cohesivos (con monocadenas) o extremos romos.
- La rotura del DNA produce una serie característica de fragmentos, y estos se pueden ligar a otros DNA, como el vector de clonación cortado (plásmido).
- La reacción de ligación está facilitada por el apareamiento de extremos cohesivos complementarios, y los fragmentos de DNA con extremos cohesivos diferentes (no complementarios) no suelen ligarse.



# Construcción de ADN recombinante



**1** ADN plásmido

**2** ADN extraño

**3** Corte del plásmido y ADN extraño con Eco RI  
(endonucleasa de restricción)  
(restriction endonuclease)

**4** Formación de extremos cohesivos

**5** Formación de ADN recombinantes

**6** Acción de ADN ligasa que sella los extremos

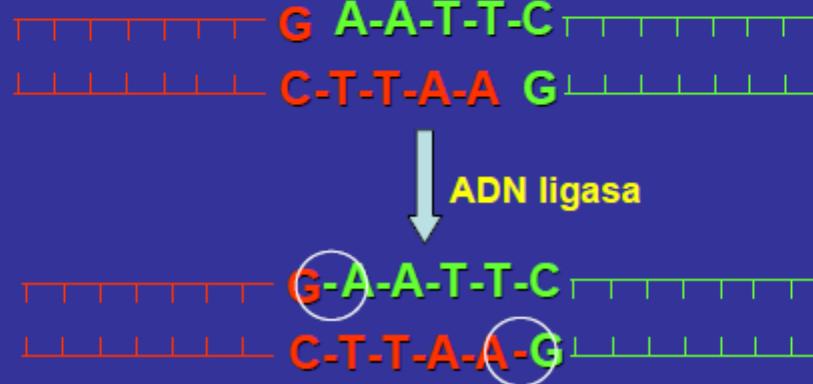


# Construcción de ADN recombinante

## 1.- Digestión del ADN



## 2. Unión



## Clonación del ADN

**La clonación** de un gen consiste en introducirlo en una célula de modo que se copie y se mantenga

El gen se inserta en un ADN llamado **vector de clonación (plásmidos)**, capaz de entrar y replicarse de forma independiente en una célula huésped

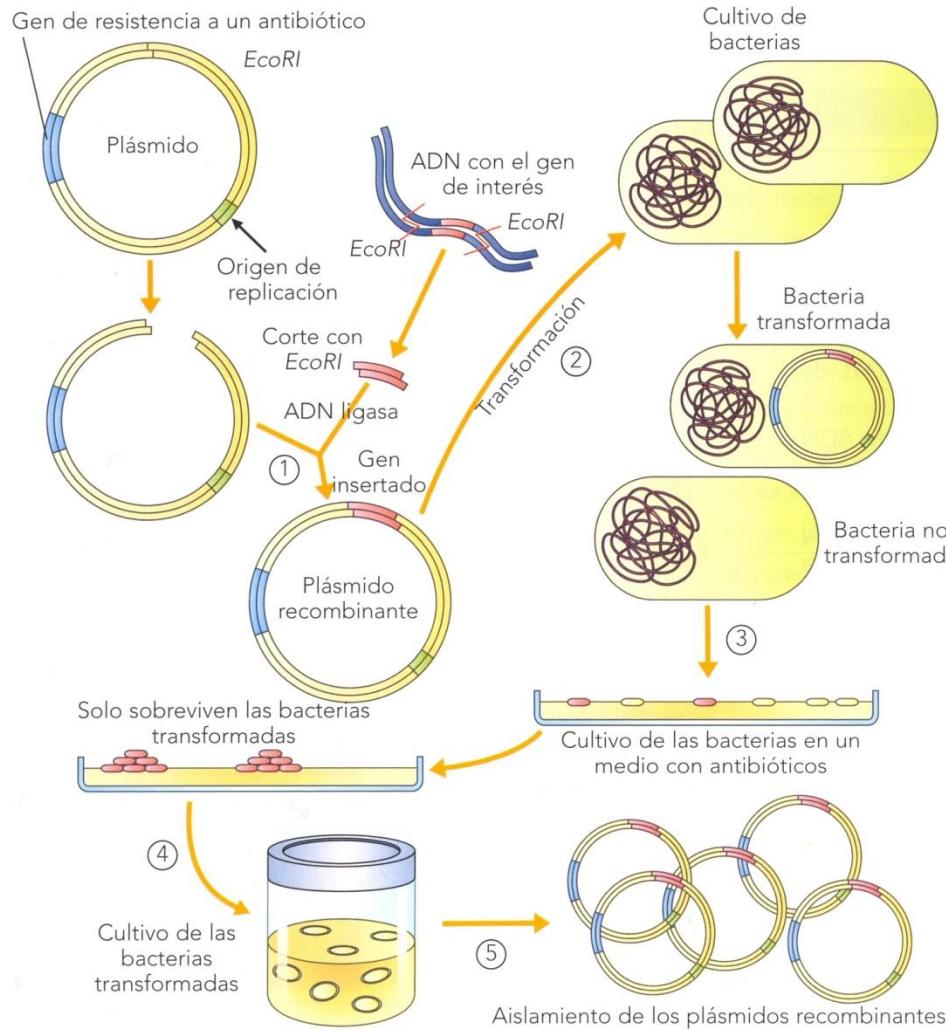
Resultado: **ADN recombinante**. Permite obtener grandes cantidades del gen insertado en la célula hospedadora adecuada apropiada

Cuando el genoma entero de un organismo es cortado en trozos y clonado en un determinado vector se construye una **genoteca o una biblioteca o librería genómica** las cuales permiten guardar indefinidamente el ADN de un organismo

Un **plásmido recombinante** en una bacteria se replica con ella pudiendo obtenerse y aislar **millones de copias** de dicho plásmido

# Clonación del ADN

## Proceso de clonación de un gen en bacterias



1. Obtención de plásmido recombinante

2. Transformación de bacterias

3. Selección de bacterias transformadas

4. Crecimiento de bacterias transformadas

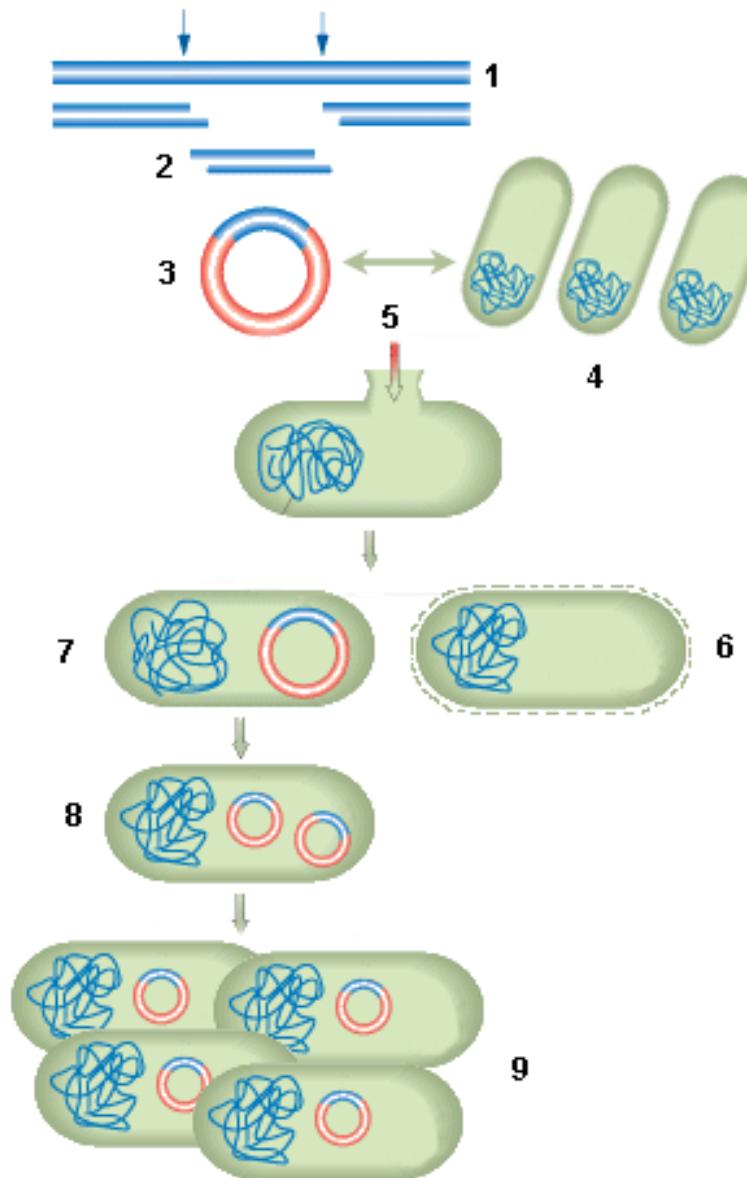
5. Aislamiento de los plásmidos recombinantes

# Biblioteca de ADN genómico

- Una biblioteca genómica es un conjunto de clones, cada uno de los cuales contiene un fragmento de un genoma de un organismo dado.
- Las bibliotecas genómicas se consiguen clonando los fragmentos en vectores.



## Biblioteca de ADN genómico

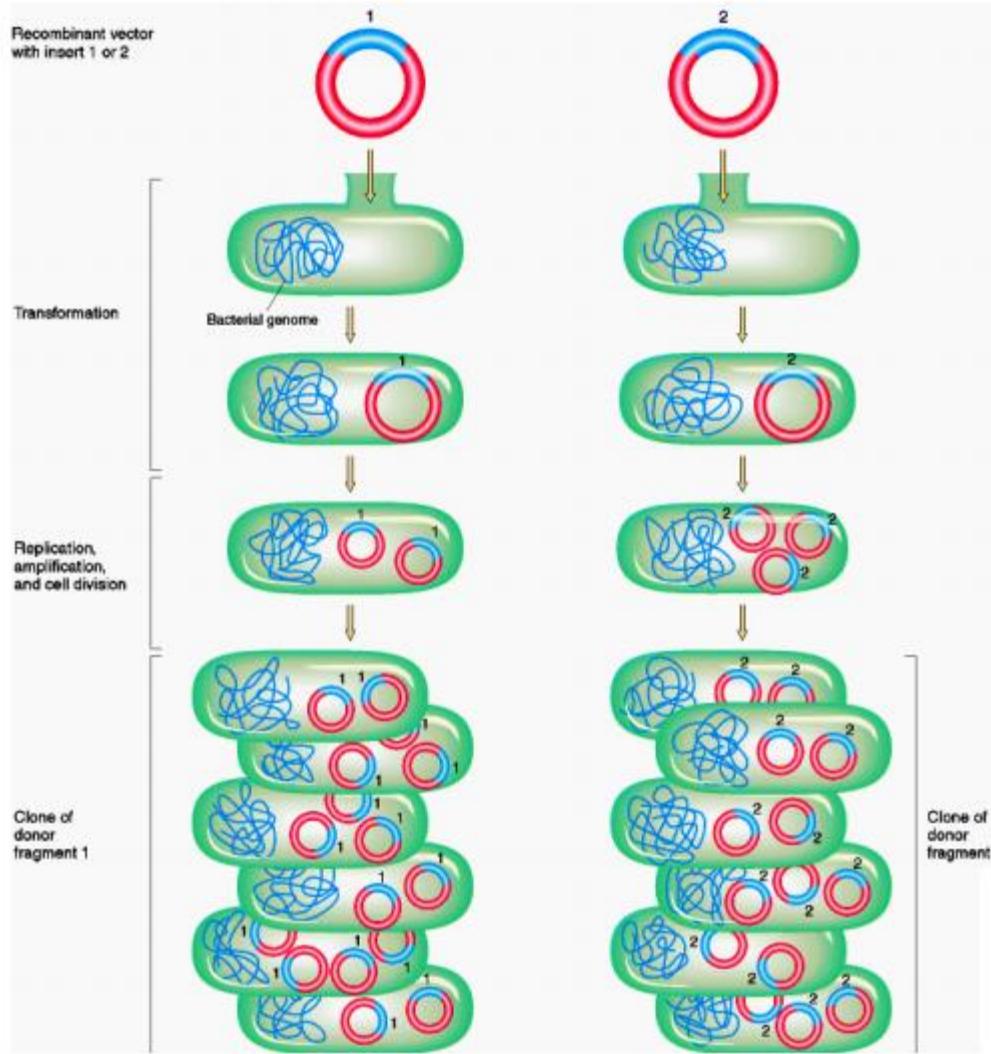


1. Obtención del fragmento de ADN a clonar mediante enzimas de restricción
2. Vector recombinante
3. Transformación de bacterias
4. Replicación, amplificación
5. División celular

# Biblioteca de ADN copia

- Construidas a partir de la población total de ARNm de un organismo, de un tejido o tipo celular particular o de una etapa del desarrollo particular.
- Representa el conjunto de genes que están siendo expresados por esas células o por ese estadío.
- Se pueden explorar con sondas de ADN y/o anticuerpos (al estimular la expresión de los insertos en las bacterias)

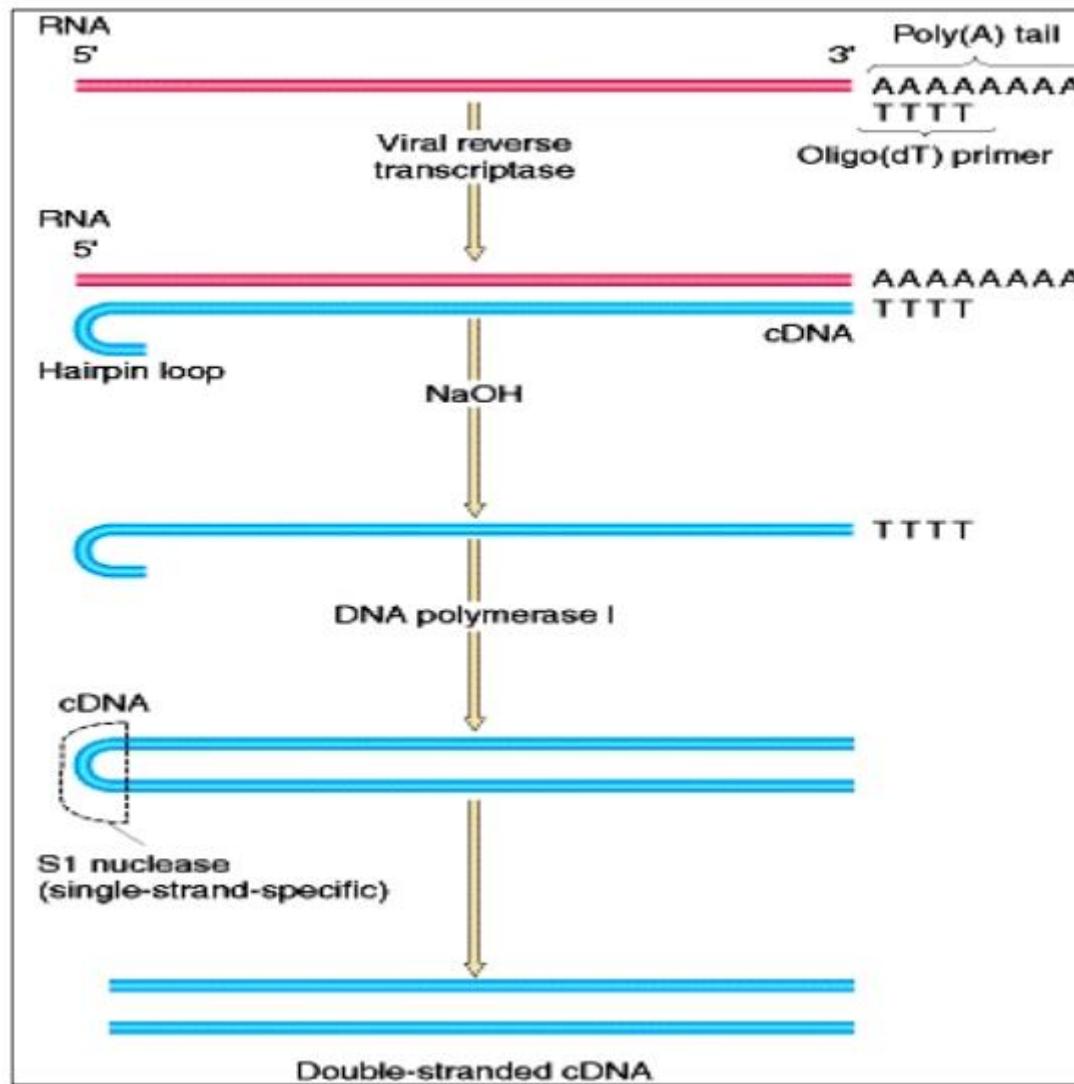
# Biblioteca de ADNc



1. Vector recombinante
2. Transformación de bacterias
3. Replicación, amplificación
4. División celular



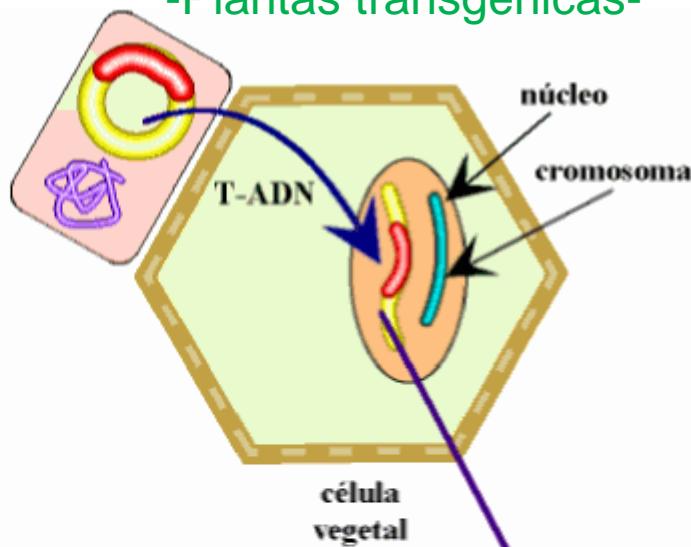
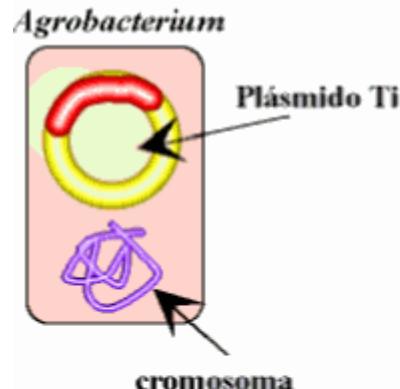
# Obtención de cDNA a partir de ARNm



# INGENIERÍA GENÉTICA: Agricultura y medio ambiente

- Tradicionalmente se han mejorado los cultivos por selección de ejemplares
- Actualmente se mejoran características con técnicas de ADN recombinante:

## -Plantas transgénicas-



El plásmido Ti o T-ADN de Agrobacterium contiene genes (onc) que provocan una mayor producción de hormonas de crecimiento con la formación del tumor o agalla.

Se eliminan de Ti los **genes onc** y se sustituyen por otros genes que interese clonar, se habrá obtenido un sistema eficaz para introducir ADN interesante a la planta, evitando la aparición de la enfermedad

Actualmente se consiguen mejorar diferentes características con técnicas de ADN recombinante -Plantas transgénicas-

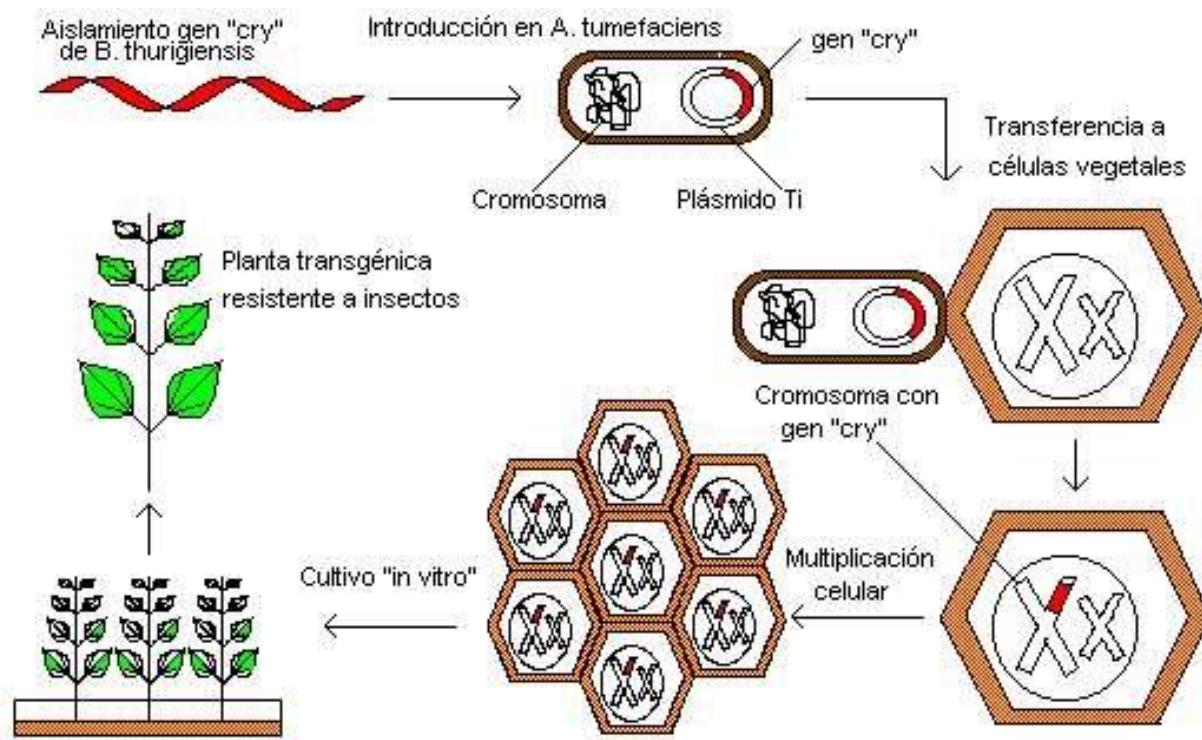
## •Resistencia a herbicidas (mejora vegetal)

- Resistencia al glifosato herbicida no selectivo, con gen de *E. coli* resistente, clonado e incorporado
- Resistencia a plagas, con toxina de *Bacillus turingiensis*
- Resistencia a virus, con proteínas de la cápsida de dicho virus

### FASES:

1. Transferencia de genes

2. Regeneración de plantas completas



# INGENIERÍA GENÉTICA: Agricultura y medio ambiente

## •Mejora del producto (alimentos)

- Arroz transgénico –arroz dorado- con βcaroteno (vit A)



## •Plantas farmaceúticas (biofarmaceútica)

•Producción de proteínas humanas, vacunas, anticuerpos, mas económicas y contienen mecanismos de modificación postraduccional de las proteínas, a diferencia de las bacterias



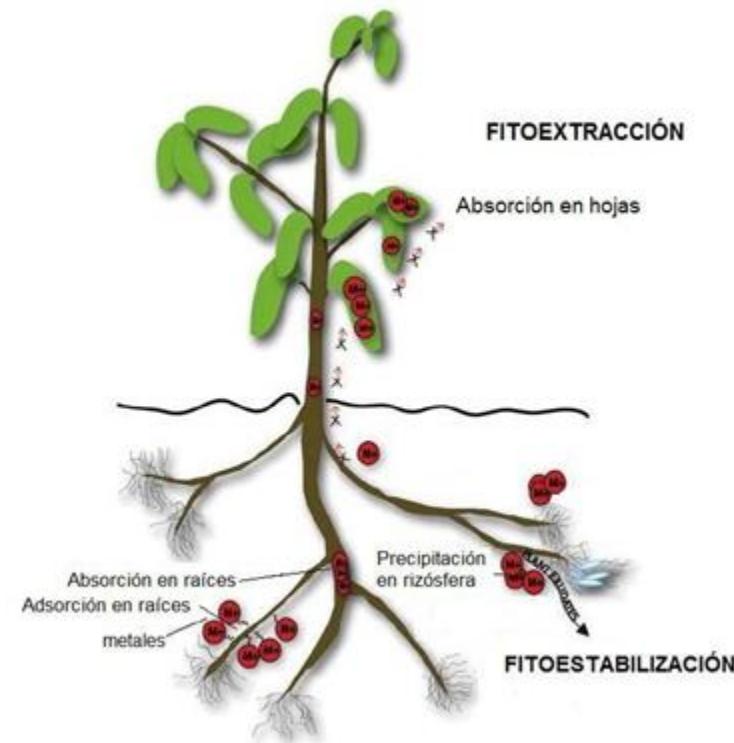
**Fitorremedación:** Plantas transgénicas que transforman contaminantes peligrosos en sustancias inocuas



chopos modificados para acumular metales, actualmente en condiciones controladas en invernadero

**La fitoestabilización :** plantas que inmovilizan los metales en el suelo por absorción o adsorción en las raíces. Los contaminantes permanecen retenidos bajo la superficie del suelo

**La fitoextracción :** plantas tolerantes capaces de absorber los metales desde el suelo y acumularlos en su biomasa aérea. Posteriormente, esta biomasa es cosechada, incinerada y tratada como residuo peligroso



## Técnicas utilizadas

<b>Utilización de nucleasas de restricción</b>	Rotura específica del DNA, facilita enormemente el aislamiento y la manipulación de los genes individuales
<b>Secuenciación</b>	La secuenciación rápida de todos los nucleótidos de un fragmento purificado de DNA, hace posible determinar los límites precisos de un gen y la secuencia de aminoácidos que codifica.
<b>Hibridación de los ácidos nucleicos</b>	Hace posible localizar secuencias determinadas de DNA o de RNA, con una gran exactitud y sensibilidad, utilizando la capacidad que tienen estas moléculas de unirse a secuencias complementarias de otros ácidos nucleicos.
<b>Clonación del DNA</b>	Se puede conseguir que un fragmento de DNA se integre en un elemento génico autoreplicante (plásmidos, virus) que habita en una bacteria, de tal manera que de una molécula de DNA puede ser reproducida generando muchos miles de millones de copias idénticas.
<b>Ingeniería génica</b>	Se pueden alterar secuencias de DNA produciendo versiones modificadas de los genes, los cuales se pueden reinsertar en células u organismos.